



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

Número Extraordinario - Anexo al Volumen XXV

## SUMARIO

	<u>Págs.</u>
<i>Ofrecimiento y testimonio</i> . . . . .	9
<i>Trabajos originales:</i>	
APORTACIONES AL ESTUDIO EXPERIMENTAL DEL SISTEMA SURFANTE PULMONAR, <i>por J. Aguilar Jiménez</i> . . . . .	11
APORTACIONES AL CONOCIMIENTO DE LAS CONEXIONES DE LA VÍA ÓPTICA POR DEGENERACIÓN WALLERIANA TRAS LA ENUCLEACIÓN EXPERIMENTAL DEL GLOBO OCULAR, <i>por M.<sup>a</sup> D. Alonso Salvador</i> . . . . .	37
EL COLÁGENO DE ESTÓMAGO EN CASO DE CÁNCER, <i>por J. Alvarez-Morujó Suárez, F. Cuadrado Idoyaga y A. Alvarez Morujo</i> . . . . .	53
LA PARS TUBERALIS DE LA ADENOHIPÓFISIS DEL GATO (ESTUDIO CON EL MI- CROSCOPIO ELECTRÓNICO DE SU HISTOLOGÍA Y CITOLOGÍA), <i>por P. Amat</i> . . . . .	63
ESTUDIO ESTEREOTÁXICO DEL COMPLEJO NUCLEAR TRACTO SOLITARIO Y ESTRUC- TURAS VECINAS EN EL GATO, <i>por C. Avendaño y F. Delgado</i> . . . . .	79
MUERTE CELULAR EN LA PLACODA NASAL DEL EMBRIÓN DE POLLO, <i>por E. Bar- bosa Ayucar, E. Campelo Barcia, J. G. Valdecasas Huelín y L. Bar- bosa Ayucar</i> . . . . .	93
NUEVO MÉTODO POLÍCROMO EN DOS TIEMPOS (F-1), <i>por J. Cabanes Vila, C. J. Iranzo Lobera, M. J. Pérez Bacete y J. A. Tecles Tomás</i> . . . . .	99

(*Sigue a la vuelta*)



	Págs.
LIPOMAS RAQUIMEDULARES EN LA INFANCIA, <i>por V. Calatayud Maldonado.</i>	109
ESTUDIO DE LAS VARIACIONES ULTRAESTRUCTURALES DE LAS CÉLULAS ADENO- HIPOFISARIAS TRAS LA ESTIMULACIÓN CON RAYOS ULTRAVIOLETA, <i>por I. Es- criba Roca y A. Martínez Soriano</i> . . . . .	115
DIE CEREBRALE LOKALISATION, <i>por K. Feremutsch</i> . . . . .	129
ESTUDIO DE LA ESTRUCTURA DEL PULMÓN NORMAL A MICROSCOPIA ELECTRÓ- NICA Y DE SCANNING, <i>por E. Ferres Torres</i> . . . . .	135
EXPERIENCIA SOBRE LAS POSIBILIDADES DE LOS MÉTODOS RADIOLÓGICOS EN LA DOCENCIA E INVESTIGACIÓN MORFOLÓGICAS, <i>por J. Jiménez-Castellanos y Calvo-Rubio</i> . . . . .	147
TUBULAR STRUCTURES, MICROTUBULI AND SYNAPTIC RIBBON IN MONKEY'S RE- TINAL RECEPTORS, <i>por P. Glees y P. E. Spoerri</i> . . . . .	159
VASCULARIZACIÓN SUPRARRENAL Y STRESS NEURÓGENO, <i>por L. M.<sup>a</sup> Gonzalo Sanz</i> . . . . .	169
INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES EN EL CICLO VIGILIA-SUEÑO DEL GATO NORMAL, <i>por J. Gómez-Montoya e I. de Andrés</i> . . . . .	179
ANATOMÍA PSICOLÓGICA, <i>por M. Guirao Pérez</i> . . . . .	191
FIBRAS CEREBELOPÓNTICAS, ESTUDIO ANATÓMICO EXPERIMENTAL EN EL GATO, <i>por J. F. Lago</i> . . . . .	201
ANÁLISIS CITOQUÍMICO CUANTITATIVO DEL ADN DE FIBROBLASTOS DE EMBRION DE POLLO CULTIVADOS IN VITRO, SOMETIDOS A TRATAMIENTO CON ADRIA- MICINA, <i>por J. L. Lancho Alonso</i> . . . . .	211
PINEALECTOMÍA Y GONADA MASCULINA, <i>por J. Losada y R. Sarrat</i> . . . . .	225
CONEXIONES NIGROESTRIADAS EN EL GATO PUESTAS DE MANIFIESTO POR MÉTO- DOS DE IMPREGNACIÓN ARGÉNTICA, <i>por A. Llamas</i> . . . . .	229
TRANSFORMACIONES EXPERIMENTALES DEL SUBSTRATO ANTEROHIFISARIO TRAS LA ESTIMULACIÓN ADENAL EN LA RATA BLANCA JOVEN Y SU REPERCUSIÓN EN EL TIMO, <i>por J. Lloret García</i> . . . . .	239
CONEXIONES HORIZONTALES DEL ISOCORTEZ CEREBRAL (ESTUDIO TRAS EL MAR- CAJE CON PEROXIDASA), <i>por L. Martínez Millán</i> . . . . .	257
PROYECCIONES A LA CORTEZA PREFONTAL DEL NÚCLEO SUBMEDIO DEL TÁLAMO EN EL GATO, <i>por E. Martínez-Moreno</i> . . . . .	267
ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL DE LA MORFOLOGÍA DEL EPITELIO TUBÁRICO HU- MANO EN LAS DIVERSAS FASES DE LA VIDA GENITAL DE LA MUJER, <i>por M. Montesinos Castro-Girona</i> . . . . .	275
SOBRE LA INTEGRACION FUNCIONAL DE LAS CÉLULAS DE LOS ISLOTES DE LAN- GERHANS, <i>por L. Muñoz Barragán</i> . . . . .	293
PARAGANGLIOS DEL EPÍDIDIMO HUMANO, <i>por M. Nistal</i> . . . . .	307
APORTACIÓN AL ESTUDIO ELECTROLÍTICO DEL LÍQUIDO CEFALORRAQUIDEO NOR- MAL, <i>por J. Núñez Fuster y F. Castellanos Mateos</i> . . . . .	317

(Sigue tercera de cubierta)

## 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



Depósito legal Z, 15-1960

Imprenta "Heraldo de Aragón". - Calvo Sotelo, 9.- Zaragoza 26-V-77 - Ref. 1332



COLABORADORES EN ESTE NÚMERO

- AGUILAR JIMÉNEZ, J. .... *Prof. Adjunto. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Valencia*
- ALONSO SALVADOR, M.<sup>a</sup> D. .... *Prof. Adjunto. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Valencia*
- ALVAREZ MORUJO, A. .... *Prof. Adjunto. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Salamanca*
- ALVAREZ-MORUJO SUÁREZ, J. .... *Alumno Interno. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Salamanca*
- AMAT, P. .... *Catedrático. Director del Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Salamanca*
- ANDRÉS, I. DE .... *Prof. Adjunto. Departamento de Morfología. Facultad Autónoma de Medicina. Madrid*
- AVENDAÑO, C. .... *Prof. Ayudante. Departamento de Morfología. Facultad Autónoma de Medicina. Madrid*
- BARBOSA AYUCAR, E. .... *Prof. Agregado. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Valladolid*
- BARBOSA AYUCAR, L. .... *Prof. Ayudante de Investigación. Facultad de Medicina. Departamento de Anatomía. Universidad de Valladolid*
- CABANES VILA, J. .... *Alumno Interno. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Valencia*
- CALATAYUD MALDONADO, V. .... *Jefe del Servicio de Neurocirugía. Facultad de Medicina. Zaragoza*
- CALVO-RUBIO .... *Prof. Adjunto Cátedra de Anatomía. Facultad de Medicina. Sevilla*
- CAMPELO BARCIA, E. .... *Prof. Adjunto. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Valladolid*
- CASTELLANOS MATEOS, F. .... *Prof. Adjunto. Cátedra de Anatomía. Facultad de Medicina. Sevilla*
- CUADRADO IDOYAGA, F. .... *Prof. Adjunto Interino. Departamento de Cirugía. Hospital Clínico Universitario. Salamanca*
- DELGADO, F. .... *Alumno Interno. Departamento de Morfología. Facultad Autónoma de Medicina. Madrid*
- ESCOLAR CASTELLÓN, F. .... *Becario F.P.I. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Zaragoza*
- ESCRIBÁ ROCA, I. .... *Prof. Adjunto. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Valencia*
- FEREMUTSCH, K. .... *Anatomisches Institut. Universität. Berna*
- FERRES TORRES, E. .... *Prof. Agregado. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Valencia*
- JIMÉNEZ CASTELLANOS, J. .... *Cátedra de Anatomía. Facultad de Medicina. Sevilla*
- GLEES, J. .... *Institut für Histologie und experimentelle Neuroanatomie der Universität Göttingen*

- GÓMEZ-MONTOYA, J. .... *Prof. Adjunto. Departamento de Morfología. Facultad Autónoma de Medicina. Madrid*
- GONZALO SANZ, L. M.<sup>a</sup> .... *Catedrático. Director del Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Pamplona*
- GUIRAO PÉREZ, M. .... *Catedrático de Anatomía. Facultad de Medicina. Granada*
- IRANZO LOBERA, C. J. .... *Alumno Interno Honorario. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Valencia*
- LAGO, J. F. .... *Prof. Adjunto. Departamento de Morfología. Facultad Autónoma de Medicina. Madrid*
- LANCHO ALONSO, J. L. .... *Prof. Adjunto Interino. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Salamanca*
- LOSADA, J. .... *Prof. Adjunto. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Bilbao*
- LLAMAS, A. .... *Prof. Agregado. Departamento de Anatomía. Facultad Autónoma de Medicina. Madrid*
- LLORET GARCÍA, J. .... *Prof. Adjunto. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Valencia*
- MARTÍNEZ MILLÁN, L. .... *Colaborador Científico del C.S.I.C. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Zaragoza*
- MARTÍNEZ MORENO, E. .... *Prof. Agregado de Anatomía. Departamento de Morfología. Facultad Autónoma de Medicina. Madrid*
- MARTÍNEZ SORIANO, F. .... *Prof. Adjunto. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Valencia*
- MONTESINOS CASTRO-GIRONA, M. .... *Prof. Adjunto. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Valencia*
- MUÑOZ BARRAGÁN, L. .... *Prof. Adjunto Interino. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Salamanca*
- NISTAL, M. .... *Prof. Agregado. Departamento de Morfología. Facultad Autónoma de Medicina. Madrid*
- NÚÑEZ FUSTER, J. .... *Prof. Adjunto. Cátedra de Anatomía. Facultad de Medicina. Sevilla*
- PALOMERO, G. .... *Prof. Agregado. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Bilbao*
- PÉREZ BACELE, J. .... *Alumno Interno Honorario. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Valencia*
- POTEL LESQUEREUX, J. .... *Prof. Agregado. Departamento de Cirugía. Facultad de Medicina. Santiago de Compostela*
- PUENTE DOMÍNGUEZ, J. L. .... *Catedrático del Departamento de Cirugía. Facultad de Medicina. Santiago de Compostela*
- RENOVELL MARTÍNEZ, A. .... *Prof. Adjunto. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Valencia*
- RODRÍGUEZ, S. .... *Prof. Agregado. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Málaga*
- SÁNCHEZ DEL CAMPO, F. .... *Prof. Adjunto. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Valencia*
- SARRAT TORREGUITART, R. .... *Catedrático de Anatomía. Jefe del Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Bilbao*
- SPOERRI, P. E. .... *Institut für Histologie und experimentelle Neuroanatomie der Universität Göttingen*

TECLES TOMÁS, J. A. ....	<i>Interno Honorario. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Valencia</i>
ULLÁN, J. ....	<i>Prof. Adjunto. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Pamplona</i>
VALDECASA HUELIN, J. G. ....	<i>Prof. Adjunto. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Valladolid</i>
VÁZQUEZ, R. ....	<i>Prof. Agregado. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Salamanca</i>
VELAYOS, J. L. ....	<i>Prof. Agregado. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Cádiz</i>
VERA GIL, A. ....	<i>Prof. Agregado. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Zaragoza</i>

**Al Profesor**

**JOSÉ ESCOLAR GARCÍA**

como homenaje de sus discípulos y amigos con motivo del XXV aniversario de la fundación de la revista «Anales de Anatomía».



## OFRECIMIENTO Y TESTIMONIO

Los discípulos y amigos del Prof. ESCOLAR hemos tomado el acuerdo de rendirle homenaje por su labor universitaria, precisamente cuando se cumple el 25 aniversario de la revista "Anales de Anatomía", que él fundó y dirige.

Al tratar de razonar los motivos que justifican esta actitud, ello nos conduce al intento de sintetizar el acopio científico atesorado por el Profesor ESCOLAR, destacando que en él sobresalen en mutua correlación tres cualidades fundamentales: vocación pedagógica in-nata, esplendorosa labor investigadora y tesonera constancia que se agiganta ante las dificultades; características tan equilibradas que puestas a matizarlas competitivamente nos veríamos en un aprieto si pretendiésemos anteponer alguna de estas tan hermanadas facetas en su genial personalidad.

De su labor pedagógica, poco hay que decir porque la pregonan por toda la geografía hispana la pléyade de discípulos que han sido sus alumnos anatómicos en la Facultad de Medicina y hoy, al ejercer la profesión médica, recuerdan con orgullo sus enseñanzas; y sobre todo los que cultivando específicamente las ciencias morfológicas ocupan puestos destacados en la jerarquización universitaria, donde realizan una labor docente impregnada por el sello inconfundible del maestro.

Su contribución investigadora queda refrendada no sólo por su propia e ingente aportación personal, sino avalada también por las innumerables tesis doctorales y trabajos dirigidos que enriquecen su curriculum. Todo ello, sin olvidar el fiel exponente investigador vertido por medio de esta revista en sus cinco lustros de existencia, con el denso contenido científico que ha conseguido granjearse su consolidado prestigio que sobrepasa nuestras fronteras para alcanzar trascendencia internacional.

El fruto de esta destacada tarea universitaria resulta tan ostensible que la serena e imparcial visión del Ministerio de Educación y Ciencia le dio el oportuno espaldarazo y reconocimiento oficial al otorgarle la codiciada distinción de Alfonso X el Sabio, como galardón al mérito docente.

Con estos antecedentes objetivos y reales, los que nos encontramos ligados a él por lazos docentes y amistosos, creo que ya estamos pecando de timidez, o negligencia, si no forzamos la circunstancia oportuna para testimoniarle este mismo reconocimiento, arropado con el calor de nuestro entusiasmo y afecto.

A este fin pretendimos elegir inicialmente la conmemoración de sus Bodas de Plata con la Cátedra, fecha que hábilmente eludió el interesado, por cuyo motivo hemos aprovechado esta nueva y significativa efemérides destacada que conmemora el primer cuarto de siglo de existencia de la revista y, por supuesto, aleccionados por la experiencia, nos hemos lanzado a la idea de editar este número extraordinario eludiendo su consentimiento previo y planteando el homenaje como hecho consumado.

Razones de veteranía me han otorgado el privilegio de redactar estas líneas de introducción, ofrecimiento y testimonio, y precisamente por ese motivo veo más de cerca el impacto de desgaste que la inexorable ley del tiempo puede ejercer sobre nuestras facultades biológicas y, en consecuencia, destaco la oportunidad en la dedicación del confortable estimulante que puede proporcionar un recuerdo sincero de la legión de discípulos y amigos que atestiguamos la recia personalidad del Profesor ESCOLAR ofreciéndole este tributo que, por otra parte, llega, a mi juicio, en el momento oportuno, cuando se está en pleno vigor y cuando todavía queda lejana la jubilación, en cuyas circunstancias los homenajes del pasado son siempre más fáciles de patrocinar y de otorgar.

Hemos procurado actuar con naturalidad, dando un sentido científico, objetivo y habitual a este número extraordinario de "Anales", pero los que vivimos su origen granadino allá por los albores de 1952, no podemos prescindir de una inevitable sobrecarga afectiva y dejar patente con un simple gesto toda nuestra gratitud y cariño a este modelo de auténtico magisterio universitario.

Sevilla, enero de 1977.

Juan JIMÉNEZ-CASTELLANOS



## APORTACIONES AL ESTUDIO EXPERIMENTAL DEL SISTEMA SURFACTANTE PULMONAR<sup>(1)</sup>

POR

J. AGUILAR JIMÉNEZ<sup>(2)</sup>

A D. José Escolar, con admiración

### Introducción

LA teoría de diferencia de presiones con la que clásicamente se ha intentado explicar la mecánica de la ventilación pulmonar no aclara satisfactoriamente el comportamiento pulmonar en este proceso, ya que no tiene en cuenta la existencia en los pulmones del factor *tensión superficial*. A este respecto, afirma GUYTON (1971) que si no existiera a nivel alveolar algo que disminuyera esta tensión superficial, la extensión pulmonar resultaría casi imposible.

Fue VON NEEGAR, en 1929, el primero que intuyó la existencia de este factor. Estudiaba este autor las curvas de presión volumen de pulmones aislados de gatos y observó cómo para llenar de aire dichos pulmones necesitaba aplicar más presión que para llenarlos con suero salino. Dedujo entonces que el fenómeno era debido a las fuerzas de la tensión superficial, ya que al llenar los pulmones con aire se producían interfases aire-líquido, que, como es obvio, no se producen al llenar los pulmones de líquido.

No se habló más de estos fenómenos hasta que PATTLE observó, en 1955, la extraordinaria estabilidad que poseían las burbujas en el edema pulmonar. Para que esto ocurra así es preciso que el líquido que forma estas burbujas contenga algo que disminuya las fuerzas de tensión superficial; así, CLEMENTS y AVERY y MEAD, en

(1) Resumen de la Tesis doctoral leída el día 25 de septiembre de 1976 en la Facultad de Medicina de la Universidad de Valencia ante el Tribunal presidido por el profesor doctor don Manuel Valdés Ruiz y del que fueron vocales los profesores doctores C. Carbonell, J. Colomer, V. Smith-Agreda y Chulta, y que obtuvo la calificación de Sobresaliente "cum laude". Director de Tesis, profesor doctor don V. Smith-Agreda.

(2) Prof. adjunto, Departamento de Anatomía, Facultad de Medicina, Valencia.

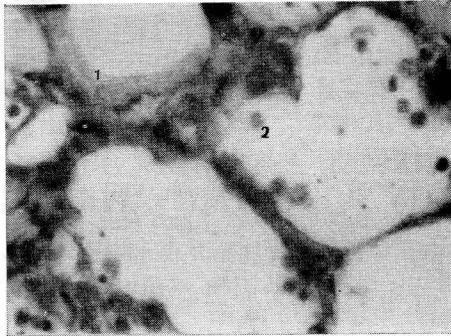


FIG. 1. — Pulmón experimental de un animal doblemente vagotomizado con 12 horas de supervivencia y teñido por hematoxilina-eosina.

Se trata de una visión a 400×, en la que se observa el trasudado fibrinoide organizado en membrana (1), así como infiltración polinuclear (2) intraalveolar.

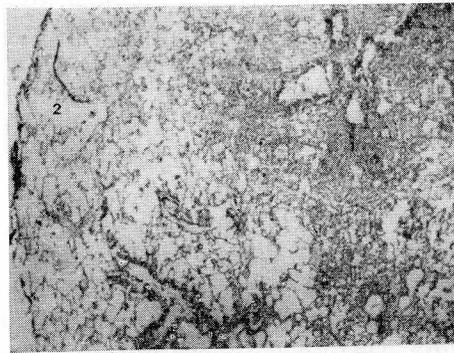


FIG. 2. — Pulmón experimental de un animal doblemente vagotomizado con 14 horas de supervivencia y teñido por hematoxilina-eosina.

Se trata de una panorámica a pequeño aumento (40×) para evidenciar el aspecto general que muestran estos pulmones con zonas atelectásicas (1) situadas centralmente y zonas enfisematosas (2) situadas periféricamente.

1957 y 1959 respectivamente, consiguen extraer del pulmón sustancias que presentan la característica de disminuir la tensión superficial y que son, sin duda, ese algo de que habla PATTLE años antes.

Llegado a este punto son muchos los autores que se lanzan al estudio de estos fenómenos.

Así pues, el surfactante pulmonar va a disminuir las fuerzas de tensión superficial que aparecen en las interfases aire-líquido, facilitando por ello, de forma muy importante, la apertura del árbol respiratorio.

Pero no sólo es importante esta sustancia por la facilidad que supone para la distensión alveolar, ya que si consideramos a los alveolos como burbujas de aire en un medio acuoso y comunicados entre sí por conductos, han de regirse por la ley de Laplace, que dice:  $p = 2T/r$ ; siendo  $p$  = presión,  $T$  = tensión superficial y  $r$  = radio de la burbuja.

Quiere esto decir que si metemos aire en un sistema de dos alveolos de distintos radios, todo el aire se irá al de mayor radio, quedando el pequeño colapsado. Si consideramos un conjunto de

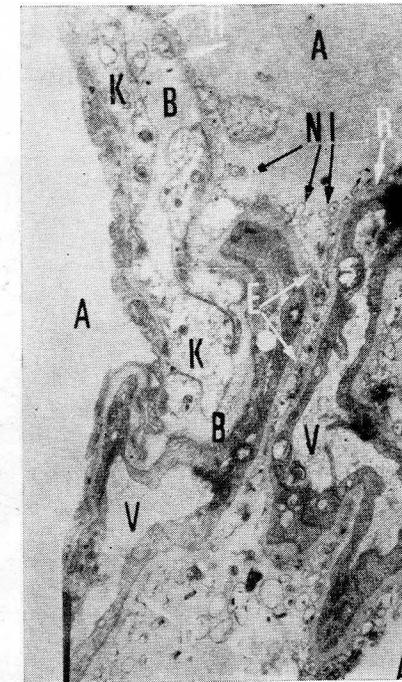


FIG. 3. — Pulmón experimental de un animal doblemente vagotomizado con 2 horas de supervivencia, observado a microscopía electrónica.

Se trata de una microfotografía a 3.800 aumentos (en negativo), en la que podemos ver la luz alveolar (A), luz vascular (V), la basal (B) y el neumocito tipo I roto (NI), dejando por medio de estas roturas o poros directamente en contacto la basal con la luz alveolar (R) y existiendo verdaderas exocitosis de esta basal hacia la luz alveolar (E).

alveolos, los pequeños se colapsarían en beneficio de los grandes, que acabarían enfisematosos.

CLEMENTS, en 1958, fue el primero que puso este problema sobre el tapete, y partiendo de la premisa indiscutible de los diferentes radios alveolares, postuló que las modificaciones de la tensión superficial realizadas por el surfactante debían ser inversamente proporcionales a la superficie de los alveolos. Esto es, que en el alveolo pequeño la disminución de la tensión superficial ha de ser mucho más patente que en los alveolos de mayor superficie.

BROWN en 1959, MEAD en 1959 y posteriormente WILLIAN en 1966, comprobarían cómo el surfactante pulmonar (y también la lecitina sola) poseen estas propiedades que propuso CLEMENTS.

Este hecho es más importante de lo que parece, pues si atendemos a la mecánica respiratoria nos daremos cuenta cómo al insuflarse los alveolos los fenómenos de tensión superficial se ven poco modificados; ahora bien, al expulsarse el aire y disminuir por ello la superficie alveolar, la tensión superficial se verá también muy disminuida, hecho que explica la persistencia de un aire

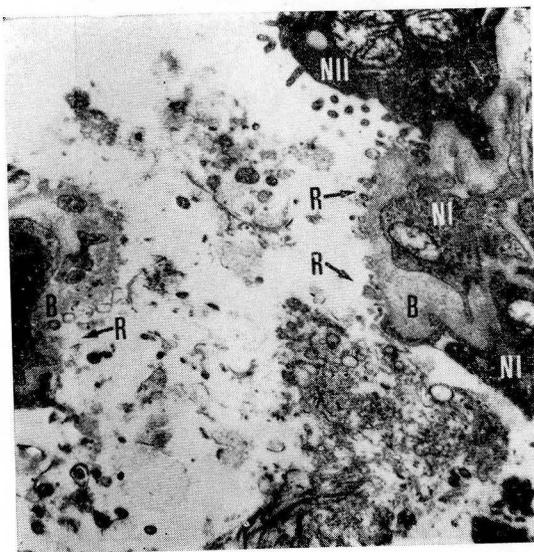


FIG. 4. — Pulmón experimental de un animal doblemente vagotomizado con 8 horas de supervivencia, observado a microscopía electrónica.

Se trata de una microfotografía a 6.000 aumentos (en negativo), en la que se puede observar la luz alveolar ocupada por detritus (X), el neumocito tipo II (NII), así como el neumocito tipo I (NI) destrozado, lleno de roturas (R) que ponen en contacto directo a la basal (B) con la luz alveolar.

residual en los pulmones, pues de no existir esta acción surfactante, las fuerzas de la tensión superficial colapsarían los alveolos en la espiración.

Al sistema surfactante se le han atribuido otras funciones importantes, como es la de oponerse a la formación del edema pulmonar, como demostraría GREENE en 1965 y PATTLE comentara años antes (1956). El aumento de la tensión superficial rompería el equilibrio que existe entre el polo vascular y el aéreo del neumón. Este equilibrio, según CLEMENTS (1961), está regulado por unas fuerzas que tienden a sacar líquido del vaso (presión hidrostática capilar, presión coloidosmótica intersticial y presión negativa intersticial) y otra de sentido contrario a las anteriores, que es la presión oncótica del plasma. El aumento de la tensión superficial supondría una fuerza cuya dirección sería del vaso a la luz alveolar, apareciendo así el edema.

Podemos, pues, considerar la acción surfactante en forma global como una acción de *estabilización pulmonar* por regulación de la tensión superficial, acción que, a su vez, podemos concretar en los siguientes puntos:

- Facilitación de la insuflación pulmonar.
- Acción anticolapso (antiatelectásica) pulmonar.
- Función de mantener el volumen residual pulmonar.
- Función antiatelectásica parcial y antienfisematosa parcial, al evitar el vaciamiento de los alveolos pequeños en beneficio de los grandes.
- Efecto antiedema.

Después de los trabajos de PATTLE, son muchos los autores que se lanzan al estudio de la composición química de la sustancia surfactante, pero ello resultó muy complejo, existiendo serias divergencias entre los autores en cuanto a resultados. Resultó tan compleja su composición que SCARPELLI propuso llamarle sistema surfactante en 1968.

La lista de autores sería interminable, pero escogiendo algunos de los más representativos los organizamos de la siguiente forma:

- KLAUS, en 1961, opina que son *fosfolípidos*, opinión que compartirá BROWN en 1964, el cual especificará que se trata concretamente de *lecitina*.
- PATTLE (1962), ABRAMS (1966), KLEIN y MARGOLIS (1968), GALSTON (1969), etc., opinan que se trata de una *lipoproteína*.
- SCARPELLI (1971), KIN y CLEMENTS (1970), COLACCIO y SCARPELLI (1974), etc., opinan que se trata de un complejo sistema en donde están presentes *lípidos*, *proteínas* y que hay rastros de *sacáridos*.

No obstante, hoy en día se está prácticamente de acuerdo en la presencia de *lípidos, carbohidratos y proteínas* en el surfactante pulmonar, y en lo que no hay ninguna duda entre todos los autores es en la acción fundamental de los *fosfolípidos* como parte integrante del sistema surfactante, y dentro de los fosfolípidos, concretamente el *dipalmitol lecitin*.

### Planteamiento del problema

Comprender el comportamiento pulmonar en la mecánica ventilatoria no es posible sin considerar la presencia de la acción surfactante.

El árbol respiratorio comienza a formarse en la tercera semana del desarrollo embrionario a partir de tubo digestivo cefálico. Así mismo sabemos que este tubo digestivo va a ser innervado por el sistema nervioso vegetativo parasimpático; y como hipótesis de trabajo, pensamos que debe existir una auténtica relación entre la innervación del tubo digestivo proximal y el aparato respiratorio, como nos lo corrobora la presencia del reflejo de Hering-Breuer. Esta relación entre el parasimpático cefálico y el funcionalismo pulmonar debe reflejarse también en la fisiología del sistema surfactante.

Esta idea, que ha sido compartida anteriormente por otros autores, como BUCKINGHAM (1960), CLEMENTS (1961), ROQUES (1971), y más recientemente por GIMENO en 1975, es la que nos ha hecho seguir esta línea de trabajo y estudiar la importancia que puede tener la integridad del nervio vago en el substrato pulmonar.

### Material y métodos

1. *Animal empleado*: Hemos utilizado la rata albina, tanto hembras como machos, cuyos pesos han oscilado entre 120 y 200 gramos. Para el estudio radiográfico exclusivamente hemos utilizado también una serie de cuatro conejos.

#### Casística:

Se han utilizado un total de 279 animales (111 machos y 168 hembras) distribuidos en las siguientes series:

- |   |  |
|---|--|
| <p><i>Para microscopio a luz</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>— Una serie de 10 animales test.</li> <li>— Una serie de 10 animales exper. con 3 horas de supervivencia.</li> <li>— Una serie de 10 animales exper. con 4 horas de supervivencia.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>— Una serie de 10 animales exper. con 6 horas de supervivencia.</li> <li>— Una serie de 10 animales exper. con 9 horas de supervivencia.</li> <li>— Una serie de 10 animales exper. con 12 horas de supervivencia.</li> </ul> |
|---|--|

- Una serie de 9 animales exper. con más de 12 horas de supervivencia; cuatro de ellos tuvieron una supervivencia superior a las 14 horas.

#### Para el estudio físico

- Dos series de 20 animales. Testigos.
- Una serie de 20 animales exper. con 3 horas de supervivencia.
- Una serie de 20 animales exper. con 6 horas de supervivencia.
- Una serie de 20 animales exper. con 9 horas de supervivencia.

#### Para microscopio electrónico

- Una serie de 5 animales testigos.

En el estudio electrocardiográfico hemos empleado una serie de cinco animales.

En el estudio radiológico hemos empleado una serie de nueve ratas y una serie de cuatro conejos.

#### 2. *Especímenes extraídos* para nuestro estudio:

- Parénquima pulmonar.
- Lavado pulmonar: obtenido por introducción y posterior extracción de suero salino en el árbol respiratorio.

3. *El acto experimental* ha consistido en practicar una vagotomía bilateral a nivel cervical.

4. *El tratamiento de las piezas* para el estudio morfológico del pulmón ha sido el habitual en nuestro Departamento, tanto para el estudio a microscopio a luz como para el estudio ultraestructural.

Las técnicas tintoriales utilizadas han sido las siguientes:

- Hematoxilina-eosina.
- Gallego (A-IV. Fa.Fa.Pic.).  
Modificación Dr. Dualde, 1971.
- Tricrómico de Masson-Goldner.
- Polícromo en dos tiempos.
- P.A.S. Laca de galocianina.

5. El estudio *físico* realizado sobre los lavados pulmonares obtenidos de animales testigos y experimentales ha consistido en la determinación de la tensión superficial de los mismos con una balanza de torsión.

6. Para la determinación cuantitativa de proteínas presentes en los lavados pulmonares de animales testigos y experimentales hemos empleado la técnica de Lowry, que resulta ser unas 100 veces más sensible que la reacción de Biuret, permitiéndonos detectar las pequeñas cantidades de proteínas que como es obvio suponer van a contener los lavados pulmonares.

7. Para el estudio cromatográfico de los lípidos neutros y fosfolípidos, lo primero a realizar es la extracción de los mismos de los lavados pulmonares, utilizando para ello el método de Bligh. En esencia, lo que hacemos es añadir a 5 cc de lavado pulmonar 5 ml de metanol y 20 ml de cloroformo, todo ello en un embudo de decantación. Agitamos cinco minutos y dejamos reposar hasta la separación en fases. Separamos entonces la fase clorofórmica que es la que contiene a los lípidos. Se deseca a roto-vapor a 37 grados y el extracto seco lo disolvemos en 0'5 ml de cloroformo-metanol (2:1), extracto con el que haremos las aplicaciones en la plaza cromatográfica, aplicaciones que serán siempre de 100 lambdas.

Realizado el desarrollo cromatográfico hacemos la lectura por fotodensitometría, que es el método más exacto; utilizamos el fotodensitómetro Vitatrón.

8. Para el estudio electrocardiográfico hemos utilizado un aparato Mingograf 24 Elema de dos canales e inscripción a chorro.

Y para el estudio radiográfico hemos utilizado un aparato Siemens 20-80, siendo las características de las radiografías practicadas de 22,5 mA/sg y 70-75 Kw para los conejos, y de 15 mA/sg y 50-60 Kw para las ratas.

9. Los datos obtenidos en nuestros estudios los hemos tratado estadísticamente realizando:

- Estudio descriptivo, consistente en la obtención de la media ( $\bar{x}$ ), la varianza ( $S^2$ ), desviación típica (S) y error de la media (S.E.M.).
- Diagrama de barras en el que situamos el intervalo de variabilidad ( $\bar{x} \pm S.E.M.$ ).
- Test F (análisis de la varianza).
- Test Student, analizando las diferencias entre los grupos tomados dos a dos.

### Resultados obtenidos

#### 1. Resultados morfológicos

En el estudio morfológico pulmonar nos hemos encontrado con una evidente alteración de la organización estructural de su substrato, caracterizándose a microscopía a luz por la presencia de un edema septal precoz, presencia de trasudado intraalveolar, organización de membranas hialinas (máxima expresión a partir de las seis horas de experiencia), atelectasias que se hacen muy evidentes conforme pasan las horas de experiencia y que hace que llegue a ser muy difícil reconocer la estructura pulmonar en estas zonas, y enfisemas que se van haciendo cada vez más amplios y que, a diferencia de las zonas atelectásicas, se sitúan periféricamente subpleuralmente).

A nivel ultraestructural esta desorganización se caracteriza por la alteración del neumocito tipo II, con retracción, densificación y disminución de sus cuerpos pseudomiélicos, así como la destrucción de los neumocitos tipo I, que dejan en contacto la basal con la luz alveolar directamente. Es característico también la presencia de trasudado y restos celulares intraalveolarmente.

#### 2. Resultados obtenidos en el estudio físico de los lavados pulmonares

Realizada la determinación de la tensión superficial en los lavados pulmonares se han obtenido las cifras que a continuación señalamos en orden creciente en los cuadros 1 y 2.

CUADRO 1

#### Tensiones superficiales en animales testigos

Primera serie			Segunda serie		
a	b	c	a	b	c
1	71	49'5	1	72'5	50
2	72	50	2	71	50
3	72	51	3	72'5	51
4	73	51'5	4	73	51
5	72'5	51'5	5	72	52
6	72	52	6	73	52
7	72'5	52'5	7	73	52
8	73	52'5	8	73	52
9	73'5	53	9	72	53
10	73	53	10	74	53'5
11	74	53	11	74	54
12	71	54	12	74	54
13	71'5	54	13	73	55
14	74	55	14	71	55'5
15	73	55	15	72	56
16	73	56	16	73	56
17	72'5	56	17	72'5	56
18	72'5	58	18	73	57
19	73	60	19	73	59
20	74	60	20	73	60'5

a) Corresponde al número del animal.

b) Corresponde a la cifra en Dinas/cm obtenida en el suero fisiológico puro inmediatamente antes de medir la tensión superficial del lavado pulmonar.

c) Cifra en Dinas/cm correspondiente a los lavados pulmonares.

Computando estas cifras resulta que la F del test F (análisis de la varianza) es de 26.86582066, cifra que, consultadas en las tablas, nos habla de una alta significación, esto es, las diferencias obtenidas entre testigos y experimentales es significativo y motivada, por tanto, por el acto experimental.

El test de Student confirma este resultado, demostrando diferencias significativas entre todos los grupos tomados dos a dos, excepto en el de los animales experimentales de 6 horas con respecto a los de 9 horas de supervivencia.

CUADRO 2

*Tensiones superficiales en animales experimentales  
Tres horas de supervivencia*

<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>
1	74	52'5	11	71	56
2	73	53	12	73	56
3	72	53	13	72	57
4	73	54	14	73'5	57'5
5	72'5	54'5	15	71	58
6	72'5	55	16	72'5	58'5
7	72'5	55'5	17	72	59
8	73	55'5	18	73	59'5
9	72'5	55'5	19	72	61'5
10	73	56	20	73	61'5

*Seis horas de supervivencia*

<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>
1	72	53'5	11	74	60
2	73	55	12	74	60
3	72	56'5	13	72	60
4	72'5	56'5	14	73	60'5
5	73	57	15	73	61
6	73	57'5	16	73	61
7	73	58'5	17	72	62
8	74	59	18	72	63
9	73'5	59'5	19	73'5	63'5
10	72	59'5	20	73	64

*Nueve horas de supervivencia*

<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>
1	74	55	11	72'5	60
2	71'5	55'5	12	73	60
3	73	56	13	72	61
4	73	56'5	14	72'5	62'5
5	73	57	15	73	62'5
6	72'5	58	16	72	63
7	73	58	17	72	63
8	73	58'5	18	73	63'5
9	74	59	19	72'5	64
10	72'5	59'5	20	71	64'5

### 3. Resultados obtenidos en el estudio de las proteínas presentes en los lavados pulmonares

Realizada la determinación de las proteínas presentes en los lavados pulmonares, precisamos a continuación los resultados obtenidos (las cifras están colocadas en orden creciente) en los cuadros 3 y 4.

CUADRO 3

*Cantidad de proteínas presentes en los lavados pulmonares de animales testigos*

<i>Animal núm.</i>	<i>Primera serie</i>	<i>Segunda serie</i>
1	17	18
2	17	18
3	18	19
4	18	19
5	18	19
6	18	19
7	19	19
8	19	20
9	23	20
10	24	21
11	25	22
12	26	24
13	27	25
14	28	26
15	28	27
16	28	28

CUADRO 4

*Cantidad de proteínas presentes en los lavados pulmonares de animales experimentales*

<i>Animal núm.</i>	<i>Tres horas de supervivencia</i>	<i>Seis horas de supervivencia</i>	<i>Nueve horas de supervivencia</i>
1	10'5	50	41
2	15	61	44
3	22'5	61	44
4	27	61	45
5	30	64	47
6	31	66	52
7	31'5	70	55
8	32	87	63'5
9	37	159	72
10	66	162	74



La F del test F (análisis de la varianza) es de 32.82504329, cifra que nos habla de una alta significación.

El test de Student confirma estos resultados, existiendo diferencias significativas entre todos los grupos tomados de dos en dos.

#### 4. Resultados obtenidos en el estudio cromatográfico de los lípidos (neutros y fosfolípidos) presentes en los lavados pulmonares

Estos resultados obtenidos son los expresados en los cuadros 5, 6, 7 y 8, correspondiendo el 5 y el 6 a cifras obtenidas en los animales testigos y el 7 y 8 a cifras obtenidas en animales experimentales.

Como puede observarse, hay evidentes diferencias del patrón lipídico de los animales testigos con respecto a los experimentales.

CUADRO 5

## Resultados obtenidos en animales testigos

## LÍPIDOS NEUTROS

Animal núm.	Primera serie				Segunda serie			
	FL	CL	TG	CE	FL	CL	TG	CE'
1	31	31	0	38	32	33	0	35
2	32	33	0	35	32	32	0	36
3	33	33	0	34	32	34	0	34
4	33	34	0	33	33	33	0	34
5	34	32	0	34	33	31	0	36
7	34	33	0	33	34	30	0	36
8	34	31	0	35	34	32	0	33
9	35	32	0	33	35	32	0	33
10	35	32	0	33	35	30	0	35
11	35	33	0	32	35	32	0	33
12	36	30	0	34	36	26	0	38
13	38	39	0	33	38	25	0	37
14	39	31	0	30	39	28	0	33
15	39	30	0	31	40	28	0	32
16	39	30	0	31	40	26	0	34

FL = Fosfolípidos

CL = Colesterol libre

TG = Triglicéridos

CE = Colesterol esterificado

CUADRO 6

## Resultados obtenidos en animales testigos

## FOSFOLÍPIDOS

Animal núm.	Primera serie				Segunda serie			
	CEF	LEC	ESF	LIS	CEF	LEC	ESF	LIS
1	6	91	3	0	8	92	0	0
2	9	88	3	0	10	88	2	0
3	7	90	3	0	14	80	6	0
4	7	93	0	0	6	94	0	0
5	9	89	2	0	9	88	3	0
6	11	88	1	0	3	95	2	0
7	4	87	9	0	0	98	2	0
8	8	89	3	0	3	87	10	0
9	4	96	0	0	4	95	1	0
10	2	96	2	0	7	93	0	0
11	0	99	1	0	7	91	2	0
12	17	80	3	0	0	97	3	0
13	6	92	2	0	6	94	0	0
14	5	92	3	0	8	87	5	0
15	8	88	4	0	4	93	3	0
16	10	87	3	0	9	88	3	0

CEF = Cefalina

LEC = Lecitina

ESF = Esfingomiolina

LIS = Lisolectina

CUADRO 7

## Resultados obtenidos en animales experimentales

## LÍPIDOS NEUTROS

Tres horas de experiencia					Seis horas de experiencia				
Animal núm.	FL	CL	TG	CE	Animal núm.	FL	CL	TG	CE
1	42	25	18	15	1	15	24	0	61
2	48	18	20	14	2	18	20	0	62
3	50	13	21	16	3	18	22	0	60
4	52	10	20	18	4	19	16	0	65
5	52	7	25	16	5	20	23	0	57
6	54	15	19	12	6	20	21	0	59
7	55	12	22	11	7	22	23	0	55
8	55	15	22	8	8	22	30	10	38
9	56	3	30	11	9	25	47	18	40
10	58	17	20	5	10	33	16	19	42

## Nueve horas de experiencia

Animal núm.	FL	CL	TG	CE
1	10	32	0	58
2	10	33	0	57
3	12	28	0	60
4	13	30	0	57
5	15	26	0	57
6	16	30	0	54
7	20	25	14	41
8	21	20	13	36
9	27	27	10	36
10	30	18	10	42

CUADRO 8

## FOSFOLÍPIDOS

Tres horas de experiencia					Seis horas de experiencia				
Animal núm.	CEF	LEC	ESF	LIS	Animal núm.	CEF	LEC	ESF	LIS
1	8	84	8	0	1	54	28	13	5
2	10	86	4	0	2	54	30	10	6
3	9	87	4	0	3	58	27	12	3
4	13	85	2	0	4	56	27	13	4
5	5	95	0	0	5	52	30	12	6
6	9	85	6	0	6	50	30	15	5
7	9	91	0	0	7	49	31	14	6
8	20	80	0	0	8	43	45	6	6
9	15	85	0	0	9	11	85	4	0
10	8	92	0	0	10	12	80	8	0

## Nueve horas de experiencia

Animal núm.	CEF	LEC	ESF	LIS
1	52	37	11	0
2	53	32	15	0
3	56	38	6	0
4	54	36	10	0
5	56	29	12	3
6	55	32	13	0
7	41	39	16	4
8	14	75	4	7
9	54	32	14	0
10	16	75	4	5

Esta alteración se caracteriza fundamentalmente por un descenso en la proporción de fosfolípidos y dentro de ellos de la lecitina concretamente, en los animales experimentales.

Estas diferencias son muy significativas estadísticamente para todos y cada uno de los componentes estudiados:

*Cefalina:*

—  $F = 61.8221215$

— Test Student significativo para todos los grupos tomados dos a dos, excepto para los experimentales de 6 horas con respecto a los experimentales de 9 horas de supervivencia.

*Lecitina:*

—  $F = 75.33739095$

— Test Student significativo para todos los grupos tomados dos a dos, excepto para los experimentales de 6 horas con respecto a los experimentales de 9 horas de supervivencia.

*Esfingomielina:*

—  $F = 12.20902550$

— Test Student, ídem anteriores.

*Lisolecitina:*

—  $F = 24.82676645$

— Test Student significativo para todos los grupos tomados dos a dos.

*Fosfolípidos en forma global:*

—  $F = 127.7205765$

— Test Student ídem a cefalina, lecitina y esfingomielina.

*Colesterol libre:*

—  $F = 32.02116450$

— Test Student ídem anterior.

*Triglicéridos:*

—  $F = 68.17233445$

— Test Student ídem anterior.

*Colesterol esterificado:*

—  $F = 102.6358453$

— Test Student ídem anterior.

### 5. Resultados obtenidos en los estudios electrocardiográficos y radiográficos

Hemos encontrado modificaciones con respecto a los controles realizados a los mismos animales antes del acto experimental.

Las modificaciones electrocardiográficas se caracterizan por trastornos en la repolarización ventricular (aplanamiento de la onda T), que se harán más evidentes al transcurrir el tiempo, llegando a tomar aspecto de franca lesión subepicárdica, con arritmias respiratorias acentuadas y aparición de latidos de escape nodal. Aparecen también distintos tipos de bloqueos de la conducción aurículo-ventricular a distintos niveles, como bloqueos de rama derecha, bloqueos de primer grado aurículo-ventriculares y bloqueos de segundo grado. Por último, destacar que hemos encontrado en todos los animales un aumento de la amplitud de la onda P, que aparece picuda tras el proceso experimental (siempre pasada una hora de experiencia). Esta P es sugerente de una sobrecarga auricular derecha, ya que además de acuminizarse desplaza el eje eléctrico frontal de la onda P hacia la derecha.

Las modificaciones radiográficas se caracterizan por un aumento global de la silueta cardiaca, ensanchamiento del pedículo vascular, etc.

Todos estos datos no tienen más valor que confirmarnos en nuestra idea de que en el proceso patogénico mediante el cual la vagotomía bilateral lleva a las alteraciones morfológicas físicas y bioquímicas del substrato pulmonar, *puede* existir un importante factor vascular pulmonar dependiente directamente de la vagotomía bilateral.

### Discusión

En nuestra experiencia, como hemos expuesto, la vagotomía bilateral a nivel cervical va a conllevar una serie de alteraciones en el pulmón bajo los puntos de vista estructural, funcional y bioquímico, que llevan al animal indefectiblemente a la muerte en un plazo máximo de 15 horas.

La *abolición* del reflejo de Hering-Breuer y consecuente respiración patológica van a explicar en parte las alteraciones morfológicas en este substrato. *Ahora bien*, si nuestra hipótesis de trabajo está en lo cierto, es decir, existe relación entre la secreción del surfactante y la inervación vagal, estas lesiones se pueden también explicar por disminución de la actividad característica del surfactante pulmonar.

Efectivamente, al disminuir la actividad surfactante, los alveolos se regirían por la ley de Laplace y los pequeños se colapsarían en beneficio de los de mayor radio, apareciendo así en forma progresiva zonas atelectásicas al lado de zonas enfisematosas.

A su vez, el *equilibrio alveolar* que normalmente existe entre polo vascular y aéreo del neumón se va a alterar, ya que al dis-

minuir la acción surfactante habrá un incremento de las fuerzas de tensión superficial en la intimidad alveolar, las cuales actuarían favoreciendo el paso de líquido en dirección vaso-luz alveolar, produciéndose así *edema*, como comentara PATTLE en 1956 y demostrara GREENE en 1965.

Este *edema* dificulta a su vez, en círculo vicioso, la acción surfactante, produciéndose más edema y acabando por llenarse la luz alveolar de *trasudado*.

Por otra parte, la abolición del reflejo de Hering-Breuer determina grandes presiones negativas intratorácicas inspiratorias. Esta extensión pulmonar estará también dificultada por el aumento de la tensión superficial. El resultado es que se van a producir *grandes presiones negativas intratorácicas*, que son necesarias para la extensión pulmonar, pero que van a ser, en opinión de GLUCK (1972), un factor muy importante en la patogenia de la aparición de exudado intraalveolar.

Muchos autores (WADE-EVANS, 1962; HEINEMAN, 1968; ISLAN, 1961; etc.), confirman que el edema es precursor de las membranas hialinas por organización de la sustancia fibrinoide contenida en el trasudado, apareciendo así clara la patogenia de las membranas de aspecto hialino que aparecen en nuestra experiencia, membranas experimentales que han sido observadas por otros autores, como GAJ-PERCALSKA, en 1964, y más recientemente por GIMENO en 1975, en el cobaya.

Las alteraciones en la respiración, así como las lesiones que aparecen en el substrato pulmonar y que comprometen el recambio alveolar, van a condicionar en el animal una cianosis (muy evidente experimentalmente) por falta de oxígeno y aumento de carbónico sanguíneo con acidosis. Esta hipoxia va también a afectar al parénquima respiratorio en forma muy importante, como aseguran CLEMENTS y FINLEY en 1963, SEKABUKA en 1969, etc., ya que según HEINEMAN (1968) y GLUCK (1972) *van a alterar la permeabilidad del endotelio vascular*, favoreciendo la aparición de trasudado intraalveolar y establecerse el círculo vicioso comentado.

El *trasudado intraalveolar* va a tener un efecto inhibitor sobre el surfactante pulmonar, según HEINEMAN. ABRAMS, en 1966, comenta a este respecto la interacción específica entre fibrinógeno y la lipoproteína pulmonar. LEVINSKY, en 1971, volverá sobre el tema diciendo que el plasma intraalveolar es factor de agotamiento del sistema surfactante.

Según estos autores, esta interacción es importante en la patogenia de las membranas hialinas.

La precocidad de aparición de lesiones en el substrato pulmonar, así como la formación de membranas hialinas en nuestra ex-

perencia, nos orienta a pensar que hay una alteración del metabolismo del surfactante pulmonar directamente dependiente de la vagotomía en un principio, por lo menos, aunque existan otros factores concomitantes y secundarios que, como hemos comentado, llegan a establecer un círculo vicioso.

BUCKINGHAM y SOMMER, en 1960, describen la presencia de cambios degenerativos en el núcleo dorsal del vago en aquellos niños fallecidos a consecuencia de un síndrome de distress respiratorio con formación de membranas hialinas, hecho que no viene más que a corroborar nuestra experiencia.

---

A microscopía electrónica hemos observado alveolos atelectásicos, presencia de gran cantidad de trasudado, etc., y además las lesiones citológicas que nos ayuda a comprender más íntimamente los procesos que allí tienen lugar tras la vagotomía.

Los neumocitos tipo II presentan fundamentalmente una desorganización con condensación y retracción de los cuerpos pseudo-mielínicos, pero son los neumocitos tipo I los más alterados, apareciendo edematizados y rotos, dejando en muchos lugares directamente en contacto la basal con la luz alveolar.

ADAMSON, en 1970, tras sus experiencias en ratas (sometiéndolas a atmósferas de oxígeno al 90 %), relaciona supervivencia o muerte de las mismas con la *integridad estructural del neumocito tipo I concretamente*, afirmando categóricamente que la destrucción de esta barrera conlleva irreversiblemente a la formación de membranas de aspecto hialino y a la muerte del animal.

Es, pues, la alteración estructural del neumocito tipo I la lesión principal morfológico-ultraestructural que nos explica lo que a nivel pulmonar acontece tras la doble vagotomía.

---

En cuanto a los lavados bronquiales, hemos de decir que las características especiales de la tensión superficial en los mismos es algo en lo que hoy no existe duda alguna. Fue este hecho precisamente el que delató la presencia del surfactante pulmonar, siendo este control físico del surfactante pulmonar el más utilizado sin duda por los estudiosos de este tema.

El estudio estadístico realizado sobre los resultados obtenidos arrojó diferencia significativa entre los animales testigos y los experimentales, mientras que no existe diferencia entre los testigos. Este aumento de la tensión superficial es, pues, la que nos explica, como hemos visto, las alteraciones morfológicas del substrato pulmonar.

Según la mayoría de autores (SEKABUKA, 1969; CLEMEN27 y FINLEY, 1963; CHERNICK, 1966; etc.) este aumento de la tensión superficial debe corresponderse con una alteración del surfactante pulmonar, y es algo que hemos querido ver nosotros, y por ello hemos realizado el estudio de la composición de estos lavados pulmonares.

En la composición del surfactante pulmonar no hay total acuerdo entre los autores. Como afirma GALSTON, en 1969, el estudio en este terreno se hace muy difícil por la crudeza de los extractos, variaciones en la preparación de los mismos, falta de conocimiento exacto de la composición química del surfactante, etc. Estos hechos pueden explicarnos las divergencias entre los autores. Ahora bien, hay datos seguros y admitidos por todos, como es la naturaleza fundamentalmente lipídica del surfactante y en especial por fosfolípidos.

Ante estos hechos, y dado lo limitado de nuestras posibilidades al lado de estos autores que no acaban de ponerse de acuerdo, hemos de aclarar que nosotros no hemos pretendido realizar un estudio bioquímico sobre la composición del surfactante pulmonar, sino que simplemente hemos tratado de averiguar la cantidad de proteínas presentes en nuestros lavados pulmonares, así como los porcentajes de lípidos (neutros y fosfolípidos), a fin de ver si existe diferencia entre los lavados correspondientes a animales testigos y los correspondientes a los experimentales, que nos justifiquen los cambios que aparecen en la tensión superficial de los mismos.

“Pensamos que con nuestros lavados arrastramos al surfactante pulmonar de la intimidad alveolar, no sabemos en qué cuantía, pero lo que sí sabemos seguro es que lo que extraemos con dichos lavados es lo responsable de los cambios demostrados en la tensión superficial de los mismos”.

Antes de estudiar comparativamente los testigos con respecto a los experimentales hemos realizado un estudio estadístico entre dos series testigos y no hemos encontrado diferencia significativa estadística, por lo que también sabemos que lo que extraemos en nuestros lavados es siempre dentro de un patrón.

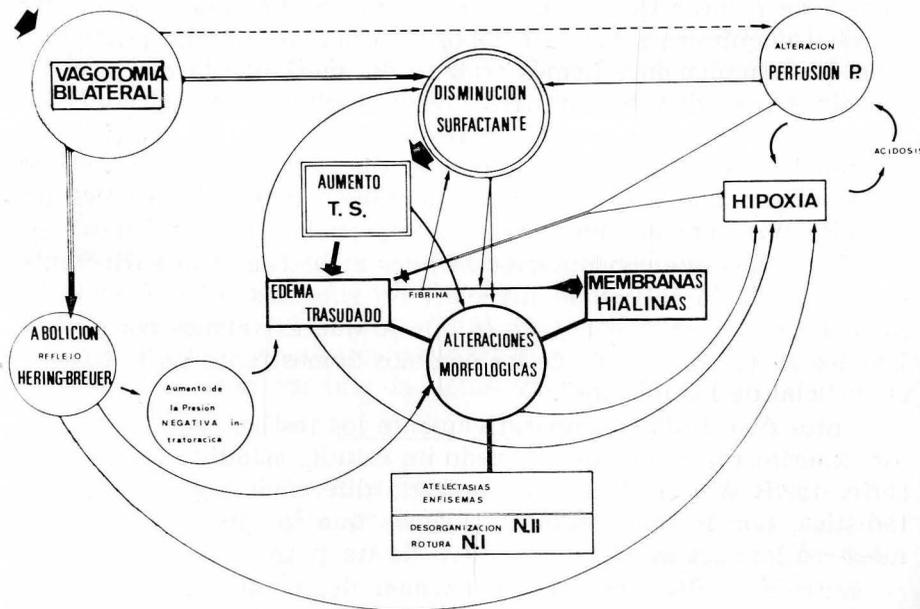
Entre animales testigos y experimentales hemos encontrado diferencias significativas en la cantidad de proteínas presentes en los lavados pulmonares. En cuanto a las fracciones lipídicas, también hemos encontrado diferencias significativas, destacando la disminución porcentual de fosfolípidos, y dentro de ellos, de la fracción lecitina.

Podemos asegurar, por tanto, que hemos objetivizado cómo los cambios que aparecen en la tensión superficial de nuestros lavados experimentales se corresponden con un aumento de la cantidad de

proteínas en la intimidad alveolar, así como una desorganización del patrón lipídico de los mismos, todo ello secundario a la vagotomía bilateral.

Los hallazgos en el estudio electrocardiográfico y radiológico, con la aparición de la P picuda pulmonar, así como el aumento de las siluetas cardíacas en las radiografías, nos afirman en el hecho de que algo importante, dependiente de la vagotomía bilateral, acontece en la circulación pulmonar, dejándonos así abierta una ventana objeto de futuras investigaciones en este terreno. Esta alteración hemodinámica se sumaría a los trastornos de la tensión superficial, así como a los de la mecánica respiratoria y en la patología de la desorganización del substrato pulmonar.

A continuación, en un intento de reunir todos los factores que inciden, según creemos y confirman otros autores, en la génesis de las alteraciones observadas por nosotros en el substrato pulmonar, exponemos el siguiente cuadro:



### Conclusiones

1. Hemos realizado un estudio experimental en rata albina adulta joven, consistente en vagotomía bilateral a nivel cervical, a fin de estudiar alteraciones morfológicas pulmonares, así como alteraciones físicas (tensión superficial) y bioquímicas en los lavados

pulmonares de animales testigos y experimentales. Tras la vagotomía bilateral, los animales fallecen indefectiblemente en un plazo máximo de 15 horas.

2. En el estudio a microscopía a luz del substrato pulmonar hemos podido observar cómo la morfología pulmonar se altera muy evidentemente tras la vagotomía bilateral. Las características fundamentales de estas alteraciones son la aparición de zonas atelectásicas al lado de otras enfisematosas (periféricamente), así como la presencia de trasudado intraalveolar y la formación de membranas de aspecto fibrinoide.

3. El estudio a microscopía electrónica de transmisión nos muestra, a nivel pulmonar, evidentes alteraciones morfológicas, caracterizadas fundamentalmente por una edematización del neumocito tipo I, llegando a romperse su protoplasma y dejando directamente en contacto la basal con la luz alveolar, lo que explicaría en parte la presencia de trasudado intraalveolar con restos de organelas. Así mismo aparece una desorganización estructural del neumocito tipo II, destacando el hecho de la retracción y conglutinación (dejando luces en lugares por ellos ocupados antes) de los cuerpos pseudomiélicnicos característicos de este tipo celular.

4. El estudio físico mediante balanza de torsión de la tensión superficial en los lavados pulmonares de animales testigos y experimentales ha arrojado una diferencia significativa estadísticamente, en el sentido de existir un incremento de la tensión superficial en los lavados pulmonares correspondientes a los animales vagotomizados. Esto nos indica que hay una disminución de la actividad superficial característica del pulmón tras la vagotomía bilateral a nivel cervical.

5. Justificamos estas variaciones en las tensiones superficiales entre los lavados pulmonares de los grupos testigos y los experimentales por el hecho de haber modificaciones, tras el hecho experimental, de los componentes que están normalmente presentes en la intimidad alveolar, y que nosotros, al realizar el lavado pulmonar, hemos detectado.

Efectivamente, hemos observado cómo las proteínas presentes en los lavados pulmonares sufren un incremento estadísticamente significativo en comparación con las cifras correspondientes a los testigos; así mismo, los lípidos (neutros y fracciones fosfolípídicas) alteran su patrón en forma muy evidente y significativa en el estudio estadístico.

6. En el somero estudio radiográfico y electrocardiográfico realizado, encontramos razones para pensar que en el mecanismo patogénico (mediante el que la vagotomía bilateral altera la esta-

bilidad alveolar con todas sus consecuencias), es preciso tener en cuenta un posible factor circulatorio a nivel de la circulación pulmonar, directamente dependiente del proceso experimental.

### Resumen

Hemos realizado vagotomías bilaterales en rata albina y estudiado su repercusión en el substrato pulmonar. Dicho substrato aparece tremendamente desorganizado, tanto a microscopía a luz como a microscopía electrónica, caracterizándose esta desorganización por la presencia de atelectasias, enfisema, exudado intraalveolar organizado en membranas de aspecto fibrinoide, etc. A nivel ultraestructural, llama poderosamente la atención la rotura del neumocito tipo I, que deja en muchos sitios en contacto directamente a la basal con la luz alveolar, así como la retracción y alteración de los cuerpos pseudomiélinicos característicos de los neumocitos tipo II.

En los lavados pulmonares de los animales experimentales con respecto a los testigos nos encontramos con un incremento significativo de la tensión superficial de los mismos, así como un aumento de la cantidad de proteínas. Estudiado por cromatografía en capa fina el patrón lipídico de dichos lavados pulmonares, éste aparece alterado en forma significativa estadísticamente, justificándose así el incremento de la tensión superficial.

### Summary

We have performed bilateral vagotomies on albino rats, studying their repercussion on the pulmonary substrate. Said substrate appears tremendously dispersed, either through light microscopy or electronic microscopy, this dispersion being characterized by the presence of atelectasis, emphysema, intra-alveolar exudate arranged as membranes of a fibrinoid appearance, etc. At the ultrastructural level, it is surprising the breaking of type I pneumocyte, that in many locations places the basal directly in contact with the alveolar light, as well as the retraction and modification of pseudo-myelinic bodies that are characteristic of type II Neumocytes.

In the pulmonary lavages of experimental animals with regards to the controls, we find a significative increase in their surface tension, as well as an increase in the amount of proteins. On studying through fine-layer chromatography the lipid pattern of said pulmonary lavages, this appears altered in an statistically significant manner, thus justifying the increase in surface tension.

### Zusammenfassung

Wir haben den beiderseitigen Schnitt des Vagus in einer weissen Ratte durchgeführt und dessen Ruchwirkung auf das Lungensubstrat untersucht. Besagtes Substrat erscheint sehr stark desorganisiert, besehen unter dem optischen wie unter dem elektronischen Mikroskop. Diese Desorganisation ist charakterisiert durch Atelektasis, Enphyseme und intraalveolare Ausschwitzungen, organisiert in Membranen mit fibrösem Aussehen, etc.

Auf ultrastrukturellem Gebiet zieht die Zerstörung des Pneumozyten I die Aufmerksamkeit an. Durch diese Zerstörung gerät an vielen Stellen die Basale in direkten Kontakt mit dem alveolem Licht, ebenso erleiden Retraktion und Alteration die pseudomiélinen Körper, die charakteristisch sind für die Pneumozyten vom Typ II.

Bei Lungenwaschungen, der dem Experiment unterzogenen Tiere mit Bezug auf diejenigen, die nicht dem Experiment unterzogen wurden, konnten wir einen bedeu-

tenden Zuwachs der Oberflächentension derselben feststellen, desgleichen eine Zunahme der Proteinquantität.

Bei Untersuchung der Chromatographie in feiner Schicht, der besagten Lungenwaschungen, erscheint die lipoide Patrone in den Statistiken in signifikanter Form verändert, wodurch sich der Zuwachs der Oberflächentension beweist.

### Résumé

Nous avons réalisé des vagotomies bilatérales sur une ratte albinos et étudié leur répercussion sur le substratum pulmonaire. Ce substrat apparaît terriblement désorganisé tant en microscopie optique qu'en microscopie électronique, cette désorganisation se caractérisant par la présence d'atélectasies, emphysèmes, exsudat intra-alvéolaire organisé en membranes d'aspect fibrinoïde, etc. Au niveau de l'ultrastructure, la rupture du pneumocyte type I, qui laisse en de nombreux endroits la basale en contact direct avec la lumière alvéolaire, frappe fortement l'attention, de même que la rétraction et l'altération des corps pseudo-myéliniques, caractéristiques des pneumocytes type II.

Dans les lavements pulmonaires des animaux expérimentaux on trouve par rapport aux témoins, une augmentation significative de la tension superficielle de ceux-ci ainsi qu'une augmentation de la quantité de protéines. Le modèle lipidique, étudié par chromatographie en couche fine, de ces lavements pulmonaires apparaît altéré de manière significative statistiquement, justifiant ainsi l'augmentation de la tension superficielle.

### BIBLIOGRAFIA

- ABRAMS, M. E. (1966): Isolation and quantitative estimation of pulmonary active lipoprotein. "J. Appl. Physiol.", **12**: 718-720.
- ADAMSON, D. H.; BOWDEN; J. P. WYATT (1970): Oxygen poisoning in mice. "Arch. Path.", **90**.
- AVERY, M. E.; J. MEAD (1959): Surface properties in relation to atelectasis and hyaline membrane disease. "Amer. J. Dis. Child.", **97**: 517-523.
- BLIGH, E. G.; W. J. DYER (1959): A rapid method of total lipid extraction and purification. "Canad. J. Biochem.", **37**: 911-917.
- BROWN, E. S.; R. P. JOHNSON; J. A. CLEMENTS (1959): Pulmonary surface tension. "J. Appl. Physiol.", **14**: 717-720.
- BROWN, E. S. (1964): Isolation and assay of dipalmitoyl lecithin in lung extracts. "Amer. J. Physiol.", **207**: 402-406.
- BUCKINGHAM, S.; S. C. SOMMERS (1960): Pulmonary hyaline membranes: A study of the infant disease and experimental hyaline membranes induced pharmacologically. "Amer. J. Dis. Child.", **99**: 216.
- CHERNICK, V.; W. A. HODSON; L. J. GREENFIELD (1966): Effects of chronic pulmonary artery ligation on pulmonary mechanics and surfactant. "J. Appl. Physiol.", **21**: 1315.
- CLEMENTS, J. A. (1971): Comparative lipid chemistry of lung. "Arch. Intern. Med.", **127**: 378-389.
- CLEMENTS, J. A.: Dependence of pressure-volume characteristics of lung on intrinsic surface active material.
- CLEMENTS, J. A. (1967): The alveolar lining layer in development of the lung. A. V. S. DE REUX, R. PORTER, pp. 202-221. J. A. Churchill Ltd. London.

- CLEMENTS, J. A. (1961): Pulmonary edema and permeability of alveolar membranes. "Arch. Environ. Health.", **2**: 280-283.
- CLEMENTS, J. A. (1970): Pulmonary surfactant. "Amer. Review of Respiratory Disease", **101**: 985-990.
- CLEMENTS, J. A. (1962): Surface phenomena in relation to the pulmonary function. (Sixth Bowditch Lecture). "Physiologist", **5**: 11-28.
- CLEMENTS, J. A. (1965): Surfactant in pulmonary disease. "New. Engl. J. Med.", **272**: 1336.
- CLEMENTS, J. A. (1967): The alveolar lining layer. Development of the lung. "CIBA Foundation Symposium". Editors. A. V. S. Reuck y R. Porter. J. & A. Churchill, Ltd. London.
- CLEMENTS, J. A.; R. T. HUSTEAD, y cols. (1961): Pulmonary surface tension and alveolar stability. "J. Appl. Physiol.", **16**: 444.
- COLACCIO, G.; E. M. SCARPELLI (1974): Molecular structure and biological activity of pulmonary surfactants. Horizons in surface science: Biological applications. Ed. L. Prince and F. D. Sears Appleton Century Notits, New York.
- COROMINAS, A. V. (1973): Lípidos y lipoproteínas. Laboratorio y clínica. Editorial Toray, pág. 140.
- DUALDE PÉREZ, Diego (1971): Modificación al método de Gallego (A-IV, FA. FA. LIC) para la coloración de tejidos en general. "Veterinaria", **XXXVI**: 207-212.
- FINLEY, T. N.; W. H. FOOLEY; E. W. SWENSON; R. E. GADNER, and J. A. CLEMENTS (1963): Pulmonary surface tension in experimental atelectasis. "Amer. Rev. Respir. Diseases", **89**: 372.
- GAJ PECZALSKA, K. (1964): Plasma protein composition of hyaline membrane in the newborn as studied by immunofluorescence. "Arch. Dis. Child.", **39**: 226.
- GALDSTON, M.; D. E. SHAH; G. Y. SHINOWARE (1969): Isolation and characterization of a lung lipoprotein surfactant. "J. Colloid Interface Sci.", **29**: 319-334.
- GIMENO, V. (1975): Tesis doctoral. Universidad de Valencia.
- GLUCK, L. (1972): Surfactant. "Ped. Clin. N. Amer.", **19**: 325-331.
- GLUCK, L.; M. V. KULOVICH; A. I. EIDELMAN; L. CORDERO; A. F. KHAZIN (1972): The biochemical development of surface activity in mammalian lung. IV. Pulmonary lecithin synthesis during development of the rabbit fetus and newborn and the etiology of the respiratory distress syndrome. "Pediat. Resp.", **1**: 290-291.
- GREENE, D. G. (1965): Pulmonary edema. Handbook of physiology. Section 3: Respiration. Vol. 2. Dirigido por W. D. FENN y H. RAHN. Ame. Physiol. Society. Washington.
- GUYION, A. C. (1971): Tratado de Fisiología médica. Ed. Interamericana, 4.<sup>a</sup> edición, 532.
- HEINEMAN, H. O. (1968): Surfactant of the lung. "Advances Intern. Med.", **14**: 85-104.
- HERING, E.; J. BREUER (1968): "Sctzungsb. Akad. Wiss. Wie.", **57**: 672. Citado por GIMENO, 1975.
- ISLAM, M. (1961): Pulmonary hyaline membrane. Pathogenesis and significance. "N. Y. J. Med.", **61**: 3419.
- KLAUS, M. H.; J. A. CLEMENTS; R. HAVEL (1961): Composition of surface active material isolated from beef lung. "J. Proc. Nat. Acad. Sc.", **47**: 1858-1859.
- KLEIN, S. MARGOLIS (1968): Purification of pulmonary surfactant by ultracentrifugation. "J. Appl. Physiol.", **25**: 654-658.
- LEVITSKY y otros (1971): Depletion of alveolar surface active material by transbronchial plasma irrigation of the lung. "Annals of Surgery", **173**: 107-115. Number 1.
- LOWRY, O. H.; N. ROSEBROUGH; A. L. FARR; R. J. RUNDALL (1951): "J. Biol. Chem.", 193-265. Citados por COROMINAS.
- LOWRY, O. H. (1951): "J. Biol. Chem.", 193-265. Citado por COROMINAS.

- MEAD, J.; C. COLLIER (1959): Relation of volume history of lungs to respiratory mechanism in anesthetized dogs. "J. Appl. Physiol.", **14**: 669-678.
- MEAD, J.; J. L. WHITTENBERGER; E. P. RADFORD (1959): Surface tension as a factor in pulmonary volume-pressure hysteresis. "J. Appl. Physiol.", **14**: 669-676.
- NEERGAARD, K. VON (1929): Neue Auffassungen über einen Grundbegriff der Atemmechanik die Retraktionskraft der Lunge, abhängig von der Oberflächenspannung in den Alveolen. "Z. Ges. Exp. Med.", **66**: 373-380.
- PATTLE, R. E. (1955): Properties, function and origin of the alveolar lining layer. "Nature", **175**: 1125-1126.
- PATTLE, R. L. (1956): A test of silicone anti foam treatment of lung edema in rabbits. "J. Pathol. Bacteriol.", **72**: 203-209.
- PATTLE, R. E. (1960): The cause of the stability of bubbles derived from the lung. "Pys. Med. Biol.", **5**: 11-26.
- PATTLE, R. E.; L. C. THOMAS (1961): Lipoprotein composition of the film lining the lung. "Nature", **189**: 844.
- PATTLE, R. E. (1963): The lining layer of the lung alveoli. "Brit. Med. Bull.", **19**: 41-44.
- PATTLE, R. E.; A. L. CLAIREAUX; P. A. DAVIES; H. CAMERON (1962): Inability to form a lung lining film as a cause of the respiratory distress syndrome in the newborn. "Lancet", **11**: 469-471.
- ROQUES, V.; P. ESCOLAR (1971): Pulmón de rata y distress experimental por vagotomía. "An. Anat.", **20**: 169.
- SCARPELLI, E. M. (1968): Lung surfactant: Dynamic properties, metabolic pathways and possible significance in the pathogenesis of the respiratory distress syndrome. "Bull. N. Y. Acad. Med.", **44**: 431-445.
- SCARPELLI, E. M. (1968): Respiratory distress in the newborn. "Ann. Rev. Med.", **19**: 153-155.
- SCARPELLI, E. M.; G. COLLACCIO; S. J. CHANG (1971): Significance of methods for isolation characterization of pulmonary surfactant. "Respir. Physiol.", **10**: 179-198.
- SEKABUNGA, I. C.; D. K. C. COOPER; D. B. LONGMORE (1969): Measurement of pulmonary surfactant by an Nuoy tensometer in variations physiopathological conditions. "Journal of Surgical Research", **9**: 505-511.
- WADE EVANS, T. (1962): The formation of pulmonary hyaline membranes in the newborn baby. "Arch. Dis. Child.", **37**: 470.
- WILLIAMS, J. V.; D. F. TIERNEY; H. R. PARKER (1966): Surface forces in the lung, atelectasis and transpulmonary pressure. "J. Appl. Physiol.", **21**: 819-827.

J. AGUILAR JIMÉNEZ  
Departamento de Anatomía  
Facultad de Medicina  
Valencia (España)

APORTACIONES AL CONOCIMIENTO DE LAS CONEXIONES DE LA VÍA ÓPTICA POR DEGENERACIÓN WALLE-RIANA TRAS LA ENUCLEACIÓN EXPERIMENTAL DEL GLOBO OCULAR<sup>(1)</sup>

POR

M.<sup>a</sup> D. ALONSO SALVADOR<sup>(2)</sup>

*Introducción*

Si dejamos aparte el estudio de los tractos ópticos principales, que iniciándose en la retina se dirigen a los centros ópticos primarios (geniculado lateral, pulvinar y colículo superior), previa decusación total o parcial (según tipo de visión de las distintas especies animales) en el quiasma, queda aún abierto a la investigación el amplio problema de los tractos ópticos accesorios cuyo estudio está incompleto en muchos puntos y que tienen una importancia capital en el desencadenamiento de reflejos de todo tipo.

Es GUDDEN, en 1870, el primero en hablar de estos tractos al describir el "tractus peduncularis transversus", señalando su origen retiniano que SINGER y MÜNZER demostrarían en 1889 con la técnica de Marchi tras la enucleación del globo ocular.

En 1903, MARBURG presenta los resultados de su estudio sobre anatomía comparada del Sistema Nervioso Central entre los vertebrados más inferiores, y concluye que el tractus peduncularis transversus era homólogo a la descrita raíz óptica basal de los anfibios, reptiles y aves.

BOCHENET, en 1908, además del tractus peduncularis transversus describe un nuevo haz que corre ventralmente desde el tracto óp-

(1) Resumen de la Tesis doctoral leída el día 1 de octubre de 1976 en la Facultad de Medicina de la Universidad de Valencia ante el tribunal presidido por el profesor doctor don Juan José Barcia Goyanes, y del que fueron vocales los profesores doctor don Marcelo Carreras Mata, doctor don Víctor Smith-Agreda, doctor don Juan Luis Barcia Salorio y doctor don Amando Peydro Olaya, y que obtuvo la calificación de Sobresaliente. Director de tesis, profesor doctor don Víctor Smith-Agreda.

(2) Prof. adjunto. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Valencia.

tico primario hasta el núcleo subtalámico, llamándolo fascículo óptico accesorio anterior.

A partir de estos momentos son muchos los autores que abordan en el estudio de estos haces ópticos accesorios, existiendo a este respecto gran controversia en su identificación y gran confusión en su denominaciones terminológicas.

FREY, en 1937, piensa que la raíz óptica basal de los anfibios es homóloga al tracto óptico accesorio anterior y no al tractus peduncularis transversus. Es además este autor el primero que habla de la existencia de una raíz hipotalámica, es decir, es el primero en defender la existencia de conexiones retino-hipotalámicas directas.

JEFFERSON (1941) busca, aunque sin éxito, conexiones retino-hipotalámicas que fueran el substrato morfológico para la respuesta endocrina que en mayor o menor grado se da en todas las especies animales a la fotoperiodicidad ambiental.

En cuanto a estas conexiones retino-hipotalámicas, aún existe una mayor controversia que en los hechos anteriormente expuestos. Esto seguramente se debe a que (como ya expuso GILLILAN en 1941) estas fibras del tracto óptico accesorio son con frecuencia amielínicas y por ello son muy difíciles de visualizar con las técnicas argentícas clásicas.

HAYHOW, en repetidos trabajos, entre los que destacamos el de 1959 en el gato y el de 1960 en la rata, aporta los estudios más completos del sistema óptico accesorio, resumiendo la confusión terminológica al señalar un fascículo óptico accesorio superior (que no es otra cosa que el tractus peduncularis transversus o fascículo óptico accesorio posterior) y un fascículo óptico accesorio inferior, que podríamos también llamar anterior. Es esta terminología la que por su claridad seguimos en el presente trabajo. En la figura 1 mostramos el esquema de HAYHOW mostrando el trayecto de estos fascículos.

Sin embargo, este autor niega la existencia de la supuesta raíz hipotalámica, que para él es sólo un efecto óptico que producen las fibras del tracto óptico principal a nivel de la decusación quiasmática.

Defiende la existencia de esta raíz hipotalámica entre otros autores KNOCHE en 1956 y BLÜNCKE en 1958; sus más acérrimos detractores son HAYHOW y GIOLLI (1961 y 1963).

MOORE, en 1962, encuentra degeneración terminal en algún núcleo hipotalámico.

JACOBS y MORGANI encuentran en 1964 diferencias de calibres significativos entre el nervio óptico y el tracto óptico, lo que hablaría a favor de un abandono de fibras a nivel periquiasmático.

SOUSA-PINTO, en 1970, con las técnicas de Fink-Heimer y a microscopio electrónico, encuentra degeneración terminal en varios núcleos hipotalámicos, abundando MOORE y LENN, en 1972, en estos hallazgos utilizando técnicas autorradiográficas.

PRINZ y HALL, en 1973, hablan de la posibilidad de que además de una vía retino-hipotalámica directa exista otra alternativa retino-epifisaria.

### *Planteamiento del problema*

Como hemos visto, existe gran disparidad de criterio en cuanto a la posibilidad de unas conexiones retino-hipotalámicas directas; es decir, que si bien la existencia de un fenómeno de dependencia neuroendocrina a los estímulos luminosos es incontrovertible, las vías que justificarían esta relación no están aclaradas.

Nosotros hemos creído poder aportar algo en este campo, por existir en nuestro Departamento una larga experiencia en el empleo de las técnicas de impregnación argentícas más apropiadas por la naturaleza de estas fibras (poco mielínicas) y más aceptadas por los modernos autores.

Nos centramos sobre todo en el estudio de la posible existencia de una raíz hipotalámica supraquiasmática como defendían FREY, KNOCHE, BLÜNCKE, JACOBS y MORGANI, entre otros. Buscamos la existencia de degeneración terminal en diversos núcleos hipotalámicos, como habían señalado SOUSA-PINTO, MOORE y otros, lo que, a nuestro juicio, tiene una importancia capital para comprobar la existencia de estas conexiones.

Antes de proceder a este estudio, que era el que más directamente nos interesaba, estudiamos el sistema óptico accesorio para comprobar nuestros hallazgos con los de la literatura actual.

Nos planteamos el emplear material experimental con enucleaciones uni y bilaterales, para hacer estudios de estas vías mediante la búsqueda de los rastros degenerativos provocados por esta injuria mediante técnicas de impregnación argentícas de la degeneración walleriana, realizando para nuestra orientación alternativamente técnicas somáticas.

### *Material y métodos*

#### *1. Animal de experimentación*

Hemos trabajado con la rata albina y el hámster dorado, ambos de fácil manejo, de cerebro estudiado estereotáxicamente, siendo además el hámster un animal poco estudiado con respecto al problema que nos ocupa.

## 2. Descripción del acto operatorio

La enucleación, uni o bilateral, del globo ocular la hemos realizado previa anestesia con nembutal por vía intraperitoneal a razón de 30 mg por Kg de peso.

Agrandamos mediante cortes laterales la hendidura parpebral y disecamos el globo ocular propulsándolo hacia fuera, y ligando el hilio formado por la arteria oftálmica y el nervio óptico, para proceder a la enucleación seccionando por fuera de la ligadura. A continuación, se electrocoagula el muñón para evitar el peligro de hemorragia y se procede a cerrar el campo operatorio refrescando el borde libre de los párpados.

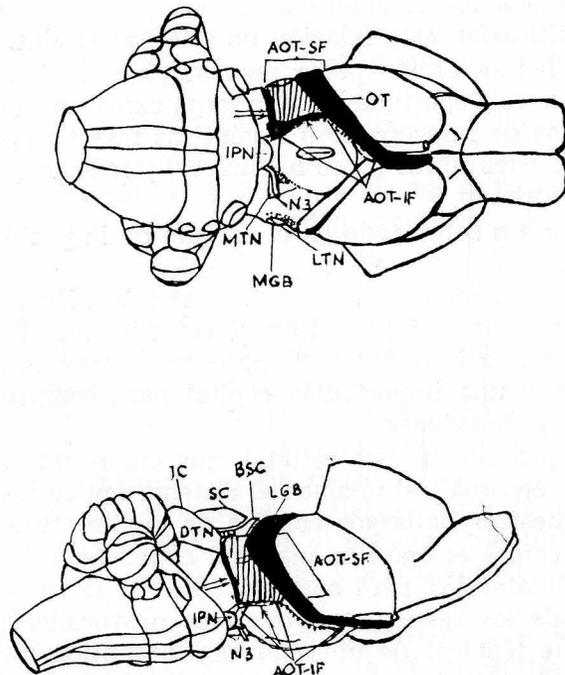


FIGURA 1

## 3. Obtención de las piezas

La supervivencia que se permitió a los animales osciló entre 3 y 7 días, que es el período de tiempo ideal para el estudio de la degeneración terminal. Entonces se procedía a la perfusión del animal por ventrículo izquierdo (seccionando la cava inferior), primero con suero fisiológico a 37° C y luego con formalina neutra hasta que el animal queda completamente rígido.

Extraemos el cerebro, que para su completa fijación conservamos unos treinta días en formalina neutra; las primeras cuarenta y ocho horas en nevera.

## 4. Manipulación de las piezas

Todas las piezas se cortaron a congelación, obteniéndose cortes seriados de 25 micras para los métodos argénticos y de 50 micras para los somáticos.

Los métodos argénticos que se utilizaron fueron el Fink-Heimer y el Nauta fosfomolibdeno, y los somáticos el Nilss y el Klüver-Barrera.

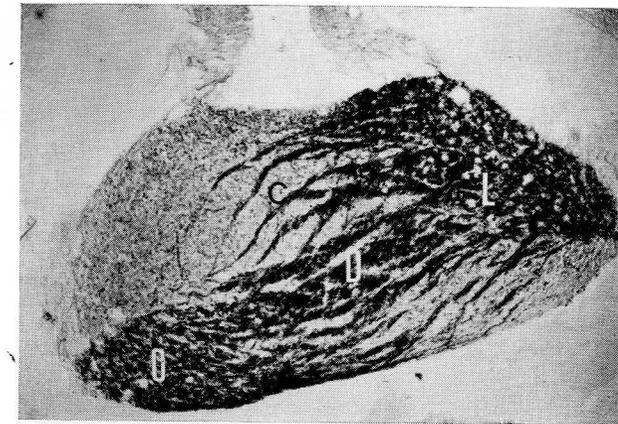


FIG. 2. — Decusación del quiasma en una ratona con enucleación unilateral derecha. Se puede observar cómo desde el lado de la lesión (L) el contingente de fibras degeneradas se lanza en diagonal (D) hacia el lado opuesto (O). Vemos también algunas fibras curvadas.

## 5. Casuística

— 20 hámster, distribuidos:

- . Nueve enucleaciones derechas (3, 4, 5 y 7 días de supervivencia).
- . Cinco enucleaciones izquierdas (3, p y 7 días de supervivencia).
- . Cuatro enucleaciones bilaterales (3, 5 y 7 días de supervivencia).
- . Dos animales testigos.

— 30 ratas, distribuidas:

- . Once enucleaciones derechas (2, 3, 4, 5, 6 y 7 días de supervivencia).

- . Siete enucleaciones izquierdas (3, 4, 5 y 7 días de supervivencia).
- . Cuatro enucleaciones bilaterales (3, 4, 5 y 7 días de supervivencia).
- . Ocho animales testigos.

### Resultados obtenidos en la rata

Antes de centrarnos en el estudio del sistema óptico accesorio nos detuvimos en la observación del modo de comportarse las fibras ópticas en la decusación quiasmática, puesto que varios autores (HAYHOW y GIOLLI) opinan que la raíz hipotalámica de Frey no es más que un aspecto óptico provocado por esta decusación.

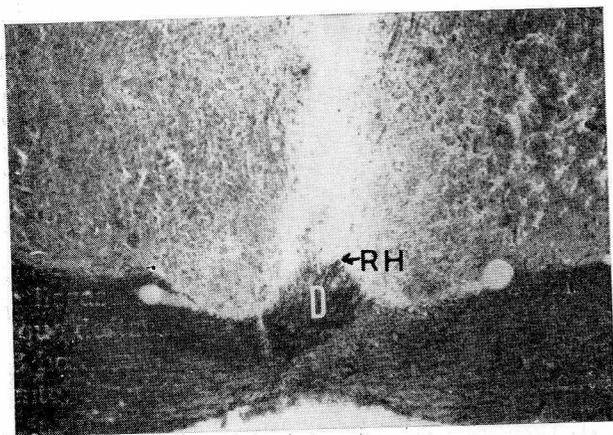


FIG. 3. — Se trata del mismo animal en una visión mucho más posterior del quiasma, de cuyas últimas estribaciones de la decusación (D) vemos surgir la raíz hipotalámica (RH).

El quiasma de la rata es ovoide en sus cortes más anteriores, aplanándose hacia los tractos ópticos.

La decusación se realiza desde una localización dorsal en el lado del nervio óptico lesionado, cruzándose en dirección diagonal a una localización ventral en el lado opuesto; algunas fibras describen, abandonando esta recta diagonal, curvaturas de convexidad dorsal o ventral a ambos lados de ella; son especialmente aparentes las fibras que al cruzarse realizan una convexidad dorsal por encima de las diagonales.

En las porciones próximas al estrangulamiento del quiasma para formar los dos nervios ópticos es donde vemos un penacho de fibras de dirección perpendicular a las del quiasma y de sentido ascen-

dente, que abandonan el quiasma para penetrar en el hipotálamo, que identificamos como la raíz hipotalámica de Frey.

La presencia de fibras degeneradas en la zona correspondiente de la descrita raíz hipotalámica de Frey es constante en todo el material experimental. Estas fibras ocupan una zona triangular sobre el quiasma de base en éste y de vértice en la porción inferior del tercer ventrículo; este triángulo ocupa el lugar existente entre los dos núcleos supraquiasmáticos. Estas fibras tienen una clara tendencia ascendente en dirección marcadamente perpendicular a las del quiasma e incluso observamos alguna de ellas llegando a planos más elevados bordeando las paredes del tercer ventrículo.

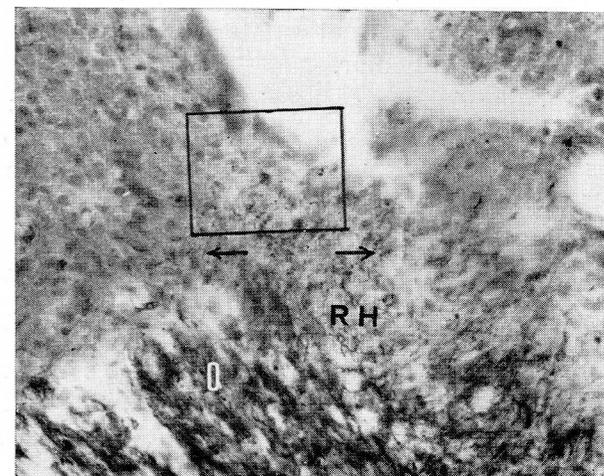


FIG. 4. — Rata con enucleación bilateral en cuya imagen, por encima de las fibras degeneradas de la decusación quiasmática (Q), vemos otras fibras degeneradas de aspecto bien diferente correspondientes a la raíz hipotalámica (RH, flechas y recuadro).

Es importante también observar si estos rastros degenerativos abandonan signos de degeneración terminal en alguno de los núcleos hipotalámicos.

Fue en los núcleos supraquiasmáticos en los que más constantemente hallamos gránulos de degeneración terminal, incluso vemos en muchas ocasiones cómo fibras procedentes de la raíz hipotalámica se desprenden paulatinamente de ésta introduciéndose en estos núcleos.

Otros núcleos en los que observamos degeneración terminal, aunque en menor cuantía que en los precedentes, y en el siguiente orden atendiendo a la cantidad y constancia de ésta fueron los ventromediales y arcuatos hipotalámicos.

No conseguimos ver degeneración en el núcleo supraóptico.

En cuanto a los fascículos ópticos accesorios inferior y superior (terminología de HAYHOW), no hemos tenido dificultad en encontrarlos y seguirlos en un trayecto que coincide fundamentalmente con los hallazgos de este autor.

El fascículo óptico accesorio inferior abandona el tracto óptico principal poco después que éste se ha independizado totalmente del quiasma y se va introduciendo en el cerebro medio hacia detrás, hacia abajo y hacia dentro.

El fascículo óptico accesorio superior lo hemos visto bordeando el pedúnculo cerebral y penetrando (tractus peduncularis transversus de los clásicos) cerca de la salida del tercer par, medial a la sustancia negra y vía piramidal y lateral a los tubérculos mamilares y núcleo interpeduncular.

Ambos fascículos ópticos accesorios terminan en sendas localizaciones en el núcleo terminal medial (clásico núcleo del tractus peduncularis transversus), que vemos como un pequeño conglomerado de neuronas de tamaño mediano de núcleo grande con escasa cromatina y nucleolo bien marcado.

Todas estas vías, por ser la rata un animal de visión semipanorámica, son cruzadas en un noventa por ciento aproximadamente: sin embargo, nosotros no hemos encontrado una asimetría significativa en las raíces hipotalámicas de los animales con enucleación unilateral, como tampoco una gran desproporción en la cantidad de degeneración terminal en los distintos núcleos hipotalámicos de uno y otro lado.

#### Resultados obtenidos en el hámster dorado

El comportamiento de la decusación quiasmática en el hámster es el mismo que el de la rata, siendo la única diferencia el aspecto más aplanado del quiasma del hámster.

Observamos en la porción más posterior del quiasma, después de realizarse la mayor parte de la decusación, un conjunto de fibras que lo abandonan con sentido ascendente en forma de penacho. Vemos cómo estas fibras presentan las características de la degeneración de las fibras poco mielínicas y que abandonan en toda la zona circundante abundantes rastros de degeneración terminal.

No llegamos a estudiar con detalle la presencia de degeneración terminal en los distintos núcleos hipotalámicos del hámster. Sin embargo, pusimos especial interés en el estudio del sistema óptico accesorio, que en este animal no había sido apenas estudiado, según la literatura manejada.

Los resultados en cuanto a estos fascículos accesorio superior e inferior son perfectamente superponibles a los de la rata.

El fascículo óptico accesorio inferior o anterior se desprende del tracto óptico principal poco después de su independización para avanzar hacia el núcleo terminal, introduciéndose hacia dentro, hacia abajo y hacia detrás en el cerebro medio.

Los fascículos del sistema óptico accesorio superior los hemos visto rebordeando el pedúnculo cerebral y penetrando en el mesencéfalo, por fuera de los tubérculos mamilares y por dentro del pedúnculo para ir a terminar al mismo núcleo terminal.

#### Discusión de los resultados obtenidos

Comenzamos nuestro estudio a nivel del quiasma, pues desde el principio descartamos la existencia de rastros degenerativos a nivel de la lámina preóptica. WALTER RISS (1963) sí habla de una vía retino-preóptica directa y cruzada; pero hemos de tener en cuenta que él trabaja sobre animales de sangre fría, y un hecho

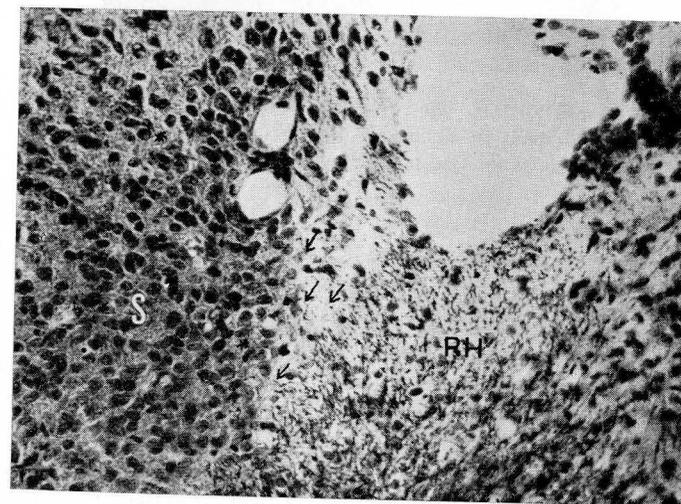


Fig. 5. — Vemos la raíz hipotalámica (RH) desprendiendo fibras degeneradas (señaladas con flechas) que se van introduciendo en los núcleos supraquiasmáticos (S), en los que vemos abundantes muestras de degeneración terminal, señalada con asteriscos.

que nunca hay que olvidar al estudiar estas vías es la posibilidad de que existan grandes diferencias en cuanto a su constitución entre las distintas especies animales, pues es diferente el comportamiento de cada una de ellas frente al fenómeno de la fotoperiodi-

cidad, y también son diferentes en el comportamiento de sus reflejos pupilares y acomodatorios.

Pusimos especial interés en el estudio de la decusación quiasmática de las fibras del nervio óptico, puesto que HAYHOW ha negado repetidas veces la existencia de la raíz hipotalámica (1959-1960, etc.), objetando que ésta no sería nunca más que el efecto óptico producido por las fibras al decusarse trazando una marcada giba de convexidad dorsal.

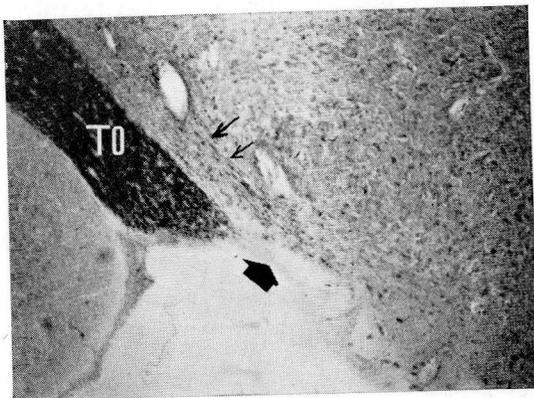


FIG. 6. — Vemos en rata, igual que la figura 4, el tracto óptico principal (TO) poco después de haberse separado del quiasma, desprendiendo el fascículo óptico accesorio inferior (señalado con flechas).

Nosotros hemos visto comportarse a las fibras procedentes del nervio óptico en el quiasma de la forma descrita, es decir, cruzando desde su localización dorsal en el nervio óptico hacia atrás y yendo a colocarse ventralmente en el tracto óptico del lado opuesto, describiendo sobre todo en la parte más posterior del quiasma estas marcadas curvas, en forma de gibas, que deforman en cierto grado el aspecto del quiasma en los cortes transversales. De todas formas, no vemos en ningún momento en el quiasma fibras que en sus curvas de decusación alcancen la altura que nosotros hemos visto alcanzar a las fibras de la raíz hipotalámica.

Con FREY (1937), KNÖCHE (1956-57), BLÜNCKE (1958), JACOBS y MORGANI (1964), EBBESSON (1970), MOORE y LENN (1972) y otros, nosotros afirmamos la existencia de una raíz hipotalámica tanto en el hámster dorado como en la rata albina que realiza una conexión directa retino-hipotalámica. Nos basamos para apoyar esta afirmación en los siguientes datos:

— Las técnicas de Nauta y sus variantes que empleamos, especialmente el Fink-Heimer, son lo suficientemente fidedignas y acep-

tadas por los autores actuales. La bondad de nuestros métodos se constata en la concordancia de nuestros hallazgos sobre el sistema óptico accesorio con los de los autores más impuestos en el tema.

— Con estos métodos se aprecia muy claramente la diferencia entre las fibras degeneradas del quiasma, acusadamente mielínicas, y las fibras que lo abandonan en su porción dorsal formando la raíz hipotalámica, finas y muy levemente mielínicas.

— La dirección de estas fibras es francamente perpendicular a las del quiasma en muchos puntos, y alcanzar tales alturas a nivel dorsal que muy difícilmente podemos concebir que puedan descender otra vez hacia el quiasma.

— De capital importancia para poder afirmar la existencia de una conexión directa retino-hipotalámica es el hallazgo de degeneración terminal en los núcleos hipotalámicos. Esta degeneración la hemos encontrado abundantemente, sobre todo en los núcleos supraquiasmáticos, como SOUZA-PINTO en 1970 y MOORE y LENN en 1972, y otros. En muchas ocasiones vemos cómo esta degeneración terminal presente en los núcleos supraquiasmáticos procede de colaterales de la raíz hipotalámica que van agotándose dejando degeneración terminal en este núcleo.

— También, aunque con menos constancia, hemos encontrado estos rastros degenerativos en los núcleos ventromedial y arcuatos, como habían señalado DI VIRGILIO (1958) y RIEKE (1958).

— Mucho más dudosos nos parecen nuestros escasos hallazgos en los núcleos supraópticos, aunque ha habido autores que los han defendido, como DI VIRGILIO (1958). Nosotros los hemos hallado.

En realidad, es más lógico que la raíz hipotalámica realice sus conexiones con núcleos microcelulares, como son el supraquiasmático y el ventromedial, encargados de captar tasas humorales, es decir, de una naturaleza que podemos considerar en cierta manera "sensible", que con los macrocelulares, como el supraóptico, que son efectores.

Es decir, estos núcleos microcelulares, principalmente el supraquiasmático, se estimularían por la acción lumínica y serían ellos los que actuarían sobre los núcleos efectores hipotalámicos para regir las respuestas neuroendocrinas a la luz.

Con PRINZ y HALL (1973) creemos que esta vía retino-hipotalámica no tiene por qué excluir la existencia de otras posibles vías que justifiquen los efectos de la fotoperiodicidad en las que intervenga la glándula pineal.

Todas estas vías, como ya MOORE apuntó en 1972, precisan un mayor estudio, puesto que incontrovertible es el hecho de que el control neuroendocrino del medio interno es influenciado por factores ambientales como el frío, la luz y oscuridad, etc.

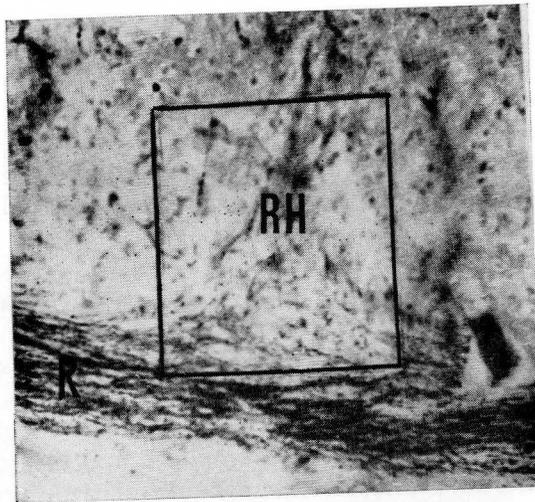


FIG. 7

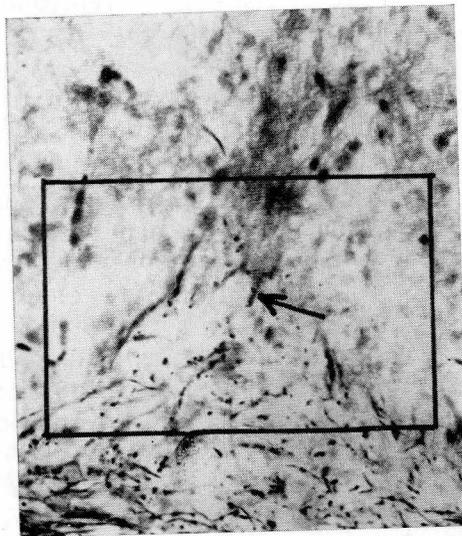


FIG. 8

FIGS. 7 y 8. — Se trata del cerebro de un hamster con enucleación bilateral. En las dos figuras vemos sobre el quiasma (K) aspectos a distintos aumentos de la raíz hipotalámica (RH y recuadro).

En cuanto a nuestros hallazgos sobre el sistema óptico accesorio en la rata, podemos decir que coinciden plenamente con los de HAYHOW en 1960 sobre este mismo animal, y que estas vías son perfectamente superponibles en el hámster.

No hemos tenido dificultad en encontrar el fascículo óptico accesorio inferior, abandonando el tracto óptico principal al poco de su salida del quiasma y dirigiéndose en sentido ventrocaudal hacia el núcleo terminal medial.

El fascículo óptico accesorio superior lo encontramos bordeando el pedúnculo cerebral, y penetrando al núcleo terminal medial entre la sustancia negra y la vía piramidal, medial a éstas, y lateral a los cuerpos mamilares y núcleo interpeduncular.

### Conclusiones

1. Hemos realizado enucleaciones unilaterales y bilaterales para estudiar la vía óptica con métodos de impregnación argéntica de la generación walleriana en el hámster dorado y la rata albina.

2. Hemos estudiado el comportamiento de las fibras ópticas en el quiasma, las cuales se decusan en un noventa por ciento en sentido anteroposterior y dorsoventral.

3. Hemos seguido el tracto óptico principal desde el quiasma hasta sus terminaciones en el núcleo geniculado lateral y en el estratum opticum del tubérculo cuadrigémino superior.

4. Hemos identificado el sistema óptico accesorio con sus dos fascículos, el superior e inferior, y su terminación común en el núcleo medial terminal.

5. Hemos comprobado la existencia de una raíz hipotalámica que abandona colaterales a nivel de varios núcleos hipotalámicos, habiendo identificado abundante degeneración terminal en los núcleos supraquiasmáticos, y en menor cuantía en el ventromedial y el arcuato. Por todo ello creemos en la existencia de una conexión directa retino-hipotalámica que justificaría los fenómenos de respuesta neuroendocrina a la fotoperiodicidad.

### Resumen

Realizadas nucleaciones unilaterales y bilaterales en la rata albina y en el hamster dorado, se han comprobado mediante las técnicas de tinción de degeneración Walleriana, Nauta y sus variantes, la existencia de conexiones directas entre la retina y el hipotálamo, conexiones que justifican los fenómenos de respuesta neuroendocrina a la fotoperiodicidad. También se han comprobado los tractos ópticos accesorios.

### Summary

Upon performing unilateral and bilateral enucleation on albino rats and the golden hamster, and through the Wallerian, Nauta and its variations degeneration staining techniques, it has been ascertained the presence of direct connections between the retina and the hypothalamus, connections justifying the phenomena of neuroendocrine response to photoperiodicity. We have also verified the accessory optical tracts.

### Zusammenfassung

Nach durchgeführter einseitiger und doppelseitiger Enukleation in der weissen Ratte und im Goldhamster, wurde mit Hilfe der Wallerischen und Nautischen Färbetechniken der Degeneration sowie deren Varianten, die Existenz von direkten Verbindungen zwischen der Retina und dem Hypothalamus festgestellt. Verbindungen, die das neuroendokrine Antwortphänomen auf die Fotoperiode rechtfertigen. Ebenfalls wurden die optischen Begleittrakte überprüft.

### Résumé

Une fois pratiquées des énucléations unilatérales et bilatérales sur le rat albinos et le hamster doré, on a constaté grâce à des techniques de coloration, de dégénération wallérienne, Nauta et ses variantes, l'existence de connexions directes entre la rétine et l'hypothalamus, connexions qui justifient les phénomènes de réponse neuroendocrine à la photo-périodicité. De même, ont été mis en évidence les tractus optiques accessoires.

### BIBLIOGRAFÍA

- ALBE-FESSARD, D.; F. STUTINSKI; S. LIBOUBAN (1966): Atlas stéréotaxique du diencephale du rat blanc. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique. Paris.
- BLUNCKE, S. (1958): Zur Frange einer Nervenfaser-Verbindung zwischen Retina und Hypothalamus. 1. Anatomische und experimentelle Untersuchungen an Meerschweinchen und Katzen. "Z. Zellforsch.", **48**: 261-282.
- BOCHENEK, A. (1908): Über die zentralen Endigungen des nervus Opticus. "Anz. Akad. Krak.", No. 1. Internat. Acad. Sc. Cracovie classe Sc. Math. Nat., p. **9**: 91-95.
- EBBESON, S. O. E. (1970): On the organization of the central visual pathways in vertebrates. "Brain. Behav. Evol.", **3**: 178-194.
- FINK, R. P., and L. HEIMER (1967): Two methods for selective silver impregnation of degenerating axons and their synaptic endings in the central Nervous system. "Brain. Res.", **4**: 369-374.
- FREY, E. (1935): Die basale optische Wurzel des Meerschweinchens. "Proc. Kon. Akad. Vet.", **38**: 775-783.
- FREY, E. (1937): Vergleichend-anatomische Untersuchungen über die basale optische Wurzel, die Commissura transversa Gudden und über eine Verbindung der Netzhaut mit den vegetativen Gebieten im Hypothalamus durch eine dorsale hypothalamische Wurzel des nervus opticus bei Amnioten. "Arch. Neurol.", **39**: 2-50.

- FREY, E. (1974): Degenerationsstudien über das optische Gebiet in Hypothalamus des Meerschweinchens. "Acta Anat.", **4**: 123-136.
- FREY, E. (1950): Neue anatomische und experimentelle Ergebnisse über das optische Gebiet im Hypothalamus. "Schweiz. Arch. Neurol. Psychiat.", **66**: 67-68.
- GILLILAN, L. A. (1941): The connections of the basal optic root (posterior accessory optic tract) and its nucleus in various mammals. "J. Comp. Neur.", **74**: 367-408.
- GIOLLI, R. A. (1960): Experimental study of the anterior and posterior accessory optic tracts in the rabbit. "Anat. Rec.", **136**: 336.
- GIOLLI, R. A. (1961): An experimental study of the accessory optic tracts (transpeduncular tracts and anterior accessory optic tracts) in the rabbit. "J. Comp. Neur.", **117**: 77-95.
- GIOLLI, R. A. (1963): An experimental study of the accessory optic system in the *Cynomolpus* Monkey. "J. Comp. Neur.", **121**: 89-107.
- GIOLLI, R. A. (1964): Experimental study of the accessory optic system in the opossum *Didelphis virginiana*. "Anat. Rec.", **142**: 268.
- GIOLLI, R. A. (1965): An experimental study of the accessory optic system and of other optic fibers in the opossum. "J. Comp. Neur.", **124**: 229-242.
- GINO DI VIRGILIO, Nathan LAVENDA and GIDON f. GESTRING (1958): Optic connection of the hypothalamus in mammals studied by a silver technique. "Anat. Rec.", **131**: 546.
- GUDDEN (1870): Ueber einen bisher nicht beschriebenen Nervenfasenstrang in Gehirne der Säugthiere und des Menschen. "Archiv. Psychiat.", **2**: 364. (Citado por CAJAL en su libro de texto.)
- GUDDEN (1881): Ueber den tractus peduncularis transversus. "Archiv. Psychiat.", **11**: 415-423. (Citado por CAJAL.)
- HAMASAKI, D. I., and E. MARG (1960): An historical review of the accessory optic tracts. "A. M. J. Optom.", **37**: 53-66.
- HAYHOW, W. R. (1959): An experimental study of the accessory optic fiber system in the cat. "J. Comp. Neur.", **113**: 281-313.
- HAYHOW, W. R.; C. WEBB, and A. JERVIE (1960): The accessory optic fiber system in the rat. "J. Comp. Neur.", **115**: 187-215.
- HAYHOW, W. R.; A. SEFTON, and C. WEBBS (1962): Primary optic center of the rat in relation to the terminal distribution of the crossed and uncrossed optic nerve fibers. "J. Comp. Neur.", **118**: 295-321.
- HAYHOW, W. R. (1966): The accessory optic system in the marsupial *Phalanger trileosurus vulpecula*. An experimental degeneration study. "J. Comp. Neur.", **126**: 653-672.
- JACOBS, M., and P. J. MORGANE (1964): Retino-Hypothalamic connexions in Cetacea. "Nature", **203**: 778-780.
- JEFFERSON, J. M. (1941): A study of the subcortical connexions of the optic tract system of the ferret, with special reference to gonadal activation by retinal stimulation. "J. Anatomy", **75**: 106-134.
- KLÜVER, H., and BARRERA (1953): A method of combined staining of cells and fibers in the nervous system. "J. Neuropath. Exp. Neurol.", **12**: 400-403.
- KNOCHE, H. (1966): Morphologisch-experimentelle Untersuchungen über eine Faser-Verbindung der Retina mit den vegetativen Zentren des Zwischenhirns und mit der Hypophyse. "Z. Zellforsch.", **45**: 201-264.
- MARBURG, O. (1903): Basale Opticuswurzel und Tractus peduncularis transversus. "Arch. a. d. Neurol. Inst. Wien" (Obersteiner), **10**: 66. (Citado por POLYAK.)
- MOORE, R. Y. (1969): Visual pathways controlling neuroendocrine function. In *Progress in Endocrinology*. "Excerpta Medica Amsterdam", 490-494.
- MOORE, R. Y.; F. KARAPAS, and N. J. LENN (1971): A retino-hypothalamic projection in the rat. "Anat. Rec.", **169**: 382-383.

- MOORE, R. Y., and N. J. LENN (1972): A retino-hypothalamic projection in the rat. "J. Comp. Neurol.", **146**: 1-14.
- NAUTA, W. J., and GYGAX (1951): Silver impregnation of degenerating axon terminals in the central nervous system. "Stain Tech.", **26**: 5-11.
- NAUTA, W. J. & RYAN (1952): Selective silver impregnation of degenerating axons in the central nervous system. "Stain Tech.", **27**: 175-179.
- NAUTA, W. J. & GYGAX (1954): Silver impregnation of degenerating axons in the central nervous system. "Stain Tech.", **29**: 91-93.
- NAUTA, W. J. (1957): Silver impregnation of degenerating axons. In: "New Research Techniques of Neuroanatomy", ed. by Windle, Ch. Springfield, III, 17-26.
- POLYAK, M. D. (1968): The vertebrate visual System. "The University of Chicago Press", Chicago-London, 2.<sup>a</sup> ed.
- PRINTZ, and J. HALL (1973): Evidence for a retinohypothalamic Pathway in the golden Hamster. "Anat. Rec.", **179**: 57-66.
- RAMÓN Y CAJAL, S. (1903): La doble vía descendente, nacida del pedúnculo cerebeloso superior. "Trab. Inst. Cajal Invest. Biol." (Madrid), **2**: 23-29.
- RAMÓN Y CAJAL, S. (1911): Histologie du Systeme Nerveux de l'homme et des vertebres. Vol. 2. París. A. Maoline.
- RAMÓN Y CAJAL, S. (1894): Algunas contribuciones al conocimiento de los ganglios del encéfalo. VII. Terminación central del nervio óptico. "Anal. de la Socied. Española de Histor. Natur.", t. III.
- RISS, W.; H. D. KNAPP, and F. SCALIA (1963): Optic pathways in cryptobranchius alleghemneusus'as revealed by the Natura technique. "J. Comp. Neurol.", **121**: 31-43.
- SINGER, J., and E. MÜNZER (1889): Beiträge zur Kenntniss der Sehnerven Kreuzung. "Denkschr. d. Kaiserl. Akad. d. Wissensch., Nath-Naturw.", **55** (2), (163). (Citado por CAJAL en su libro de texto.)
- REIKE, W. O. (1958): Optico-hipothalamic pathways in the rat. "Anat. Rec.", **130**: 363-364.
- SOUSA-PINTO, A., and J. CASTRO-CORREIA (1970): Light microscopic observations on the possible retino-hypothalamic projection in the rat. "Exp. Brain. Res.", **11**: 515-527.
- SOUSA-PINTO, A. (1970): Electron microscopic observations on the possible retino-hypothalamic projection in the rat. "Exp. Brain. Res.", **11**: 528-538.

M.<sup>a</sup> DOLORES ALONSO SALVADOR  
Departamento Anatómico  
Facultad de Medicina  
Valencia (España)

## EL COLÁGENO DE ESTÓMAGO EN CASO DE CÁNCER

POR

J. ALVAREZ-MORUJO SUÁREZ<sup>(1)</sup>, F. CUADRADO IDOYAGA<sup>(2)</sup>  
y A. ALVAREZ MORUJO<sup>(3)</sup>

EN la mayoría de los tratados, el conectivo del estómago ha sido considerado muy escaso y, en cuanto a su distribución, se ha supuesto que este tejido ocupa los espacios interglandulares. En él se han distinguido fibras reticulares, argirófilas, elásticas y colágeno.

En los trabajos de los autores que han escrito sobre este tema se diferencian poco de lo expuesto en los libros clásicos. LASKOWSKY (1869) y BRAND (1877), suponen que el tejido conectivo se desarrolla y diferencia en el estómago a partir del mesénquima que existe en los espacios intersticiales del epitelio visceral. La lámina propia del estómago, según DEVOBE (1874), está compuesta de gran cantidad de fibras conectivas. MALL (1891) señala que hay gran relación entre el tejido reticular y el colágeno en las distintas partes del estómago. Lo mismo han expresado Verson (1906), MARCORA (1907) y LAMBERTINI (1929). Este último manifiesta que hay un gran paralelismo entre el crecimiento de la mucosa y el conectivo.

PLENK (1927, 1931 y 1932) ha dicho que en el conectivo del estómago hay células y fibras argirófilas y que asimismo hay abundancia de este tejido en la muscular mucosa.

MAXIMOW (1927) dice que las fibras colágenas caminan paralelas a los vasos del estómago. BENAREK (1922) manifiesta que en la submucosa hay gran cantidad de fibras elásticas.

Como contraste a estos datos queregonan la escasez de conectivo y fundamentalmente de colágeno en esta parte del aparato

(1) Alumno interno del Departamento de Anatomía de la Facultad de Medicina de Salamanca.

(2) Prof. adjunto interino del Departamento de Cirugía del Hospital Clínico Universitario de la Facultad de Medicina de Salamanca.

(3) Prof. adjunto Numerario de Anatomía de la Facultad de Medicina de Salamanca.



digestivo, ALVAREZ MORUJO (1976) demuestra que en todas las capas del estómago hay gran cantidad de este tejido y con formato diferente.

En la mucosa hay colágeno a modo de un espacioso y bello retículo, que sirve de sustentáculo para aquéllas. Este retículo está separado de las zonas subyacentes por un cordoncillo limitante de este mismo tejido, al que sigue una zona grumosa y otra lineal que viene a corresponder al colágeno de la zona submucosa y muscular.

En orden a las relaciones del conectivo con la patología del estómago, que es tan rica en variedades, ROCH (1926) ha dicho que en las gastrodysplasias el tejido elástico se encuentra normal, pero no manifiesta nada referente al colágeno.

En las gastrodistrofias, especialmente en los casos de aquilia gástrica, en el libro de ASCHOFF (1934) se lee de un modo genérico que hay atrofia en la mucosa y en el tejido de sostén. HAUSER (1926) ha señalado que las ulceraciones atacan fundamentalmente a la mucosa con pérdida de sustancia, sugiriendo que la causa más propicia para que se produzcan éstas pudiera ser la acción del ácido clorhídrico, lo que hace suponer que este ácido también ataque y modifique al colágeno.

En la úlcera de estómago, en el ya citado trabajo de HAUSER (1926) y en el de BERGMANN (1929), dentro de los amplios detalles anatómicos y anatomopatológicos que dan de esta enfermedad, en lo que se refiere al conectivo, sólo se señala la amplia fibrosis que se produce en las retracciones de la mucosa, pero no se hace referencia alguna ni a las posibles modificaciones del colágeno ni a la disposición de sus estructuras.

En cuanto al cáncer, BORMANN (1926) asegura en el caso del escirro que la mucosa se encuentra íntegra, mientras que en la submucosa y en la muscular el colágeno está muy engrosado. También dice este autor que en el cáncer aparecen nidos de células de esta naturaleza que se afinan principalmente en los haces del conectivo que hay en las paredes del estómago.

### Material y métodos

Se ha estudiado en varios casos de cáncer de estómago la disposición del colágeno, fundamentalmente en el lugar del tumor.

Para poner de evidencia este colágeno se ha empleado el antiguo y conocido método de la corrosión con pancreatina en una solución con carbonato sódico al 0'3 %.

Las piezas han estado en esta solución por un espacio de varias semanas a meses.

En estas piezas se han hecho cortes de grosor diferente que oscilan desde 18 a 70 micras. La observación se ha efectuado con luz incidente y sobre fondo oscuro.

### Hallazgos

Se han hecho observaciones correpondientes a microfotografías panorámicas y parciales correpondientes a la mucosa, submucosa, muscular y subserosa.

En las panorámicas, pueden encontrarse diferencias según los distintos cortes, así como también analogías. La primera figura (fig. 1) muestra que el colágeno en la mucosa (A) se encuentra

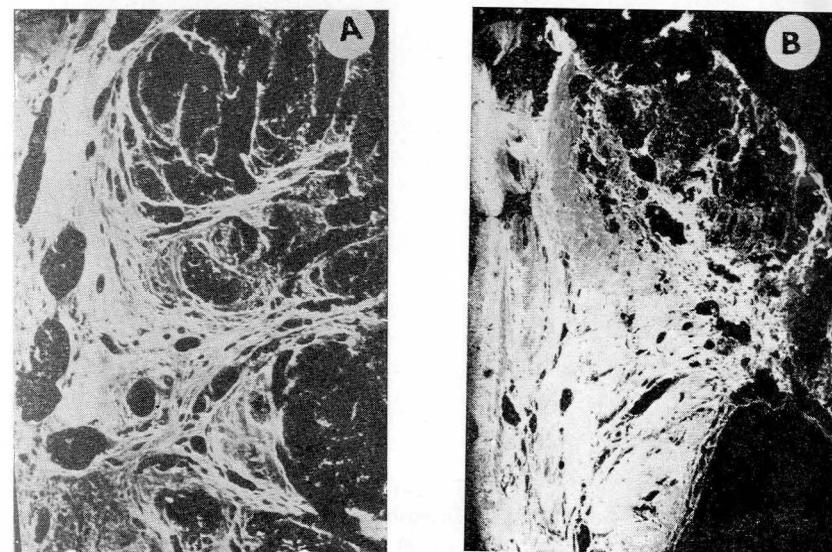


FIG. 1. — Panorámicas de las paredes del estómago en caso de cáncer, donde se aprecia la transformación del colágeno.

en muchos puntos dislacerado y muy extendido. Unas veces se presenta a modo de placas por la fusión de los haces; otras, con cavidades por la rotura y corrosión de éstos. En la base de ella, las fibras están sustituidas por láminas acribilladas; los linfáticos están muy dilatados y en cierta esquina de esta misma preparación se ve un retículo que todavía conserva el aspecto normal.

Sin embargo, en la otra preparación panorámica (B), el colágeno de la mucosa casi ha desaparecido; de ella solamente quedan pequeños hilachos rotos y alguna concentración de filamentos, lo mismo en la superficie que en ciertas trabéculas longitudinales;

por debajo de éstas hay una lámina de colágeno neoformado, apelmazado, acribillado y roto en algunos puntos, como consecuencia de la transformación que sufre este tejido con esta enfermedad.

Por regla general, es en la mucosa y en la submucosa donde se encuentran las alteraciones más llamativas y variables. Así, en la figura 2 se ven dos preparaciones de la mucosa con distinta disposición. En uno de los casos (fig. 2-A), el colágeno de la mucosa ha perdido su forma de retículo; se ve que los filamentos de este tejido están deshilvanados, disociados, y que hay zonas donde

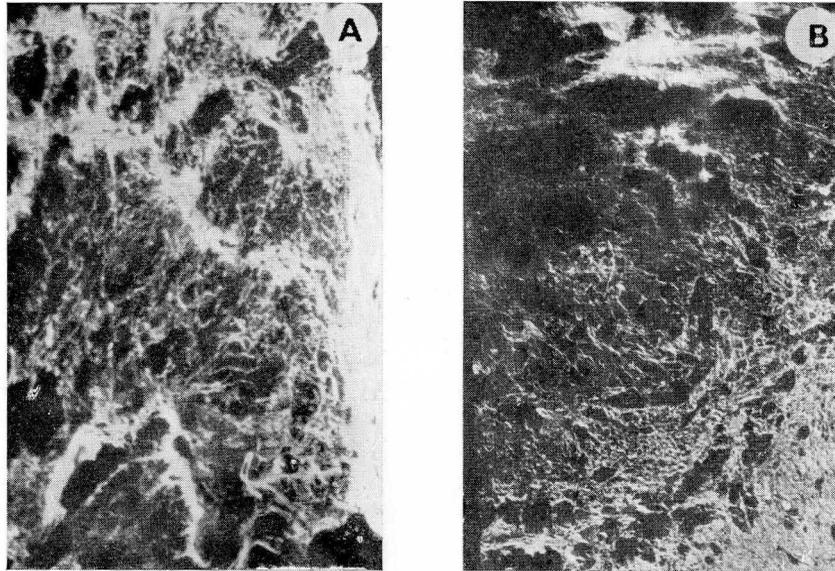


FIG. 2. — Colágeno de la mucosa en caso de cáncer de estómago con alteración por destrucción de un retículo.

se agrupan más compactos y otras donde están más separados, todo ello sin orden ni concierto. Tal anarquía trae como consecuencia la formación de cavidades por unos sitios, mientras que en otros, como consecuencia de la agrupación de los hilos rotos del retículo de la mucosa, se forman cordones más gruesos que no tienen una disposición determinada.

En contraste con esta preparación, la otra (fig. 2-B) muestra que los haces están desflecados, disociados, rotos y sin continuidad entre ellos. También hay algunos puntos donde aparecen cavidades, mientras que en otros lados, como consecuencia de la agrupación de hilos rotos del retículo de la mucosa, se forman cordones más gruesos que no tienen una dirección determinada.

En la base de la mucosa y en la submucosa también aparecen amplias variedades con disposiciones muy heteromorfas que abarcan diversos tipos tan diferentes entre sí como pueden serlo las dos preparaciones de la figura 3. En una de estas preparaciones (fig. 3-A) aparece un retículo grueso donde los haces que lo forman están edematosos, hinchados y se ven zonas donde los haces están más condensados.

En la otra preparación (fig. 3-B), que es un estado más avanzado de la destrucción por el cáncer, el colágeno de la mucosa está por completo disgregado, roto, sin continuidad en sus fascículos, con mucha pérdida de este elemento y, como consecuencia, la apari-

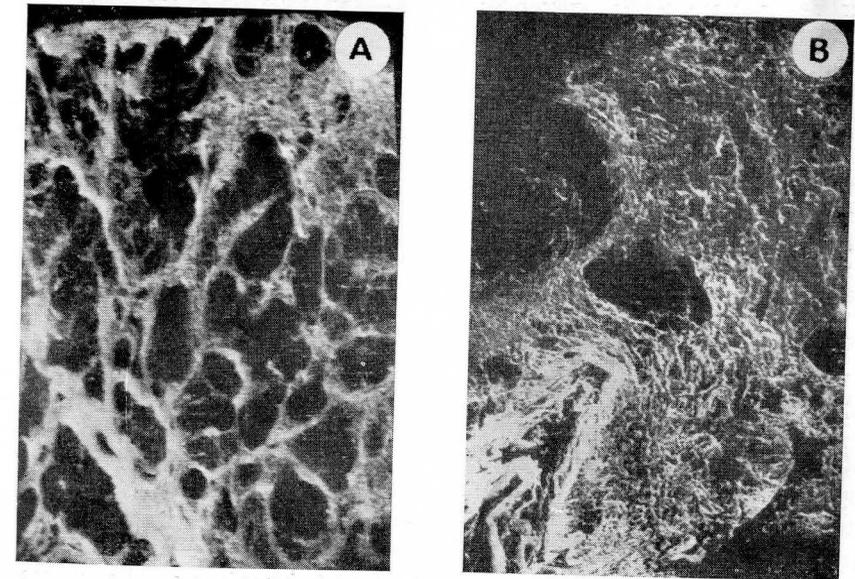


FIG. 3. — Retículo hipertrofiado y formación de cavidades en la mucosa en caso de cáncer.

ción de diversas cavidades donde unas son más grandes que otras.

En la misma base de esta mucosa proliferan las oquedades por la pérdida de sustancia. También se ven placas de colágeno neoformado de más débil consistencia de los que en este estado normal tiene este tejido en tal lugar.

En otras figuras, también correspondientes a esta misma zona, se ven resultados completamente diferentes en cuanto a su disposición (fig. 4).

En una de las preparaciones (fig. 4-A) se observa que los haces de la base de la mucosa están separados y en las cavidades que se forman aparecen residuos de ellos. En la propia base de esta zona

hay dos porciones completamente distintas. Por una parte, un retículo de colágeno completamente normal sin alteraciones de ninguna clase, mientras que a su mismo lado, el colágeno está dispuesto en placas, con fisuras y agujeros, en donde se aprecia que este tejido, por el aspecto que ofrece su estructura, es ya neoforado.

En la otra preparación (fig. 4-B) también se ve una cavidad, la cual debe estar ocasionada por la separación de los elementos colágenos, donde quedan dentro de ella todavía fascículos disgregados.

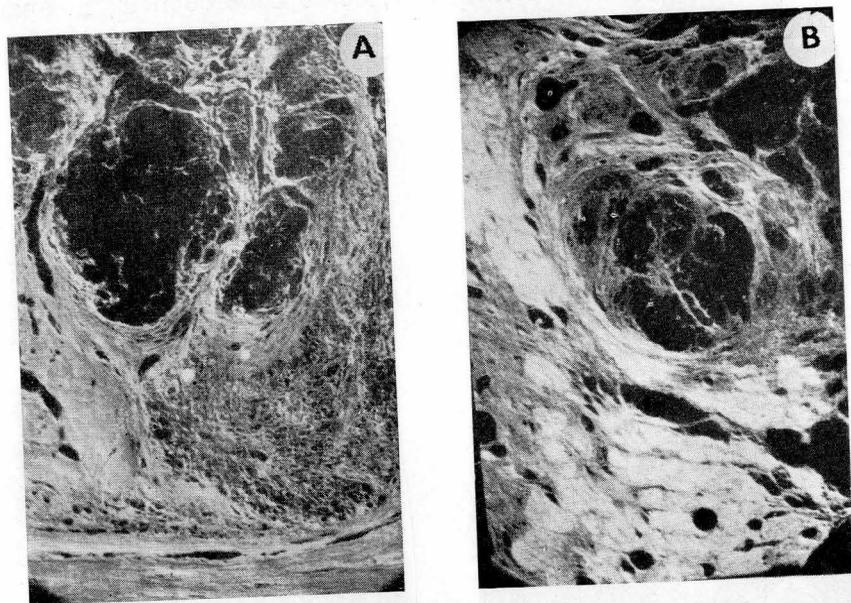


FIG. 4. — Cavidades y placas de neocolágeno en la base de la mucosa en caso de cáncer de estómago.

Toda la circunferencia que rodea a esta cavidad está formada por láminas de colágeno que están muy acribilladas de agujeros. Tales láminas resultan de la fusión de los haces que había con anterioridad en esta zona. Asimismo, por debajo de ella, se ve gran cantidad de colágeno transformado, donde en vez de existir fascículos sólo hay placas, que están separadas por débiles fisuras y por muchos agujeros.

En otras preparaciones, correspondientes a las partes más profundas (fig. 5), también se ven en sus microfotografías que hay algunas diferencias entre estos distintos cortes. En la primera (figura 5-A), se observa que toda la base de la mucosa y submucosa está hipertrofiada, formada por placas de colágeno que en unas

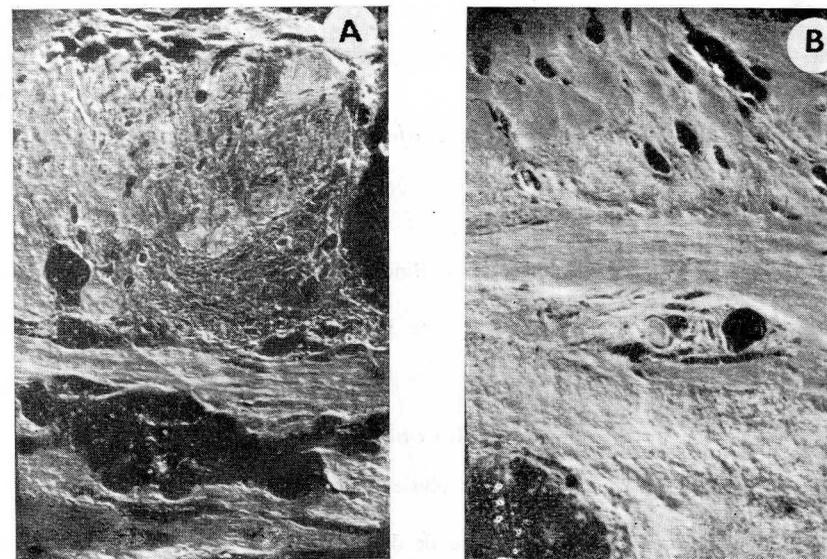


FIG. 5. — Placas de neocolágeno y colágeno de la muscular y subserosa en el cáncer de estómago.

partes están dispuestas en un todo continuo, mientras que en otras están dispuestas en mamelones. Queda en esta preparación (figura 5-A) residuos de un retículo normal que corresponde al colágeno viejo todavía no destruido ni transformado. Debajo de estos elementos, el colágeno de la muscular se presenta en forma acintada.

Los estratos de las distintas capas de la otra preparación (figura 5-B), sobre todo el que corresponde a la submucosa, están llenas de láminas de colágeno neoforado, y el de la muscular y el de la subserosa también aparece transformado.

### Resumen

En caso de cáncer, el colágeno del estómago ofrece muchas modalidades que pueden sintetizarse en dos grupos fundamentales: uno el que corresponde a la fase de destrucción, y otro al de la de proliferación o formación del neocolágeno.

Cada una de estas fases puede interesar al colágeno en todas las partes del estómago, y en cada una de ellas ofrece diferentes características, lo mismo por los haces que se destruyen como por las nuevas formas de colágeno que aparecen.

### Summary

In case of cancer, gastric collagen offers multiple characteristics which can be resumed in two fundamental groups: One which corresponds to the destruction phase and another corresponding to the proliferation phase or to the formation of neocollagen.

Each of these phases can effect the collagen of any part of the stomach and each of them offers different characteristics, because of the nature of the collagen bundles destroyed as well as because of the varieties of new collagen formed.

### Zusammenfassung

In diesen Beitrag wird ein Studium über das Kollagen des Magenskrebsleidens.

Dieses Kollagen zeigt viele Veränderungen, welche in zwei Gruppen man synthetisieren kann.

Eine Phase zeigt die Zerstörung der Bindegewebe. In der anderen Phase wird neues Kollagen gebildet.

Diese Zerstörungsphase sowie die zweite Phase, können in jeden Magenteil mit verschiedenen charakteristiken vorkommen.

### Résumé

En cas de cancer, le collagène offre plusieurs modalités qui peuvent être synthétisées en deux groupes fondamentaux.

L'un, celui qui correspond à la phase de destruction, et l'autre à celui qui correspond à la phase de prolifération du neocollagène.

Chacune de ces phases peut intéresser le collagène de toutes les parties de l'estomac et dans chacune d'elle il offre de différents caractéristiques de la même manière par les faisceaux qui se détruisent que par les nouvelles formes du collagène apparaissent.

### BIBLIOGRAFÍA

- ALVAREZ MORUJO, A. (1976): El esqueleto conectivo de órganos y vísceras. Edic. Calatrava. Salamanca.
- ASCHOFF, L. (1934): Tratado de Anatomía Patológica. T. II. Edic. Labor, S. A. Barcelona.
- BENAREK, V. (1922): Sur l'organisation des fibres élastiques de la paroi de l'estomac chez les bêtes à cornes. Publication de la Haute Ecole Vétérinaire. Brno.
- BERGMANN, W. (1926): Ulcus pepticum. "Handb. d. Inner. Med. Mohr. Staenelin", 3: 1-27.
- BORRMANN, H. (1926): Geschwülste d. Magen und Duodenus. "Handb. der Path. Anat. Henke-Lubarsch.", 2-1.
- BRAND, E. (1877): Beiträge zur Entwicklung der Magen und Darm. "Verh. Physik. med. Gess. Würzburg.", 11: 243-251.
- DEVOBE, M. (1874): Mémoire sur la couche endothéliale sous-épithéliale des membranes muqueuses. "Arch. Physiol.", 6: 19-24.
- HAUSER, G. (1928): Peptische Schädigungen des Magens. "Handb. der Pathol. Henke-Lubarsch.", 4.I.
- KOCH, W. (1926): Missbildungen. "Handb. der Pathol. Anat. Henke-Lubarsch.", 4.I.
- LAMBERTINI, G. (1929): Studio comparativo sulla formazione dell villi. "Arch. Ital. Anat.", 26: 401-412.
- LASKOWSKY, A. (1968): Über die Entwicklung der Magenwand. "Akad. Wiss. Math. Naturwiss.", 58: 137-145.

- MALL, F. (1891): Das reticulirte Gewebe und seine Beziehungen zu Bindegewebebrillen. "Abh. Sächs. Wis. Mathe. Naturwiss.", 17: 295-303.
- MARCONA, F. (1907): Alcune osservazione sullo sviluppo della mucosa gastrica. "Bull. Soc. Med. Chi. Paviali".
- MAXIMOW, A. (1927): Bindegewebe und blutbildende Gewebe. "Handb. Mikrosk. Anat.", 2: 332-341.
- PLENK, H. (1927): Über argyrophile Faser und ihre Bildungszellen. "Erg. Anat.", 27: 302-412.
- VERSONS, S. (1906): Contribution à l'étude de la dégeneration de la muqueuse gastrique. "Arch. Biol.", 45: 334-352.

J. ALVAREZ-MORUJO SUÁREZ  
Departamento de Anatomía  
Facultad de Medicina  
Salamanca (España)

LA PARS TUBERALIS DE LA ADENOHIPÓFISIS DEL GATO  
(Estudio con el microscopio electrónico de su histología  
y citología)

POR

P. AMAT<sup>(1)</sup>

*En homenaje a mi maestro,  
el Prof. Dr. D. José Escolar  
García.*

*Introducción*

LA ultraestructura de la pars tuberalis adenohipofisaria de los mamíferos ha sido poco estudiada a pesar de ser una región de relativa importancia por su contacto con la neurohipófisis y por ser la zona en donde se encuentran las arterias infundibulares (o arterias cortas del tallo), que después de capitalizarse forman el plexo porta primario. En un trabajo dedicado fundamentalmente a la ultraestructura de la eminencia media, RINNE (1966) describe la existencia de células corticotropas en la pars tuberalis. CAMERON y FOSTER (1972) afirman que en la pars tuberalis del conejo hay dos tipos de células: uno de ellos, el más numeroso, contiene gránulos pequeños (100 nm de diámetro), y el otro tipo, al que denominan células intersticiales, posee prolongaciones citoplasmáticas largas que circundan a las del primer tipo. En la monografía sobre la hipófisis de HOLMES y BALL (1974), se dedica muy poco espacio al estudio de la pars tuberalis de los mamíferos, y en ella se recoge la sugerencia de HARRIS (1955) sobre que las células de la pars tuberalis podrían servir solamente de lecho a los vasos.

El hecho de que la ultraestructura de la pars tuberalis haya merecido poca atención no significa que se desconozca su citología, ya que para ello no es imprescindible el microscopio electrónico, pues con técnicas histológicas e histoquímicas aplicadas a cortes

(1) Catedrático de Anatomía. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca.

de la glándula para ser observados con el microscopio óptico han sido determinados la mayor parte de los tipos de adenocitos del lóbulo anterior y después confirmados al estudiar la ultraestructura. En este sentido, y a propósito de la citología de la pars tuberalis, debemos destacar los trabajos de los esposos Legait y de sus colaboradores. LEGAIT y LEGAIT (1969) han estudiado la citología de esta parte en 97 especies de mamíferos (roedores, carnívoros, ungulados, insectívoros, quirópteros y primates) y han llegado a la conclusión de que las células cromóforas son las más numerosas, pero que hay también varias categorías celulares del grupo cromófilo, una de las cuales puede identificarse como posible célula gonadotropina-LH y otra como corticotropina, basándose en criterios tintóreos e histoquímicos que han permitido la identificación de estas células en el lóbulo anterior. En un trabajo posterior de esta misma escuela (LEGAIT, LEGAIT y ROUX, 1971), se aborda el estudio de la pars tuberalis del cerdo enano en varias condiciones experimentales (castración, administración de metopirona, etc.), y aplicando las mismas técnicas de tinción han demostrado la existencia de células tireotropas, células gonadotropas-FSH y células cromóforas.

Dentro del estudio de la ultraestructura de los sistemas hipotálamo-neurohipófisis e hipotálamo-adenohipófisis del gato, que se lleva a cabo en nuestro Departamento de Anatomía de Salamanca, creemos de interés dar a conocer nuestros hallazgos sobre la pars tuberalis adenohipofisaria de este animal, poco o nada estudiada con el material (en parte ya estudiado) de la pars tuberalis de gatitos adultos, que pensamos completar en un futuro próximo con el microscopio electrónico. Se trata de un trabajo preliminar de recién nacidos e impúberes.

### *Material y técnicas*

Hemos utilizado doce gatos adultos de ambos sexos. Seis de ellos han sido perfundidos con glutaraldehído al 5% en tampón fosfato a pH 7.4. La perfusión se ha llevado a cabo a presión controlada con el aparato de Ranvier y de acuerdo con las pautas descritas por VILA-PORCILE y col. (1970). En otros seis animales la fijación de la hipófisis ha sido por inmersión directa en glutaraldehído. Todas las piezas han sido fijadas posteriormente en tetróxido de osmio.

La inclusión se ha efectuado en araldita después de haber sometido a las piezas a una coloración en bloque con acetato de uranilo al 2% en acetona.

Los cortes semifinos se han teñido con azul de toluidina y los ultrafinos han sido tratados con el método de Reynolds. Estos últimos han sido observados en un microscopio electrónico Philips EM-201.

### *Resultados*

En el gato, la pars tuberalis se organiza en islotes o cordones celulares en cuyo interior con gran frecuencia hay una cavidad grande (figs. 1 y 3). Estos cordones están aislados entre sí por vasos y tejido conectivo, y separados de la eminencia media (figs. 1 y 3) por una zona de contacto, cuya anchura varía de unos sitios a otros y en donde hay capilares, fibroblastos y escasas fibras nerviosas.

El islote celular está rodeado por una lámina basal que a los pequeños aumentos del microscopio electrónico aparenta ser muy ancha (fig. 3). No obstante, los mayores aumentos (fig. 4) permiten distinguir que esa anchura es sólo aparente, pues por fuera de la lámina basal, que tiene un espesor normal, existe una sustancia amorfa que por sus características de densidad electrónica puede confundirse con aquella lámina.

En algunos casos los islotes están en íntimo contacto con la eminencia media. Un ejemplar muy demostrativo de lo que acabamos de decir nos lo ofrece el islote de pars tuberalis de la figura 3, en donde observamos que un adenocito del islote establece relaciones íntimas de proximidad con una célula glial de la eminencia media. En efecto, la figura 5 demuestra que una prolongación citoplasmática de la célula glial se encuentra separada de la membrana celular del adenocito solamente por la estrecha lámina basal.

A nivel de la región dorsal de la pars tuberalis, los islotes celulares (fig. 6) están separados unos de otros por tejido conectivo areolar y por arteriolas. Las finas prolongaciones citoplasmáticas de los fibroblastos establecen conexiones entre los islotes celulares de la pars tuberalis y la pared de las arteriolas. Es ésta una disposición que se encuentra siempre en la pars tuberalis de los gatitos recién nacidos e impúberes, incluso en sus regiones ventrales, pero que en los animales adultos sólo la hemos visto en la región dorsal.

Los islotes o cordones celulares, en cualquiera de las regiones de la pars tuberalis, pueden tener un aspecto francamente seudofolicular (fig. 3) con una cavidad muy llamativa o puede presentar pequeñas cavidades (figs. 8, 10 y 11), a veces tan diminutas que pasan desapercibidas en los pequeños aumentos de la microscopía electrónica ((fig. 6) y sólo se vean a mayores aumentos (fi-

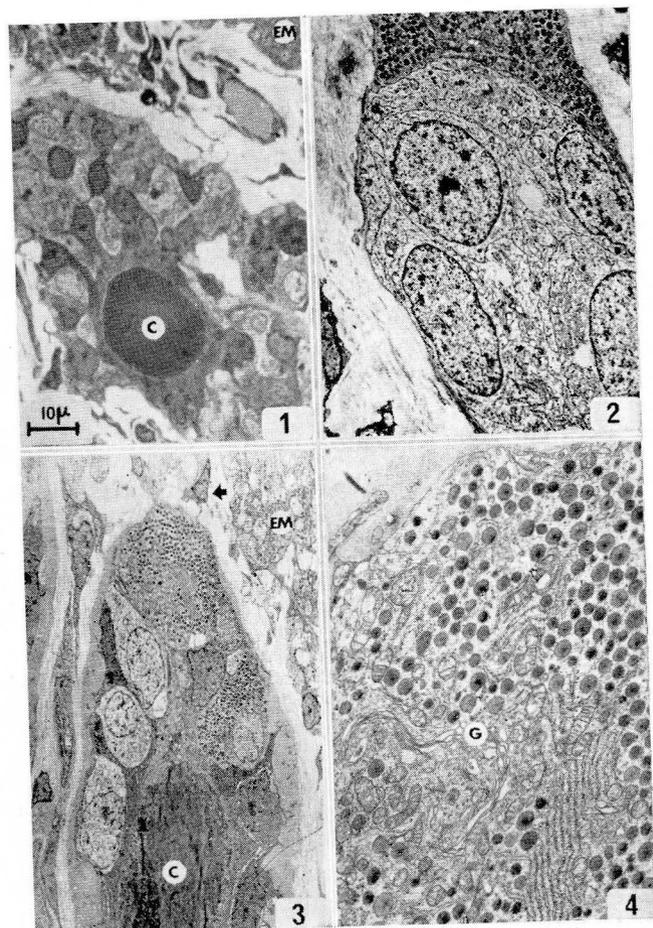


FIG. 1. — *Pars tuberalis de la hipófisis de gato*. Corte semifino teñido con azul de toluidina. En la parte superior de la figura aparece la eminencia media (EM) y la zona de contacto adenoneurohipofisario. Un cordón celular de la pars tuberalis ofrece una gran cavidad pseudofolicular (C). Obsérvese que las paredes de esta cavidad están constituidas por las prolongaciones citoplasmáticas de células intersticiales o foliculares (las más oscuras en la figura).

FIG. 2. — *Islote de pars tuberalis de gato*. Se observa un conglomerado de células cromóforas y sobre él una célula con muchos gránulos secretores. Aumentos del negativo de 35 mm: 975 $\times$ .

FIG. 3. — *Islote de pars tuberalis de hipófisis de gato ordenado en forma de pseudo-folículo*. El islote está constituido por células intersticiales, células cromóforas y células con una gran cantidad de gránulos secretores. Obsérvese la amplitud de la sustancia amorfa que aísla al islote de la zona de contacto. El islote está muy próximo a la eminencia media (EM) y casi contactando con una célula glial (señalada por una flecha); en su interior hay una gran cavidad (C). Aumentos del negativo de 35 mm: 470 $\times$ .

FIG. 4. — Visión a mayores aumentos de un fragmento de la célula que aparece en la parte superior del islote de la pars tuberalis de la figura anterior. La célula contiene una gran cantidad de gránulos secretores y su aparato de Golgi (G) está muy desarrollado. Aumentos del negativo de 35 mm: 2.240 $\times$ .

gura 7). Algunos cordones carecen de cavidad, al menos al nivel donde se ha dado el corte, pero no hay certeza de que a otros niveles no exista.

En el interior de la cavidad, por regla general, hay una sustancia coloidal muy densa, que en las microfotografías de los cortes semifinos aparece como un todo homogéneo (fig. 1) rellenándola completamente. A los grandes aumentos del microscopio electrónico, tal sustancia está constituida por grumos densos a los electrones (fig. 9). En otras ocasiones la sustancia coloidal presenta una amplia región central de una gran densidad y otra periférica menos densa (fig. 11), y aún hay otras en que en el interior hay poco contenido y entonces resaltan los microvilli de las células, cuyas paredes forman la cavidad (fig. 10). En las cavidades muy pequeñas, como las que hemos visto en la región dorsal de la pars tuberalis, no parece haber sustancia en su interior, pero continúan resaltando los grandes microvilli (fig. 7). Algunas de ellas, como por ejemplo la cavidad que aparece en la figura 7, tiene la particularidad de que aparentan ser unicelulares, lo cual no puede ser confirmado, porque podría tratarse de uno de los polos de la cavidad y, por lo tanto, en niveles distintos a donde se ha dado el corte, las paredes cavitarias podrían estar integradas por otras células.

Nuestro análisis ultraestructural de la pars tuberalis de la adenohipófisis del gato permite distinguir tres grupos diferentes de células: a) células intersticiales o foliculares; b) células cromóforas; c) células con gran cantidad de gránulos de secreción.

#### a) *Células intersticiales o foliculares*

Este tipo celular es muy abundante en la pars tuberalis. Le asignamos el término de células intersticiales para respetar la nomenclatura de CAMERON y FOSTER (1972). Estos autores llamaron así a un tipo celular de la pars tuberalis de la hipófisis de conejos, que se caracteriza por sus prolongaciones finas que abrazan a las otras células; y utilizamos también el término de células foliculares porque éstas son las que forman las paredes de las cavidades (folículos y pseudofolículos).

Son células que en los cortes semifinos, teñidos con el azul de toluidina, tienen una gran apetencia por el colorante, por lo que en las fotografías a blanco y negro resaltan por la oscuridad de su citoplasma (fig. 1). En las micrografías electrónicas este tipo celular ofrece una gran densidad electrónica de su citoplasma, por lo que permite distinguirlo fácilmente de los otros tipos celulares

por ser las células más oscuras que aparecen en las imágenes (figuras 3, 6 y 8).

Se trata de células con morfología irregular a causa de las prolongaciones citoplasmáticas, a veces muy finas, que se introducen entre las células vecinas (fig. 7) y que, al llegar a los márgenes del islote, se ramifican e intentan abrazar la periferia de éste (figura 6). En aquellos cordones celulares, en cuyo espesor aparece una cavidad, las células intersticiales ofrecen por regla general una



FIG. 5. — Detalle de la zona señalada con una flecha en la figura 3. En la parte inferior de la figura aparece un fragmento del citoplasma de una célula que contiene gran cantidad de gránulos secretorios. La flecha señala una evaginación "cubierta" que se abre al espacio extracelular. En la parte superior de la figura aparece una célula (GL) de la eminencia media, cuyas prolongaciones citoplasmáticas están separadas de la célula del islote de la pars tuberalis por la lámina basal (LB). Aumentos del negativo de 35 mm: 9.100×.

acentuada polaridad: el núcleo está alejado de la cavidad y la célula emite una larga y ancha prolongación citoplasmática que contribuye a formar la pared de la cavidad (figs. 1 y 8). A veces, y sobre todo cuando la cavidad es pequeña, el núcleo está próximo a ésta (fig. 10), pero el hecho cierto es que las paredes de la cavidad están constituidas exclusivamente por el citoplasma de las células intersticiales, razón que justifica el término de células fo-

liculares. En las proximidades de la cavidad, las células intersticiales se relacionan entre sí por largos complejos de unión en los que podemos ver las zónulas ocludens, las zónulas adherens y los desmosomas (fig. 10), y hacia la luz del folículo, como ya hemos dicho, emiten abundantes y largos microvilli (véase la misma figura 10).

En su citoplasma existe retículo endoplásmico rugoso, no muy abundante y dispuesto en tramos cortos y que forman cisternas estrechas, y polirribosomas diseminados (fig. 10). El aparato de Golgi está, por regla general, poco desarrollado (fig. 10). Presentan gotas de lípidos y en algunas células hay numerosos lisosomas de gran tamaño (fig. 11), que se sitúan en las prolongaciones del citoplasma que va a formar pared del folículo. Otra de las características es la presencia de filamentos, que en ocasiones son muy abundantes y se unen para formar haces (fig. 9).

Las mitocondrias, de matriz densa, son siempre más abundantes en la prolongación ancha que forma la pared folicular. Hay algunas células que nosotros incluimos dentro del tipo de las intersticiales, porque también pueden formar pared del folículo o del seudofolículo, cuya característica más sobresaliente es la extraordinaria abundancia de mitocondrias (fig. 11).

#### b) Células cromófobas

Son células que aparecen en grupos (fig. 2) o aisladas (fig. 8), de forma oval o redondeada. Su núcleo adquiere morfología muy diversa de una célula a otra, y puede ser redondo (fig. 8) o de formas muy irregulares (fig. 6). Se trata de células con el citoplasma claro, de aspecto jaspeado, que se diferencian perfectamente de las células intersticiales en aquellas imágenes en donde aparecen ambos tipos celulares (figs. 7 y 11).

El retículo endoplásmico rugoso es laminar y sus tramos, formados por membranas, entre las cuales quedan espacios cisternales muy estrechos, suelen disponerse paralelos entre sí en uno de los polos de la célula. En el aspecto jaspeado del citoplasma, resaltan esos tramos de retículo endoplásmico rugoso, los polirribosomas, algunas vesículas pequeñas y estrechas de retículo endoplásmico liso y otros orgánulos, como microtúbulos y el aparato de Golgi. Éste puede alcanzar gran desarrollo en algunas células y en la región golgiana puede verse también vesículas "cubiertas" y pequeños gránulos. Las mitocondrias no son muy abundantes, aunque en algunas células pueden ser de gran tamaño. Son casi constantes las gotas de lípidos en el citoplasma de este tipo celular (figs. 2 y 7).

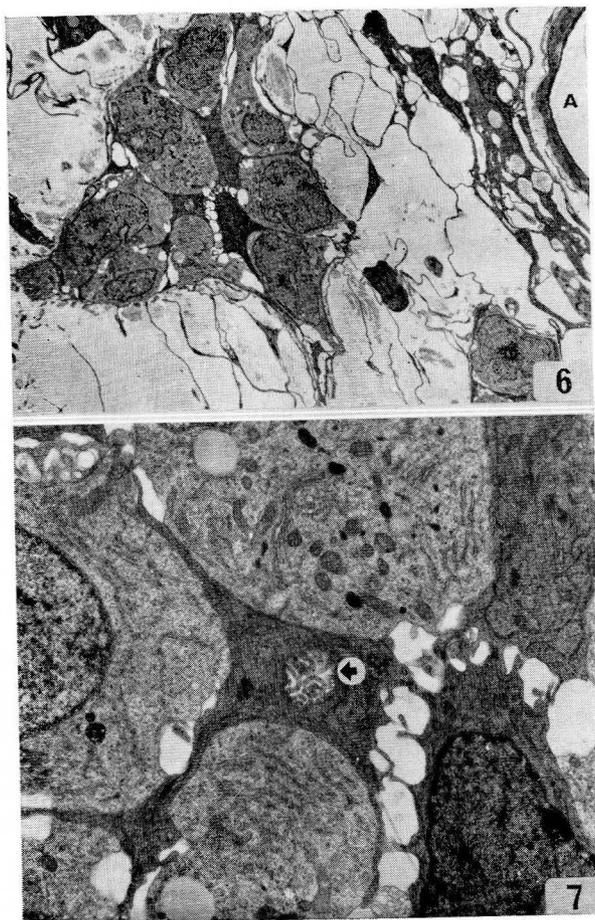


FIG. 6. — Región dorsal de la pars tuberalis de gato. A este nivel los islotes celulares están separados por un tejido conectivo laxo, cuyos fibroblastos emiten finas prolongaciones; unas de esas prolongaciones se extienden hasta la periferia de los islotes, y otras hasta la pared de los vasos. En la figura puede verse parte de la sección de una arteriola (A). Aumentos del negativo de 35 mm: 470×.

FIG. 7. — Detalle del islote celular de la figura anterior. Obsérvense células intersticiales con finas prolongaciones citoplasmáticas. También se ven varias células cromóforas. La flecha señala una pequeña cavidad con microvilli. Aumentos del negativo de 35 mm: 975×.

A todos estos detalles habría que añadir que no se trata de células granulares, si bien en algunos casos (como el grupo de la fig. 3) no aparecen gránulos en el citoplasma. Ya hemos denunciado la existencia de algún gránulo secretor en la región golgiana. Ahora bien, los gránulos que poseen estas células son escasísimos y de pequeño tamaño, con un contenido denso y homogéneo, membrana perigranular y halo entre ésta y aquél (fig. 7). En el citoplasma de estas células hay también algunos cuerpos densos de carácter lisosomal (fig. 7), que no deben ser confundidos con los gránulos.

### c) Células con gran cantidad de gránulos secretores

La presencia de células granulares en los islotes celulares de la pars tuberalis no es ni mucho menos excepcional (figs. 2, 3 y 4). A nuestro modo ver se trata de adenocitos granulares típicos, perfectamente identificables con alguno o algunos de los tipos celulares que existen en la pars distalis de la adenohipófisis del gato. En la figura 4 pueden verse las características citoplasmáticas de una de estas células. En este caso se trata de un adenocito con gran cantidad de gránulos de secreción, distribuidos por todo el citoplasma, con abundante ergastoplasma celular y paralelo, polirribosomas y aparato de Golgi acampanado y bien desarrollado, con cisternas que presentan contenido en su interior, indicio de su actividad. Sus gránulos son densos y grandes (más de 300 nm). Este adenocito ha sido mencionado a propósito de la íntima relación que pueden adquirir los islotes con la eminencia media, y ya dijimos que solamente la estrecha lámina basal (fig. 5) le separaba de una célula glial. Debe haber una gran actividad de intercambio entre la célula y el espacio extracelular que se enfrenta a la lámina basal, porque en uno de los repliegues de la membrana celular encontramos una invaginación "cubierta" (flecha de la fig. 39).

### Discusión

Iniciamos esta discusión con un problema terminológico. En todos los capítulos precedentes hemos utilizado el término de "pars tuberalis", confirmado por la Nomenclatura histológica para designar la porción de la adenohipófisis extraselar o proximal, que es vecina de la eminencia media del túber cinereum. En la Nomenclatura anatómica esta porción adenohipofisaria recibe el nombre de "pars infundibularis", porque a modo de un collar contacta con el infundíbulo nervioso. Estas diferencias terminológicas traducen las preferencias de la escuela anglosajona y de la alemana y, en cierto modo, las controversias sobre la subdivisión, no de la adenohipófisis, sino de la neurohipófisis.

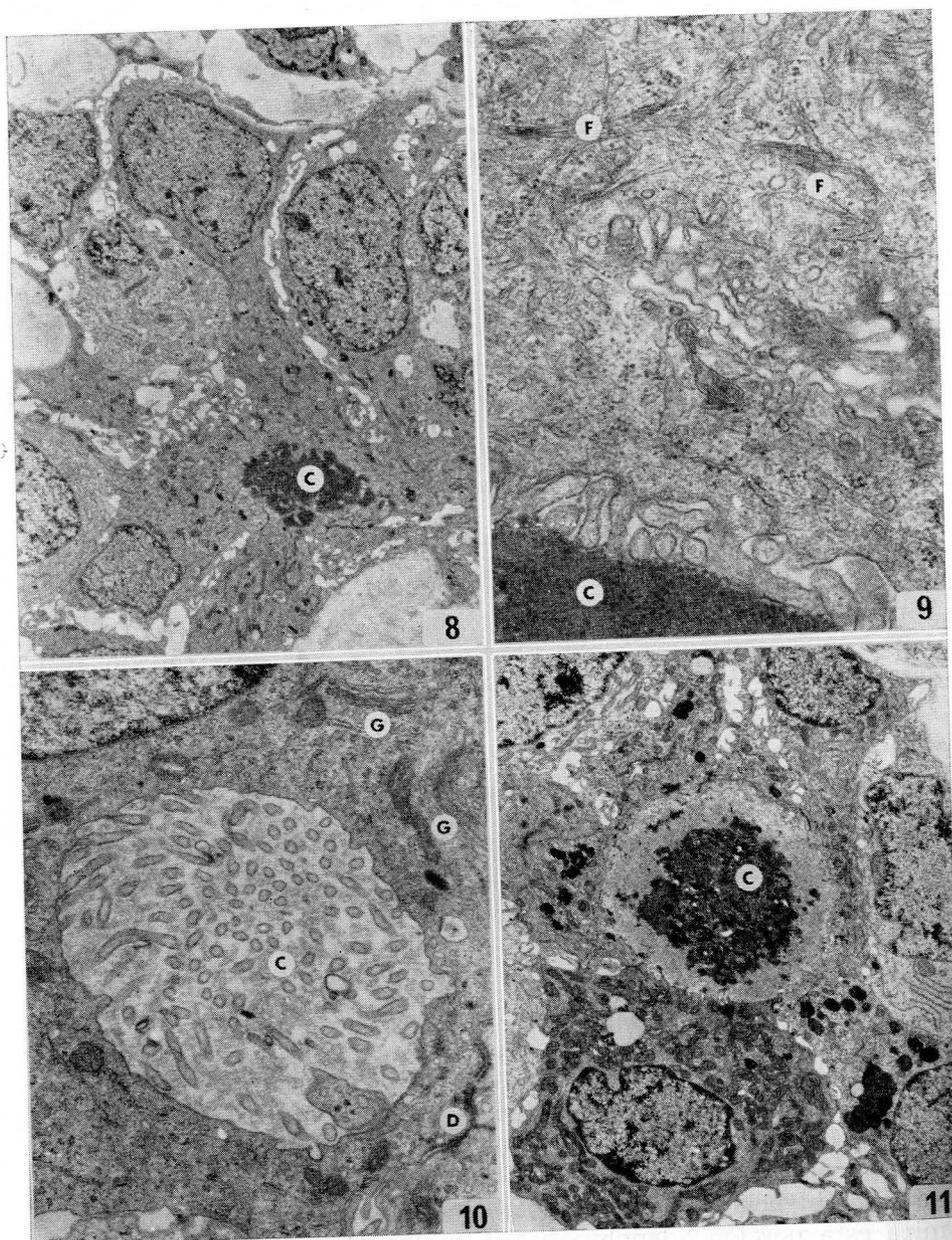


FIG. 8. — *Pars tuberalis de la hipófisis de gato*. En el cordón celular de esta figura aparecen células cromóforas y células intersticiales. Una de estas últimas emite una ancha prolongación citoplasmática que llega hasta la cavidad (C). Las paredes de la cavidad están formadas exclusivamente por células foliculares. El interior de la cavidad contiene una sustancia muy densa a los electrones. Aumentos del negativo de 35 mm: 975 $\times$ .

SPATZ y su escuela subdividieron la neurohipófisis en dos porciones: una proximal, que es extraselar, a la que denominaron infundíbulo; y otra distal o intraselar, constituida por el lóbulo posterior de la hipófisis (SPATZ, 1952). En consecuencia, a la porción extraselar adenohipofisaria, que contacta con el infundíbulo, la llamaron *pars infundibularis* (SPATZ, DIEPEN y GAUPP, 1948). TILNEY (1913) utilizó por vez primera el término *pars tuberalis* para esta región epitelial de la hipófisis, y posteriormente (TILNEY, 1936) acuñó también el término «eminencia media» del túber. A pesar de la crítica que SPATZ, DIEPEN y GAUPP (1948) hicieron de estos términos, su difusión fue extraordinaria.

Este problema terminológico podría parecer bizantino y reducirse simplemente a que una misma porción adenohipofisaria recibiera dos nombres distintos: los de *pars infundibularis* y *pars tuberalis* con que aparecen, respectivamente, en las nóminas anatómica e histológica. Pero no es así, ya que los términos no son sinónimos según estas nóminas, o más concretamente, según la nómina histológica. En esta última aparece el término de *pars infundibularis* para designar el lóbulo posterior de la hipófisis. Por todo ello, con el fin de evitar confusiones y aun a pesar que la terminología de SPATZ y de su escuela nos parece lógica, hemos optado por utilizar exclusivamente el nombre de *pars tuberalis*.

En el caso del gato, hemos comprobado que la *pars tuberalis* se ordena en cordones celulares en cuyo interior casi siempre se observa la presencia de una cavidad, la cual, a veces, es de gran tamaño y constituye un seudofolículo. Desde el punto de vista de la citología, en estos islotes hemos diferenciado tres grupos celulares distintos.

Un tipo celular muy frecuente en la *pars tuberalis* es el que hemos denominado *células intersticiales* o *foliculares*, cuyas prolon-

FIG. 9. — *Células intersticiales de la pars tuberalis de gato*. En el citoplasma de estas células suele haber gran cantidad de microfilamentos (F) reunidos en forma de haces. En la parte inferior de la figura aparecen los microvilli, que se proyectan hacia una cavidad (C) en la cual hay material muy denso. Aumentos del negativo de 35 mm: 9.100 $\times$ .

FIG. 10. — *Cavidad folicular pequeña de la pars tuberalis de gato*. Toda la pared está constituida por células intersticiales, ligadas entre sí por complejos de unión (D). En el interior de la cavidad se ven los microvilli y una sustancia muy poco concentrada y poco densa a los electrones. Obsérvese el aparato de Golgi (G) de una célula intersticial. Aumentos del negativo de 35 mm: 4.380 $\times$ .

FIG. 11. — *Islote celular de la pars tuberalis de gato*. En el islote aparecen una célula cromófora y varias células intersticiales. En el centro de la figura hay una cavidad redonda con un contenido que es muy denso y homogéneo en el centro y mucho menos denso en la periferia. Una de las células intersticiales presenta una gran abundancia de mitocondrias. En otras pueden verse lisosomas, algunos de gran tamaño. Aumentos del negativo de 35 mm: 1.490 $\times$ .

gaciones citoplasmáticas, ligadas entre sí por complejos de unión, forman las paredes de las cavidades. Estas células, agranulares, en cuyo citoplasma es frecuente encontrar material fibrilar, presentan características semejantes a las células estrelladas descritas en el lóbulo anterior hipofisario (SMITH, 1963; SALAZAR, 1963, 1968; SCHECHTER, 1969; AMAT y BOYA, 1970 y 1973). A su vez, hay autores que piensan que la célula estrellada pertenece a la misma categoría que la célula folicular descrita por FARQUAR (1957) en la hipófisis anterior de la rata y a la que esta autora asignó una función corticotropa. Este tipo celular, la *célula folículo-estrellada* del lóbulo anterior de la hipófisis, descrita por KAGAYAMA (1965) en perro y por VILA-PORCILE (1973) en rata, cuyas prolongaciones citoplasmáticas podrían contribuir a formar pequeñas cavidades foliculares, tendría como misión fundamental la de formar una red, cuyas mallas sostendrían al resto de los adenocitos granulares. Nosotros pensamos que la que hemos denominado célula intersticial o folicular de la pars tuberalis del gato puede ser identificada con la célula folículo-estrellada del lóbulo anterior y, en consecuencia, no constituye un tipo celular exclusivo de la pars tuberalis.

A otra categoría celular de la pars tuberalis de la adenohipófisis del gato la hemos llamado *célula cromófoba*. La cromofobia es una cualidad citológica definida por la microscopía óptica, pero que, como ha demostrado la microscopía electrónica, no debe ser identificada como carencia de gránulos secretores. En efecto, HAGUENAU y BERNHARD (1955) demostraron que muchas células consideradas como cromófbas con el microscopio óptico podrían contener gránulos. Recientemente, HERLANT (1975) ha insistido en este aspecto de la cromofobia, y con razón afirma que los gránulos secretores cuyo diámetro no sobrepasa los 150 nm no pueden ser detectados con el microscopio de luz. Las células cromófbas de la pars tuberalis del gato, cuando tienen gránulos, son muy escasos y muy pequeños y suelen estar esparcidos por el citoplasma, por todo lo cual hemos convenido en llamarlas cromófbas. Por otra parte, el citoplasma de estas células, además de los pequeños gránulos secretores, tiene otras características ultraestructurales que las hace semejantes a las que muchos autores designan como células corticotropas, entre ellos HERLANT (1974), quien al discutir los aspectos de la cromofobia de las células adenohipofisarias, identifica esas células con gránulos de tamaño no superior a los 150 nm, como corticotropas. RINNE (1966) afirma la existencia de células corticotropas en la pars tuberalis de la rata en estudios llevados a cabo con el microscopio electrónico. LEGAIT y LEGAIT (1969) y LEGAIT y col. (1971) confirman también la existencia de células corticotropas en la pars tuberalis de varios mamíferos; es más, en el último de

los trabajos de estos investigadores se describe que, después del tratamiento con metopirona, las células cromófbas se hipertrofian y se vacuolizan, por lo que éstas deben estar relacionadas con la función corticotropa. Nosotros no queremos discutir el papel funcional que pueda corresponder a las células cromófbas de la pars tuberalis del gato; lo que queremos resaltar es que, al igual que las células intersticiales o foliculares, las cromófbas con características ultraestructurales idénticas a las descritas no sólo existen en la pars tuberalis, sino también en el lóbulo anterior de la hipófisis del gato. En efecto, la corticotropa de la pars tuberalis es idéntica a la que nosotros (AMAT, 1974) hemos denominado "tipo V" de la pars distalis de la adenohipófisis del gato.

Por último, hemos visto en la pars tuberalis del gato otro grupo de células que contienen gran número de gránulos secretores en su citoplasma. Este grupo, en el que probablemente habrá diversidad de tipos celulares, es el más característico del lóbulo anterior de la hipófisis del gato (AMAT, 1974). Es curioso el hecho de que en la pars tuberalis de la hipófisis de gatos recién nacidos e impúberes, existen células intersticiales y células cromófbas, pero no las que contienen una gran cantidad de gránulos secretores. Si la carencia de este grupo celular se confirma en la pars tuberalis de gatos recién nacidos e impúberes (aunque nosotros —AMAT y PALOMERO, 1976— ya lo hemos observado en un estudio preliminar que está falto de una ulterior observación en mayor número de animales), no cabría más que una doble explicación: o las células con gránulos secretores emigran desde la pars distalis a la pars tuberalis a lo largo del período de crecimiento, o bien aquéllas se originarían por diferenciación de las células foliculares o de las cromófbas durante dicho período.

### Conclusiones

La pars tuberalis de la adenohipófisis de los gatos adultos se ordena en forma de islotes o cordones celulares en los que hay una cavidad de mayor o menor diámetro. Estos cordones están aislados entre sí y de la eminencia media por una lámina basal, tejido conectivo y vasos.

Las células de los cordones de la pars tuberalis pueden pertenecer a uno de estos tres grupos: 1) Células intersticiales o foliculares, agranulares, que forman las paredes de las cavidades foliculares o seudofoliculares. 2) Células cromófbas en cuyo citoplasma puede haber un escaso número de gránulos secretores pequeños. 3) Células en cuyo citoplasma existe una cantidad grande de gránulos secretores.

Ninguno de estos grupos de células es exclusivo de las pars tuberalis. Las células intersticiales o foliculares pueden ser identificadas con las células estrelladas o células foliculo-estrelladas de algunos autores, que existen en el lóbulo anterior. Asimismo, las células cromóforas y las células que contienen gran cantidad de gránulos secretorios pueden corresponder a los adenocitos secretorios de la pars distalis de la adenohipófisis.

### Summary

From electron microscopic studies of the Pars tuberalis of the cat, it was determined that its structure consists of cellular cords in which a small or large cavity could be seen. The cells of the Pars tuberalis belong to one of three groups:

- Follicular or interstitial cells.
- Chromophobe cells.
- Cells with a large number of secretory granules in their cytoplasm.

These three cellular groups also exist in the Pars distalis of the adenohipophysis.

### Zusammenfassung

In diesem Beitrag hat man die Pars tuberalis der Adenohipophyse studiert. Die Pars tuberalis ist durch Zelleninseln gebildet. In diesen Inseln trenn normalerweise Höhlen auf, die klein oder grose sein können.

Die Zellen der Pars tuberalis gehören zu einer dieser drei Gruppen:

- Follikuläre oder interstitielle Zellen.
- Chromophobe Zellen.
- Zellen in deren Zytoplasma findet man zahlreiche sekretorische Granula.

Diese drei Zellgruppen sind auch in der Pars distalis adenohipophyseos vorhanden.

### Resumé

On fait une étude ultrastructurale de la pars tuberalis de l'adenohipophyse chez le chat.

La pars tuberalis est constituée par des amas cellulaires où on peut voir une petite ou grande lumière.

Les trois groupes suivants d'éléments cellulaires ont pu être observés au niveau du lobe tubéral du chat:

- Cellules folliculaires ou interstitielles.
- Cellules chromophobes.
- Cellules dont le cytoplasme possède un grand nombre de granules de sécrétion.

Les trois groupes cellulaires existent aussi dans la pars distalis de l'adenohipophyse.

### BIBLIOGRAFÍA

- AMAT, P. (1974): Etude ultrastructurale de l'adenohipophyse chez le chat. "Bull. Ass. Anat.", **58**: 455-466.
- AMAT, P., y J. BOYA (1970): Estudio preliminar de la ultraestructura del lóbulo anterior de la hipófisis del cobaya. "An. Anat.", **19**: 437-454.
- AMAT, P., y J. BOYA (1973): Estudio comparativo de la célula estrellada de la adenohipófisis. "An. Anat.", **22**: 5-24.
- AMAT, P., y C. PALOMERO (1976): Ultraestructura de la pars tuberalis de la adenohipófisis del gato. (Comunicación al IX Congreso de la Sociedad Anatómica Española. Granada.)
- CAMERON, E., y C. L. FOSTER (1972): Some light and electron microscopical observations on the pars tuberalis of the pituitary gland of the rabbit. "J. Endocr.", **54**: 505-511.
- FARQUHAR (1957): Corticotrophs of the rat adenohipophysis as revealed by electron microscopy. "Anat. Rec.", **127**: 291.
- HAGUENAU, F., y W. BENHARD (1955): L'appareil de Golgi dans les cellules normales et cancéreuses de Vertébrés. Rappel historique et étude au microscope électronique. "Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp.", **44**: 27-55.
- HARRIS, G. W. (1955): The function of the pituitary stalk. "Bull. Johns Hopk. Hosp.", **97**: 358-375.
- HERLANT, M. (1975): In: The anterior pituitary. Edit. by A. TIXIER-VIDAL y M. G. FARQUHAR. Academic Press, Inc. New York, pp. 1-19.
- HOLMES, R. L., y J. N. BALL (1974): The pituitary gland. A comparative account. Cambridge University Press.
- KAGAYAMA, M. (1965): The follicular cell in the pars distalis of the dog pituitary gland: an electron microscope study. "Endocrinology", **77**: 1053-1060.
- LEGAIT, H., y E. LEGAIT (1969): Recherches morphologiques sur la pars tuberalis de l'hipophyse des Mammifères. "Bull. Ass. Anat.", **142**: 1153-1157.
- LEGAIT, E., H. LEGAIT y M. ROUX (1971): Etude de la pars tuberalis de l'hipophyse chez le porc miniature placé dans diverses conditions expérimentales. "Bull. Ass. Anat.", **151**: 420-426.
- RINNE, U. K. (1966): Ultrastructure of the median eminence of the rat. "Z. Zellforsch.", **74**: 1-108.
- SALAZAR, H. (1963): The pars distalis of the female rabbit hypophysis: An electron microscopic study. "Anat. Rec.", **147**: 469-497.
- SALAZAR, H. (1968): Ultrastructural evidence for the existence of a non-secretory, sustentacular cell in the human adenohipophysis. "Anat. Rec.", **160**: 419-420.
- SCHECHESTER, J. (1969): The ultrastructure of the stellate cell in the rabbit pars distale. "Amer. J. Anat.", **126**: 477-488.
- SMITH, R. E. (1963): An electron microscopic study of the adenohipophysis of the guinea pig. "Anat. Rec.", **145**: 352 (Abstr.).
- SPATZ, H. (1952): Neus über das Hypophysen-Hypothalamus-System und die Regulation der Sexualfunktionen. "Regenburg. Jb. ärztl. Fortbild.", **2**: 311-332.
- SPATZ, H., R. DIEPEN y V. GAUPP (1948): Zur Anatomie des Infundibulum und des Tuber cinereum beim Kaninchen. "Dtsch. Z. Nervenheilk.", **159**: 229-268.
- TILNEY, F. (1913): An analysis of the juxta-neural epithelial portion of the hypophysis cerebri, with an embryological and histological account of a hitherto undescribed part of the organ. "Int. Mschr. Anat. Physiol. (Lpz)", **30**: 258-293.

- TILNEY, F. (1936): The development and constituents of the human hypophysis. "Bull. neurol. Inst. N. Y.", **5**: 387-436.
- VILA-PORCILE, E. (1973): La pars distalis de l'hypophyse chez le rat. Contribution à son étude histologique et cytologique en microscopie électronique. "Ann. Sci. Naturelles, Zool. (Paris)", **15**: 61-138.
- VILA-PORCILE, E., J. C. NOUET, B. SMIECHOWSKA y L. OLIVIER (1970): Problèmes posés par les techniques de fixation du lobe distal de l'adénohypophyse. (Microscopie photonique et électronique). "Bull. Ass. Anat.", **149**: 1058-1065.

P. AMAT  
Departamento de Anatomía  
Facultad de Medicina  
Salamanca (España)



## ESTUDIO ESTEREOTÁXICO DEL COMPLEJO NUCLEAR TRACTO SOLITARIO Y ESTRUCTURAS VECINAS EN EL GATO<sup>(1)</sup>

Por

C. AVENDAÑO<sup>(2)</sup> y F. DELGADO<sup>(3)</sup>

### Introducción

EL fascículo solitario y su complejo nuclear fueron reconocidos desde los trabajos de STILLING (1842) y VAN GEHUCHTEN (1900). RAMÓN Y CAJAL (1904) considera a dicho fascículo formado por fibras aferentes, sensitivas, de los pares VII, IX y X y reconoce en torno a él un núcleo dividido en dos partes, que denomina "foco intersticial" o parte externa, y "ganglio descendente" o parte interna del núcleo.

Posteriormente, otros autores (ALLEN, 1923; TORVIK, 1956; BRODAL, SZABO y TORVIK, 1956; TORVIK, 1957; COTTLE, 1964) insisten en los mismos planteamientos, considerando al fascículo solitario y sus núcleos como importantes centros para la recepción de estímulos sensitivos viscerales, especialmente los conducidos por el nervio vago.

El complejo solitario ha sido objeto de múltiples estudios experimentales (véase la revisión de TORVIK, 1956), la mayor parte de los cuales se asentaban en descripciones clásicas del mismo. Sin embargo, mientras que existen diversos atlas y estudios citoarquitectónicos de este complejo (MEESSEN y OLSZEWSKI, 1949; OLSZEWSKI y BAXTER, 1954; TABER, 1961), son escasos e incompletos los estudios estereotáxicos del mismo, concretamente en el gato (REINOSO-SUÁREZ, 1961; BERMAN, 1968).

(1) Trabajo realizado en el Departamento de Morfología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid. (Director: Prof. Dr. F. Reinoso-Suárez.)

(2) Prof. ayudante del Departamento de Morfología de la Facultad de Medicina de la U. A. de Madrid.

(3) Alumno interno del Departamento de Morfología de la Facultad de Medicina de la U. A. de Madrid.

El objeto de este trabajo es presentar un estudio estereotáxico detallado del complejo nuclear del tracto solitario en el tronco del encéfalo del gato, así como de las estructuras que los delimitan. Se añade, además, una descripción de su morfología celular, junto con imágenes histológicas demostrativas de la misma.

### Material y métodos

Se han utilizado las siguientes series de preparaciones histológicas del tronco del encéfalo del gato:

Tratamiento de la pieza	Sección	Grosor	Tinción	Núm. de series
Congelación	Frontal	40 $\mu\text{m}$	Nissl	2
Congelación	Frontal	40 $\mu\text{m}$	Klüver-Barrera	2
Congelación	Frontal		Nissl	1
Inclusión parafina	Frontal	5 $\mu\text{m}$	Klüver-Barrera	1
Inclusión parafina	Frontal	5 $\mu\text{m}$	Feyrter modificado	1
Congelación	Sagital	40 $\mu\text{m}$	Nissl	2
Congelación	Sagital	40 $\mu\text{m}$	Klüver-Barrera	1
Inclusión parafina	Sagital	7 $\mu\text{m}$	Klüver-Barrera	1
Inclusión parafina	Sagital	7 $\mu\text{m}$	Nissl	1

Los datos estereotáxicos del atlas de REINOSO-SUÁREZ (1961) han servido de base al presente estudio. Las mediciones que presenta dicho atlas son el resultado de promediar mediciones individuales de 60 gatos adultos de ambos sexos comprendidos entre 2 y 3 Kg de peso.

Utilizando estas medidas estereotáxicas se prepararon reconstrucciones teóricas del perfil del tronco del encéfalo, tanto en cortes sagitales como frontales, y sobre ellas se trazaron las diversas estructuras correspondientes a cada plano. Para ello, primero se proyectó el corte histológico apropiado a cada nivel y a continuación se completaron los detalles más finos mediante el uso de una lupa binocular y de un microscopio.

De este modo se obtuvo una serie de planos frontales con intervalos de un milímetro entre uno y otro (láminas). A ellos se añadieron microfotografías de las secciones histológicas, teñidas con el método de Nissl, correspondientes aproximadamente al punto medio de cada intervalo. Se presentan así mismo dos imágenes histológicas de los cortes sagitales donde aparece más significativamente el complejo del tracto solitario (fig. 1).

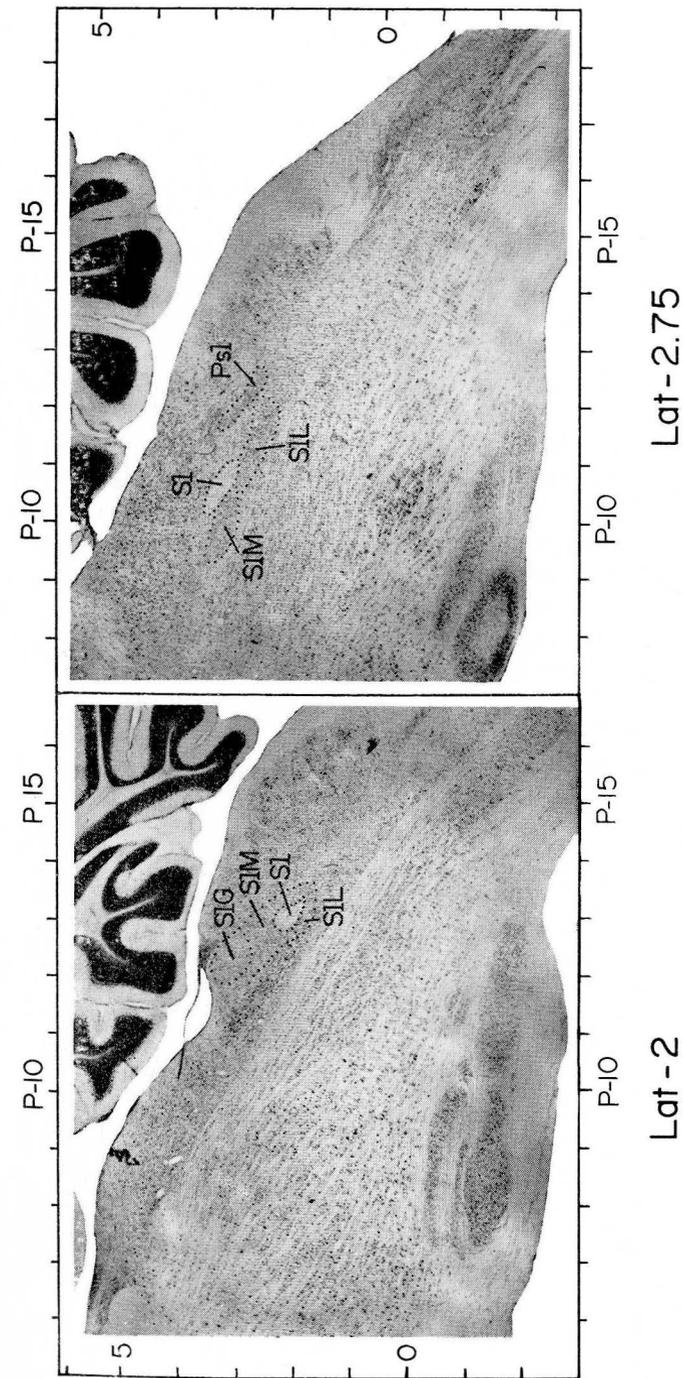


Fig. 1. — Cortes sagitales del tronco del encéfalo del gato, a 2 y 2.75 mm de la línea media, sobre los que se delimitan (punteado) el tracto solitario (SI) y los núcleos medial (SIM), lateral (SIL), gelatinoso (SIG) y parasolitario (Psi). Las escalas anteroposterior y vertical indican, en milímetros, las medidas estereotáxicas.

### Resultados

El fascículo solitario en el gato se extiende desde la parte caudal de la decusación de las pirámides (P-15) hasta el polo inferior del núcleo del VII par craneal (P-8). En todo su trayecto se halla rodeado por unas agrupaciones celulares, que forman dos contingentes principales: uno situado medial y dorsomedialmente al tracto (núcleo medial del tracto solitario, S1M; planos P-9.5 a P-15) y otro ventrolateral al mismo (núcleo lateral del tracto solitario, S1L; P-9.5 a P-13.5). Las células que integran el primero, de mediano y pequeño tamaño, tienen forma redondeada o poligonal, con finos granos de Nissl, y se agrupan más densamente en las porciones más próximas al tracto (fig. 2, A). El núcleo lateral está formado también por células medianas y pequeñas, redondeadas u ovales, que se agrupan de forma variable en los distintos niveles del núcleo; entre ellas se encuentran salpicados algunos elementos celulares de mayor tamaño que llegan a alcanzar las 35  $\mu\text{m}$  y se tiñen intensamente; así mismo pueden verse algunas células es-

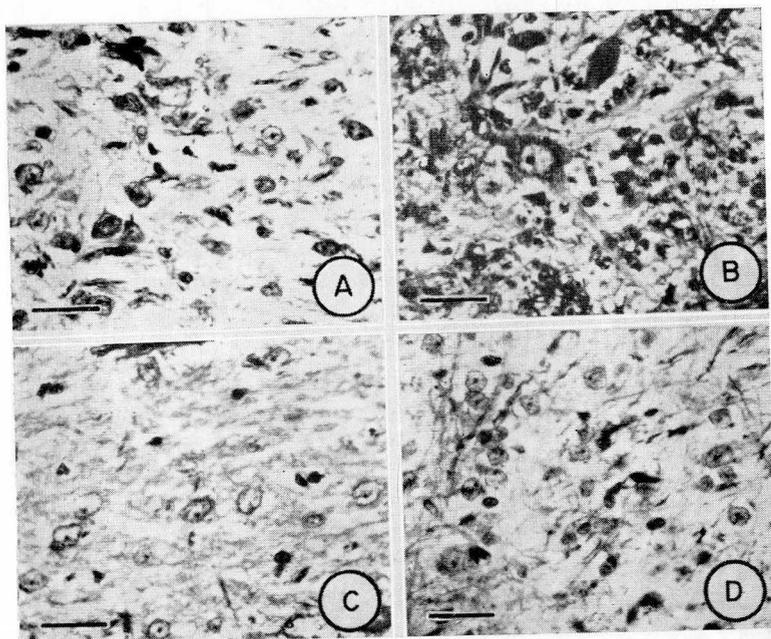


FIG. 2. — Diversas secciones incluidas en parafina, teñidas por el método de Klüver-Barrera, que demuestran la arquitectura de las diversas porciones del complejo nuclear del tracto solitario: núcleo lateral (A), núcleo medial (B), núcleo gelatinoso (C) y núcleo parasolitario (D). Barra = 25  $\mu\text{m}$ .

trelladas, medianas o pequeñas, con escaso citoplasma, muy intensamente teñidas por el violeta (fig. 2, B). Aparte de estas agrupaciones nucleares es posible observar unas pocas células de pequeño tamaño entremezcladas con las fibras del tracto solitario en todo su trayecto. Respecto a la mieloarquitectura de ambas porciones, es de destacar la escasez de fibras, detectada con los métodos mielínicos o de plata, en el núcleo medial, mientras que el núcleo lateral presenta un plexo fibroso más rico.

Dentro de lo que sería en sentido amplio el núcleo medial se puede distinguir una parte con características peculiares, descrita por OLSZEWSKI y BAXTER (1954) en el hombre, como "subnúcleo gelatinoso" (P-11.5 a P-12.5). Dicho subnúcleo se localiza dorsalmente al núcleo medial propiamente dicho del fascículo solitario, continuando al área postrema rostralmente y limitado dorsalmente por el estrato glioso subependimario y el núcleo Z de Brodal (plano P-12). En tinción de Nissl se observa, constituido por células pequeñas, dispersas, pálidas, y de forma ovoidea, sobre un fondo de textura peculiar que le confiere un aspecto gelatinoso. En tinciones para mielina se observa dicho aspecto gelatinoso con una carencia completa de fibras mielinizadas (fig. 2, C).

Por último, podemos incluir en el complejo solitario un pequeño "núcleo parasolitario" (P-11 a P-13). De forma oblonga en los cortes frontales, de aspecto compacto y con células ovoideas, está separado del complejo nuclear principal del tracto solitario por un estrecho espacio medular y limita dorsalmente con el núcleo Z de Brodal y con el núcleo cuneatus medialis (figs. 1; 2, D).

El grupo medial es más amplio que el lateral, alcanzando una mayor extensión rostrocaudalmente. En su extremo más caudal, en la zona en que se abre el conducto endimario para formar el IV ventrículo, ambos núcleos mediales confluyen aparentemente en la línea media dorsalmente al conducto del epéndimo, formando lo que RAMÓN Y CAJAL (1904) denominó "núcleo comisural" (P-14 a P-15). Dicho "núcleo" está formado por células de pequeño tamaño que ocupan la línea media dorsalmente al canal del epéndimo, conteniendo así mismo numerosas fibras que cruzan la línea media y se dirigen al lado contralateral.

En su continuación rostral el núcleo medial va adquiriendo una posición más lateral, quedando limitado dorsalmente por el área postrema y medialmente por el núcleo motor dorsal del vago (P-12 a P-13.5). En niveles rostrales esta prolongación del núcleo medial rodea casi completamente al fascículo solitario, ocupando una posición ventral con respecto al núcleo vestibular inferior (P-11.5 a P-10).

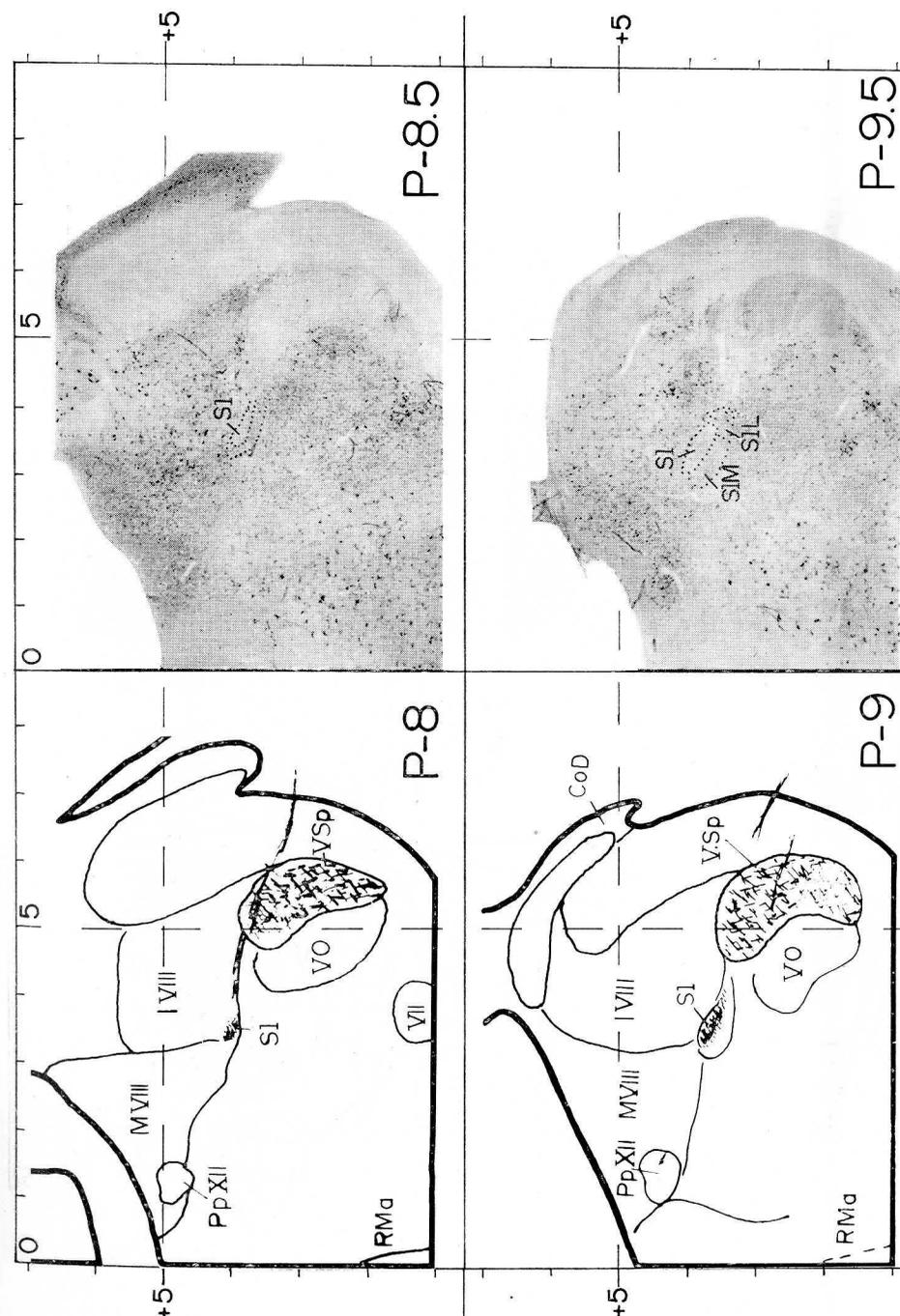
El núcleo lateral tiene una extensión rostrocaudal menor, apareciendo lateroventralmente al tracto solitario a nivel del área postrema (P-13.5) En su extremo más rostral pierde sus características observándose a ese nivel una pequeñas células dispersas situadas ventrolateralmente al tracto solitario (P-9.5).

### Discusión

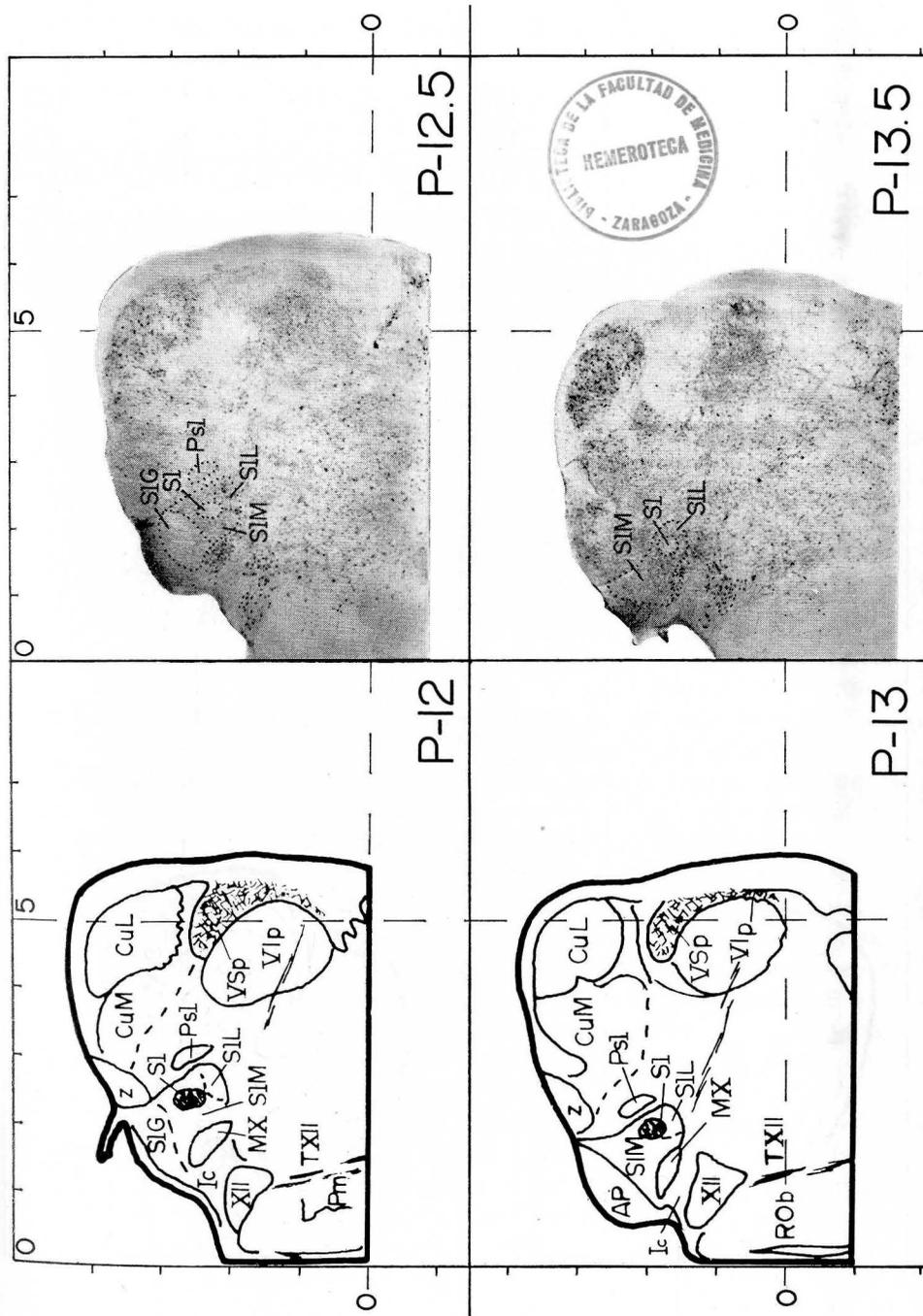
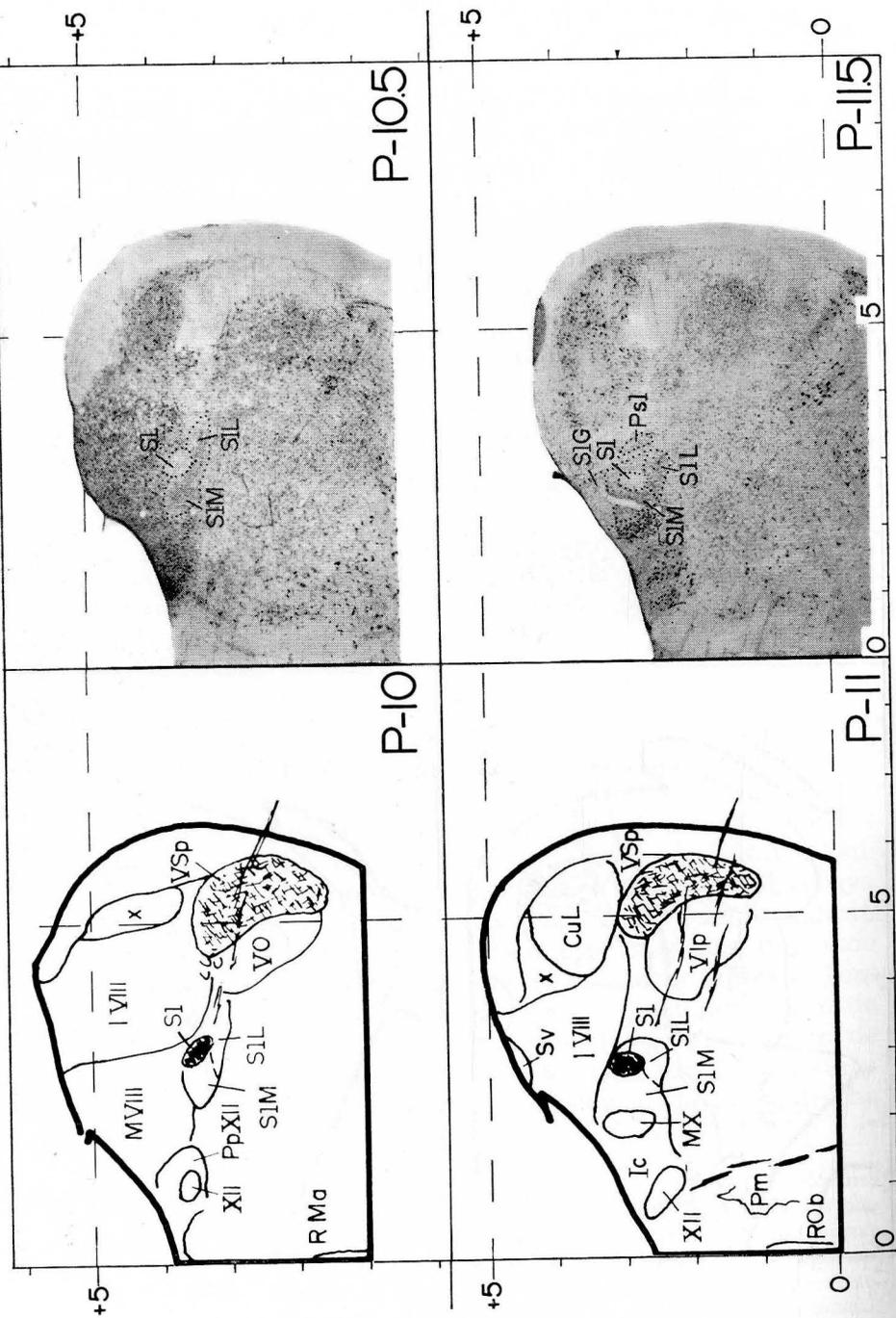
En el complejo nuclear del tracto solitario han sido reconocidas desde antiguo dos divisiones que han recibido diversos nombres, como "foco intersticial" y "ganglio descendente" (RAMÓN Y CAJAL, 1904) en varios mamíferos, o núcleos magnocelular y parvocelular (MEESSEN Y OLSZEWSKI, 1949) en el conejo; pero los más generalmente aceptados han sido los de medial y lateral (VAN GEHUCHTEN, 1900, en el conejo; OLSZEWSKI Y BAXTER, 1954, en el hombre; TORVIK, 1956, en la rata; BRODAL, SZABO Y TORVIK, 1956, en el gato, etcétera), según su posición relativa al tracto solitario.

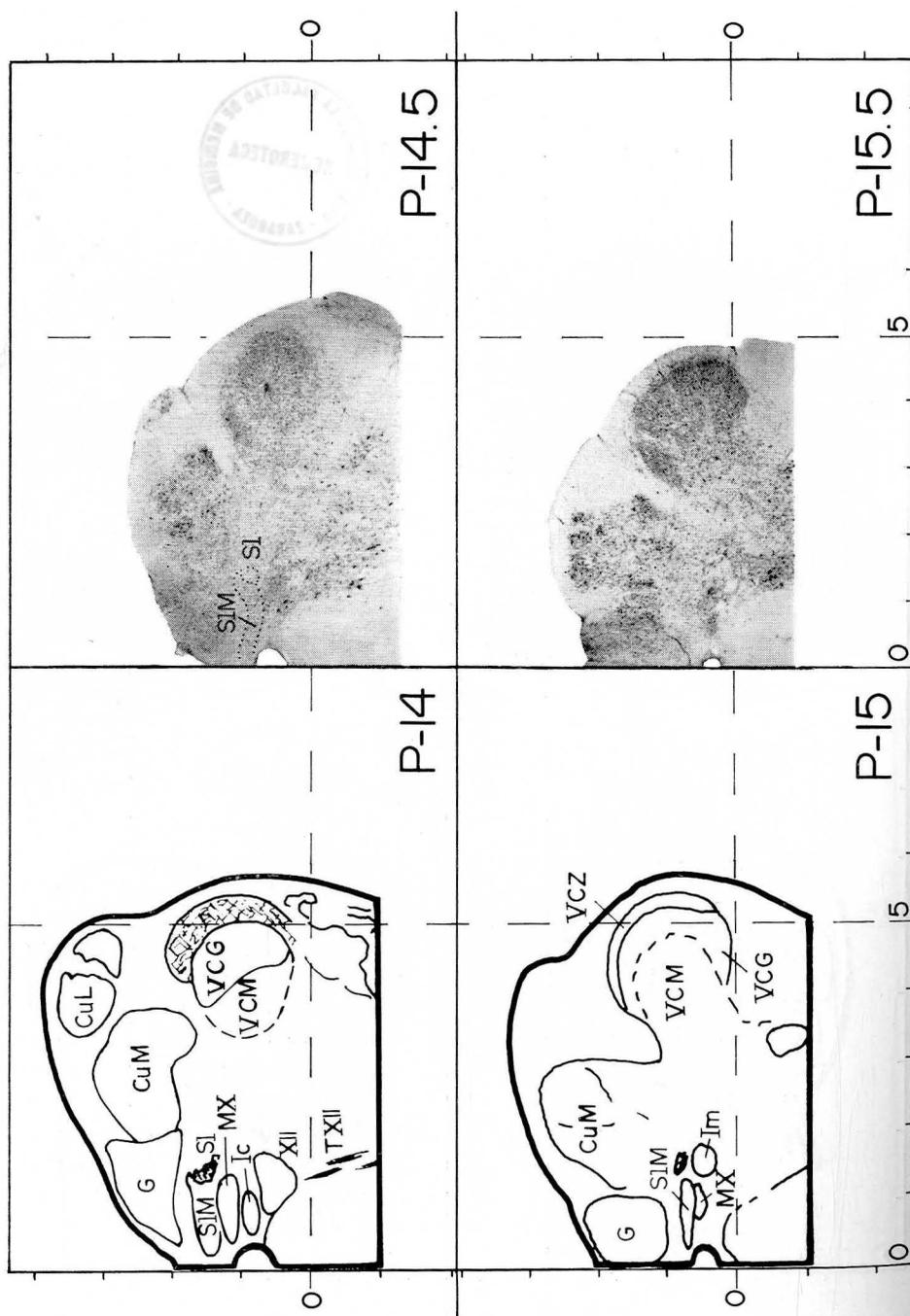
Tanto en la identificación de diversos grupos nucleares dentro del complejo del tracto solitario, como en la descripción de sus componentes celulares, concuerdan los datos obtenidos en el presente estudio con gran parte de los autores, si bien existen algunos puntos que merecen discusión.

La porción comisural del núcleo del tracto solitario fue descrita por primera vez por RAMÓN Y CAJAL (1904), quien indicó que a nivel de la formación del canal endimario una gran porción de las fibras del fascículo solitario ganan la línea media y se entrecruzan con las fibras del otro lado. Esta decusación tiene lugar a nivel de un núcleo especial, que denomina "ganglio comisural". Este "núcleo comisural" es confirmado por ALLEN (1923) en el cobaya y por BRODAL, SZABO Y TORVIK (1956) en el gato, quienes indican que en niveles caudales se unen ambos núcleos mediales, formando así dicho núcleo. Sin embargo, uno de estos mismos autores (TORVIK, 1956) refiere no encontrar en la rata una confluencia real de ambos núcleos en esta región. Este hecho había sido puesto de manifiesto anteriormente en el cerebro humano por OLSZEWSKI Y BAXTER (1954), quienes mencionan la existencia de una estrecha



LÁMINAS. — Representan, con intervalos de 1 mm, los planos P-8 a P-15, posteriores con respecto al plano frontal 0 (plano vertical interauricular). Entre cada dos planos teóricos se incluye una imagen histológica correspondiente aproximadamente al nivel intermedio. En la esquina inferior derecha se indica el nivel anteroposterior. En ordenadas y abscisas, a intervalos de 1 mm, se indican, respectivamente, los niveles verticales (respecto al plano horizontal 0 interaurículo-infraorbitario) y laterales (respecto al plano anteroposterior 0 mediosagital).





zona gliosa dorsal al conducto del epéndimo, que separa lo que serían ambas mitades del núcleo comisural. El presente material no permite identificar en el gato un verdadero "núcleo comisural" del núcleo medial del tracto solitario.

El núcleo parasolitario ha sido descrito por ALLEN (1923) y otros autores como una formación lateral al núcleo del tracto solitario, si bien TORVIK (1956), en la rata, no consigue identificarlo, e indica que la región así denominada por ALLEN debe tratarse, en parte, de una zona de formación reticular, y en parte, de la región dorsomedial del núcleo espinal del trigémino. OLSZEWSKI y BAXTER (1954) en el hombre y TABER (1961) en el gato describen un núcleo que llaman "parvocellularis compactus" y que por su situación, morfología y celularidad parece corresponderse con el núcleo parasolitario descrito en este trabajo. Mieloarquitectónicamente está fuera del complejo nuclear del tracto solitario, perteneciendo, como dicen OLSZEWSKI y BAXTER (1954), más bien a la zona de los núcleos del cordón posterior. Al no existir estudios fiables de la hodoología de este núcleo se ha considerado conveniente incluirlo, con un criterio puramente topográfico, dentro del sistema del tracto solitario.

TORVIK (1957) describe toda la división medial como de aspecto gelatinoso, asemejándola a la sustancia gelatinosa del asta posterior de la médula espinal. Sin embargo, no se refiere a un "núcleo gelatinoso" propiamente dicho dentro de la división medial. Tampoco MEESSEN y OLSZEWSKI (1949) lo habían mencionado en el conejo. En cambio, OLSZEWSKI y BAXTER (1954) habían individualizado en el hombre un subnúcleo, dentro de la parte medial del complejo nuclear del tracto solitario, al que denominaron "subnucleus gelatinosus", con análogas características a las encontradas en el gato en el presente trabajo. La descripción del "subnucleus gelatinosus" que TABER (1961) hace en el gato concuerda así mismo con los presentes resultados. COTTLE (1964) también lo menciona en el gato, si bien no encuentra fibras degeneradas en él tras sección de los pares IX y X; este hallazgo negativo se corresponde con los de otros autores desde ALLEN (1923), que no encuentran degeneración terminal en la región correspondiente al subnúcleo gelatinoso tras diversas secciones de los pares VII, IX y X (véase la fig. 16, de ALLEN, en el cobaya), lo que aconseja la eliminación del prefijo "sub-", de modo que se incluya el "núcleo gelatinoso" dentro del complejo solitario con un criterio topográfico, pero sin definir su comunidad en cuanto a conexiones se refiere.

Por último, el presente trabajo supone una doble aportación con respecto a atlas previos, citoarquitectónicos y estereotáxicos, del cerebro o el tronco del encéfalo del gato (REINOSO-SUÁREZ, 1961; TA-

BER, 1961; BERMAN, 1968): por un lado es un estudio que por limitarse a una región concreta permite una mayor meticulosidad en la delimitación de las diversas regiones nucleares, y en segundo lugar ofrece una combinación de imágenes histológicas y diagramas teóricos que facilitan la identificación oportuna de cada estructura.

### Agradecimiento

Los autores expresan su agradecimiento al profesor F. REINOSO-SUÁREZ por los útiles comentarios críticos vertidos durante la elaboración de este trabajo, así como por haber puesto a su disposición el material y los datos estereotáxicos con los que elaboró su "Topographischer Hirnatlas der Katze" (1961).

Este trabajo ha sido realizado con una ayuda a la investigación del M. E. C.

### Resumen

Se ha realizado un estudio estereotáxico del complejo nuclear del tracto solitario y de las estructuras vecinas en el gato. Junto a planos estereotáxicos seriados, basados en los datos estereotáxicos del Atlas de REINOSO-SUÁREZ (1961), se presentan imágenes histológicas correspondientes a los niveles intermedios entre cada plano teórico; asimismo se incluyen dos imágenes histológicas de planos sagitales que corresponden a los niveles más representativos del complejo nuclear del tracto solitario. También se presentan imágenes citoarquitectónicas representativas de las distintas partes del complejo.

### Summary

The solitary tract and its various nuclei have been studied under an stereotaxic and cytoarchitectural approach. Stereotaxic measures are based in the REINOSO-SUÁREZ atlas (1961). Theoretical planes are serially presented in onemillimeter intervals, and corresponding histological sections are added; furthermore, two sagittal sections showing the solitary complex are presented inside a stereotaxic reticule. Higher magnification histological images show the cytoarchitecture of the different subdivisions of the nuclear complex. These findings are discussed in relation to available literature.

### Zusammenfassung

Ein stereotaktisches Studium des Tractus Solitarius Kernkomplex und benachbarter Strukturen ist in der Katze durchgeführt worden. Als Grundlage dienten die stereotaktischen Befunde des Atlas von REINOSO-SUÁREZ (1961). Neben einer Reihe von theoretischen Karten in Millimeterabstränden werden histologische Bilder der dazwischenliegenden Halbenmillimeterabstrände beigelegt. Außerdem werden histologische sagittale Schnitte gezeigt, die repräsentativ sind für den Kernkomplex des Tractus solitarius, sowie zytoarchitektonische Bilder, die charakteristische Struktur der einzelnen Teile des Komplexes erläutern. Die Ergebnisse wurden auf Grund der erreichbaren Literatur diskutiert.

### Résumé

On a réalisé un étude stéréotaxique du complexe nucléaire du faisceau solitaire et des structures prochaines chez le chat. Prés des plans théoriques sériés, fondées dans les résultats stéréotaxiques du Atlas de REINOSO-SUÁREZ (1961), on présente des images histologiques correspondants aux niveaux intermédiaires entre chaque plan théorique. Également on ajoutent deux images histologiques de plans sagittaux qui correspondent aux niveaux plus représentatifs du complexe nucléaire du faisceau solitaire. Aussi on présente des images cytoarchitectoniques représentatives des différentes parts du complex.

### ABREVIATURAS

<i>AP</i> , Area postrema	<i>SIL</i> , Nucleus lateralis tracti solitarii
<i>CoD</i> , Nucleus cochlearis dorsalis	<i>SIM</i> , Nucleus medialis tracti solitarii
<i>CuL</i> , Nucleus cuneatus lateralis	<i>Sv</i> , Nucleus supravestibularis
<i>CuM</i> , Nucleus cuneatus medialis (BURDACH)	<i>TXII</i> , Tractus nervi hypoglossi
<i>G</i> , Nucleus gracilis	<i>VCG</i> , Nucleus spinalis caudalis nervi trigemini, subnucleus gelatinosus
<i>Ic</i> , Nucleus intercalatus (STADERINI)	<i>VCM</i> , Nucleus spinalis caudalis nervi trigemini, subnucleus magnocellularis
<i>Im</i> , Nucleus intermedius	<i>VCZ</i> , Nucleus spinalis caudalis nervi trigemini, subnucleus zonalis
<i>IVIII</i> , Nucleus vestibularis inferior	<i>VIp</i> , Nucleus spinalis interparialis nervi trigemini
<i>MVIII</i> , Nucleus vestibularis medialis	<i>VO</i> , Nucleus spinalis oralis nervi trigemini
<i>MX</i> , Nucleus motorius dorsalis nervi vagi	<i>VSp</i> , Tractus spinalis nervi trigemini
<i>Pm</i> , Nucleus reticularis paramedianus (BRODAL)	<i>VII</i> , Nucleus nervi facialis
<i>PpXII</i> , Nucleus praepositus hypoglossi	<i>x</i> , Nucleus "x" (BRODAL)
<i>Psl</i> , Nucleus parasolitaris	<i>XII</i> , Nucleus nervi hypoglossi
<i>RMa</i> , Nucleus raphe magnus	<i>z</i> , Nucleus "z" (BRODAL)
<i>ROb</i> , Nucleus raphe obscurus	
<i>Sl</i> , Tractus solitarius	
<i>SIG</i> , Nucleus gelatinosus tracti solitarii	

### BIBLIOGRAFÍA

- ALLEN, W. F. (1923): Origin and distribution of the tractus solitarius in the guinea pig. "J. Comp. Neur.", **35**: 171-204.
- BERMAN, A. L. (1968): The brain stem of the cat. A cytoarchitectonic atlas with stereotaxic coordinates. The University of Wisconsin Press, Wisconsin.
- BRODAL, A., T. SZABO and A. TORVIK (1956): Corticofugal fibers to sensory trigeminal nuclei and nucleus of solitary tract. "J. Comp. Neur.", **106**: 527-555.
- COTTLE, M. K. (1964): Degeneration studies of primary afferents of IXth and Xth cranial nerves in the cat. "J. Comp. Neur.", **122**: 329-345.
- GEHUCHTEN, A. VAN (1900): Le faisceau solitaire. "Le Neuraxe", **1**: 173-195.
- MEESSEN, H., and J. OLSZEWSKI (1949): A cytoarchitectonic Atlas of the Rhombencephalon of the Rabbit. S. Karger, Basel and New York.
- OLSZEWSKI, J., and D. BAXTER (1954): Cytoarchitecture of the Human Brain Stem. S. Karger, Basel and New York.

- RAMÓN Y CAJAL, S. (1904): Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados. Vol. 2, N. Moya, Madrid.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1961): Topographischer Hirnatlas der Katze. E. Merck AG Darmstadt.
- STILLING (1842): Ueber die Textur der Medulla oblongata Erlagen. Citado por Van Gehuchten, 1900.
- TABER, E. (1961): The cytoarchitecture of the brain stem of the cat. I. Brain stem nuclei of cat. "J. Comp. Neur.", **116**: 27-69.
- TORVIK, A. (1956): Afferent connections to the sensory trigeminal nuclei, the nucleus of the solitary tract and adjacent structures. An experimental study in the rat. "J. Comp. Neur.", **106**: 51-141.
- TORVIK, A. (1957): The spinal projection from the nucleus of the solitary tract. An experimental study in the cat. "J. Anat.", **91**: 314-322.

C. AVENDAÑO  
Departamento de Morfología  
Facultad de Medicina  
Universidad Autónoma  
Madrid (España)



## MUERTE CELULAR EN LA PLACODA NASAL DEL EMBRIÓN DE POLLO

POR

E. BARBOSA AYUCAR<sup>(1)</sup>, E. CAMPELO BARCIA<sup>(2)</sup>, J. G. VALDECASAS HUELIN<sup>(3)</sup>  
y L. BARBOSA AYUCAR<sup>(4)</sup>

### Introducción

Las interrelaciones morfogénéticas del epiblasto cefálico, mesénquima precordial y prosencéfalo han sido revisadas por YNTEMA (1955) y parcialmente confirmadas por ORTS y MURILLO (1961).

La interdependencia entre epiblasto-mesénquima puede interpretarse, a la luz de los datos aportados por diferentes autores en otros esbozos (Y. CROISILLE y LE DOUARIN, 1965; WESSELLS, 1970; WOLFF, 1968), como una relación epitelio-mesenchimatoso.

Estos estudios evidencian relaciones de tipo causal, sugiriendo que la morfogénesis de la placoda nasal se realiza merced a un mecanismo inductivo de tipo multifactorial en cascada. En dicho tipo de estudios no se entra en el análisis del comportamiento intrínseco de los elementos epiteliales que forman el esbozo, cuyo conocimiento puede explicarnos la adquisición de su forma.

En todo esbozo o primordio acontecen tres mecanismos básicos que conducen a su morfogénesis: proliferación, diferenciación y muerte celular. Conocer, por tanto, dichos parámetros es un requisito previo para comprender su forma.

La presente publicación forma parte de una línea de trabajo encaminada a estudiar los mecanismos morfogénéticos de la placoda nasal (CAMPELO, E. BARBOSA, G. VALDECASAS y L. BARBOSA, 1976; CAMPELO, 1976), y en ella se describen las áreas de muerte de la misma en embriones comprendidos entre los estadios 16 al 24 de HAMILTON-HAMBURGER (1951).

(1) Prof. agregado. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Valladolid.

(2) Prof. adjunto. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Valladolid.

(3) Prof. adjunto. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Valladolid.

(4) Ayud. de investigación. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Valladolid.

TABLA 1. — Valor relativo en peso correspondiente a cada pared para un valor teórico de 100 mitosis y 100 muertes, respectivamente.

ESTADIOS.	P. ANTERIOR.	P. POSTERIOR.	P. INTERNA.	P. EXTERNA.
16.	4,24. * 13,37. Δ	4,49. * 11,48. Δ	—	—
17.	3,71. * 260.	3,45. * 24,17. Δ	—	—
18.	4,46. 8,03. Δ	5,02. 18,82.	3,36. * 17,65.	4,11 17,92.
19.	1,68. * 6,07. Δ	2,02. 63,54.	3,78. 7,45.	3,75. 169
21.	2,25. * 75,62.	3,09. 19,74.	3,76. 55,55.	5,08. 12,10. Δ
22.	1,71. * 57,86.	2,97. 49,73.	3,78. 183,75.	6,56. 29,34. Δ
23.	1,97. * 8,84. Δ	2,42. 25,65.	3,84. 14,19.	3,47. 26,51.
24.	4,21. 32,22.	3,58. 8,02. Δ	23,75. * 103,58.	2,96. * 9,92.

La cifra correspondiente a las mitosis es la que se reseña en primer lugar, debajo los valores correspondientes de las muertes celulares. Véase Material y Métodos.

### Material y métodos

Hemos utilizado embriones de pollo (Strain-Croos) procedentes de huevos incubados a 38'5° C en una estufa de aire forzado con un grado de humedad del 75'80 %.

Los embriones fueron extraídos asépticamente, clasificados según HAMILTON-HAMBURGER (1951), fijados en líquido de Serra (alcohol 3/ácido acético 1), deshidratados e incluidos en parafina por la técnica habitual. Los embriones fueron cortados seriadamente a 8 μ y teñidos con el método de Feulgen verde luz.

Los criterios de muerte celular utilizados fueron los de núcleos en picnosis y cariorrexia, comprobados mediante inmersión.

La topografía y extensión de las áreas de muerte se realizaron en placodas reconstruidas en su totalidad, mediante un dispositivo de dibujo con cámara clara, aislándose las diferentes paredes, procediendo después a recortar las mismas y a su pesaje.

El índice de muerte y proliferación teórico para 100 muerte y/o mitosis se obtuvo relacionando el peso de las diferentes paredes con el número de mitosis y muertes situadas a su nivel.

### Resultados

Las muertes celulares aparecen bajo dos modalidades en el epitelio que constituye la placoda nasal en los diferentes estadios, bien en forma aislada o bien agrupadas, constituyendo áreas de extensión variable.

El número de células necróticas, una vez topografiadas en los dibujos realizados con cámara clara, se han referido al componente celular global, donde asientan (expresado en peso), obteniéndose los valores de la tabla 1. En dicha tabla también se expresa el "índice proliferativo" correspondiente (véase Material y métodos).

En el estadio 16, las muertes celulares se ubican en ambos extremos en la misma proporción.

En el estadio 17, la localización es similar al estadio precedente, pero su intensidad es mayor en su extremo posterior.

En los estadios posteriores (18, 19, 21, 22 y 23) las muertes celulares tienen su máxima intensidad en la pared anterior (véase tabla), que coincide con un "índice proliferativo" elevado en dicha pared.

Existen otras áreas de muerte que se localizan en la pared externa en los estadios 21 y 22 y que no se acompañan de una elevación concomitante del "índice proliferativo".

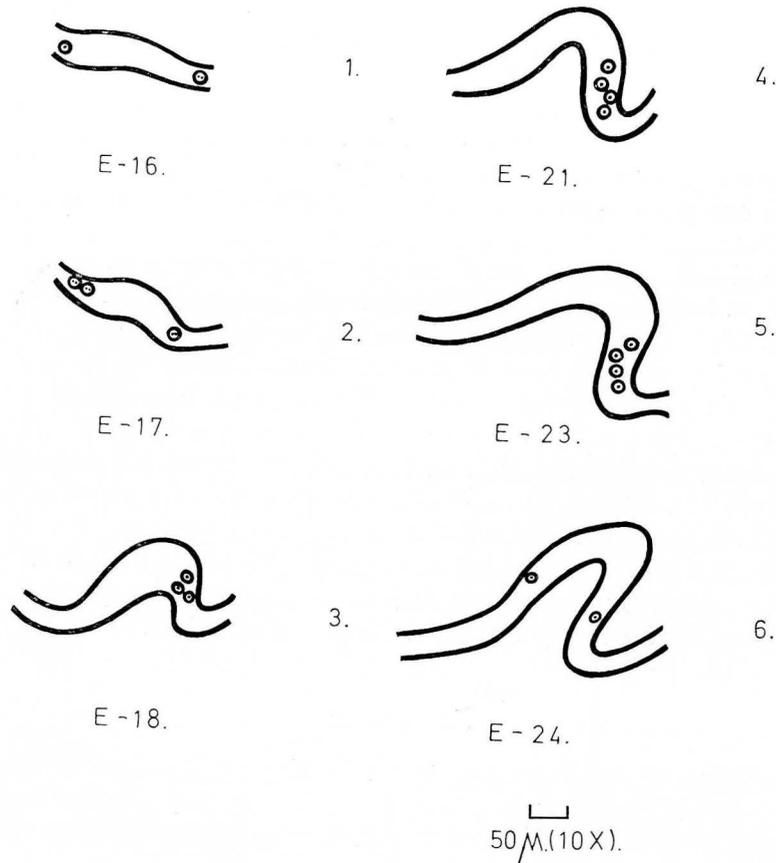


FIG. 1. — Localización de las muertes celulares en los diferentes estadios (HAMBURGER-HAMILTON, 1951). (Dibujos en cortes sagitales.)

En el estadio 24, las áreas de necrosis de intensidad máxima se localizan en la pared posterior y externa, sin relación con el índice proliferativo.

### Discusión

La localización de las muertes celulares en el estadio 16 a nivel de ambos extremos del esbozo puede interpretarse como un mecanismo de "aislamiento" del mismo del resto del ectodermo cefálico; dicha localización es similar a la encontrada en la placoda ótica en las fases iniciales de su morfogénesis (REINOSO).

El mayor índice de muerte a nivel de la extremidad posterior del esbozo en el estadio 17 (tabla 1) puede contribuir a su "anclaje posterior" y al ser el "índice proliferativo" similar en ambas par-

tes (anterior y posterior), la mayor mortalidad en su parte posterior hace que el crecimiento se haga a expensas de su parte anterior, lo que conduce a su invaginación.

La situación del área de muerte en la pared anterior en los estadios 18, 19, 21, 22 y 23 puede interpretarse como un mecanismo de aislamiento de la pared anterior del ectodermo cefálico, así como un mecanismo morfogenético implicado en la verticalización de dicha pared, junto a su mayor índice proliferativo.

Las áreas de muerte celular que se ubican en los estadios 21 y 22 en la pared externa pueden ser un factor muy importante en la deformación lateral del esbozo, a lo que contribuiría el elevado índice proliferativo de la pared interna.

El área de muerte que asienta a nivel de su pared posterior en el estadio 24 contribuiría al aislamiento posterior del esbozo. El mayor índice proliferativo de las paredes externa e interna alargarían la fosa verticalmente.

Las diferentes áreas de muerte descritas pueden interpretarse como de tipo morfogenético (GLUCKSMANN, 1951; SAUNDERS, 1966) y parecen contribuir al esculpido de las diferentes paredes, así como a su aislamiento, como se ha descrito en otros sistemas (SAUNDERS y FALLON, 1967).

Cuando se analizan muertes celulares versus índice proliferativo, las áreas de muerte celular pueden adquirir un nuevo significado como determinantes de un crecimiento alométrico.

### Resumen

Se ha realizado un estudio de la localización de las áreas de muerte celular en la placoda nasal en embriones de pollo comprendidos entre los estadios 16 y 24 de HAMBURGER-HAMILTON (1951).

Se discute el papel morfogenético de las mismas.

### Summary

An analysis of cells death localization has been made in the nasal placode of chick embryos (16 to 24 HAMBURGER-HAMILTON, 1951).

The role played by cell death in their morphogenesis is discussed.

### Zusammenfassung

Wir haben die Lage der Zelltodt-Bezirke (bei Hühnerembryonen zwischen Stadien 16-24 von HAMBURGER-HAMILTON, 1951) der Geruchsplakoden untersucht.

Wir besprechen die mögliche morphogenetische Bedeutung dieser Bezirke.

### Résumé

On fait un analyse de la localisation de las células mortes, dans la placode olfactive chez l'embryon de poulet, dans les stades 16 à 24 de HAMBURGER-HAMILTON (1951).

Ces résultats sont discutés dans le cadre de son développement.

## BIBLIOGRAFÍA

- CAMPELO, E., E. BARBOSA, J. G. VALDECASAS y L. BARBOSA (1976): Migration intercinétique dans la placode olfactive chez l'embryon de poulet. Comunicación al 60.º Congreso de la Asociación de Anatomistas. Niza. (En prensa.)
- CAMPELO, E. (1976): Estudio de las fases iniciales del desarrollo de la placoda olfatoria del embrión de Gallus domesticus. Tesis doctoral. Universidad de Valladolid.
- CROISILLE, Y., y N. LE DOUARIN (1965): Development and Regeneration of the liver. In: "Organogenesis". Ed. by R. L. DeHaan and H. Ursprung, pp. 421-466. Holt, Rinehart and Winston.
- GLUCKSMANN, A. (1951): Cell death in normal vertebrate ontogeny. "Biol. Rev.", **26**: 59-85.
- HAMBURGER, V., y H. L. HAMILTON (1951): A series of normal stages in the development of the chick embryo. "J. Morph.", **88**: 49-92.
- ORTS LLORCA, F., y N. MURILLO (1961): Determination und Differenzierung der Riechplakoden beim Hühnerembryo. "Roux Archiv. für Entwicklungsmechanik", **153**: 434-442.
- REINOSO, A.: Comunicación personal.
- SAUNDERS, J. W., Jr. (1966): Death in embryonic systems. "Science", **154**: 604-610.
- SAUNDERS, J. W., Jr., y J. F. FALLON (1967): Cell death in morphogenesis. In: "Major Problems in Developmental Biology". Ed. by M. Locke, pp. 289-314. Academic Press. N. Y. and London.
- WESSELLS, N. K. (1970): Mammalian lung development interactions in formation and morphogenesis of tracheal buds. "J. Exp. Zool.", **175**: 455-466.
- WOLFF, E. (1968): Specific interactions between tissues during organogenesis. In: "Curr. Top. Devel. Biol.", 3. Ed. by A. A. Moscona and A. Monroy, pp. 65-94. Academic Press. N. Y.
- YNTEMA, C. L. (1955): Analysis of development. Secc. 7, Cap. 3, pp. 415-428. Ed. by B. H. Willier, P. A. Weiss and R. Hamburger. Saunders Co. Philadelphia.

E. BARBOSA AYUCAR  
Departamento de Anatomía  
Facultad de Medicina  
Valladolid (España)

NUEVO MÉTODO POLÍCROMO EN DOS TIEMPOS (F-1)<sup>(1)</sup>

POR

J. CABANES VILA<sup>(2)</sup>, C. J. IRANZO LOBERA<sup>(3)</sup>, M. J. PÉREZ BACETE<sup>(3)</sup>  
y J. A. TECLES TOMÁS<sup>(3)</sup>

*Al Prof. Escolar García, maestro de  
las técnicas anatomomicroscópicas.*

## Introducción

EN todo departamento de investigaciones anatomomicroscópicas, antes de proceder a la utilización de técnicas especiales para realizar un estudio preconcebido sobre un determinado tejido u órgano, es imprescindible recurrir de una forma sistemática al empleo de "métodos topográficos" o "generales". La razón es obvia, si consideramos que para poder observar una organización citoarquitectónica en sus más nimios detalles, necesitamos partir de la imagen de conjunto, al igual que para poder enfocar una preparación con el objetivo de inmersión requerimos localizar previamente la zona objeto de estudio con el objetivo de pequeño aumento.

Sin embargo, no existe un capítulo en materia de técnicas anatomomicroscópicas en donde la disparidad de criterios entre los distintos autores se manifieste de una forma tan ostensible como el consagrado a los "métodos generales", no sólo en lo que concierne a su clasificación, sino inclusive en lo inherente a su propia definición. Nuestra técnica podríamos encasillarla, siguiendo el criterio que se desprende de "los elementos puestos en evidencia" (GABE, 1968), entre las coloraciones topográficas que se caracterizan por la tinción selectiva de las fibras de colágena. Dentro de este grupo, y en lo referente a su mecanismo de acción, pertenece al subgrupo

(1) Departamento de Anatomía de la Facultad de Medicina de Valencia. Departamento de Anatomía y Patología Médica. Centro Coordinador del C.S.I.C. Director: Profesor doctor don V. Smith-Agreda.

(2) Interno numerario por oposición. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Valencia.

(3) Internos honorarios. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Valencia.

de las que se fundamentan en la competición entre uno o varios colorantes ácidos (MÖLENDORF, 1924; SEKI, 1936) con los ácidos fosfomolibdicos o fosfotúngstico (GABE, 1968).

MALLORY (1900) debe ser considerado legítimamente el pionero de este subgrupo de técnicas topográficas, al demostrar que la presencia del ácido fosfomolibdico podría delimitar la tinción sobre las fibras de colágena de algunos colorantes ácidos derivados del tri-fenilmetano. HEINDENHAIN (1916) merece un lugar de privilegio por su método derivado del de MALLORY (1900), denominado comúnmente "Azán", y considerado actualmente (GABE, 1968) como el "non plus ultra" de las técnicas generales. MASSON (1929), en su célebre tricrómico, sustituyendo la tinción nuclear de MALLORY (1900) por una laca de hemateína, consigue una perfecta delimitación de las estructuras nucleares. PETERSEN (1924) descubre que los ácidos fosfomolibdicos y fosfotúngstico poseen, además, la propiedad de hacer virar el color original de la laca aluminica de azul ácido de alizarina BB, utilizado como colorante nuclear. GOMORI (1950) presenta una notable simplificación y mejora del tricrómico de MASSON (1929), al comprobar que los trifenilmetanos pueden ser mezclados no sólo con los ácidos fosfomolibdicos o fosfotúngstico, sino también con los colorantes azoicos sulfonados. GABE (1954) sustituye en la coloración citoplasmática los colorantes azoicos sulfonados del método de GOMORI (1950) por un xanteno, con lo que consigue que los colorantes protoplasmáticos no se superpongan a la laca de hemateína. GABE y MARTOJA (1957) lanzan su "tricrómico en un tiempo", método derivado del de GOMORI (1950), reemplazando la tinción nuclear hemateínica por un colorante ácido (azorrubina S), consiguiendo una rapidez de ejecución hasta entonces no lograda, al precio de renunciar de antemano a una sólida definición nuclear.

### Material y técnica

Hemos utilizado material anatómico procedente de diversos órganos de ratas albinas (cepa Wistar Cobs), embriones de rata del mismo origen y tejido óseo, tanto animal como humano.

El tejido óseo ha sido, previa fijación con formalina neutra tamponada de LILLE (1948), debidamente descalcificado y posteriormente incluido en celoidina para su sección de 12 a 25 micras.

Por su parte, tanto los órganos como los embriones de rata han sido fijados en los líquidos de HALMI (1952), Susa de HEINDENHAIN (1916), BOVIN (picro-formol, 1897), formalina neutra tamponada de LILLIE (1948), CARNOY (1887) y BRASIL (1904), incluidos en paraplast plus (Sherwood M. I. Inc.) y seccionados en cortes de 3 a 5 micras.

Los reactivos utilizados en la técnica proceden de la Mallinckrodt Chemical Works. Los colorantes se especifican a continuación.

Colorante	Núm. C.I.	Proveedor	Código núm.
Hematoxilina	75290	Gurr's	14.500
Anaranjado G	16230	Gurr's	21.700
Fucsina ácida	42685	Gurr's	FL-13.300
Cromotrope 2R	16570	Gurr's	8.100
Verde luz SF	42095	Gurr's	EL-16.300
Azul anilina WS	42755	Gurr's	2.300

### Reactivos

- Solución de lugol
  - Iodo resublimado, 1 g.
  - Ioduro potásico, 2 g.
  - Agua destilada, 100 ml.
- Solución de hiposulfito
  - Hiposulfito sódico, 5 g.
  - Agua destilada c.s.p., 100 ml.
- Hemaxilina de GROAT (1948-1949)
  - Solución A:
    - Agua destilada, 500 ml.
    - Alumbre férrico, 10 g.
    - SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> concentrado, 8 ml.
  - Solución B:
    - Hematoxilina, 5 g.
    - Etanol de 96°, 500 ml.

Una vez disueltas, mezclar ambas soluciones, dejar en reposo al menos durante una hora. Filtrar antes de su uso. Se conserva por lo menos 3 meses.

- Sustitutivo de Scott
  - Agua destilada, 1.000 ml.
  - Bicarbonato sódico o potásico, 2 a 3'5 g.
  - Sulfato de magnesio, 20 g.
  - Formol comercial, 5 a 10 ml.
- Mezcla de colorantes aniónicos
  - Agua destilada, 100 ml.
  - Anaranjado G, 0'1 g.
  - Fucsina ácida, 0'1 g.
  - Cromotrope 2R, 0'1 g.
  - Verde luz SF, 0'1 g.
  - Azul anilina WS, 0'1 g.
  - Ácido fosfomolibdico, 1 g.



Añádanse los colorantes en el orden indicado, esperando a que esté disuelto cada uno de ellos para añadir el siguiente; conservación indefinida; pH aproximado de la mezcla, 2'0. Filtrar antes de su uso.

- Solución acuosa de ácido acético
- Agua destilada, 99 ml.
- Ácido acético glacial, 1 ml.

#### Técnica operatoria

1. Cortes desparafinados, no colodionados, hidratados. En caso necesario eliminar los depósitos de mercurio por tratamiento con lugol (30 segundos), hiposulfito de sodio al 5 % (hasta total decoloración), lavado en agua corriente (3-5 minutos) y lavado en agua destilada.

2. Tinción nuclear con la laca férrica progresiva de hemateína (hematoxilina de GROAT) durante 2 minutos.

3. Viraje de la hemateína en agua corriente, 2-5 minutos o sustitutivo de SCOTT (30-60 segundos). Después, lavar en agua destilada.

4. Tinción con la mezcla de colorantes aniónicos, por espacio de 10 minutos.

5. Fijación y eliminación del exceso de colorante, en la solución acuosa de ácido acético glacial al 1 %.

6. Deshidratar directamente en etanol absoluto, aclarar con xileno y cubrir con una resina sintética (Eukitt, Malinol, DePe X).

#### Resultados

Los resultados vienen esquematizados en la siguiente tabla:

<i>Componente tisular</i>	<i>Cromaticidad</i>
Núcleo .....	Violeta negruzco
Nucleolo .....	Rojo
Membrana celular .....	Verde
Protoplasma y músculo .....	Amarillo rojizo a magenta
Hematíes .....	Anaranjado a rojo
Fibras de colágena, reticulina y membranas basales .....	Azul brillante a verde manzana
Sust. fundamental del cartilago.	Azul
Fibras elásticas .....	Rojo
Tejido osteógeno .....	Rojo
Tejido osteógeno de reciente formación .....	Azul
Granos de secreción .....	Amarillo rojizo a azul verdoso

### Consideraciones y discusión

Ante todo queremos constatar el hecho de que no hemos pretendido construir un método de tinción topográfica cuyo mecanismo de acción fuese completa novedad con respecto a los preexistentes, sino que, apoyándonos en los trabajos de MASSON (1929), GOMORI (1950), GABE (1954) y nuestra propia experiencia, conseguir una técnica cuyas características principales fuesen:

- Sencillez total en su realización.
- Rapidez de ejecución.
- Coloración satisfactoria y diferenciación histocitológica.
- Resultados constantes, es decir, automaticidad del método.

De entre la multiplicidad de factores que intervienen en el mecanismo de coloración, comentaremos brevemente aquellos que por su importancia desempeñan un papel determinante en el resultado final del método.

#### A) Fijación

Este método, al igual que el resto de los topográficos de los que deriva, requiere el empleo de fijadores adecuados, especialmente los acuosos que contengan sublimado en su composición, y aunque en realidad puede utilizarse cualquier líquido fijador, los resultados obtenidos estarán en relación directamente proporcional al elegido.

Nosotros, tras reiteradas experiencias con un considerable número de fijadores, tanto acuosos como alcohólicos, hemos obtenido los mejores resultados, dentro de los fijadores acuosos, con los de HALMI (1952), SUSA DE HEINDENHAIN (1916) y BOUIN (picro-formol, 1897), y entre los alcohólicos, con los de CARNOY (1887) y BRASIL (1904); por el contrario, los resultados menos satisfactorios han correspondido, lógicamente, a la formalina al 10 %, tamponada o no.

#### B) Laca nuclear

En el transcurso de las investigaciones llevadas a cabo, y con el fin de obtener una nítida definición nuclear, fueron ensayadas sistemáticamente las siguientes lacas nucleares:

- Hematoxilina de Delafield.
- Hematoxilina férrica de Weigert.
- Hematoxilina de Groat.
- Trioxihemateína férrica de Hansen.
- Dioxihemateína crómica de Hansen.
- Hematoxilina de Harris.

El resultado de esta experiencia fue la selección de la hematoxilina férrica progresiva de GROAT (1948-1949), por su facilidad de preparación (en frío), rapidez de tinción (2 minutos), buena estabilidad (3 meses), escasa tinción de la celoidina, coloración muy selectiva de los núcleos y resistencia a ulteriores medios ácidos.

### C) Mezcla de colorantes aniónicos

Durante más de una década, en nuestro departamento se ha venido utilizando una de las variantes a la técnica de Masson (GOLDNER, 1938) como método topográfico por excelencia y prólogo a la mayor parte de los trabajos realizados. No obstante sus innegables ventajas, el método de MASSON-GOLDNER (1938) presenta un inconveniente, común entre las técnicas derivadas del proceder de MASSON (1929), consistente en que los colorantes azoicos utilizados para la tinción protoplasmática tienden a superponerse a la laca nuclear, lo que enlentece considerablemente la carimetría y resta nitidez a su reproducción microfotográfica en color; recíprocamente, la laca nuclear interacciona con los colorantes azoicos, oscureciendo su tono cromático (SWEAT, MELOAN y PUCHTLER, 1968).

GABE (1954), en su variante al tricrómico de GOMORI (1950), derivado del de MASSON (1929), consigue paliar el antedicho problema al reemplazar los colorantes azoicos sulfonados por un xanteno (eosina amarillenta), logrando una coloración más pura, a cambio de una policromía netamente inferior a la de la técnica original.

A la vista de los hechos expuestos, la idea directriz de nuestro trabajo fue la consecución de un método, en el que sin tener que renunciar a los colorantes azoicos, pudiésemos minimizar sus efectos colaterales no deseables, logrando al mismo tiempo un satisfactorio matiz policromático.

Nuestra mezcla de colorantes aniónicos se compone de dos azoicos y tres trifenilmetanos.

<i>Colorante</i>	<i>Subgrupo</i>	<i>Subgrupo</i>
Anaranjado G	Mono-diazoico	Azoico
Cromotropeo 2R	Mono-diazoico	Azoico
Verde luz	Trifenilmetano-diaminado	Fenilmetano
Fucsina ácida	Trifenilmetano-triaminado	Fenilmetano
Azul de anilina	Trifenilmetano-triaminado	Fenilmetano

El hecho de incorporar en la misma solución tres colorantes afines, en cuanto a sus aspectos tintoriales (verde luz, fucsina ácida y azul de anilina), requiere al menos un breve comentario.

La asociación de dos trifenilmetanos (fucsina ácida, azul de anilina) en una técnica topográfica no constituye por sí mismo una



FIG. 1. — Corte axial de feto de rata a término (lupa). La zona encuadrada corresponde a las siguientes fotografías.



FIG. 2

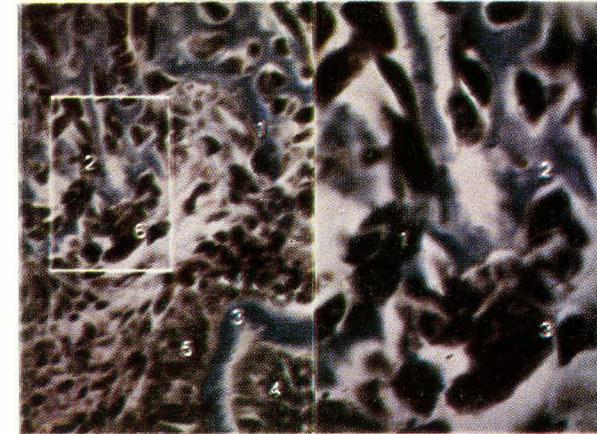


FIG. 3

FIG. 4

FIG. 2. — Corte axial de feto de rata a término (50×). La presente figura nos muestra un incisivo superior (1) en corte axial y el inicio de osificación del paladar óseo. Obsérvese el tejido osteoide de reciente formación (2) dispuesto en trabéculas. Con nuestra tinción, el tejido osteoide de reciente formación se colorea siempre en azul claro. Esta misma coloración toma el periodonto (3). El resto de la gónfosis y tejido mesenquimal dentario adopta la coloración gris clara (4).

FIG. 3. — Corte axial de feto de rata a término (400×). Detalle de la figura precedente. En la presente figura se nos pone de manifiesto no sólo las distintas apetencias tintoriales tisulares ya expresadas, sino la bondad de tinción para estudios morfológicos celulares. 1, tejido osteoide; 2, osteoblastos; 3, periodonto; 4, tejido mesenquimatoso dentario; 5, tejido mesenquimal peridentario; 6, osteoclasto.

FIG. 4. — Corte axial de feto de rata a término (1000×). Osificación directa membranosa. Frente de osteoblastos (1) opuestos a la sustancia osteoide (2). Obsérvese la nitidez y precisión morfológica de la tinción en un osteoclasto trinucleado (marrón oscuro) (3).

novedad, puesto que ya fue utilizada, entre otros, por CASON (1950), en su modificación al tricrómico de MALLORY (1900). Por otra parte, los trifenilmetanos utilizados por CASON (1950), a pesar de pertenecer a la misma familia, no presentan antagonismos competitivos, puesto que existe una notable diferencia entre sus pesos moleculares (fucsina ácida,  $pm = 585'65$ ; azul de anilina,  $pm = 737'73$ ), lo que condiciona un diferente coeficiente de difusión, y, en consecuencia, de reparto en el seno de las estructuras tisulares.

Sin embargo, la adición de "tres trifenilmetanos" en la misma mezcla representa una auténtica primicia, en especial por la presencia de dos colorantes de coeficientes de difusión y reparto prácticamente idénticos (azul de anilina y verde luz).

El resultado de la asociación verde luz-azul de anilina, incongruente bajo el punto de vista teórico, se traduce, contra pronóstico, en una mayor diferenciación de los elementos fibrosos del tejido conjuntivo. Además, la peculiaridad de que ambos trifenilmetanos posean tonos cromáticos aditivos, conlleva a obtener, dentro de la misma preparación, desde sutiles fibras de colágena (y reticulina) teñidas en verde manzana, hasta gruesas fibras coloreadas en azul intenso, pasando por otras azul-verdosas, resultados que están en relación a la distinta "edad" del conjuntivo.

Como coadyuvante de los trifenilmetanos, hemos añadido a la mezcla una proporción de ácidos fosfomolibdicos (1 % P/V) muy superior a la usual, lo que determina un descenso del pH final de la solución colorante y aumenta el enlace entre los trifenilmetanos y las fibras de colágena (ELOY y KOHNLEIN, 1933; OTTO, 1935).

La baja concentración (0'1 % P/V) de los colorantes azoicos utilizados (anaranjado G, cromotropo 2R) permite eliminar en gran parte la superposición de éstos a la laca de hemateína, aunque no hemos podido evitar el viraje del cromotropo 2R (de rojo a ocre) por interacción con el hierro de la laca nuclear (SWEAT, MELOAN y PUCHTLER, 1968).

Como epílogo, y por razones que no viene al caso señalar, queremos constatar el hecho de que esta técnica ha sido utilizada en nuestro servicio durante más de cuatro años antes de su publicación con resultados altamente reproducibles en todo tipo de material anatómico, y en especial en el estudio de tejido óseo humano descalcificado, circunstancia que será objeto de una próxima comunicación más detallada.

### Resumen

Describimos un nuevo método topográfico en dos tiempos, cuyo mecanismo de acción se fundamenta en los trabajos de MASSON (1929), GOMORI (1950) y GABE (1954). Piezas fijadas en los líquidos de CARNOY (1887), HALMI (1952) o BOUIN (1897), son incluidas en *Paraplast* y seccionadas a 3-5 micras. Una vez desparafinadas e hidra-

tadas, se tratan en el primer tiempo del método con la hemateína férrica progresiva de GROAT (1948-1949), como coloración nuclear, durante 2 minutos, seguida de viraje con agua corriente o sustitutivo de SCOTT. En el segundo tiempo, se procede a la tinción del resto de las estructuras con una mezcla estable en solución acuosa de colorantes aniónicos al 0'1 % (anaranjado G, Fucsina ácida, Cromotropo 2R, verde Luz y azul de anilina) y ácido fosfomolibdico al 1 %, por espacio de 10 minutos. Tras arrastrar el exceso de colorante con una solución acuosa de ácido acético glacial al 1 %, se deshidratan, aclaran y montan las preparaciones en resina sintética. Los núcleos se colorean en violeta-negruzco; los nucleolos, en rojo; los citoplasmas y las fibras musculares van del amarillo-rojizo al magenta; los hematíes, en anaranjado o rojo; las fibras de colágeno, reticulina y membranas basales, toman desde el azul intenso al verde manzana. Una coloración satisfactoria se obtiene en todos los casos sobre material correctamente fijado, siendo los líquidos más idóneos los de CARNOY (1887) y HALMI (1952), y el menos conveniente la formalina al 10 %. El método presenta sencillez en su realización, rapidez en su ejecución, coloración satisfactoria y automaticidad en sus resultados.

### Summary

We would hereby set out a new two stages topographic method which operating performance is based on the works conducted by MASSON (1929), GOMORI (1950) and GABE (1954). Pieces duly fixed on CARNOY's (1887), HALMI's (1952) or BOUIN's (1897) liquids are included in *Paraplast* and cut down to 3-5 microns. These pieces when duly paraffin removed and hydrated, are, during the first stage of the method treated with GROAT's (1948-1949) progressive ferric hemateine, as a nuclear colouration for 2 minutes, which is followed by a toning in current water of SCOTT's substitute. The second stage of the method calls for the colouring of all the remaining structures, by a stable mixture in the form of an aqueous solution of 0'1 % anionic dyestuffs (Orange G, Acid Fucine, Chromotrope 2R, Light Green and Aniline Blue) and 1 % Phosphomolybdic acid for 10 minutes. When the excess dyestuff is removed by an aqueous solution of 1 % Glacial Acetic Acid, the preparation is deshydrated, rinsed and set up on Synthetic Resin. Nuclei are violet-blackish coloured; nucleoli are red coloured; cytoplasm and muscular fibres range from reddish yellow to magenta; red cells are orange to red; and the choleagenous, reticuline fibres and basal membranes go from strong blue to apple green. In all cases a satisfactory colouration is obtained on a properly fixed material; the most suitable liquids being CARNOY's (1887) and HALMI's (1952). The least convenient is 10 % Formaline. This method is easy and fast to apply. Furthermore, it yields a satisfactory colouration and automaticity of results.

### Zusammenfassung

Wir beschreiben eine neue topographische Methode in zwei Zeiten, dessen Aktionsmechanismus auf den Arbeiten von MASSON (1929), GOMORI (1950) und GABE (1954) beruht. Teile in den Flüssigkeiten von CARNOY (1887), HALMI (1952) oder BOUIN (1897) fixiert, werden in *Paraplast* eingeschlossen und in 3-5 micra geteilt. Nachdem sie entparaffiniert und mit Wasser verbunden sind, werden sie im ersten Teil der Methode mit dem progressiven Eisenhämatein von GROAT (1948-1949) als nukleare Färbung während 2 Minuten behandelt, worauf eine Tonung mit Wasser oder dem Ersatzmittel von SCOTT erfolgt. Im zweiten Teil wird die Färbung der Reststrukturen mit einer beständigen Mischung in Wasserlösung von anionischen Farbstoffen zu 0'1 % (Orange G, saures Fuchsin, Chromotrope 2R, Lichtgrün und Anilinblau) und

Phosphomolibdänsäure zu 1 %, während 10 Minuten vorgenommen. Nach Mitnahme des Färbungsüberschusses mit einer Wasserlösung von Eisessigsäure zu 1 % wird entwässert, geklärt und das Präparat in synthetischen Harz gefasst. Die Kerne färben sich violett-schwärzlich; die Kernkörperchen rot; die Zytoplasmen und die Muskelfasern gehen von rötlichgelb bis purpur; die Blutkörperchen orangefarben oder rot; die Kollagenfasern, Reticulin und Grundmembranen gehen von kräftig-blau bis apfelgrün. Eine zufriedenstellende Färbung erhält man in allen Fällen mit korrekt fixiertem Material, wobei die geeignetsten Flüssigkeiten die von CARNOY (1887) und HALMI (1952), und die am wenigsten zweckmäßige Formalin zu 10 % sind. Die Methode ist einfach zu verwirklichen, schnell auszuführen, mit zufriedenstellender Färbung und automatisch in ihren Ergebnissen.

### Résumé

Nous décrivons une nouvelle méthode topographique en deux temps, dont le mécanisme d'action se base sur les travaux de MASSON (1929) et GABE (1954), GOMORI (1950). Pièces fixées dans les liquides de CARNOY (1887), HALMI (1952) ou BOUIN (1897), elles sont incluses en *Paraplast* et sectionnées à 3-5 microns. Une fois qu'elles sont sans paraffine et hydratées, dans le premier temps, elles se tament avec l'hématéine ferrique progressive de GROAT (1948-1949) comme coloration nucléaire pendant 2 minutes suivie d'un virement avec de l'eau courant ou d'un substitutif de SCOTT. Dans deuxième temps, on procède à la teinture du reste des structures avec un mélange stable en solution aqueuse de colorants aniniques à 0'1 % (orange G, Fuschine acide, Chromotrope 2R, vert lumière et bleu d'Aniline) et acide phosphomolibdique à 1 % toutes les 10 minutes. Après avoir entraîné l'excédent de colorant avec une solution aqueuse d'acide acétique glacial à 1 %, on déshydrate, éclaire, et monte le préparation en resine synthétique. Les noyaux se teignent en violet-noirâtre, les nucléoles en rouge, les cytoplasmes et les fibres musculaires vont du jaune-rougeâtre au magenta; les hématies en orangé ou en rouge, les fibres de collagène, réticuline et membranes basales tournent du bleu intense au vert pomme. Une coloration satisfaisante s'obtient dans tous les cas sur un matériel correctement fixé, étant les liquides les plus idoines ceux de CARNOY (1887) et HALMI (1952) et le moins favorable le formaldéhyde à 10 %. La méthode présente une facilité dans sa réalisation, rapidité dans son exécution, coloration satisfaisante et automaticité dans ses résultats.

### BIBLIOGRAFÍA

- BAKER, J. R. (1958): Principles of biological microtechnique. Methuen & Cie. London.
- BAKER, J. R. (1966): Cytological technique. 5.<sup>a</sup> edition. Methuen & Cie. London.
- EVERETT, M., and W. MILLER (1974): Adaptation of Mallory's trichrome stain to embryonic and fetal material. "Stain Technol.", **48**: 5-8.
- GABE, M. (1968): Techniques Histologiques. Masson & cie. Paris.
- GOLDNER, J. (1938): Modification of Masson trichrome technique for routine laboratory purposes. "Am. J. Path.", **14**: 237-243.
- GOMORI, G. (1952): Microscopic Histochemistry. "The University of Chicago Press". Chicago.
- GURR, E. (1958): Methods of analytical Histology and Histochemistry. Hill. London.
- GURR, E. (1960): Encyclopaedia of microscopic stains. Hill. London.
- GURR, E. (1965): Staining animal tissues. Hill. London.

- LILLIE, R. D. (1965): *Histopathologic Technic and Practical Histochemistry*. 3.<sup>a</sup> edición. McGraw-Hill Book Co. New York.
- LYNCH, M. J., and Cols. (1969): *Medical Laboratory Technology*. W. B. Saunders Company. Philadelphia.
- McMANUS, J. A. F., and R. W. MOWRY (1960): *Staining methods, histological and histochemical*. Hoeber. New York.
- MALLORY, F. B. (1938): *Pathological Technique*. W. B. Saunders Company. Philadelphia.
- MARTOIA, R., et M. MARTOJA (1967): *Initiation aux techniques de l'histologie animal*. Masson & Cie. Paris.
- MASSON, P. (1929): Some histological methods, trichrome staining and their preliminary technique. "J. Tech. Maeth.", **12**: 75-90.
- PEASE, A. G. E. (1960): *Histochemistry*. 2.<sup>a</sup> edición. Churchill. London.
- SWEAT, F., S. MELOAN and H. PUCHTLER (1968): A modified one-step trichrome stain for demonstration of fine connective tissue fibers. "Stain Technol.", **43**: 227-231.

J. CABANES VILA  
Departamento Anatómico  
Facultad de Medicina  
Valencia (España)



## LIPOMAS RAQUIMEDULARES EN LA INFANCIA

POR

V. CALATAYUD MALDONADO<sup>(1)</sup>

No son muy frecuentes los lipomas localizados en el sistema nervioso o en las estructuras vecinas, que indirectamente afectan a las estructuras del neuroeje.

Si bien muchas veces se consideran como procesos de carácter tumoral, otras veces se interpretan como heteroplasias lipomatosas, es decir, como malformaciones congénitas asociadas a espinas bifidas, o malformaciones semejantes que afectan al sistema nervioso, disrafismos de naturaleza angiomatosa, o pies planos, cavos, varos, equinos, etc.

En 1957, CARAM hace una revisión de 269 casos de lipomas asociados a espinas bifidas encontrados en la literatura. Sin embargo, lipomas intramedulares se han publicado unos 100 casos, según la bibliografía que hemos revisado hasta el momento.

Independientemente de su localización a lo largo del neuroeje, se han clasificado, teniendo en cuenta su situación respecto de la duramadre, en intra y extradurales. UMBACH, en 1962, encuentra en su estadística de tumores raquimedulares que el 4'2 % corresponde a los lipomas, incluidos los lipofibromas. NITTNER, en 1967, encuentra el 2 %. GUIDETTI y col., en 1964, en su revisión de las clínicas de Roma y Bolonia, encuentran el 1'8 %. En 1961, KLAR y HENN, el 1'5 %. RICHEL, en 1961, el 1 %. El análisis en común de todas estas estadísticas nos permite deducir que estos procesos lipomatosos se presentan con una frecuencia del 2'5 %.

Queremos referirnos, en esta publicación, a 4 casos de espinas bifidas asociadas a grandes lipomas y una de ellas a un seno pilonidal (fig. 1) que han repercutido en la parte baja del neuroeje, no como proceso expansivo, sino dificultando su desarrollo normal; concretamente el ascenso del cono medular que se expresa clínicamente con una típica sintomatología.

(1) Jefe del Servicio de Neurocirugía. Departamento de Cirugía. Facultad de Medicina. Zaragoza.

EHNI y LOVE informan sobre 30 lipomas intradurales y 20 extradurales. En una revisión hecha por ZEH en 1954, encuentra 26 casos intradurales y 14 extradurales. ZÜLCH (1956) indica que esta clasificación no es siempre posible, ya que una delimitación exacta entre lipoma, duramadre y médula no se puede hacer en algunos casos.

Son precisamente estos casos en los que se engloba, además del tejido lipomatoso, las partes finales de la duramadre, no existiendo una buena delimitación con la estructura nerviosa, las que impiden el ascenso fisiológico medular (fig. 2).

La íntima relación que mantenemos con el departamento de Pediatría de nuestra Facultad de Medicina de Zaragoza nos ha permitido observar en estos 4 años 2 de estos casos, que unimos a otros 2 recogidos durante nuestro período de formación.

En general, se trata de niños que comienzan con una sintomatología de dolor lumbosacro, que posteriormente se irradia a extremidades inferiores, acompañándose de rigidez muscular y raquí-

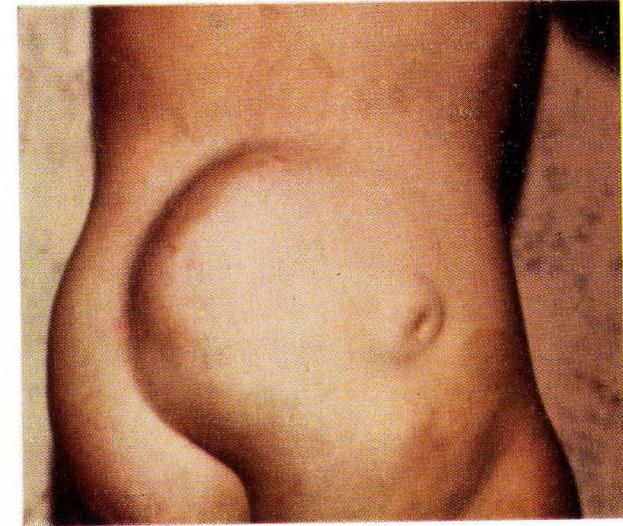


FIGURA 1

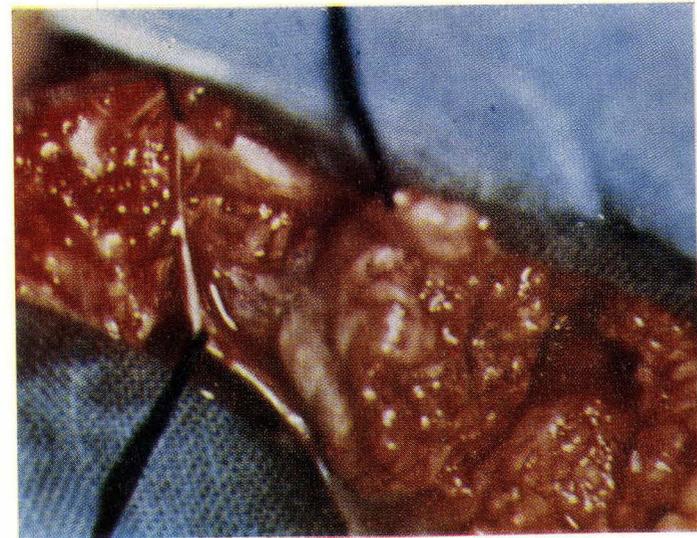


FIGURA 2

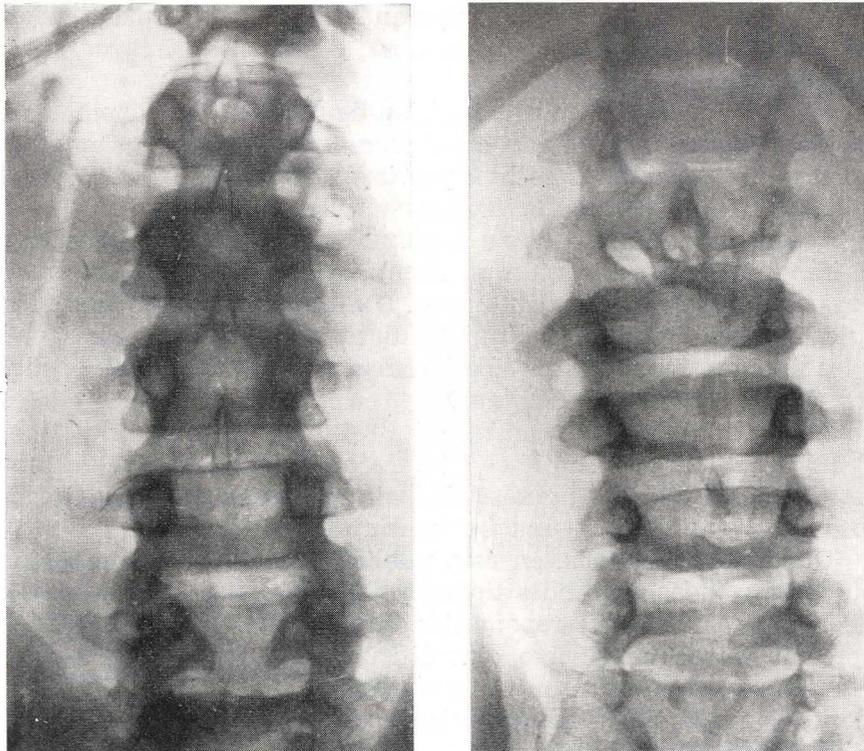


FIG. 3

dea, e inconstantemente de trastornos esfinterianos, a los que se añaden, en fases sucesivas, algias en cinturón, así como cefaleas, en ocasiones de carácter intermitente, que nos indican la aparición de sintomatología craneoencefálica que se escapa del alcance de este trabajo.

Las radiografías simples demuestran la existencia de espinas bífidas (fig. 3) de mayor o menor amplitud, con una clara dilatación del canal vertebral, y en las que a veces se acompañan otras malformaciones congénitas, como en nuestros casos: agenesia del sacro y diastematomielia.

Es importante la radiografía con medios de contraste, ya que de forma indirecta nos demuestra la fijación del "Myelon" a esa formación lipomatosa alojada en el canal espinal, o terminando en un meningocele oculto (fig. 4), para lo cual son a veces necesarias proyecciones especiales, y que es definitiva para establecer la indicación quirúrgica.

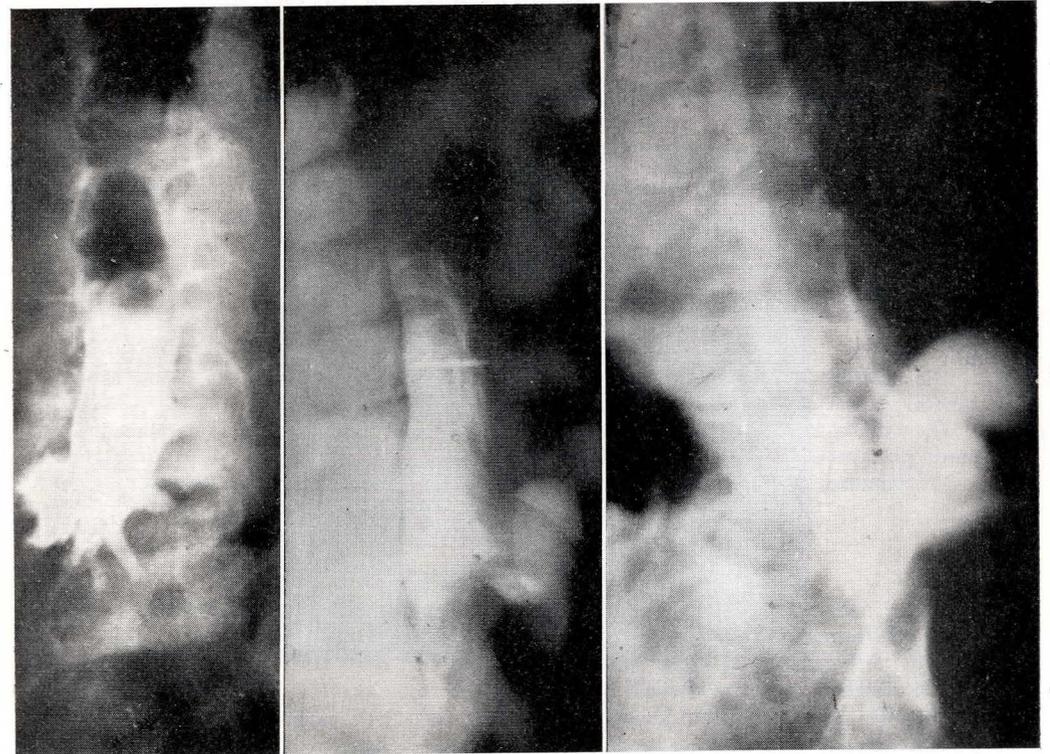


FIG. 4

La evolución de estos enfermos depende de las relaciones entre el tejido lipomatoso y el tejido nervioso, pudiendo ocurrir como en uno de nuestros casos, en el cual no fue posible la extirpación radical del lipoma, realizando entonces una desinserción del mismo (fig. 5) en la parte más caudal, respetando las raíces y reconstruyendo el saco dural con una plastia de duramadre liofilizada, siguiendo los criterios de PIA.

En otros casos, la resección macroscópicamente total es posible, dependiendo la evolución de las raíces afectadas o de la posible lesión del cono medular.

Otro caso, en que además de la fijación sacrococcígea medular existía un seno dérmico que producía trastornos neurológicos ascendentes, ya que el seno actuaba sobre la parte superior del ojal que le formaba la duramadre y llegaba hasta el cono medular (figura 6), impidiendo el lipoma subyacente el ascenso de la misma. En este caso, realizamos, en el mismo acto quirúrgico, pero en dos tiempos, la extirpación del lipoma y la resección del seno dérmico reconstruyendo posteriormente el saco dural en ambos niveles.

Es necesario, una vez más, insistir en la necesidad de un estudio y enseñanza de la anatomía radiológica, y llamar la atención sobre la necesidad de un diagnóstico lo más exacto posible de esas malformaciones congénitas, aparentemente sin importancia, en las que pueden presentarse alteraciones puramente mecánicas, bien a nivel craneoencefálico, que no hemos estudiado ahora, y alteraciones raquímedulares de origen mecánico no compresivo que, diagnosticadas y tratadas a tiempo, repercuten de forma definitiva en el pronóstico médico y social de estos enfermos.

### *Resumen*

Se describen cuatro casos de lipomas medulares y cola de caballo en niños, asociados a otras malformaciones congénitas.

Se estudia la repercusión que estos tumores tienen en las estructuras raquímedulares y la necesidad de hacer un exacto diagnóstico.

Finalmente, evaluamos la posibilidad de un tratamiento radical o paliativo.

### *Summary*

Four cases of medullary and cauda equina lipomas in childhood associated to other malformations are described.

The repercussions of these tumors upon both the bony and neural components of the vertebral canal are studied, bringing out the necessity of an exact diagnosis.

Finally, we evaluate the possibilities of either radical or palliative treatment.

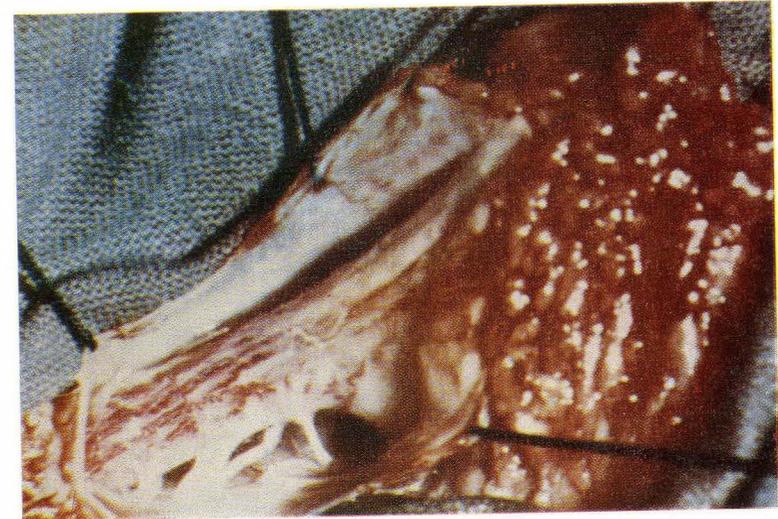


FIGURA 5



FIGURA 6

*Zusammenfassung*

Es werden vier Fälle von Rückenmarks - und radikulären Lipomen, assoziiert mit anderen angeborenen Missbildungen.

Man studiert die Auswirkung, die diese Tumoren in den rachimedulären Strukturen haben und die Notwendigkeit einer genauen Diagnose.

Schliesslich bewerten wir die Möglichkeit einer Radikal oder einer Chirurgischen Paliativ Behandlung.

*Résumé*

Etude de quatre cas de lipomes médullaires et de la queue de cheval chez l'enfant associés à d'autres malformations congénitales, pour lesquels on recherche la répercussion de ces tumeurs sur les structures rachimedullaires et la nécessité de faire un diagnostic exact.

Finalement, nous évaluons la possibilité d'un traitement radical ou palliatif.

## BIBLIOGRAFÍA

- EHNI, G., et J. G. LOVE (1945): Intraspinal lipomas. Report of cases; review of the literature, and clinical and pathological study. "Arch. Neurol. Psychiat.", **53**: 1-28.
- GUIDETTI, B., A. FORTUNA, G. MOSCATELLI et A. RICCIO (1964): Il tumori intramedullari. XVI Congresso della Societa Italiana de Neurochirurgia. 1 vol. "Il Lavoro Neuropsichiatrico", XXXV, fasc. I-II.
- GARAM, P. C., G. SCARCELLA and CH. A. CARTON (1957): Intradural lipomas of the spinal cors with particular emphasis on the "intramedullari" lipomas. "J. Neurosurg.", **14**: 28-42.
- KLAR y HENN, citados por GERLACH (1967): "J. Pädiatrische Neurochirurgie". Thieme, Stuttgart.
- NITTNER, K. (1969): "Handbuch der Neurochirurgie", VII-1.
- RITCHEL, A. (1969): "Handbuch der Neurochirurgie", VII-1.
- PIA, H. W. (1967): Indikation zur Duraplastik. "Melsunger Med. Mitt.", **41**: 61-69.
- UMBACH, W. (1962): Klinik und verlauf bei 192 spinalen prozessen mit besonderen Berücksichtigung der Gefasstumoren. "Acta Neurochir.", **10**: 167-193.
- ZÜLCH, K. J. (1956): Biologie und Pathologie der Hirngeschwülste. In: "Handbuch der Neurochirurgie", Bd. III. hrsg. von H. Olivecrona, W. Tönnis. Springer. Berlin.

V. CALATAYUD MALDONADO  
 Servicio de Neurocirugía  
 Departamento de Cirugía  
 Facultad de Medicina  
 Zaragoza (España)

# ESTUDIO DE LAS VARIACIONES ULTRAESTRUCTURALES DE LAS CÉLULAS ADENOHIPOFISARIAS TRAS LA ESTIMULACIÓN CON RAYOS ULTRAVIOLETA

POR

I. ESCRIBA ROCA<sup>(1)</sup> y A. MARTÍNEZ SORIANO<sup>(2)</sup>

## *Introducción*

EL origen de la estimulación hipofisaria con rayos ultravioleta fue debido a GARCÉS (1971), el cual utilizó este tipo de energía como inductor directo del lóbulo anterior hipofisario a fin de estudiar los efectos de esta inducción sobre la cápsula suprarrenal. Posteriormente, ESCRIBA (1975) utilizó este mismo método, estudiando las repercusiones que esta estimulación provocaba en el crecimiento del callo de fractura. Ambos autores, pero especialmente ESCRIBA, dedican uno de los capítulos de su trabajo a un amplio y metódico estudio de las variaciones de las distintas células adenohipofisarias tras la estimulación con ultravioleta, todo ello bajo el prisma histoquímico y con microscopía óptica.

El presente trabajo va encaminado a la profundización en el estudio de las variaciones sufridas por estas células del lóbulo anterior hipofisario, utilizando para ello las técnicas de la microscopía electrónica, y completar de esta manera las variaciones morfofuncionales de la compleja citología adenohipofisaria.

## *Material y métodos*

Hemos utilizado como animal de experimentación a la rata albina, ya que aparte de sus condiciones naturales de resistencia a las infecciones, este animal presenta un acceso sencillo a la lámina basilar, condición importante para la perfecta ejecución de la técnica operatoria.

(1) Prof. adjunto. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Valencia.

(2) Prof. adjunto. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Valencia.

Previa anestesia con inyección de solución de nembutal al 10 %, por vía intraperitoneal, a dosis de 40 mg/Kg, y colocación del animal "in situ", accedemos a la glándula utilizando la técnica de GARCÉS (1971), modificación de la de SMITH (1930).

Una vez puesta la hipófisis al descubierto, la fuente utilizada para la irradiación ha sido la de una lámpara de rayos ultravioleta tipo Quarlampen-Hanau, Su 500, la cual estaba conectada a la red mediante un estabilizador con una salida a la lámpara de 220 W; de esta manera se conseguía que la corriente suministrada fuese siempre uniforme; la distancia entre el foco y la base del cráneo del animal era siempre de un metro y el tiempo de radiación igualmente fue siempre de 5 minutos. Con el fin de evitar posibles enmascaramientos en la dosificación, las radiaciones se realizaron en ausencia de luz solar.

La dosificación de la radiación se llevó a efecto con un dosificador tipo LATARJET (1953), que mediante un filtro de Cornig evita la radiación visible e infrarroja. De esta forma la dosis utilizada en nuestros animales sometidos a radiación ha sido de  $450 \text{ ergios/mm}^{-2}/\text{seg}^{-1}$ .

La autopsia de los animales se llevó a cabo a los 7, 14, 21 y 31 días después de la irradiación, constituyendo la serie un total de ocho animales, dos por serie, en las que un animal era experimental y otro testigo.

La toma de las piezas y su procesaje ulterior siguió la dinámica habitual de las técnicas para la observación con microscopio electrónico.

### Resultados obtenidos

Para considerar los resultados obtenidos partiremos inicialmente de una panorámica del lóbulo adrenal (fig. 1), en la que apreciamos un sinusoides vascular y tres tipos celulares: células granudas, células de granos claros y células degranuladas.

Iniciando el comentario por el sinusoides vascular podemos apreciar en él el endotelio vascular con su protoplasma delgado y laminado extendido finamente y con gran cantidad de poros (P). Esta delgada morfología de la pared endotelial es la que ha determinado que numerosos autores en gran cantidad de trabajos a microscopía óptica no aprecien con claridad la membrana vascular y lleguen a decir que la célula adrenal está directamente en contacto con la luz vascular.

Aparte de esta circunstancia nos ha llamado la atención en el estudio del sinusoides el hallazgo de elementos precipitados dentro de la luz vascular y que la superficie de este endotelio no es regu-

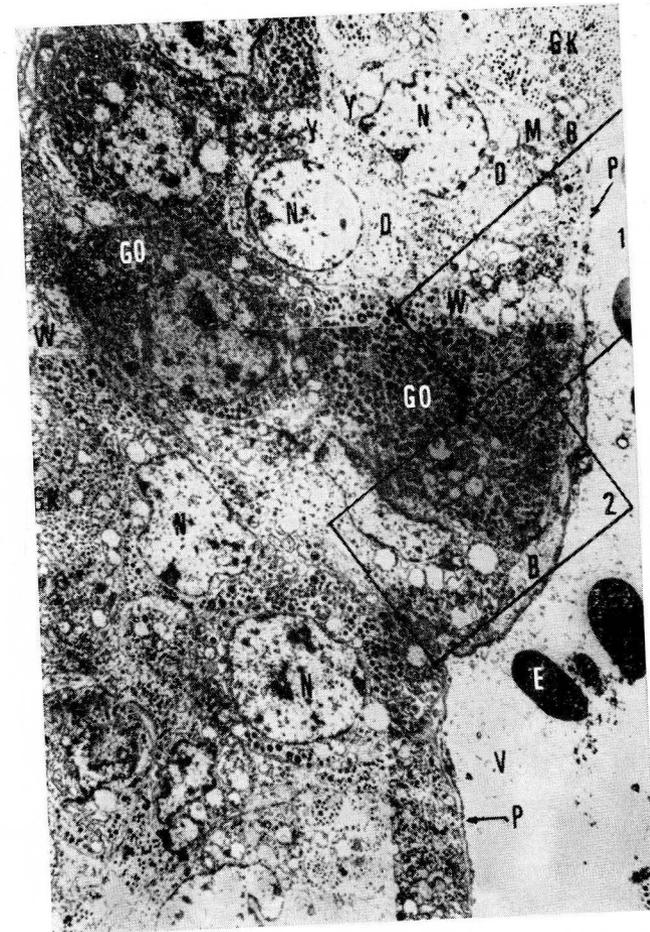


FIG. 1. — Panorámica del lóbulo adrenal (1.700× en negativo). P, poro; N, núcleo de célula granulada; V, vaso; GO, gránulos oscuros; E, eritrocito; B, basal del vaso; D, célula degranulada; Y, elementos vasculares.

lar, sino extraordinariamente anfractuosa. Pero existe todavía una diferencia más substancial con respecto a los animales control, y es que las zonas próximas a los poros se encuentran con manifiestas concentraciones de elementos que a estos aumentos (fig. 1) podríamos considerar como granulaciones en estado de metabolización, y sobre todo la gran cantidad de vacuolas que esparcidas por el citoplasma de todas las células adenales se hallan ribeteadas de granos de Palade y que interpretamos como consecuencia de una intensa actividad funcional generalizada (HERLANT, 1963).

Si observamos a mayor aumento (fig. 2) (recuadro núm. 1 de la figura precedente) obtendremos una visión en la que puede apreciarse la luz vascular (V), en la que son muy manifiestas las precipitaciones de tipo amorfo y que se imputan clásicamente a elementos proteicos plasmáticos. Destacan las secciones osmófilas de los eritrocitos (E), y ese aspecto del dispositivo endotelial, que habíamos catalogado de muy anfractuoso, mostrando poros, que ahora podemos ver nítidamente (P). Próximos a ellos se aprecian elementos formes (granulares) que denominamos organelas circulares intraluminales (OE). Este hecho no podemos considerarlo como producto de la excreción glandular, ya que ésta jamás se ha detectado en forma de precipitaciones en la luz vascular (HERLANT, 1963). La

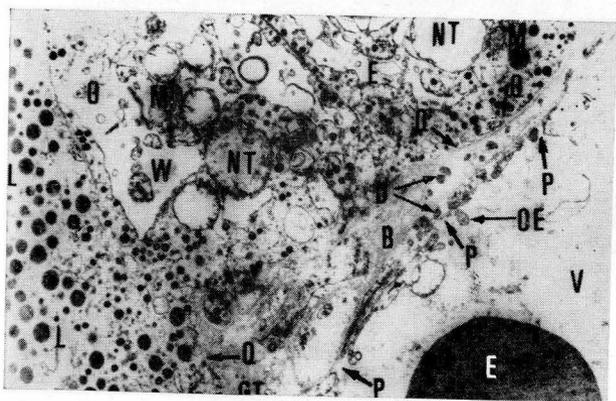


FIG. 2. — Detalle de célula granulada clara (6.000× en negativo). P, poro; N, núcleo; V, vaso; E, eritrocito; OE, organelas intraluminales; Q, discontinuidad de la basal.

basal (B) posee distinto tamaño a lo largo de la zona que ocupa en la figura, pero podemos observar en ella distintas densidades osmófilas y sobre todo la presencia de unos cuerpos densos (D), perfectamente delimitados, que se hallan distribuidos en todo su recorrido, pero con una densidad más acusada a nivel de los poros (P) y en cuya proximidad se hallan las organelas (OE) ya descritas, lo que parece poner una relación entre éstas y aquéllas.

Esto sería, según SANO (1962), otro medio de la excreción glandular en las células hiperfuncionantes.

En la figura 3 se repiten los hechos ya especificados en cuanto a la irregularidad de la basal, pero se ponen de manifiesto en el interior de la misma de unos elementos organizados como si fueran restos o secciones de otro tipo celular; hecho interesante, ya que algo similar ha sido descrito por SMITH-AGREDA (1974) en las basales del neumocito I y las células endoteliales.

Estudiadas las características más importantes de los espacios intercelulares, pasamos a analizar las peculiaridades individuales de cada uno de los tipos celulares más representativos del lóbulo adenal, después de la acción experimental.

Empezaremos por las llamadas "células granuladas", refiriéndonos a la figura 1. En este tipo celular encontramos unos dispositivos pseudovasculares (GO) de aspecto irregular y anfractuoso no hallado en el grupo control; también hemos hallado la presencia de unos cuerpos más o menos homogéneos y de carácter pulverulento al lado de los granos osmófilos típicos y que parecen lisosomas cuya misión es difícil de interpretar; pensamos que puedan estar relacionados con la presencia de esos cuerpos laminados

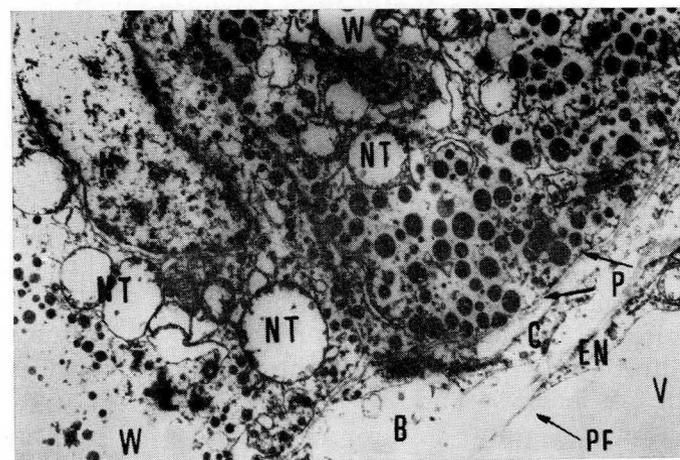


FIG. 3. — Detalle de célula de gránulos oscuros (6.000× en negativo). P, poro; N, núcleo; V, vaso; NT, vacuolas de contorno irregular.

o restos de organelas presentes en estas células experimentales, como si fuese la reacción funcional a un proceso metabólico intenso a que fuera sometida la célula en cuestión, por lo que, en consecuencia, estos lisosomas tendrían la misión de actuar como auténticos lisofagosomas (L). Estas características podemos observarlas con mayor detalle en la figura 2; en ella se pone de manifiesto cómo los granos más claros (GT) se sitúan próximos a los fallos que su membrana (Q) presenta.

En la figura 3 es evidente, y dentro de las células STH, la presencia de sáculos aplastados y tapizados de ribosomas (R), así como la abundancia de microvesículas, que en este caso llegan a presentar un considerable tamaño (NT), muy similar al que aparece en

la célula serosa más inferior de la misma preparación. Estos hechos, según KNIGGE (1958, sólo se hallan en células hiperactivadas.

#### Células de granos claros

Lo primero que nos llama la atención de este tipo celular es que su proporción en número con respecto a los animales control es extraordinariamente superior.

Por otro lado, es de destacar la presencia, dentro de ellas, de restos mitocondriales que parecen haber estado sometidos a un intenso trabajo, de tal manera que junto a mitocondrias ensanchadas, dilatadas y con sus crestas rotas, aparecen otras normales que conservan su continuidad sin dilatación de su membrana y que ya a estos aumentos se puede observar una correcta orientación en sus crestas. Sin olvidar la gran cantidad de vacuolas que, tapizadas de granos de Palade, recuerdan a las halladas por HERLANT y KLAS-TERSKY (1963) de estirpe ACTH en fase de hiperactividad.

En la figura 2, y en el ángulo opuesto a la célula de gránulos gruesos, nos encontramos con un tipo celular que morfológicamente recuerda a la estirpe LH de HERLANT (1963). Célula que consideramos en proceso de degranulación y que en este aumento nos llama poderosamente la atención el extraordinario desarrollo de la cavidad perteneciente a las cisternas ergastoplásmicas (E), así como esas enormes vacuolas (NT) de contorno irregular, con elementos en su interior, y que podemos apreciar claramente, ya que están al lado de mitocondrias (M) perfectamente normales. Todo esto nos inclina aún más hacia la anterior conclusión.

Es interesante apuntar cómo entre la membrana y la basal hay acúmulos de granos, pareciendo que la membrana está quebrada en su continuidad (Q);, estos puntos, en los que la solución de continuidad de la membrana celular queda patente, también los hemos hallado en las células de granos gruesos. Acúmulo granular que indica una avanzada fase de excreción del producto hormonal.

#### Células degranuladas

En la figura 1 podemos apreciar este tipo celular (D). Son de características muy parecidas a los de los animales control, pero la membrana nuclear es más irregular, a la vez que aparecen esos lisofagosomas ya descritos en los granos oscuros. Además, aparecen unos elementos vacuolares (Y) como si fueran restos de organelas de distintas densidades o mitocondrias extraordinariamente dilatadas, se presentan simultáneamente a mitocondrias (M) normales, como a mayores aumentos (fig. 2) hemos descrito. Lo que nos orienta hacia un mecanismo hiperfuncionante debido a la condición ex-

perimental. En la figura 2 es manifiesto cómo los granos densos (D) se sitúan próximos a los lugares en donde la célula degranulada presenta solución de continuidad en su membrana.

Otro detalle interesante y digno de tener en cuenta son los espacios intercelulares; en la figura 1 podemos apreciar cómo éstos están dilatados y muy anfractuados, y muestran en su interior restos de organelas, como las células sometidas a un ritmo de función muy intenso. En la figura 2 queda de manifiesto lo que acabamos de señalar, al mismo tiempo que se observan mitocondrias degeneradas.

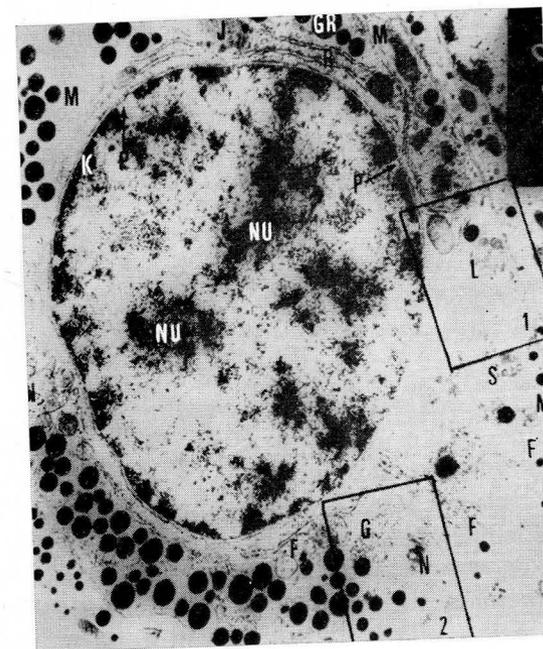


FIG. 4. — Célula de granos oscuros (6.000× en negativo). P, poro; N, núcleo; J, condensación periférica de retículo endoplásmico; K, cromatina; G, Golgi; L, cuerpos laminados; R, retículo endoplásmico.

A continuación, y siguiendo con la descripción de los resultados obtenidos, pasamos a comentar lo observado en los animales sometidos a un tiempo de evolución más largo desde el inicio de la experiencia (21 y 31 días) y a mayores aumentos.

La figura 4 corresponde a una célula de granos gruesos, perteneciente a un animal de experimentación de 21 días de evolución. En ella podemos apreciar, por un lado, un núcleo grande, voluminoso y rico en cromatina (K); ésta tiende a situarse periféricamente, quedando unos elementos centrales que identificamos como el nu-

cleolo (NU). Es interesante observar la doble membrana nuclear y cómo ésta, en determinados puntos, presenta soluciones de continuidad correspondientes a los poros (flecha).

Si detenemos nuestro estudio en el protoplasma celular, nos daremos cuenta de la existencia de un retículo endoplásmico (R) no muy abundante, pero con granos de Palade a su alrededor; así mismo llama la atención la presencia de granos de secreción de distinto tamaño (GR), muy opacos y distribuidos por todo el citoplasma. Próximas al retículo ergastoplásmico aparecen mitocondrias de variadas formas y tamaños e incluso formaciones de intensidad media al paso de los electrones, de aspecto granujiento y que a veces parecen no tener membrana, mientras que otras presentan una condensación periférica (J).

Si observamos detenidamente la zona correspondiente al aparato de Golgi, que se muestra muy evidente (G), apreciaremos la existencia de cuerpos laminados con orientaciones diversas en sus láminas, mientras que otros presentan una morfología laminar concéntrica y que corresponde a lo que los autores alemanes han denominado como Nebenkern (N). Todos estos datos nos orientan hacia una fase evidente no sólo de hiperplasia, sino también de hipersecreción (HERLANT, 1963; HERLANT y KLASTERSKY, 1963; KNIGGE, 1958).

Por otro lado, en el recuadro número 1 aparecen unos cuerpos de aspecto laminado (L), que muestran en su interior una serie de capas blandas que podrían ser consideradas como mitocondrias evolucionadas. Otra característica es la presencia en el interior de estos cuerpos de dos formaciones circulares amorfas, de mayor densidad al paso de los electrones que el dispositivo ya estudiado. Otro detalle digno de mención se refiere a la presencia de fibras nerviosas (F) cortadas a través y situadas intraprotoplásmicamente; parecen ser fibras delgadas que presentan en su interior neurotúbulos perfectamente diferenciables.

En la figura 5, a mayor aumento, podemos observar el recuadro de la precedente, y en él apreciamos nítidamente la masa laminar (ML), que por su morfología recuerda una mitocondria gigante evolucionada, de aspecto esferoidal y con las criptas paralelas y orientadas de tal forma que les confiere un aspecto pseudomiélinico. Los cuerpos esferoidales que veíamos en su interior se muestran ahora como inclusiones amorfas (I), con las mismas características y con un límite externo algo más denso que su contenido.

El retículo ergastoplásmico es neto, apreciándose cómo su parte periférica en la porción correspondiente a su cisterna está moteada por condensaciones ribosómicas. Concentración que según PALADE

(1956) objetivaría una fase de activa formación del producto de secreción.

En el ángulo superior derecho de la figura en estudio aparecen unas estructuras (N) cuya disposición nos recuerda a los Neberkern, que en las células en reposo son casi imposibles de encontrar, si bien en este caso no han llegado a conseguir todavía la disposición concéntrica laminar que los caracteriza.

En el ángulo inferior derecho de la preparación son evidentes unas cisternas (C) caracterizadas por presentar un aspecto golgiano, ya que en sus límites no existen rugosidades típicas del ergastoplasma, ya que en la distribución estas células poseen un verdadero polimorfismo en el contenido ribosómico.

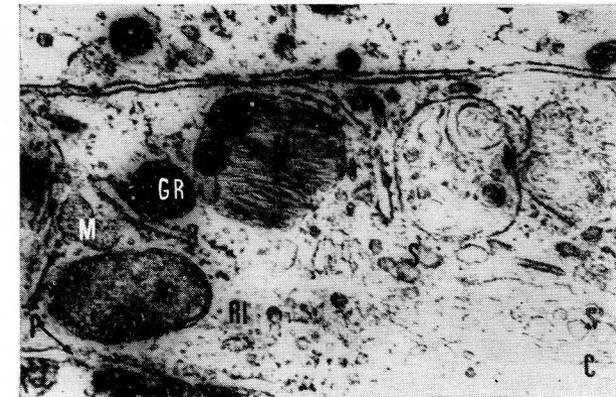


FIG. 5. — Detalle a mayor aumento del recuadro 1 de la figura precedente (19.000× en negativo). ML, masa laminar; I, inclusiones amorfas; GR, granos; M, mitocondrias; N, Neberkern; C, cisternas.

Si pasamos al estudio de la figura 6, que corresponde a una ampliación del recuadro 2 de la figura 4, podremos apreciar, en el centro de la misma, un aparato de Golgi evidente formado por gran cantidad de cisternas; en el interior de una de ellas, extraordinariamente dilatada, se puede apreciar la formación de un grano de secreción (GR) que permanece intracisternalmente y cuya consecuencia es la imagen de membrana que le confiere la pared de la cisterna, lo que pone de manifiesto una vez más la extraordinaria actividad de las células experimentales. Aparte de ergastoplasma rugoso con granos de Palade, acúmulos de ribosomas y mitocondrias de características normales, se puede apreciar también en el centro de la fotografía la presencia de lo que denominamos Neberkern. Estas estructuras de aspecto pseudomiélinico, consideradas como acúmulos de mesocristales constituidas por láminas de fosfo-

lípidos y colessterina, son expresión del catabolismo celular de estos compuestos, en situaciones de exceso de trabajo a que se someten las células que los poseen.

Si pasamos a estudiar la figura 7, nos llama poderosamente la atención el irregular contorno que muestra la célula de granos gruesos, con una especie de mamelones (Q) no muy nítidos y con aspecto fungiforme en uno de sus polos. El núcleo (N) es, así mismo, irregular, con anfractuosidades que parecen corresponder a la presencia de determinadas estructuras citoplásmicas.

El retículo ergastoplásmico (R6) no es abundante, pero presenta su morfología típica al igual que las mitocondrias.

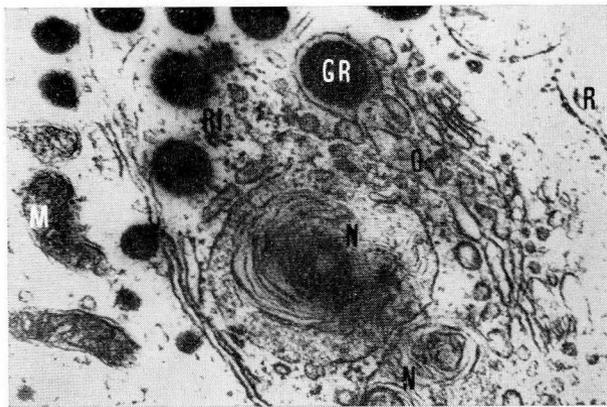


FIG. 6. — Detalle a mayor aumento del recuadro 2 de la figura 4 (19.000× en negativo). GR, granos de secreción; N, Nebekern; R, retículo ergastoplásmico.

Lo que más llama la atención es la presencia en el interior del protoplasma de fibras nerviosas cortadas de través (F), con abundantes neuroacúmulos, así como la presencia de unas condensaciones grandes, abundantes y de distinta apetencia al ósmico, unas claras (IK) (K) y otras más densas (ID).

Las claras se caracterizan porque muestran a veces una membrana que las delimita perfectamente y otras se confunden con la concentración osmófila de la periferia de las mismas. Sin embargo, y sobre todo en las más osmófilas (ID), parece que si bien en algunas existe esta doble membrana, estudiando la más inferior podemos apreciar que existe un polo en el que esta membrana desaparece, no existe límite ni condensación alguna, sino que la transición de la inclusión al citoplasma se hace de una manera brusca, como si se tratase de una parte del mismo. Este hecho nos indica que no son inclusiones estáticas, sino dinámicas.

La ausencia de gránulos nos cataloga a esta célula de degranulada. Pero lo que queremos poner de manifiesto al hablar de ella es que no la hemos encontrado ni en el animal control ni en la bibliografía consultada.

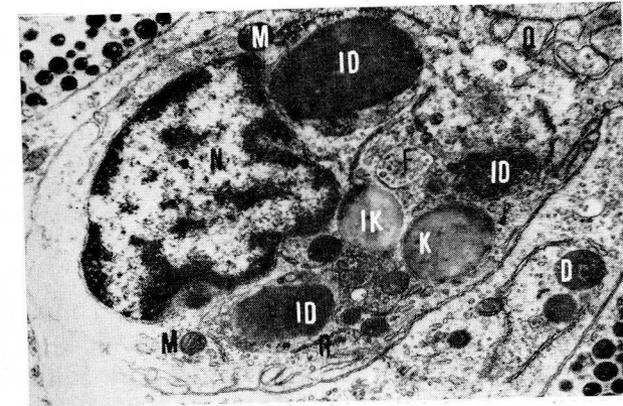


FIG. 7. — Célula con granos claros y oscuros (6.000× en negativo). M, mitocondrias; F, fibra nerviosa; K, granos claros; IK, granos claros; D e ID, granos oscuros; Q, mamelones.

Hasta aquí hemos puesto de relieve las características diferenciales más interesantes con respecto a los animales controles de la citología adenohipofisaria. Es evidente que nuestro hallazgo más importante y ampliamente comentado de nuestro estudio citológico a microscopía luz fue la "célula de la radiación" (ESCRIBA, 1975); esta célula igualmente la hemos encontrado en el estudio ultraestructural, pero dado su complejo morfofuncionalismo será objeto de un amplio y detallado estudio en una próxima publicación.

### Discusión

La exposición del estudio ultraestructural nos ha permitido ir confirmando la activación del lóbulo adenal de la hipófisis irradiadas con luz ultravioleta, basados en toda la serie de variaciones y modificaciones morfológicas apreciadas.

Recordemos la gran cantidad de microvacuolas dispersas por el citoplasma de las células experimentales, hecho que HERLANT (1963) considera como significativo de hiperfunción celular adenohipofisaria. Igualmente en la basal, o mejor dicho, en el espacio perivascular, existe mayor cantidad de organelas y granulados y poros intrabasales y basales que en los animales testigos, hechos que para

SANO (1962) evidencian un nuevo mecanismo de excreción glandular en las células adenohipofisarias hiperfuncionantes.

Por otro lado, en las células acidófilas hemos puesto de manifiesto gran cantidad de sáculos tapizados de ribosomas y una considerable abundancia de microvesículas, cuyo tamaño es similar al de las células serosas, al mismo tiempo que se hace evidente la presencia de las formaciones denominadas Neberkern, hechos éstos que según opinión de KNIGGER (1958) sólo se pueden manifestar en células hiperactivadas.

En las células de granos claros hemos hallado, junto a mitocondrias dilatadas con sus crestas rotas, otras totalmente destruidas que morfológicamente son comparables a las halladas por HERLANT y KLASTERSKY en células ACTH en fase de hiperactividad. Igualmente algo parecido hemos observado en las de estirpe posible LH y en las degranuladas. Recordemos, así mismo, los lisofagosomas típicos encontrados en estas células, que no fueron encontrados en ningún caso en las células del tipo control. Por otra parte, el mayor tamaño nuclear, la plétora cromatínica y el gran desarrollo observado en el aparato de Golgi de las células radiadas son índice inequívoco de una importante activación funcional, ya sea en la neoformación granular como en la excreción del producto hormonal, según la teoría de FARQUHAR y WILLINGS (1957). Por todo lo cual, nosotros manifestamos que la radiación ultravioleta origina una activación global adenohipofisaria, cuya máxima expresión morfológica se manifiesta por las células de la radiación.

### Resumen

Hemos realizado un trabajo de radiación hipofisaria con luz ultravioleta, observando que tras esta experiencia aparecen signos ultraestructurales evidentes de hiperfunción global de todo el lóbulo anterior hipofisario y un tipo celular específico, "la célula de la radiación".

### Summary

We have realized a work in which, we have realized radiation of hypophysis with light ultravioleta. We have observed that this action is motive for produced hyperfunction in all anterior pars of hypophysis and the aparition of an cell type specific, "the cell of radiation".

### Zusammenfassung

Wir haben eine Studie über die Bestrahlung der Hypophyse mit ultravioleten Licht durchgeführt. Dabei wurde beobachtet, dass nach dem Experiment evidente ultrastrukturelle Anzeichen einer globalen Hyperfunktion des gesamten Vorlappens der Hypophyse, sowie ein spezifischer Zellentyp "radiationszelle" auftreten.

### Résumé

Nous avons réalisé un travail d'irradiation hypophysaire avec de la lumière ultraviolete, en observant, puis cette action, l'aparition des signes ultrastructuraux d'hyperfunction global de tout le lobe anterior et un type cellulaire spécifique, "la cellule d'irradiation".

### BIBLIOGRAFÍA

- FARQUHAR, M. G.; S. R. WILLINGS (1957): Electron microscopic evidence suggesting secretory granule formation within Golgi apparatus. "J. Biophys. biochem. Cytol.", **3**: 319-322.
- GARCÉS, V. (1972): Técnica quirúrgica experimental para la irradiación ultravioleta de la hipófisis en la rata albina. "An. Anat.", **21**: 87-94.
- GARCÉS, V. (1973): Aportaciones al conocimiento de las transformaciones experimentales del substrato endocrino suprarrenal tras radiaciones ultravioleta hipofisarias. "An. Anat.", **22**: 247-266.
- HERLANT, M.; J. KLASTERSKY (1963): Etude au microscope electronique des cellules corticotropes de l'hypophyse. "C. R. Ass. Anat." (Paris), **118**: 720-729.
- KNIGGE, K. M. (1958): Cytology and growthhormon content of rats pituitary gland following thyroidectomy and stress. "Anat. Record", **130**: 543-551.
- LATARGET, R.; P. MORENNEY (1953): Un appareil simple pour la dosification des radiations ultravioletes émises pour les lampes germicides. "Ann. Institut. Pasteur", **170**: 85, 174-185.
- SANO, M.: Further studies on the teta cells of the mouse anterior pituitary as revealed by electron microscope with special reference to the mode of secretion. "J. cell. Biol.", **15**: 85-97.
- SMITH, P. E.: Hypophysectomy and replacement therapy in the rat. "Amer. Jour. Anat.", **45**: 205-273.
- SMITH AGREDA, V.; A. PASCUAL LEONE (1974): Morfología estructural del pulmón fetal. "Rev. Esp. de Obst. y Gin.", **33**: 351-373.
- SMITH AGREDA, V.; E. FERRES TORRES; M. MONTESINOS (1975): Paso del pulmón fetal al pulmón que respira aire, especialmente en relación al surfactante. "Med. Esp.", **74**: 97.

I. ESCRIBÁ ROCA

Departamento de Anatomía  
Facultad de Medicina  
Valencia (España)



## DIE CEREBRALE LOKALISATION

POR

K. FEREMUTSCH<sup>(1)</sup>

**D**IE Zuordnung nervöser Funktionen zu einem bestimmten Substrat des Nervensystems war immer wieder Gegenstand des Denkens. Ihre Geschichte und Problematik ist auch immer wieder aufgegriffen und kritisch betrachtet worden (KLINGLER, 1967; JANZEN, 1972). Die neuere Zeit hat aber auch vieles - gerade unter experimentellen Gesichtspunkten - tiefer zu verstehen begonnen und vor allem eine Topik in den Kernen erkannt, z.B. im Kern des Nervus oculomotorius (WARWICK, 1953; GFELLER und FEREMUTSCH, 1966). Auch am Kern des N. vagus ist eine Somatotopik aufgezeigt worden. Die Beziehung der räumlichen Organisation im Gehirn zum Raum, in dem der Mensch lebt, wurde zu deuten versucht (FEREMUTSCH, 1963), und die Lokalisation im Cerebellum ist uns durch zahlreiche Untersuchungen vertraut geworden (ANGEVINE, MANCALL und YAKOVLEV, 1961; JANSEN und BRODAL, 1958). Und schliesslich ist wiederholt der Versuch unternommen worden, *besondere geistige* Fähigkeiten dem Grosshirn zuzuordnen, wobei gerade hier das rein naturwissenschaftlich-materialistische Denken versagt hat (HERZ, 1965). Wenn ich hier von cerebraler Lokalisation spreche, dann verstehe ich darunter die "Lokalisation im Grosshirn". Dabei stellt sich die Frage, was denn eigentlich lokalisiert werden kann und was der Begriff "Lokalisation" überhaupt aussagt. Oder anders gestellt: Welche *ontologischen* Kategorien sind uns in die Hand gegeben, die Gehirnfunktionen mit der kategorial-ontologischen Struktur des Menschen in Verbindung zu bringen? Wo der Mensch als geistiges Wesen Mensch ist, steht er, mehr oder minder bewusst, in seiner Welt, die auch Kosmos ist, aber auch in Konfrontation mit der Gesellschaft, der er angehört. In der Auseinandersetzung mit seiner Welt und mit der Gesellschaft vollzieht sich des Menschen Tun und Handeln vor allem aber auch seine

(1) Neuroanatomische Abteilung. Anatomischen Institut der Universität Bern.

Sprache. Sie sind Ausdruck seines "personalen Geistes" und seiner "geistigen Situation" (HARTMANN). Der Mensch ist aber auch Organismus, ist biologisch gesehen dem Tier verwandt und trägt Zeichen einer organischen Struktur, etwa in Bau und Funktion seiner Zellen und Gewebe, die aus seiner Entwicklung zu verstehen sind. Versteht man ihn so, dann ist sein seelischer Bereich, der ihn neben der organischen Struktur mit dem Tier verbindet, wohl das am meisten Rätselhafteste. Das alles mit der Gehirnstruktur in Zusammenhang zu bringen bedeutet, einer ontologischen Struktur zu begegnen, die sein Wesen ausmacht. Mit anderen Worten, kategorial gesehen ist der Mensch ein geschichtetes Wesen, das organische (biologische), seelische und geistige Phänomene zeigt. Deren letztere bilden den Inhalt dieser Abhandlung in Hinsicht auf die Lokalisation. Ist, so fragen wir, diese Schichtung auch lokalisatorisch greifbar und welche Bedeutung kommt ihr zu?

Betrachtet man die auf verschiedene Weise erarbeiteten Lokalisations-schemata (etwa die von KLEIST odtr PENFIELD und RASMUSSEN) bemerkt man, dass entsprechend dem pragmatischen Standpunkt des Untersuchers diese Schemata verschieden aussehen. Oder, wiederum anders formuliert: der Neurologe sieht "neurologische" Phänomene, die er der Grosshirnrinde zuordnet, der psychologisch Interessierte "psychische" und der, dem das Geistige am Menschen von Belang ist, versucht dieses zu "lokalisieren". Der Mannigfaltigkeit der geistigen Erscheinungen kann dabei kaum Rechnung getragen werden, zumal die Aussagen auf Grund klinisch-pathologischer Syndrome gemacht werden müssen. Man schliesst also aus dem Ausfall einer Funktion auf deren Lokalisation beim gesunden Menschen. Wie weit das statthaft ist, kann hier unerörtert bleiben.

Menschliches Verhalten, z.B. sei es intentional oder emotional, hat seinen Ort im Grosshirn - und unser Wissen darf als gesichert gelten - nämlich im Frontalhirn und im limbischen Cortex. Wohl glaubt man heute zu wissen, welchen Strukturen Gedächtnis und Erinnerung zugeordnet sind. Eine klare Auskunft gibt die Forschung nicht. Was hypothetisch und was gesichertes ist, kann kaum auf experimentell erarbeiteten Resultaten beim Tier für den Menschen verbindlich ausgesagt werden. Sind das emotionale und das intentionale Verhalten, sind Gedächtnis und Erinnerung seelische oder gar geistige Phänomene? Dürfen wir sie *ausschliesslich* als solche betrachten? Oder sind sie Ausdruck von Grundprozessen, auf denen andere aufgebaut sind und sich im Intentionalen und Emotionalen äussern? Das alles sind Fragen, die uns dazu führen, nach den Grenzen der Lokalisation und eben nach der durch sie greifbaren ontologischen Struktur zu suchen.

Lokalisation im klassischen Sinne weisen die senso-motorischen Systeme auf. Sie ist einerseits greifbar als Topik (Somatotopik in den Gyri centrales, Tontopik in den Gyri temporales transversi und Gesichtsfeldtopik in der Sehrinde). Darüber hinaus aber sind die integrativen Leistungen dieser Systeme trotz ihrer phänomenologischen Vielfalt als motorische und sensorische Sprachfelder und als Rindengebiete für Praxieen und Gnosieen lokalisierbar. Deren Funktionen führen zu ganzheitlichen Leistungen, die der Topik entbehren, obwohl sie gerade von jenen nervösen Grundprozessen der Primärfelder, die körperbezogen (topisch) fassbar sind, getragen werden. Es ist müssig zu fragen, ob diese integrativen Funktionen "schon" seelische sind - das ist eine Sache der Definition und Interpretation - aber zweifelsohne stehen sie engem Zusammenhang mit seelischen Phänomenen wie Sinneswahrnehmung, Bewegungsentwürfe, Erkennen und Erinnern, wobei das Intentionale und Emotionale mit hineinspielt. Greifen wir paradigmatisch das Sprechen heraus. Wir kennen die biologisch-organischen Substrate dafür - wie kommt nun indessen Sprache als Ausdruck inhaltlicher Gegebenheiten zustande? Menschliche Sprache, die nicht nur Zeichen oder "Code" ist, sondern seinsgemäss Transzendenz des eigenen Bewusstseins zu einem anderen, nämlich zur angesprochenen Person.

Wie kommt es, dass es Dichter, Rhetoren und Dämagogen gibt, die sich der Sprachen für ihre Zwecke bedienen? Sprache ist aber nicht nur "Wort" - sie ist auch Gestik und Geschriebenes d.h. durch *Bewegung* Ausgedrücktes, das seinen Inhalt hat. Und wieder stellt sich die Frage: Wo liegt im Grosshirn das "Zentrum" für diese menschlichen Leistungen, die wir als geistige anerkennen, und die ihren Niederschlag finden im aktuellen Dialog, in der Dichtung oder in den Dokumenten der Geschichte. Und eine letzte Frage: Wie steht es mit der Erkenntnis und dem Denken, beide offensichtlich aus Wahrnehmung entsprungen, die ihrerseits auf den physiologischen Prozessen der Sinnesorgane und der Grohhirnrinde aufruht.

Der Fragen sind zu viele, als dass sie auf knappem Raum in ihrer Fülle angegangen werden können. Es mag genügen, wenigstens die Problematik aufgezeigt zu haben, die als Grundlage des Folgenden dienen soll.

Die Idee einer ontologisch geschichteten Welt ist in ihren Anfängen schon in der Antike sichtbar. Für den Menschen hat ARISTOTELES in seinem Buch über die Seele (deutsche Ausgabe GIGON) diese Seinsstruktur aufgezeigt. Für unsere Zwecke ist es von Bedeutung, dass er unter den *vegetativen* Potenzen die "äusseren Sinne" wie Tastsinn, Geschmack, Hören und Sehen als kategoriale

Formen aufführt; Vorstellung und Erinnerung als "innere Sinne" und Fortbewegung den *sensitiven*, Verstand und Wille den *geistigen* Potenzen zuordnet. Aristoteles' Gedanken sind von THOMAS VON AQUIN und schliesslich durch ihn von der thomistischen Psychologie übernommen und weiter entwickelt worden (BRENNAN, MERCIER). Eine eingehende philosophische Analyse dieser Lehren kann hier nicht durchgeführt werden. Vielmehr liegt die Ausgabe darin, aufgrund der klassischen Lokalisationslehre - mag sie nun Hypothese oder tatsächliche Theorie sein - die menschliche Seinsstruktur zu erarbeiten.

Da zeigt sich nun zunächst, dass alle jene Funktionen, die auf elementaren nervösen Prozessen aufruhend, eindeutig lokalisierbar sind. Es sind das die Sinnesfunktionen und die Motorik. Es sind animale Leistungen, die aber kaum als Einzelleistungen in Erscheinung treten, sondern bereits als assoziative eine neue Schicht verraten. Immerhin gilt hier, dass die erste ontologische Schicht diejenige ist, die biologische Grundfunktionen aufweist, die der Mensch auch mit dem Tier gemeinsam hat. Sie sind die Tragenden für alle anderen. Die Kategorien liegen noch ganz im Bereich des Organischen und sind spezifisch biologische eben Sinnesfunktionen, Bewegung und Topik. Wie weit hier auch die Kategorien der Relation und der Dimension Geltung haben, muss eine eingehendere Analyse aufweisen. Die Relation ist gegeben durch die Beziehung zwischen der Umwelt des Menschen und seiner Seinsstruktur, die seine Einordnung in diese möglich macht. In der Dimension kann die Besonderheit der Topik erfasst werden, sind doch die Körperregionen nicht ihrer Grösse (Masse) und Ausdehnung entsprechend vertreten, sondern gemäss ihrer biologischen Bedeutung. Aber gerade die Topik weist auf eine besondere Situation hin, nämlich auf die im Gehirn vorliegende *räumliche* Organisation. Sie ist Abbild des Körpers in seiner Ganzheit. Wir können sagen, es ist die Schicht der *primären* Seinsstruktur des Menschen. Nun darf man aber nicht übersehen, dass diese Grundfunktionen immer schon als überformte in Erscheinung treten. Sie sind uns bekannt als *seelische* Leistungen, die ihrerseits noch lokalisierbar sind. Sie sind lokalisierbar, weil sie noch ganz der animalischen Sphäre des Menschen angehören, aber als integrative Leistungen etwas Spezifisches darstellen. Spezifisch auch gegenüber dem Tier. In den Praxieen und Gnosieen kommen sie ans Licht - und unter ihnen ist die Sprache wohl das Eindrücklichste. Indessen ist auch hier wiederum zu sagen, dass es seelische Phänomene gibt, die nicht klar lokalisatorisch fassbar sind, wenn man zunächst einmal vom Emotionalen und Affektiven absehen will. Das *Pathos* ist der Lokalisation kaum zugänglich und weist auf die Grenze der ontologischen Schicht des

Psychischen und damit auf die Grenze der Lokalisation. Spürbar ist das Ueberschreiten der Schichtgrenze an der Sprache. Freilich ist auch sie Ausdruck des Seelischen, sie ist aber auch Träger des Geistigen am Menschen und ihr Inhalt ist Kommunikation.

Diese dritte ontologische Schicht - das Geistige - ist kaum mehr lokalisierbar, oder eben gebunden an die Intaktheit der anderen Schichten und damit an die Intaktheit des ganzen Gehirns. Wo geistige Funktionen erlöschen, kann die Ursache in der Erkrankung des ganzen Gehirns liegen. Mag man das Gehirn als Endprodukt einer Entwicklung ansehen, die als Cerebralisation messbar ist - seine Leistungen gehen weit über das hinaus, was am Menschen noch "Tier" ist. Hier gibt es keine Analogie zum Tier. Die menschliche Sprache beweist es. Wohl ist sie als organisch fundierte Funktion in den beiden tragenden Schichten lokalisierbar, nicht lokalisiert ist ihr Inhalt, ihr Ausdruck und ihre Transzendenz. Bedenkt man aber, dass geistige Funktionen verloren gehen können, ohne dass ein organisches Substrat sichtbar ist (es sei denn man suche es im submikroskopischen Bereich), dann muss man sich fragen, ob wir nicht die wesentliche Seinsform des Menschen übersehen, wenn wir gerade diese Funktionen als an das Substrat gebunden lokalisieren wollen. Und nun ist noch einmal auf das Emotionale und Intentionale Verhalten zurückzukommen. Experimente am Tier und pathologisch-anatomische Erfahrungen am Menschen lehren uns, dass das "Zentrum" dieser Verhaltensweisen im limbischen Cortex und in der Rinde des Stirnhirns liegt. Bewusster Wille und Streben sind offenbar als geistige Phänomene noch lokalisierbar, ebenso wie die Emotionalität. Aber auch sie sind nur Grundprozesse und keineswegs das Ganze, was den Menschen zur Person macht. Person, die Ausstrahlung ist. Geist ist nicht lokalisierbar - er ist der ganze Mensch in seiner gradweise differenzierten Form. Die höchste ontologische Schicht, die am Menschen sichtbar wird, ist metaphysisch transzendente, organisch überformte Schicht.

Und um nun zur Grundfrage zurückzukehren: die Lokalisationslehre ist ein wundervolles Instrument, naturphilosophisch den Menschen zu begreifen, der als beseelter Organismus auch geistiges Wesen ist und vom personalen Geist über seine Sprache zum objektiven Geist die Brücke spannen kann. Die Spuren, die er hinterlässt - fassbar als objektivierter Geist - sind Geschichte. Gemauerter Geist.

## BIBLIOGRAFÍA

- ANGEVINE, J. B., jr., E. L. MANCALL, P. I. YAKOLEV (1961): The human cerebellum. Little, Brown & Co. Boston.
- BRENNAN, R. E. (O. P.) (1957): Thomistische Psychologie. 1. Ergänzungsband zur Deutschen Thomas-Ausgabe. Heidelberg.
- FEREMUTSCH, K. (1963): Das Räumliche und die Organisation im Gehirn. "Verhandl. Naturf. Ges. Basel", **74**: 169-180.
- GFELLER, E., und K. FEREMUTSCH (1966): Die Nucleo nervorum oculomotorii et trochlearis der Cercopitheciden und ihre Stellung in der Reihe der Primaten. "Acta anat.", **65**: 327-352.
- GIGON, O. (1950): Ueber die Seele (nach Aristoteles übersetzt). Bibliothek der alten Welt. Artemis-Verlag, Zürich.
- HARTMAN, N. (1948): Zur Grundlegung der Ontologie, 3. Aufl. Westkulturverlag, Meisenheim am Glan.
- HARTMAN, N. (1962): Das Problem des geistigen Seins, 3. Aufl. Walter de Gruyter & Co., Berlin.
- HARTMAN, N. (1955): Naturphilosophie und Anthropologie. In: "Kleinere Schriften", Bd. 1, pag. 214. Walter de Gruyter & Co., Berlin.
- HERZ, A. (1965): Die Morphologie des Grosshirns und die geistigen Fähigkeiten Offizin Zürcher, Zug.
- JANSEN, J., und A. BRODAL (1958): Das Kleinhirn. In: "Hdb. der mikr. Anat. Erg.", zu Bd. IV/1. Herausgeber: W. Bargmann. Springer, Berlin.
- JANZEN, R. (1972): Die letzten 100 Jahre Lokalisationsforschung an der Grosshirnrinde. "Z. Neurol.", **202**: 75-93.
- KLEIST, K. (1934): Gehirnpathologie. J. A. Barth, Leipzig.
- KLINGLER, M. (1967): Zur cerebralen Lokalisationslehre. Betrachtungen zur Geschichte einer Hypothese. "Schweiz. med. Wschr.", **97**: 725-731.
- MERCIER, D. (1906): Psychologie, 2. Bde. Deutsche Ausgabe von L. Habrich. Kösel'sche Buchhandlung. Kempten und München.
- PENFIELD, W., and TH. RASMUSSEN (1957): The Cerebral Cortex of Man. The Macmillan Company, New York.
- S. THOMAE AQUINATIS (1959): In Aristotelis Librum de Anima Commentarium. Editio quarta. M. Pirotta, O. P. Verlag Marietti, Mailand.
- WARWICK, R. (1953): Representation of the extraocular muscles in the oculomotor nuclei of the monkey. "J. comp. Neurol.", **98**: 449-495.
- WARWICK, R. (1953): The identity of the posterior dorso-central nucleus of Panegrossi. "J. comp. Neurol.", **99**: 599-607.

K. FEREMUTSCH  
Neuroanatomische Abteilung  
Anatomischen Institut  
Universität Bern



## ESTUDIO DE LA ESTRUCTURA DEL PULMÓN NORMAL A MICROSCOPIA ELECTRÓNICA Y DE SCANNING

POR

E. FERRES TORRES<sup>(1)</sup>

*Al Prof. Escolar con gratitud,  
admiración y cariño.*

### Introducción

EL estudio de la organización morfofuncional del alveolo pulmonar reviste hoy día gran interés desde los trabajos de HAYEK (1951), que permitieron a EULER (1951) y COURNAN (1951) emitir su teoría, llamada también "efecto Euler-Cournan". El estudio del dispositivo vascular del pulmón por el método de la angiografía selectiva de Bolt permitieron poner de manifiesto un dispositivo vascular que constituyen verdaderos atajos arteriovenosos a nivel alveolar y que en conjunto reciben el nombre de arterias de presa o embalse. No obstante, estos procesos no acababan de explicar la dinámica funcional del substrato anatómico pulmonar, que MORO (1968) denominó "neumón".

En este neumón hemos de considerar, por un lado el llamado segmento aéreo que desde los trabajos de MORGAN (1971) y CLEMENTS (1969) se demostró a microscopía electrónica que posee un revestimiento epitelial endodérmico, constituido por unas células que poseen un citoplasma de extraordinaria estrechez, prácticamente laminar, y en el cual sólo hace relieve la zona de la célula en donde se localiza el núcleo. Las células que constituyen el revestimiento epitelial son de dos tipos: los llamados neumocitos tipo I, que son muy delgado, y los llamados neumocitos tipo II, que son de mayor tamaño, con microvillis hacia la luz, lo que les da un

(1) Prof. agregado de Anatomía. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Valencia.

aspecto algo rugoso. Una membrana basal sobre la que se apoyan ambas células la separa del segmento vascular del neumón.

Esta basal es también muy delgada, alcanzando el espesor del protoplasma y basal en conjunto unas dimensiones de alrededor de una décima de micra.

El segmento vascular del neumón se halla constituido por la célula endotelial del vaso, existiendo en el neumón tres tipos de vasos: las ramas procedentes de la arteria pulmonar, las ramificaciones de la arteria brónquica que confluyen al sistema de las venas pulmonares, existiendo también el dispositivo vascular del sistema de las arterias de presa o embalse.

Anatómicamente estas formaciones no eran suficientes para explicar por sí solas el comportamiento del pulmón en las distintas fases de la dinámica respiratoria. MACKLIN (1954) había observado que en el contenido alveolar existía un elemento mucoide que se situaría entre el aire y la pared alveolar, y posteriormente CLEMENTS (1957) asignó a esta sustancia mucoide un papel fundamental en los fenómenos de la mecánica funcional respiratoria, considerando que actuaría como un elemento tensioactivo, que disminuiría la tensión superficial entre la interfase aire-agua, impidiendo el colapso total del pulmón en la espiración, y disminuyendo, por tanto, el esfuerzo necesario para su llenado en la inspiración.

A pesar de que BROOKS (1971) aún la considera como un artefacto de fijación, desde los trabajos de SCARPELLI (1968) se admite la existencia de esta sustancia, que formaría una ectomembrana unitaria en el revestimiento interior del alveolo y que dicho autor llamó "surfactante".

Las observaciones de CAMPICHE, GAUTIER y HERNÁNDEZ (1960) sobre la presencia en algunas células del revestimiento alveolar, de inclusiones de tipo laminar, llevó a HARPER (1965) y a SCARPELLI (1967-68) a estudiar con más detalle el problema, demostrando el primero que la sustancia mucoide que hoy conocemos como surfactante era muy rica en lecitina, y apreciando el segundo la presencia de componentes de esta sustancia en el interior de las inclusiones laminares, asignándoles un papel primordial en el mecanismo de producción del surfactante. PARIENTE (1969) considera que no todas las células del alveolo poseen estas inclusiones, y denomina a las que las poseen neumocitos tipo II.

A pesar de la gran cantidad de trabajos realizados, no parece encontrarse perfectamente determinado el origen y mecanismo de retirada de este surfactante. Por ello, y con el fin de intentar aportar algunos hechos al esclarecimiento del problema, una de las líneas de trabajo de nuestro Departamento se refiere al estudio del substrato anatómico del pulmón normal y experimental, embriona-

rio y adulto, combinando los procedimientos de la microscopía óptica, electrónica de transmisión y scanning (FERRES TORRES, 1973; FERRES TORRES y col., 1975 a, b y c).

### Material y métodos

Para la realización de este trabajo hemos utilizado como animal de experimentación la rata blanca adulta de la cepa cedida por los laboratorios Alter y cuyos pesos han oscilado de 350 a 370 gr.

Los animales fueron perfundidos con glutaraldehído por vía abdominal con el fin de conseguir una perfijación antes de abrir la cavidad torácica.

Extraído el material se siguieron las pautas clásicas para la inclusión, sección y contraste para su estudio a microscopía electrónica, utilizando la técnica del "cristal point" para la preparación del material de scanning. Se utilizaron un total de 20 animales,

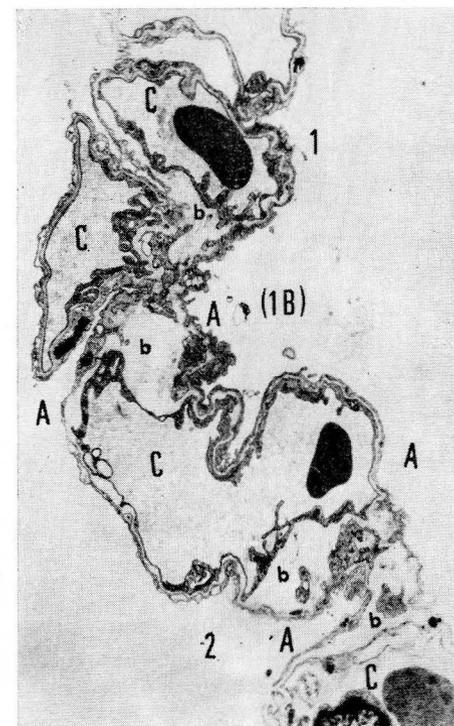


FIG. 1. — Visión de un septo alveolar. C) capilar; A) luz alveolar; 1), 1B), 2) cavidad alveolar; b) basal anfractuosa. Micrografía electrónica a 1.700× en negativo.

10 para microscopía electrónica de transmisión y 10 para microscopía electrónica de scanning.

### Resultados obtenidos

El estudio de la zona correspondiente a un tabique entre dos cavidades alveolares (fig. 1) nos llama la atención la gran luz vascular que contrasta con la delgadez de la membrana basal entre la célula endotelial que reviste la pared vascular y la célula epitelial, y el hecho de que en algunos puntos esta pared presenta contornos irregulares, tanto en su parte endotelial como en la epitelial.

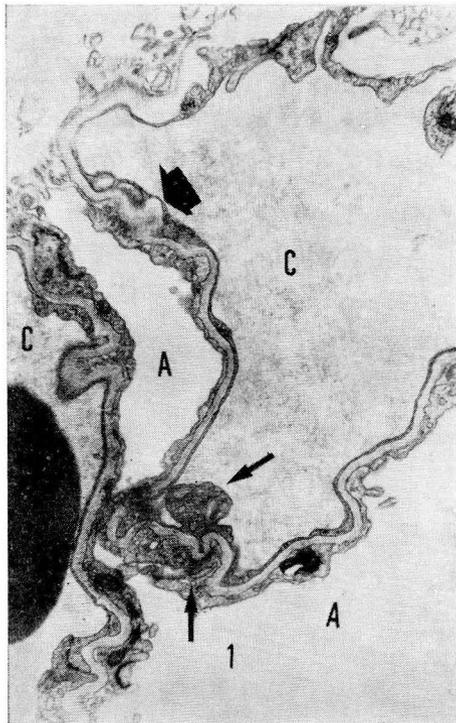


FIG. 2. — Detalle de un septo alveolar en el que se aprecia: C) luces capilares; A) luces alveolares dilatadas en 1 e iniciando fase de atelectasia funcional. Las flechas indican apelonamientos de mamelones pinocitóticos, tanto en la célula endotelial vascular como en la epitelial neumocítica. Micrografía electrónica, 6.000× en negativo.

A mayores aumentos (fig. 2) se aprecian cómo en estas anfractuosidades se ven figuras de tipo pinocitótico, tanto en la célula endotelial como en la epitelial, y en las que parece invaginarse la

basal. Por otro lado, llama la atención las pequeñas oquedades que muestran los acúmulos irregulares de las citadas células.

En otras zonas (fig. 3) de la pared alveolar la basal, además de estas anfractuosidades, se caracteriza por presentar un extraordinario desarrollo, en contraste con la extraordinaria delgadez que presenta en otros puntos. En estas zonas de mayor desarrollo de la basal se observan igualmente las figuras pinocitóticas.

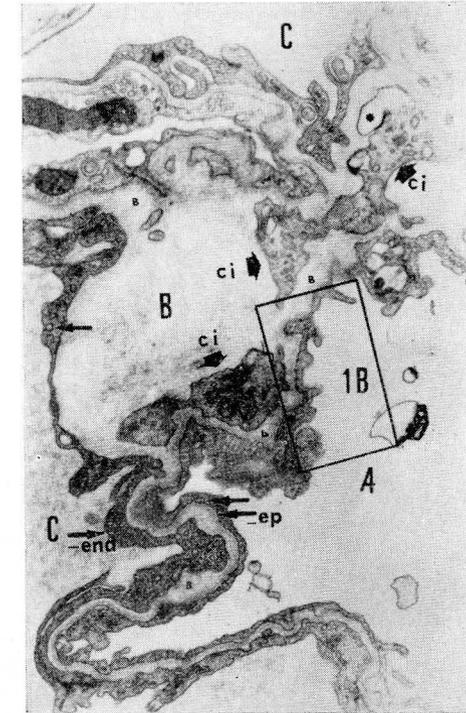


FIG. 3. — Detalle de un septo alveolar, donde se aprecia: C) luces capilares; A) luz alveolar; B) dilataciones de la basal; ci) célula intermedia; ep) procesos pinocitóticos; 1B) recuadro correspondiente a la figura siguiente. Electromicrografía, 6.000× en negativo.

Estudiando esta zona a mayor aumento (fig. 4) hemos podido apreciar las características de esta basal, y la gran cantidad de elementos pinocitóticos, así como una fina capa de aspecto pulverulento que recubre a la membrana de la célula epitelial y que incluso en algunas zonas adquiere una conformación ligeramente más densa e irregular.

En otro campo de la preparación (fig. 5), hemos sorprendido unas de las células consideradas como neumocitos tipo II, encon-



trando en una de ellas gran cantidad de figuras pseudomiélicas en diferentes momentos de integridad de sus láminas y al lado de ellas aparece otro neumocito tipo II, con las clásicas figuras pseudomiélicas y con un cuerpo de inclusión ligeramente laminado en sus extremos y de aspecto pulverulento en su interior. Es interesante destacar que existe una neta proximidad con los elementos vasculares, así como la presencia de un macrófago.

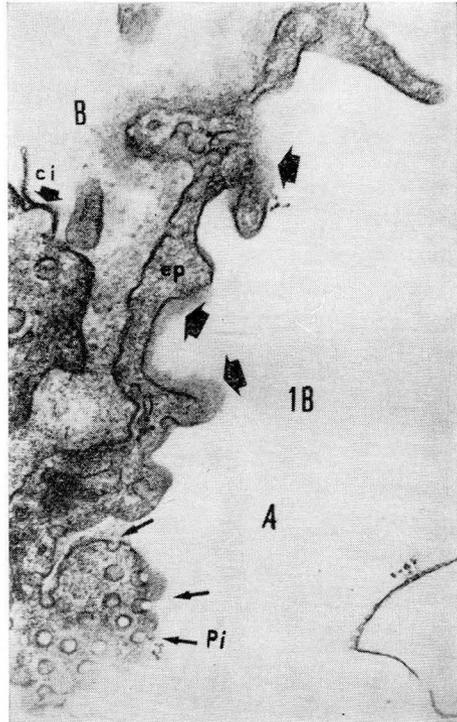


FIG. 4. — Detalle 1B de la figura anterior. A) luz alveolar; B) basal; ci) célula intermedia; ep) célula epitelial neumocítica; pi) pinocitosis. Las flechas grandes y pequeñas señalan el depósito pulverulento que podría considerarse como surfactante. Micrografía electrónica, 30.000× en negativo.

A microscopía de scanning (fig. 6), a pequeños aumentos, se observa la superficie de los alveolos que se abren en una especie de corredor central y separados por tabiques de un grosor y aspecto más o menos homogéneo. Incluso a estos aumentos, pero mejor a mayores aumentos, se aprecian los clásicos poros de comunicación interalveolar, que eran considerados a microscopía electrónica como artefactos por rotura de las preparaciones y que la microscopía de scanning ha demostrado su indudable existencia.

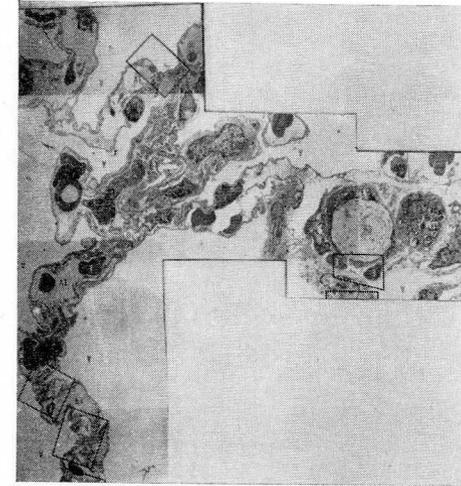


FIG. 5. — Reconstrucción de una pared alveolar; A) luz alveolar; B) basal; LV) luces vasculares; E) eritrocito; SM) neumocito tipo II con cuerpos laminares; CH) centro homogéneo de un neumocito tipo II rodeado de cuerpos laminares. Micrografía electrónica, 1.700× en negativo.

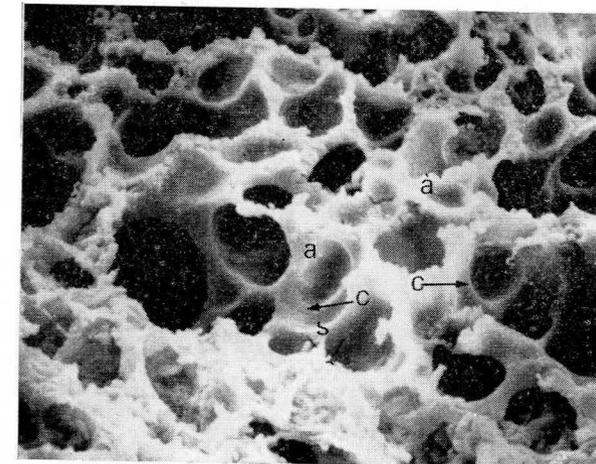


FIG. 6. — Visión a pequeños aumentos de scanning de un campo pulmonar. C) corredores en donde desembocan varias cavidades alveolares. a) alveolos; S) septos alveolares. Microfotografía a scanning, 400× en negativo.

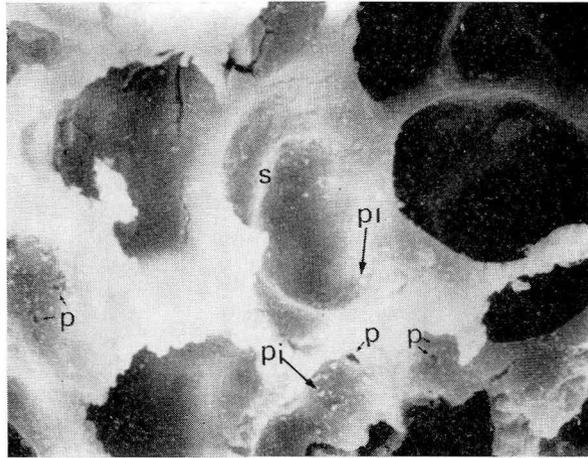


FIG. 7. — Detalle a mayor aumento de la figura anterior. p) poros alveolares; s) septos alveolares; pi) botones de acúmulos pinocitóticos. Microfotografía electrónica a scanning, 1.000× en negativo.

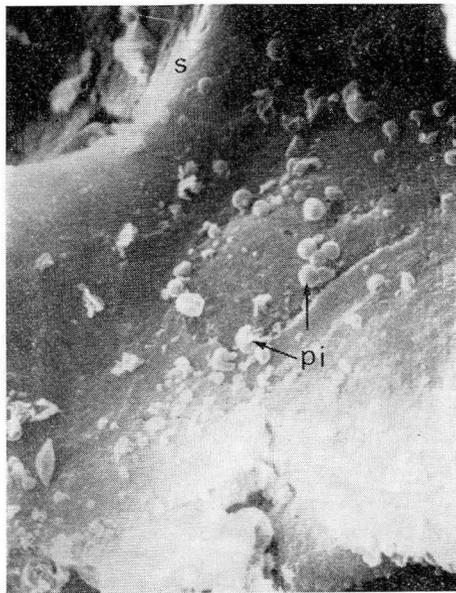


FIG. 8. — Detalle a mayor aumento de una cavidad alveolar. s) septo alveolar; pi) botones de acúmulos pinocitóticos. Microfotografía electrónica a scanning, 5.000× en negativo.

En el fondo de la cavidad alveolar se aprecian restos pequeños de una especie de exudado y unas como protrusiones de la membrana que la reviste y que a mayores aumentos (fig. 7) se resuelven en un conjunto de formaciones esferoideas, irregularmente distribuidas, con tendencia a presentarse en acúmulos formados por 4 a 5 de las mismas.

### *Resumen, consideraciones y discusión*

Hemos realizado, pues, un estudio de la pared alveolar de la rata adulta y en ella hemos podido comprobar la presencia de los dos tipos de neumocitos clásicamente descritos.

El neumocito tipo I se caracteriza por tener un núcleo voluminoso que a veces hace hernia en la cavidad alveolar, y un protoplasma laminado, que en algunos puntos, y en relación con el engrosamiento de la basal, aumenta de grosor, presentando en la superficie tanto interna como externa de estas zonas una serie de figuras de tipo pinocitótico. En su cara alveolar, a grandes aumentos, nos muestra un recubrimiento de aspecto pulverulento que en algunas zonas pierde su homogeneidad.

Otro detalle digno de tenerse presente es la irregularidad de la membrana basal, que aumenta de tamaño en las zonas que aparecen figuras de tipo pinocitótico, encontrando a estos niveles la pared endotelial muy estrecha y con febrastros pinocitóticos que llegan a acribillar materialmente la tenue lámina endotelial y epitelial.

A microscopía de scanning hemos apreciado en el revestimiento alveolar la presencia de los poros de comunicación interalveolar y las formaciones esferoideas que podrían corresponder a las figuras pinocitóticas descritas a M.E. de transmisión.

En los neumocitos tipo II nos ha llamado la atención el que los cuerpos laminares de inclusión y figuras seudomiélicas más que elementos formadores de surfactante, como las consideraba SCARPELLI (1968), son inclusiones de tipo degenerativo del surfactante caduco y consecutivo a un proceso de empiropolesis, similar al descrito por CHEVALIER y COLLET (1972) en la ateromatosis vascular, mediante el cual son retraídas de la dinámica funcional sustancias grasas en exceso, que quedan contenidas en el interior del protoplasma celular, pero aisladas de su metabolismo por la correspondiente invaginación y posterior enrollamiento de la membrana, permaneciendo en un principio en fase de mesocristales pero conforme se va rompiendo el equilibrio entre los distintos componentes, ir quedando separadas en la periferia los fosfolípidos oscuros al osmio y en el centro el colesterol poco denso al paso de

los electrones como objetivizamos nosotros (FERRES TORRES y col., 1975c). Lo que, por otra parte, está también de acuerdo con los trabajos de NIDDE (1967), de introducción de aerosoles de carbón radioactivo en el pulmón y hallazgo de las partículas radioactivas en el interior de los cuerpos laminares.

Posteriormente quizá la célula destruida sería fagocitada, pues siempre que aparece una de estas células en fase de degradación se encuentran en su proximidad elementos fagocitarios.

### Resumen

Se estudian las características morfoestructurales del pulmón normal en relación con el mecanismo de producción del surfactante.

Se señalan los detalles más característicos a microscopía electrónica del neumocito tipo I que reviste el alveolo, así como los de las células endoteliales de los vasos.

Se estudian también las características del neumocito tipo II, destacando la presencia de formaciones laminares en relación con la intervención de dicha célula en el mecanismo de producción y renovación del surfactante.

Se estudian las modificaciones en el aspecto del surfactante en relación con los momentos funcionales del pulmón.

Se aprecia a microscopía de scanning el aspecto de los septos y alveolos pulmonares, destacando la presencia de los poros alveolares y de unas formaciones esféricas que revisten la superficie alveolar.

### Summary

Study of morphostructural characteristics of the normal lung with regards to the production mechanism of the surfactant.

It shows the most characteristic details, under electronic microscopy of type I pneumocyte covering the alveolus, as well as those of the vase endothelial cells.

It also studies the characteristics of type II pneumocyte, emphasizing the presence of laminar formatios with regards to the participation of said cell in the production and renewal mechanism of the surfactant.

The modifications in the surfactant appearance with regards to the functional moments of the lung are also studied.

Through scanning microscopy it is observed the appearance of the pulmonary septum and alveolus, emphasizing the presence of alveolar pores and of some spheroid formations wrapping the alveolar surface.

### Zusammenfassung

Es wurden die morphostrukturellen Charakteristika der normalen Lunge in Verbindung mit dem Produktionsmechanismus des Surfactante, untersucht.

Besehen unter dem elektronischen Mikroskop, traten die charakteristischen Einzelheiten des Pneumozyt I hervor, der die Alveole umgibt, ebenso die endotelialen Zellen der Gefässe.

Ebenfalls wurden die Charakteristika des Pneumozyt II untersucht, wobei die Gegenwart laminarer Formationen in Verbindung mit der Intervention der besagten Zellen im Produktionsmechanismus und im Renovationsmechanismus des Surfactante, hervorzuheben sind.

Es wurden die Modifikationen im Aussehen des Surfactante in Verbindung mit den Funktionsmomenten der Lunge untersucht.

Mit Hilfe der Scanning-Mikroskopie wurde das Aussehen des Septum und der Lungenalveolen bestimmt, wobei die Gegenwart alveolarer Poren und sphäroide Formationen, die alveolare Oberfläche umgeben, hervortrat.

### Résumé

On étudie les caractéristiques morphostructurales du poumon normal en relation avec le mécanisme de production du surfactant.

Les détails les plus caractéristiques du pneumocyte type I qui revêt l'alvéole, ainsi que ceux des cellules endothéliales des vaisseaux se distinguent en microscopie électronique.

Sont étudiées aussi les caractéristiques du pneumocyte type II, dans lequel on détache la présence de formations lamineuses en relation avec l'intervention de cette cellule dans le mécanisme de production et de rénovation du surfactant.

Sont étudiées les modifications de l'aspect du surfactant en relation avec les moments fonctionnels du poumon.

On apprécie en microscopie de scanning l'aspect des septa et des alvéoles pulmonaires, dans lesquels on détache la présence des pores alvéolaires et de quelques formations sphéroïdes qui revêtent la surface alvéolaire.

### BIBLIOGRAFÍA

- CAMPISCHE, M., M. GAUTIER y C. HERNÁNDEZ (1960): Les inclusions laminares des cellules alveolaires dans le poumon du raton: relations entre l'ultrastructure et la fixation. "Ultrastructur. Res.", **3**: 302.
- CHEVALIER, G., y A. J. COLLET (1972): In vivo incorporation of Cholin-3H, Leucine-3H and Galactose-3H in alveolar Type II pneumocytes in relation to surfactant synthesis. A quantitative radioautographic study in mouse by electron microscopy. "Anat. Rec.", **174**: 289.
- CLEMENTS, J. A. (1957): Surface tension of lung extractus. "Proc. Soc. Exp. Biol." (N. Y.), **95**: 170.
- COURNAN, A., y cols. (1951): Clinical and physiologic features of some types of pulmonary diseases with impairment of alveolar-capillary diffusion; the syndrome of alveolar-capillary block. "Am. J.", **11**: 667-87.
- BROOKS, R. E. (1971): Lung surfactant: an alternate hypothesis. "Am. Rev. Resp. Diseases", **104**: 585.
- EULER, H. (1951): Direct perbronchial determination of pressure in the pulmonary artery. "Klin. Wschr.", **28**: 543-544.
- FERRES TORRES, E. (1973): Sobre algunos aspectos ultraestructurales del alveolo pulmonar. Libro de actas IX Reunión Soc. Med. y Cirugía de Levante: 236-241.
- FERRES TORRES, E., T. GARCÍA FERRER, M. MONTESINOS CASTRO-GIRONA, A. PASCUAL-LEONE PASCUAL y V. ROQUES SERRADILLA (1975): Paso del pulmón fetal al pulmón que respira aire, especialmente en relación al surfactante. "Med. Españ.", **74**: 97-102.

- FERRES TORRES, E., T. GARCÍA FERRER, M. MONTESINOS CASTRO-GIRONA, A. PASCUAL-LEONE PASCUAL y V. ROQUES SERRADILLA (1975): Sobre unas nuevas formaciones epiteliales con engrosamiento de la basal pulmonar y su posible significado (Estudio en el pulmón de la rata albina). "Med. Españ.", **74**: 145-151.
- FERRES TORRES, E., T. GARCÍA FERRER, A. PASCUAL-LEONE PASCUAL, M. MONTESINOS CASTRO-GIRONA, V. ROQUES SERRADILLA y V. SMITH AGREDA (1975): Sobre el significado del neumocito II y sus cuerpos laminares en la renovación del surfactante. "Med. Españ.", **74**: 233-246.
- HARPER, H. A. (1956): Review of physiological chemistry. Lange medical Publications. Los Altos (California).
- HAYEC, H. (1951): Variationsstatische Untersuchungen über die erste Verlarfstrecke des Nervus thoracicus longus (Statical study of variations in the proximal segment of the long thoracic nerve). "Anat. Anz.", **98**: 105-114.
- MACKLIN, C. (1954): The pulmonary alveolar micoid film and the pneumocytes. "Lancet.", **1**: 1099.
- MORGAN, T. E. (1971): Pulmonary surfactant. "New Engl. J. Med.", **284**: 1185.
- NIDDEN, A. H. (1967): Bronchiolar and large alveolar cells in pulmonary phospholipid metabolism. "Science", **158**: 1323.
- PARIENTE, R. (1969): Notions physiologiques et physiopathologiques actuelles. "La Press. Med.", 1871-2.
- SCARPELLI, E. (1968): Lung surfactant Dynamic properties metabolic pathways and possible significance in the pathogenesis of the respiratory distress syndrome. "Bul. New York Acad. Med.", **44**: 431.

E. FERRES TORRES  
Departamento Anatómico  
Facultad de Medicina  
Valencia (España)



## EXPERIENCIA SOBRE LAS POSIBILIDADES DE LOS MÉTODOS RADIOLÓGICOS EN LA DOCENCIA E INVESTIGACIÓN MORFOLÓGICAS

POR

J. JIMÉNEZ-CASTELLANOS<sup>(1)</sup> y CALVO-RUBIO<sup>(2)</sup>

**A**L tratar de incorporar nuestra aportación personal a este número homenaje a su fundador y director, en el que simultáneamente se conmemora el 25 aniversario de la revista "Anales de Anatomía", nos ha parecido oportuno más que abordar un tema específico y concreto de investigación realizar una revisión parcial de nuestra labor investigadora durante todo este período, referida a uno de los objetivos que más nos han preocupado y que podemos concretar bajo el título de "Experiencia sobre las posibilidades de los métodos radiológicos en la docencia e investigación morfológicas".

Con tal criterio, queremos pasar revista a una de nuestras fundamentales dedicaciones docentes y al mismo tiempo dichas técnicas han constituido en muchas ocasiones el principal bagaje investigador de nuestra propia labor personal y de la de nuestros colaboradores.

### *Aspectos docentes*

En el orden docente, insistimos permanentemente en nuestra labor de cátedra, colocando muy en primer término esa anatomía radiológica y clínica que tiene interés preferente para el alumno, futuro médico, y para quien resultan mucho más interesantes las estructuras morfológicas radiográficas con las que tiene necesidad de familiarizarse como base y fundamentación científica de la posterior interpretación clínica de posibles alteraciones patológicas.

(1) Catedrático. Cátedra de Anatomía. Facultad de Medicina. Sevilla.

(2) Prof. adjunto. Cátedra de Anatomía. Facultad de Medicina. Sevilla.

Para ello, con este criterio, en nuestras habituales "Lecciones" docentes referidas a sus más recientes ediciones (JIMÉNEZ-CASTELLANOS, 1970, 1975) tratamos de insistir en estos aspectos y no solamente en lo que se refiere al clásico y habitual estudio radiográfico simple que nos permite la más excelente visión morfológica vital del dispositivo anatómico osteoarticular en el que aconsejamos el manejo simultáneo de la pieza anatómica ósea para intentar familiarizar al alumno con la imagen planigráfica que proporciona la radiografía, frente al concepto volumétrico de la forma real cuya expresión topométrica debe quedar suficientemente captada en circunstancias habituales en la doble proyección radiográfica anteroposterior y lateral.

Junto a la idea de topografía volumétrica y de su solución radiográfica, es necesario igualmente llamar la atención sobre la amplificación que habitualmente proporciona la imagen radiográfica de la estructura real y la necesidad de utilizar técnicas especiales de fundamentación telerradiográfica que al evitar la distorsión de rayos tratan igualmente de proporcionar imágenes de máxima aproximación al tamaño objetivo.

Igual interés ofrecen los múltiples artificios de la técnica radiográfica que amplían extraordinariamente el posible estudio morfológico y vital de otra creciente serie de estructuras orgánicas que habitualmente y en condiciones de normalidad no ofrecen contraste a los rayos X.

Con este criterio, cada una de las especialidades médicas nos están ofreciendo una creciente iconografía de sus estructuras macroscópicas que en principio y sin género de dudas tienen una interpretación morfológica que es necesario conocer en sus fundamentos e incluso en sus variantes, para sentar las bases de una auténtica morfología radiológica y que sólo a título de ejemplo nos permite el estudio de todo el tránsito digestivo, incluidas las vías biliares, mediante los oportunos rellenos de contraste; que hacen posible obtener una visión radiográfica del aparato urinario en su doble exploración ascendente o descendente; que posibilitan la exploración del árbol bronquial; que permiten seguir el trayecto de los vasos sanguíneos en su triple aspecto: arterial, capilar y venoso, e incluso en una auténtica angio-cine-radiografía referida a cualquier territorio de nuestra economía; todo ello sin olvidar las posibilidades específicas del neurorradiólogo, que con contrastes aéreos o positivos tiene a su alcance las mielografía, neumoencefalografía o ventriculografía, por sólo citar las técnicas más clásicas y generales de su habitual quehacer exploratorio.

Si a todo ello le agregamos los actuales progresos que proporciona la tomografía axial computarizada como correcta expresión del

Scanner, tenemos que llegar a la conclusión de que la enseñanza morfológica ha sufrido una radical conmoción en sus métodos y técnicas. Que ya están sobrepasadas las enseñanzas fundamentadas exclusivamente en el cadáver y la disección, que aparte de sus problemas de escasez casi absoluta y mucho más relativa en relación con el crecimiento masivo del número de alumnos que tiene necesidad de aprovecharse de ella, máxime cuando, por otro lado, esa morfología cadavérica nos proporciona una imagen muerta y falsa de la forma; y frente a ello, la somera enumeración de técnicas nos pone de manifiesto la gran cantidad de recursos radiográficos que figuran hoy a nuestro alcance para proporcionarnos una idea mucho más real y más exacta de la forma viva e individualizada.

De todos estos hechos, tenemos que obtener como conclusión una actitud satisfactoria, por lo que se refiere a nuestra misión docente morfológica, aunque desde luego conviene insistir en la necesidad de que remocemos nuestra tecnología. Hace unos años, parecía absurdo que el alumno perdiese su tiempo desentrañando y reconociendo en medio de las demás estructuras las distintas ramas y ramillas de una complicada organización arterial, estando entonces muy lejos de nuestra mente la idea de que el reconocimiento y denominación de tales ramificaciones iban a tener un interés que trasciende al terreno clínico, y es el médico práctico el que trata de reconocerlas y seguir sus trayectos y ramificaciones en la imagen arteriográfica para discernir el concepto de normalidad o, por el contrario, poderle dar una valoración patológica.

Por otra parte, en esta tomografía axial computarizada que está produciendo una auténtica revolución actual entre los medios diagnósticos, especialmente referida al cerebro, no cabe duda de que con ello estamos asistiendo igualmente a un aumento de la cotización de los conocimientos morfológicos y estructurales, ya que frente a lo costoso de sus instalaciones, la sencillez de su técnica, lo que exige fundamentalmente una sólida preparación es la correcta interpretación de las imágenes obtenidas, que sólo hacen factible unos conocimientos de topografía neuroanatómica muy profundos.

Quede pues, como conclusión, en el aspecto docente, la necesidad nunca bastante resaltada de modernizar nuestras técnicas de enseñanza y de incorporar todo este bagaje radiológico a la enseñanza anatómica para que ésta sea más actualizada, realista y biológica.

### *Aspectos de investigación*

Fieles a estos criterios, hemos venido poniéndolos en práctica en el decurso de estos años en trabajos y publicaciones, que se han ido planteando problemas concretos, cuya enumeración sumariada

y coordinada por campos de investigación vamos a tratar de llevar a cabo.

### *Estudios angiográficos*

Uno de los capítulos que primero nos preocupó y que más ampliamente ha sido abordado lo constituye en concreto el estudio arteriográfico, cuyas características han tratado de ir resolviendo en el cadáver, procurando conseguir luchar contra las dificultades de una ausencia de circulación arterial, y por otra parte, intentando disponer de sustancias que a más de contar con la adecuada fluidez para conseguir rellenar el árbol arterial estático, pudieran simultáneamente dar contraste a los rayos X y adquirir la suficiente solidez para que la pieza anatómica sometida a posterior corrosión pudiera ofrecernos el árbol arterial aislado y poder obtener la imagen comparativa entre la pieza anatómica arterial así conseguida y su simultáneo estudio arteriográfico. Este planteamiento dio lugar a un primer trabajo en colaboración (MURGA, GÓMEZ DE TERREROS y JIMÉNEZ CASTELLANOS, 1959) y ello nos llevó a una serie de pruebas que pretendían mezclar simultáneamente la dilución de celuloide en acetona, con alguna de las sustancias opacas, consiguiendo los resultados óptimos con el yoduro sódico después de descartar el sulfato de bario, el yoduro potásico y el urografil por más inadecuados; y por supuesto anticipándonos al empleo del neoprene, que figuraba ya en el comercio farmacológico internacional, pero cuyo manejo no estuvo a nuestro alcance, si bien los resultados obtenidos nos dejaron en aquellas circunstancias plenamente satisfechos en relación con nuestro proyecto de trabajo.

Estos criterios arteriográficos han sido aplicados en el cadáver tratando de referirlos a tres territorios concretos.

Por una parte, se ha llevado a cabo el estudio anatomorradiográfico de la arteria cerebral anterior (SALVAGO CABEZÓN, 1964) para analizar las características morfológicas normales y sus rasgos de variabilidad obtenida en el transcurso de 100 observaciones, en las que simultáneamente se ha dado un sentido angiográfico, topométrico y de posterior comprobación anatómica, tratando así de coordinar todos los resultados. Llegando a resaltar la amplia gama de variantes arteriales dentro de la más perfecta normalidad morfológica, lo cual debe poner en guardia sobre la necesidad de realizar siempre un estudio radiológico completo y utilizar diversas técnicas antes de orientar en sentido patológico la interpretación de una imagen angiográfica aislada de la arteria cerebral anterior.

Todo ello referido a un territorio arterial cuyo manejo es de habitual trascendencia clínica.

En un segundo trabajo (LÓPEZ LAGUNA, 1969), el estudio arteriográfico se ha realizado en relación con la distribución arterial del miembro superior, tratando de simultanear los controles angiográficos con los métodos clásicos de disección sobre un material total de 100 miembros superiores, lo que ha permitido resaltar las imágenes arteriográficas típicas y recoger al mismo tiempo en iconografía los rasgos fundamentales de la variabilidad anatómica.

Un criterio totalmente similar y paralelo ha sido aplicado en el estudio vascular del miembro inferior (RODRÍGUEZ ALBARIÑO, 1970), obteniendo por ese procedimiento la visión de normalidad arteriográfica que ha sido después contrastada mediante disección, teniendo la oportunidad de poder comprobar radiográficamente las más habituales imágenes de la variabilidad arterial del miembro inferior expresada en los resultados de la propia casuística.

Pero además, los problemas de la angiografía han sido igualmente planteados en el sujeto vivo.

Primeramente, con criterio experimental en el gato, cuando pretendimos obtener expresión arteriográfica de vasodilatación cerebral mediante el empleo de medicación intraarterial y los oportunos controles arteriográficos pre- y post-medicamentosos (JIMÉNEZ-CASTELLANOS, RAMOS, MURGA y MÁRMOL, 1966).

Con posterioridad, estos objetivos de arteriografía morfológica han trascendido también a la clínica, y fruto de ello es la labor actualmente en marcha para conseguir una iconografía arteriográfica de normalidad con sus variantes anatómicas en relación con el sistema arterial hipogástrico (AGÜERA, 1976).

También, dentro de este mismo criterio, la revisión iconográfica de 500 estudios arteriográficos cerebrales (CASTELLANOS MATEOS, 1974) le han permitido obtener la oportuna monografía en donde queda suficientemente destacado con propia experiencia todo el amplio capítulo de la anatomía vascular cerebral y de la angiografía cerebral normal, como base y fundamento científico al posterior análisis de la patología arteriográfica de esta región.

### *Estudios osteoarticulares*

El valor de las técnicas radiográficas ha sido manejado en un segundo grupo de trabajos en los que se pretendía fundamentalmente llevar a cabo el estudio de estructuras osteoarticulares.

Tal ha ocurrido cuando con un criterio experimental en el perro se provocaban fracturas de sus huesos largos y se llevaba a cabo la oportuna osteosíntesis mediante el manejo de resinas sintéticas (HERMOSILLA, 1963), empleando en concreto una de tipo epoxy (araldit) y otra acrílica (auto-repac), comprobando su rápido fraguado y resistencia y en definitiva su eficacia en el hueso libre y en el

cadáver y posteriormente con criterio experimental, para demostrar en todos los casos la utilidad que la elaboración de este trabajo desempeñaron las técnicas radiográficas en el control de la evolución del callo de fractura y su posterior comprobación anatómica que llevó a reconocer su buena tolerancia, su eficacia en el relleno de cavidades y defectos óseos, pero, en cambio, que el callo adoptaba un carácter cartilaginoso, impidiendo la resina la proliferación de las células indiferenciadas del endostio y de los conductos de Havers, origen del componente interno del callo de fractura, a más de las influencias extrínsecas motivadas por la falta de una rigurosa inmovilización, lo que limita sus posibilidades de aplicación clínica práctica.

Con criterio similar se han tratado de analizar sobre bases anatomorradiográficas los mecanismos de producción de las roturas cerradas del tendón de Aquiles (IGUAZ FERNÁNDEZ, 1964), llevando a cabo el estudio en el cadáver donde se realizan pruebas mecánicas de rotura del tendón de Aquiles y se analizan radiográficamente en miembros amputados la disposición osteoarticular y el control arteriográfico de la vascularización de la musculatura tricipital y de su porción tendinosa, todo ello ligado a los mecanismos fisiopatológicos que presiden la producción de este tipo de fracturas típicas de los esquiadores.

Igual orientación predominantemente radiográfica fue aplicado al estudio del bloque cervical raquídeo (GARCÍA ANGUIANO, 1966), donde se simultanearon las distintas exploraciones de manejo clínico: el estudio radiográfico simple en sus habituales proyecciones, la mielografía aplicada en concreto al análisis del estudio raquídeo a estos niveles, la técnica discográfica, así como el relleno opaco de la porción cervical de las arterias vertebrales y su contrastación angiográfica, todo ello complementado con la posterior comprobación anatómica, permitiendo en conjunto obtener una serie de datos todos ellos de gran valor aplicativo, al poder practicar el estudio métrico del conducto raquídeo cervical que ofrece unas medidas de normalidad que hace posible interpretar la aparición de estenosis en su expresión funcional, malformativa o patológica. Evidenciando los motivos de patología vascular vertebral por circunstancias de compresión extrínsecas o de estenosis intra-arteriales, prestando especial interés al estudio anatomorradiográfico de los agujeros de conjunción o destacando y valorando la auténtica utilidad de la discografía cervical.

Todo ello como fruto de una labor realizada sobre material cadavérico en el que por razones de edad y de procedencia, con gran frecuencia incidían motivaciones de patología cervical que permitieron valorar simultáneamente las circunstancias de normalidad

morfológica y aquellas otras en que se comprobaban rasgos anormales.

Dentro de este capítulo de anatomía radiológica osteoarticular tenemos que destacar dos aportaciones fundamentales que se han llevado a cabo con criterio biológico y aplicativo: la primera, referida a la sínfisis del pubis (LUZÓN CUESTA, 1972), trató de analizar con fundamento anatomoclínico y radiográfico la disposición de esta articulación en el cadáver mediante disección, demostrando la importancia del ligamento interóseo, y entre los periféricos destacar el papel del anterior y sobre todo del inferior o arcuatum, que resulta inextensible y que ha de ser seccionado para la eficacia de la sinfisiotomía. Comprobando cómo la sección de la sínfisis y separación de los cabos pubianos en 3 cm aumenta un 20 % la superficie del estrecho superior.

Estudia en 400 radiografías las modificaciones de dicha articulación en relación con la vida genética de la mujer, comprobando la relativa laxitud articular durante el embarazo y el parto, que llega a duplicar la anchura articular, hecho que resulta después reversible. Destaca la importancia de la superficie del estrecho superior y sus diámetros y establece un método propio para determinarla mediante radiopelvimetría, que le permite catalogar como pelvis normales las que ofrecen una superficie de estrecho superior comprendida entre 100 y 140 centímetros cuadrados, reservando las cifras de 80 a 100 centímetros cuadrados, expresivas de estrecheces moderadas y correspondiendo a menos de 80 centímetros cuadrados los casos de estenosis intensas.

Se completa el estudio con la propia experiencia anatomoquirúrgica obtenida a través de 86 sinfisiotomías que permiten hacer un estudio objetivo, destacando sus ventajas e inconvenientes.

Por otra parte, también en el sujeto vivo, y aprovechando la inocuidad y tolerancia de los modernos contrastes hidrosolubles, ha sido llevado a cabo un estudio morfológico artrográfico escapulo-humeral (GAMERO BERNAL, 1975), seleccionando para ello una casuística de normalidad artrográfica que incluye medio centenar de observaciones, a través de las cuales se ha permitido formar criterio sobre la vía de abordaje, entre las cuales se le da preferencia a la anterior; la capacidad articular cuya media volumétrica oscila entre los 25 y 30 cc; la celeridad de reabsorción del contraste; la información sobre la imagen artrográfica de normalidad; la relación constante con la bolsa subescapular, frente a la ausencia total de contrastación de la prolongación capsular infraespinosa. Todo eso complementado por la detección de imágenes anómalas que pueden estar motivadas por una extravasación del líquido de contraste, fruto unas veces de alteración morfológica y otras de defecto

de técnica. Todo ello como contribución al concepto anatomoclínico de morfología artrográfica escapulo-humeral y como fundamentación al empleo de esta prueba auxiliar en el diagnóstico de la patología del hombro.

#### *Estudios neurorradiológicos*

Criterios anatomorradiológicos han presidido una serie de trabajos referidos a estructuras neurales concretas.

Tal ha sucedido cuando se trataba de establecer la topometría de las formaciones neurales de la fosa cerebral posterior (CARNERERO PÉREZ, 1961).

En otra ocasión, se intentó llevar a cabo el estudio anatomorradiográfico de la región sellar respaldado en 80 observaciones anatómicas y 150 aportaciones radiológicas que permitieron establecer un criterio personal sobre la capacidad de la celda sellar, como determinar sus ejes e incluso relacionar métricamente su morfología con la del resto del cráneo, pudiendo así obtener cifras de tipo medio, matizar los rasgos de variabilidad y poder interpretar las anomalías y alteraciones de trascendencia patológica (MUGGA, 1963).

Especial interés se ha prestado al estudio del ventrículo medio (CAÑADAS VILLALTA, 1964) y al cuarto ventrículo (RUIZ SÁNCHEZ, 1965); en ambos casos se han realizado vaciados volumétricos de las cavidades, se han establecido referencias métricas intrínsecas y extrínsecas, matizando los rasgos de variabilidad y por supuesto dándole una orientación ventriculográfica a estas consideraciones morfológicas por la importancia que puede ofrecer su interpretación clínica.

La suma de los datos neurorradiológicos que proporciona, de una parte, el relleno aéreo de las cavidades cerebrales en la neumoencefalografía y los datos angiográficos que proporcionan los vasos sagitales han sido suficientemente destacados para poder valorar con criterio anatomoclínico el interés del plano medio sagital (JIMÉNEZ-CASTELLANOS, 1960, 1962).

#### *Estudios estereotáxicos*

Especial interés ha tenido la atención a los métodos estereotáxicos cerebrales y la fundamentación de su control radiológico, lo cual nos ha llevado a la confección y diseño de los correspondientes medios instrumentales, tanto en el terreno experimental como en el clínico y cuyos fundamentos técnicos fueron objeto de publicación (JIMÉNEZ-CASTELLANOS, DE LA CUADRA, MURGA y RAMOS, 1964).

permitió seleccionar la vía etmoidoesfenoidal, simplificar la técnica y garantizar el control radiográfico, tal como queda expresado en

En este mismo campo, la práctica de la hipofisectomía estereotáxica fue objeto de una fundamentación anatomorradiográfica que la correspondiente publicación (JIMÉNEZ-CASTELLANOS, 1961), y posteriormente respaldado en cuanto se refiere a su aplicación clínica (JIMÉNEZ-CASTELLANOS, RAMOS y MURGA, 1961), para llegar todo ello a quedar sumariado en la monografía dedicada a la hipófisis (JIMÉNEZ-CASTELLANOS y col., 1962).

Una de nuestras primeras tesis doctorales (MARTÍNEZ CARO, 1958) fue planteada cuando estaba en boga el abordaje estereotáxico del globus pallidum como terapéutica en la patología extrapiramidal y en aquella ocasión se trató igualmente de buscar unos sólidos fundamentos morfológicos que intentasen seleccionar la vía de entrada, de eludir estructuras importantes y de garantizar al máximo la exactitud del abordaje, todo ello planteado con el simultáneo criterio anatomorradiográfico.

Especial interés hemos prestado al control radiológico en la técnica experimental para implantación cerebral de electrodos permanentes, motivo igualmente de la oportuna publicación (DE LA CUADRA y JIMÉNEZ-CASTELLANOS, 1963).

En cuanto a nuestra experiencia en estereoelectroencefalografía, ello lleva aparejado el oportuno control radiográfico de las estructuras, que sumado al neurofisiológico bioeléctrico, puede permitirnos una mayor seguridad en el control anatomofisiológico de las formaciones intracelulares (JIMÉNEZ-CASTELLANOS, 1967).

El fruto de toda esta labor de nuestro equipo y la valoración de las técnicas radiográficas fundamentando la anatomía funcional estereotáxica fue ya motivo de recopilación (JIMÉNEZ-CASTELLANOS, 1960) y posteriormente, a propósito de nuestro ingreso en la Real Academia de Medicina de Sevilla (JIMÉNEZ-CASTELLANOS, 1966).

#### *Neurorradiología periférica*

En este campo de trabajo, podemos presentar dos aportaciones concretas: la primera pretendía establecer los fundamentos topográficos para la punción infiltrativa del ganglio estrellado (DE LA CUADRA y JIMÉNEZ-CASTELLANOS, 1962); con criterio anatomorradiográfico se comprobaron las distintas técnicas propuestas, llegando a la conclusión que entre las vías, las de abordaje posterior yuxtavertebral ofrecían preferencia por sus mayores posibilidades en la exactitud localizadora y por su mayor eficacia para eludir estructuras importantes del cuello que pueden ser afectadas en los abordajes de tipo antero-lateral.

En un segundo trabajo, y con ayuda del microscopio quirúrgico, planificado en el terreno experimental y utilizando el conejo como animal de elección y referido al nervio ciático, se ha llevado a cabo un estudio de neurografía periférica mediante el empleo de contraste hidrosoluble (CABALLERO BARRIOS, 1976), comprobando cómo el contraste se desliza por debajo del perineuro y se distribuye homogéneamente por todo el ciático en condiciones de normalidad, como denuncian con fina exactitud las radiografías obtenidas, que a su vez vienen a constituir la base para la interpretación de imágenes patológicas también experimentales, producto de la previa compresión del nervio, de su ligadura o incluso de su interrupción total anatomofuncional, que ofrecen igualmente una iconografía radiográfica selectamente demostrativa.

### Resumen

Se destaca con criterio personal la importancia de los métodos radiológicos aplicados a la enseñanza anatómica.

Con orientación investigadora morfológica y aplicativa, se pasa revista a treinta trabajos realizados por el autor y colaboradores con el fundamental respaldo de las técnicas radiológicas, agrupándolos en estudios angiográficos, osteo-articulares, neuroradiológicos, estereotáxicos y de neuroradiología periférica.

### Summary

With personal criteria, emphasis is put on the radiological methods applied to teaching anatomy.

With applicable, morphological, investigatory, orientation there are reviewed some thirty papers realised by the author et al, with the fundamental backing of radiological techniques grouping them in angiographic, osteo-articular, neuroradiological, stereotaxic and periferical neuroradiological studies.

### Zusammenfassung

Es wird die Bedeutung der röntgenologischen Methoden sowie ihre Beziehungen zu den anatomischen Lehren mit einer persönlich Ansicht durchgeführt.

Es werden die erzielten Ergebnisse bei dreissig röntgenologischen Arbeiten mit Untersuchungen, morphologischen und applizieren Methoden kommentiert, die in verschiedene Gruppen von angiographischen, knöchergelenken, zentral und peripherisch neuroröntgenologischen und stereotaxischen Studien zusammengefasst.

### Résumé

On remarque, à notre avis, l'importance des méthodes radiologiques appliqués à l'enseignement anatomique.

On a fait une révision sur, à peu près, trente travaux réalisés par l'auteur et collaborateurs, avec une orientation investigatrice, morphologique et applicable, appuyés sur les techniques radiologiques, en les groupant en études angiographiques, ostéo-articulaires, neuroradiologiques, stéréotaxiques, et de neuroradiologie périphérique.

### BIBLIOGRAFÍA

- AGÜERA VALLEJO, A. (1976): Estudio anatomo-clínico-radiológico de la arteria hipogástrica. Tesis doctoral (en preparación).
- CABALLERO BARRIOS, R. (1976): Estudio experimental de la neurografía periférica con contrastes hidrosolubles. Tesis doctoral.
- CAÑADAS VILLALTA, J. A. (1964): Consideraciones sobre la morfología del tercer ventrículo cerebral. Tesis doctoral.
- CARNERERO PÉREZ, J. M. (1961): Estudio topométrico de las formaciones neurales de la fosa cerebral posterior. "Anales Universidad Hispalense", **21**: 57-84.
- CASTELLANOS MATEOS, F. (1974): Introducción a la angiografía cerebral. "Publicaciones de la Universidad de Sevilla. Anales de la Universidad Hispalense. Medicina", **18**.
- CUADRA JIMÉNEZ-PLACER, F. DE LA, y J. JIMÉNEZ-CASTELLANOS (1962): Fundamentos topográficos para la punción infiltrativa del ganglio estrellado. "Anales Universidad Hispalense", **22**: 23-32.
- CUADRA JIMÉNEZ-PLACER, F. DE LA, y J. JIMÉNEZ-CASTELLANOS (1963): Técnica experimental para la implantación intracerebral de electrodos permanentes. "An. Anat.", **26**: 217-228.
- GAMERO BERNAL, A. (1975): Aspectos morfofuncionales de la artrografía escapulo-humeral y su utilidad clínica. Tesis doctoral.
- GARCÍA-ANGUIANO, F. (1966): Estudio anatomoradiográfico de la región cervical raquídea. "Anales Universidad Hispalense", **25**: 17-57.
- HERMOSILLA MOLINA, A. (1963): Contribución experimental a la osteosíntesis de fracturas con resinas sintéticas. "Anales Universidad Hispalense", **23**: 105-160.
- IGUAZ FERNÁNDEZ, J. J. (1964): Aportaciones anatomoradiográficas a las roturas cerradas del tendón de Aquiles. "Anales Universidad Hispalense", **24**: 1-51.
- JIMÉNEZ-CASTELLANOS, J. (1960): Aportaciones a la estereotaxis cerebral experimental y clínica. Premio Cajal 1969. Monografía C.S.I.C.
- JIMÉNEZ-CASTELLANOS, J. (1960): Variabilidad topométrica del plano medio sagital del cerebro humano. "An. Anat.", **18**: 433-446.
- JIMÉNEZ-CASTELLANOS, J. (1961): La hipofisectomía estereotáxica en su aspecto técnico. "Anales Universidad Hispalense", **22**: 85-96.
- JIMÉNEZ-CASTELLANOS, J. (1962): Variabilidad configurativa y métrica del ventrículo cerebral medio. "An. Anat.", **23**: 281-294.
- JIMÉNEZ-CASTELLANOS, J. (1966): Contribuciones anatomoclínicas a la neurocirugía funcional estereotáxica. Discurso de recepción en la Real Academia de Medicina de Sevilla.
- JIMÉNEZ-CASTELLANOS, J. (1970): Lecciones anatómicas. 2.ª edición.
- JIMÉNEZ-CASTELLANOS, J. (1975): Lecciones de Neuroanatomía clínica. 3.ª edición.
- JIMÉNEZ-CASTELLANOS, J., J. L. RAMOS LATORRE y M. MURGA SIERRA (1961): Hipofisectomía estereotáxica. "Cirugía, Ginecología y Urología", **15**: 396-402.
- JIMÉNEZ-CASTELLANOS, J., y colaboradores (1962): Hipófisis. Cap. XV, 267-287. Monografía. Publicaciones Universidad de Sevilla.
- JIMÉNEZ-CASTELLANOS, J., F. DE LA CUADRA, M. MURGA SIERRA y J. L. RAMOS LATORRE (1964): Aportaciones al instrumental y técnica estereotáxicos. "Rev. Esp. Oto-neuro-oftal. y Neurocirugía", **134**: 253-266.
- JIMÉNEZ-CASTELLANOS, J., J. L. RAMOS LATORRE, M. MURGA SIERRA y D. MÁRMOL PLAZA (1966): Resultados clínicos y experimentales con el empleo del persantin en neurología. "Revista Clínica Española", **101**: 121-130.

- JIMÉNEZ-CASTELLANOS, J., y colaboradores (1967): Estéreo-electroencefalografía. "Electroencefalografía clínica", cap. XIV, 303-332. Monografía. Publicaciones Liade.
- LÓPEZ LAGUNA, R. (1969): Estudio anatomorradiográfico de la circulación arterial del miembro superior. "Publicaciones de la Universidad de Sevilla. Medicina", 3.
- LUZÓN CUESTA, S. (1972): Estudio anatomofuncional y radiográfico de la sínfisis del pubis y sus aplicaciones clínicas. Tesis doctoral.
- MARTÍNEZ CARO, A. (1958): Fundamentos anatómicos al abordaje estereotáxico del globus pallidus. "Anales Universidad Hispalense", 18: 45-86.
- MURGA SIERRA, M., I. GÓMEZ DE TERREROS y J. JIMÉNEZ-CASTELLANOS (1959): La topografía arterial encefálica y su interés aplicativo-didáctico. "An. Anat.", 14: 23-36.
- MURGA SIERRA, M. (1963): Consideraciones al estudio anatomorradiográfico de la región sellar. "Anales Universidad Hispalense", 23: 1-58.
- RODRÍGUEZ ALBARIÑO, A. (1970): Estudio anatomorradiográfico de la organización arterial del miembro inferior. "Publicaciones de la Universidad de Sevilla. Medicina", 8.
- RUIZ SÁNCHEZ, A. (1965): Aspecto morfológico del cuarto ventrículo cerebral humano. Tesis doctoral.
- SALVAGO CABEZÓN, J. (1964): Estudio anatomorradiográfico de la arteria cerebral anterior. Tesis doctoral.

J. JIMÉNEZ-CASTELLANOS  
Cátedra de Anatomía  
Facultad de Medicina  
Sevilla (España)



## TUBULAR STRUCTURES, MICROTUBULI AND SYNAPTIC RIBBON IN MONKEY'S RETINAL RECEPTORS

By

P. GLEES<sup>(1)</sup> and P. E. SPOERRI

### *Introduction*

TUBULAR structures associated with vesicles have been previously described (YAMADA, 1965; LOVAS, 1971; PELLEGRINO DE IRALDI and SUBURO, 1971). GRAY (1975, 1976) has teased fragments of rat or frog brain and retina in albumin solution and has demonstrated microtubules in relation to vesicles, running up to and lying in close relationship to the synaptic ribbon or to be presynaptic membrane.

While studying at the ultrastructural level retinal receptors in the cynomologus monkey (GLEES and SPOERRI, 1976), making use of a conventional fixation technique, tubular structures and microtubules were revealed. The relationship of tubular structures, microtubules vesicles and synaptic ribbon is being demonstrated and discussed.

### *Material and Methods*

Eyes of the monkey (cynomologus) were investigated. The bulbi were injected with 6 % buffered glutaraldehyde (pH 7.3) immediately after enucleation. These eyes were cut up and small pieces of the retina (1 mm) were further fixed in a fresh 4° C fixative for 24 hrs. In a few cases the eyes were fixed by perfusion and then injected with 6 % glutaraldehyde as described above. The buffered paraformaldehyde/glutaraldehyde perfusion used was that of KARNOVSKY (1965). Following a brief rinse in the 0.2M Sodium phosphate buffer after SORENSEN (pH 7.3), post fixation was done in 1:1 mixture of 2 % osmium tetroxide and 6.846 % buffered saccha-

(1) Director del Institut für Histologie und Neuroanatomie der Universität. Göttingen. Kreuzberggring 36.

rose 2½ hours at 4° C. Dehydration was carried out in graded alcohol and propylene oxide and the tissues were embedded in Epon 812. Ultrathin sections were cut with an LKB ultratome and "on grid" staining was done with a saturated solution of uranyl acetate for 1 hour followed by lead citrate for ½ an hour. The sections were examined and photographed using a Zeiss, 9S-2 electron microscope.

### Observations

Convolved tubular structures can be observed in the presynaptic space, between receptors, bipolar and horizontal cell processes connected with the assemblage of vesicles arranged around the synaptic ribbon (Figs. 1, 2 and ). These tubules seem to form synaptic vesicles or might serve as 'filling station' for a transmitter substance.

The existence of a tubular structure displayed in a netlike manner, in the presynaptic space, not in association with the vesicles is been depicted in Fig. 4. An aggregation of vesicles is apparent between a tubular structure and a synaptic ribbon as well as microtubules ending at the vesicles and at the tubular network (Fig. 5). The tubular structure appears more electron dense, unlike the microtubules which are seen to be running towards the presynaptic space (Fig. 6). Microtubules are in close proximity to vesicles from the outermost row of vesicles of the ribbon and to a presynaptic dense projection (Fig. 7). The orderly alignment of the vesicles at this particular region must be emphasized. In a cone terminal where the density of vesicles is less, microtubules are clearly seen with clusters of vesicles around them and appear to end up at the ribbon (Fig. 8). In two additional examples, microtubules are seen to be entering a presynaptic bag and follow its contours (Fig. 9) and enter the ribbon (Fig. 10).

### Discussion

The existence of complicated tubular structures in the synapses between photoreceptor and bipolar neurons in the rat's retina have been shown by PELLEGRINO DE IRALDI and SUBURO (1971). Similar tubular structures were also demonstrated in the terminal endings of the receptor cells in the human, the monkey, the cat and the dog. They were subdivided into an initial (type I), a transitory (type II) and a vesicular (type III) (Lovas, 1971). At this stage we did not attempt to subdivide the tubular network. The tubules

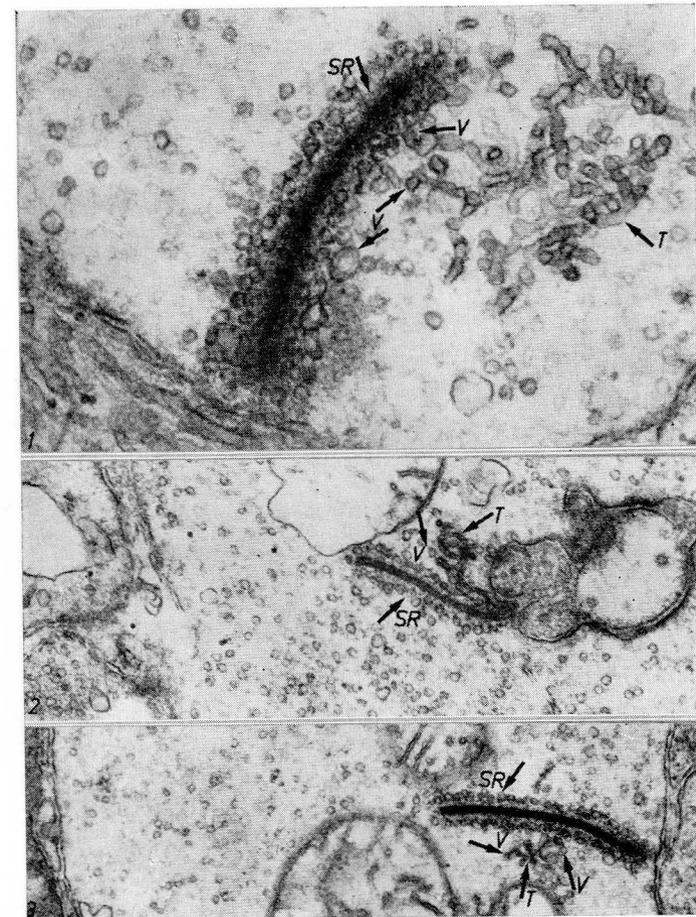


FIG. 1. — A convoluted tubular structure (T) in the monkey retina receptor pedicle and its interconnections with the vesicles (V) surrounding the synaptic ribbon (SR). X 91 992.

FIG. 2. — Another convoluted tubular structure (T) in association with the smooth walled synaptic vesicles (V). SR = synaptic ribbon. X 55 384.

FIG. 3. — One more example of a coiled tubular structure (T) near the synaptic ribbon (SR) giving rise to vesicles (V). X 47 002.

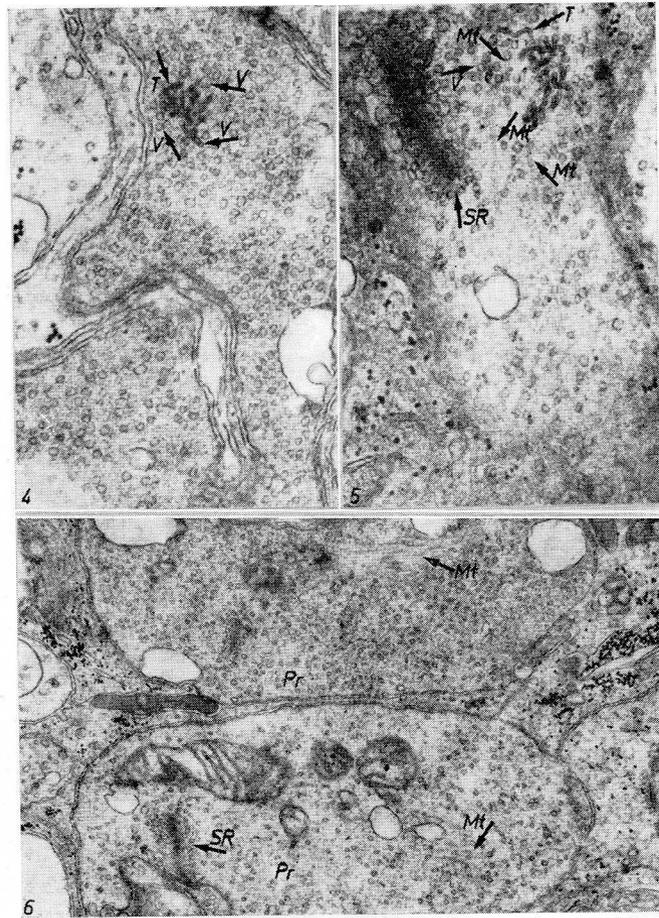


FIG. 4. — A convoluted tubular structure (T) in the presynaptic space not in association with the synaptic ribbon but with the vesicles (V). X 55 384.

FIG. 5. — A tubular network (T) is seen on the right side of the synaptic ribbon (SR). Note the aggregation of vesicles (V) between the tubular structure (T) and the synaptic ribbon (SR). Microtubules (Mt) seem to be ending at the aggregation of vesicles (V) or seem to be associated with the tubular network (T.). X 55 384.

FIG. 6. — Numerous microtubules (Mt) are found in the presynaptic bags (Pr) between receptors and bipolar cells in the retina of the monkey. X 31 574.

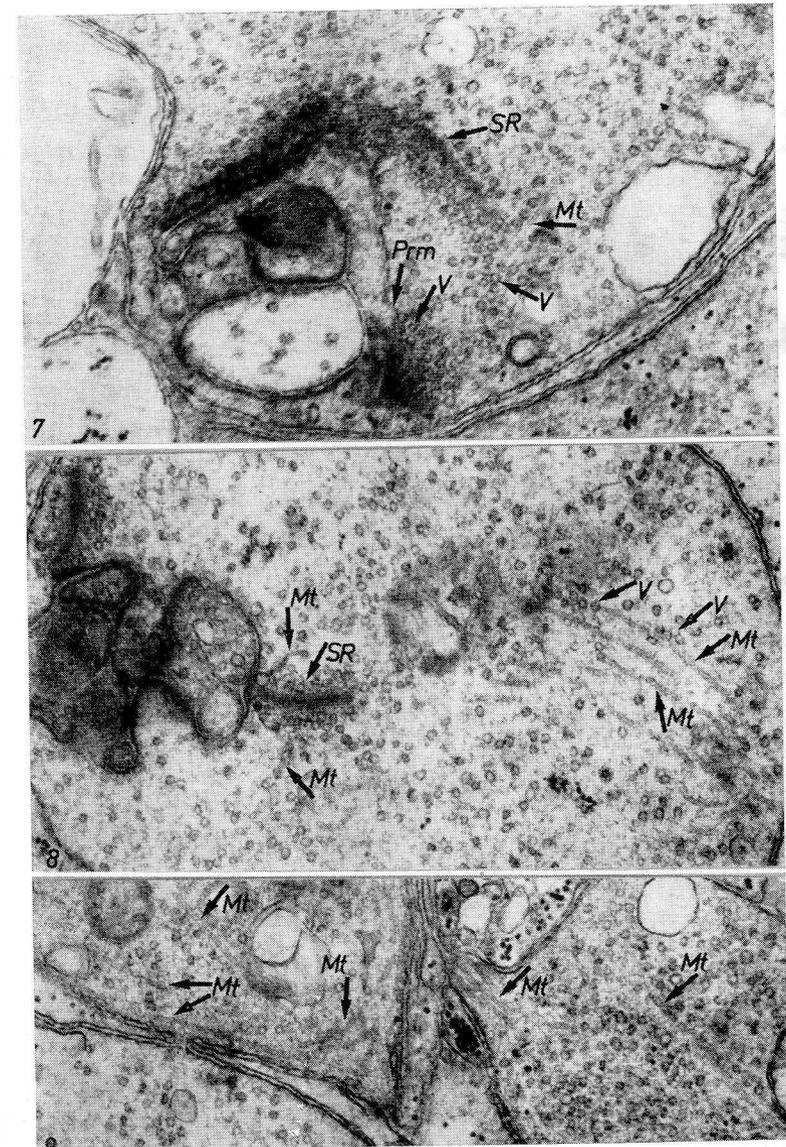


FIG. 7. — A microtubule (Mt), and more likely several, seem to be transporting or guiding synaptic vesicles (V) from the synaptic ribbon (SR) to the presynaptic membrane (Prm). Note the aggregation of vesicles (V) at this region. X 47 002.

FIG. 8. — Microtubules (Mt) with clusters of vesicles (V) around them. On the upper and lower side of the synaptic ribbon microtubules (Mt) seem to end up at this structure. X 47 002.

FIG. 9. — Microtubules (Mt) appear to be entering a presynaptic bag or follow the contours of the membrane of the presynaptic bag. X 47 002.

seem to give origin to synaptic vesicles an observation confirmed by our findings. The tubules are considered to be a part of the smooth or agranular endoplasmic reticulum (SER) and it has been assumed that synaptic vesicles are budding off from the tubular canaliculi of the SER (PALAY, 1956, 1958). This was confirmed by YAMADA (1965) in the retina of the cat, where the author found that at the periphery of the network, some tubules seem to be continuous with the synaptic vesicles, an observation similar to ours in the monkey retina.

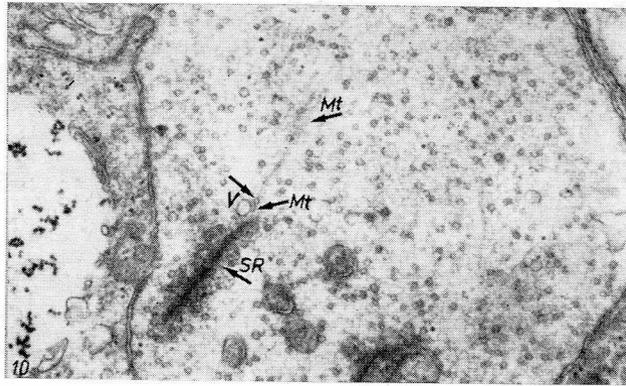


FIG. 10. — Synaptic ribbon (SR) and associated microtubules (Mt) arrows. X 46 948.

The origin of the tubular structure from the smooth endoplasmic reticulum is however being disputed. LOVAS (1971) suggested that they could also be mitochondria residuals. This is not unlike as LIEBERMAN (1971) observed in central synapses longitudinally orientated SER elements in direct continuity with the outer membrane of mitochondria. PELLEGRINO DE IRALDI and DE ROBERTIS (1968) noted a resemblance of the tubular structures and the vesicles to the Golgi complex. From the dilated tubules like from Golgi cisternae, vesicles seem to be pinched off the ends of the tubules. A connection between the neurotubular system and the Golgi complex in the formation of vesicles has been suggested and ANDRES (1964) holds the same opinion for central synapses. HEUSER and REESE (1973) are however of entirely different opinion concerning the origin of vesicles. After transmitter release by exocytosis at the presynaptic membrane, the vesicular membranes move within the fluid phase of the plasma membrane and begin to reform membrane bound or "coated" vesicles. These coalesce to produce large cisternae and membranous buds pinch off from the cisternae to form new vesicles. Recently RIPPS et al (1976) and SCHACHER

and HOLZMAN (1976) have used the peroxidase tracer technique to follow the sequence of events involved in this recycling process and found that the reaction product was confined to the elements implicated by HEUSER and REESE (1973) namely synaptic vesicles, "coated" vesicles and cisternae.

The tubular structures observed in our study are not the same as the microtubules revealed by the albumin method (GRAY, 1975, 1976). Although they have a diameter similar to that of the microtubules, they differ in electron density and in their convoluted shape. Difficulties in observing microtubuli ultrastructurally is due to the fact that these are extremely labile and can easily be destroyed during fixation.

BEHNKE (1974) reports that microtubules consist of the glycoprotein tubulin (M.W. 120 000). They appear to be produced and dissolved within a cell according to functional need (BRAY, 1974).

As both tubular structures and microtubuli could be revealed simultaneously in the monkey retina, using the fixation and staining technique described their relationship demands some elucidation. Microtubules have been observed within the presynaptic cytoplasm and in association with the synaptic ribbon. The present observation confirms that of GRAY (1976) as well as the vesicle-microtubule association. The role of the presynaptic microtubules in conveying the vesicles to the synaptic ribbon or to the presynaptic membrane is not excluded (see Fig. 7). In addition BUNT (1971) suggests a "sliding" vesicle mechanism of the synaptic ribbon for transmitter release. GRAY (1976) is of the opinion that the tubules of the smooth endoplasmic reticulum (in our case the tubular structures) coil around the microtubules. LIEBERMAN (1971) observed in the frog CNS microtubules (mostly one and rarely two) passing through fenestrated transverse cisternae of the SER. The canaliculi of the SER may give rise to vesicle and the latter can be transported by the microtubules, a suggestion already proposed by GRAY (1976). The difficulty in observing the microtubules lies partly in the high density of vesicles in the rod terminals. In the cone terminals, where the density of the vesicles is less, it is easier to observe them in association with the vesicles. But again due to their great lability many are lost and that may explain why they are not so easily encountered in synapses.

Several functions have been proposed to the synaptic ribbon (BUNT, 1971). This author however suggests two new functions, mainly to maintain the shape of the photoreceptor ridge in relation to the postsynaptic element and as orienting structures to channel synaptic vesicles in an orderly fashion.

GRAY and PEASE (1971) have reported that the outermost rows of vesicles of the ribbon are in close relationship to the presynaptic membrane. This strategic position of the vesicles seems to be necessary for transmitter release. Surprisingly linear arrays of vesicles from the synaptic ribbon have been observed presently which seem to be transported by microtubules to the presynaptic membrane, or to a presynaptic dense projection.

In conclusion it may be said that synaptic vesicles once formed may be transported by the contractile microtubules to the synaptic ribbon which are then guided in an orderly way to the presynaptic membrane for transmitter release.

Further experimentation with substance such as colchicine, the tubulin binding substance (BEHNKE, 1974), may elucidate the role of microtubules in the presynaptic space.

#### Acknowledgement

We are indebted to Miss E. Heyder for technical assistance to Mrs. S. Ruelke for the photographic work and Mrs. C. Weinrichter for the typing of the manuscript. This work was supported by the "Deutsche Forschungsgemeinschaft" Grant No. 28/20.

#### Resumen

Utilizando una técnica convencional de fijación se observan estructuras tubulares y microtúbulos en las sinapsis existentes entre fotorreceptores y procesos celulares bipolares y horizontales. Se aprecian también relaciones entre microtúbulos, vesículas y bandas sinápticas. Se discute la significación de estos hallazgos.

#### Summary

Using a conventional fixation technique tubular structures and microtubules were found in synapses between photoreceptors, bipolar and horizontal cell processes. A relationship between microtubules, vesicles and synaptic ribbon has become apparent. The significance of these findings is being discussed.

#### BIBLIOGRAFÍA

- ANDRES, K. H. (1964): Mikropinocytose im Zentralnervensystem. "Z. Zellforsch", **64**: 63-73.
- BEHNKE, O. (1974): Mikrotubuli und Mikrofilamente. "Triangel", **13**: 7-16.
- BRAY, D. (1974): Die fibrillären Proteine der Nervenzellen. "Triangel", **13**: 131-136.
- BUNT, A. H. (1971): Enzymatic digestion of synaptic ribbons in amphibian retinal photoreceptors. "Brain Res.", **25**: 571-577.
- GRAY, E. G. (1975): Presynaptic microtubules and their association with synaptic vesicles. Proceedings of the Royal Society of London, Series B 190, 369-372.
- GRAY, E. G. (1976): Microtubules in synapses of the retina. "J. Neurocytol.", **5**: 361-370.
- GRAY, E. G., and H. L. PEASE (1971): On understanding the organization of the retinal receptor synapses. "Brain Res.", **35**: 1-15.
- HEUSER, J. E., and T. S. REESE (1973): Evidence for recycling of synaptic vesicle membrane during transmitter release at the frog neuromuscular junction. "J. Cell Biol.", **57**: 315-344.
- KARNOVSKY, M. J. (1965): A formaldehyde glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. "J. Cell Biol.", **27**: 137 A.
- LIEBERMAN, A. R. (1971): Microtubule-associated smooth endoplasmic reticulum in the frog's brain. "Z. Zellforsch.", **116**: 564-577.
- LOVAS, L. (1971): Tubular networks in the terminal endings of the visual receptor cells in the human, the monkey, the cat and the dog. "Z. Zellforsch.", **121**: 341-357.
- PALAY, S. (1956): Synapses in the central nervous system. "J. biophys. biochem. Cytol.", Suppl. **2**: 193-202.
- PALAY, S. L. (1958): The morphology of synapses in the central nervous system. "Exp. Cell Res.", Suppl. **5**: 275-293.
- PELLEGRINO DE IRALDI, A., and E. DE ROBERTIS (1968): The neurotubular system of the axon and the origin of granulated and non granulated vesicles in regenerating nerves. "Z. Zellforsch.", **87**: 330-344.
- PELLEGRINO DE IRALDI, A., and A. M. SUBURO (1971): Presynaptic tubular structures in photoreceptors cells. "Z. Zellforsch.", **113**: 39-43.
- RIPPS, H., M. SHAKIB and E. D. MACDONALD (1976): Peroxidase uptake by photoreceptor terminals. "J. Cell Biol.", **70**: 86-96.
- RODIECK, R. W. (1973): The Vertebrate Retina. San Francisco, W. H. Freeman and Company.
- SCHACHER, S., E. HOLZMAN and D. C. HOOD (1976): Synaptic activity of frog retinal photoreceptors. A peroxidase uptake study. "J. Cell Biol.", **70**: 178-192.
- YAMADA, E. (1965): Some observations on the membrane-limited structure within the retinal element. In Intracellular Membraneous Structure (edited by Seno, S. and Cowdry, E. V), pp. 49-63. Okayama: Japanese Society of Cell Biology.

P. GLEES

Institut für Histologie und  
Neuroanatomie der Universität Göttingen  
Kreuzberggring 36  
3400 Göttingen/BRD



## VASCULARIZACIÓN SUPRARRENAL Y STRESS NEURÓGENO

POR

L. M.<sup>a</sup> GONZALO SANZ<sup>(1)</sup>

EN la especie humana y en algunos animales, como la rata y el cobayo, las hemorragias corticosuprarrenales son frecuentes (GONZALO, 1965a; HARRISON y HOEY, 1960; PLANT, 1965, etc.). Mediante una serie de ingeniosas experiencias, TONUTTI (1953, 1956) demostró que una de sus causas es la incidencia en la suprarrenal de una acción tóxica tisular, como la de la toxina diftérica, y una situación de hiperfunción de la glándula. Nosotros (GONZALO, 1965b; FERNÁNDEZ, 1972) venimos estudiando desde hace años la participación del factor neurovegetativo en la aparición de estas alteraciones vasculares de la suprarrenal. Las experiencias que ahora vamos a describir nos han permitido poner de manifiesto la importancia de este factor, así como sus centros rectores.

### *Material y métodos*

Los animales utilizados en estas experiencias han sido ratas y cobayos, por la facilidad con que se presentan en estos animales alteraciones corticosuprarrenales tras la acción de un stress neurógeno. En la tabla de la página siguiente aparecen las experiencias efectuadas, tipo de animales, supervivencia y número.

La hipofisectomía fue realizada por vía transauricular, según el método propuesto por TANAKA y col. (1955), que, además de la seguridad y rapidez de la operación, permite una recuperación casi inmediata del animal. En todos los casos se comprobó en la necropsia la total extirpación de la glándula.

La sección espinal se practicó a nivel T<sub>5</sub>, es decir, ligeramente por encima de la salida de las raíces medulares por las que van fibras simpáticas a la suprarrenal (CUMMINGS, 1969).

(1) Catedrático. Director del Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina. Pamplona.

<i>Animal</i>	<i>Experiencia</i>	<i>Supervivencia</i> (días)	<i>Núm.</i> <i>animales</i>
Rata	Control + stress	—	10
»	Hipofisectomía + stress	1	10
»	Sección espinal + stress	10	10
»	Destrucción hipotálamo:		
	Anterior + stress	10	5
	Medio + stress	10	5
	Posterior + stress	10	5
»	Hemidecorticación + stress	10	10
Cobayo	Control + stress	—	10
»	Ttrasplante supr. + stress	60	6
Cobayo	Hemidecorticación + stress	10	5

La electrocoagulación del hipotálamo la realizamos tras la localización estereotáxica de las estructuras a eliminar mediante el atlas de ALBÉ-FESSARD (1966).

La hemidecorticación la llevamos a cabo, en unos casos, por ablación mecánica y, en otros, mediante aspiración, eliminando tanto la corteza como la sustancia blanca hasta el cuerpo caloso y cápsula interna.

El trasplante de la suprarrenal se practicó en la grasa del polo inferior del riñón. Sólo se trasplantó la suprarrenal izquierda, dejando la derecha como testigo.

El stress neurógeno empleado consistió en la fijación del animal a la mesa de operaciones y pinchazos por el dorso durante 5 minutos. El sacrificio de los animales se efectuó a los 90 minutos de aplicado el stress, tiempo éste en el que se comprobó que la reacción era máxima. Los animales, tras el período postoperatorio adecuado, fueron sacrificados por decapitación y, en la necropsia, se recogieron suprarrenales y aquellas piezas (cerebro, médula espinal, etc.) en las que había que comprobar si la operación se había llevado a cabo correctamente.

La fijación de las piezas se efectuó en formol al 10 % y, tras la preparación previa, se incluyeron en parafina, se seccionaron a 6 micras y se tiñeron por la hematoxilina-eosina.

## Resultados

### 1. Ratas control más stress neurógeno

Las ratas normales, sometidas al stress neurógeno descrito en el apartado anterior, presentan notables alteraciones en suprarrenal. Prácticamente son las mismas en todos los casos, pudiéndose

observar, según las zonas, vasodilatación, áreas de edema y focos hemorrágicos (figs. 2 y 3). Las alteraciones más importantes se observan entre la zona reticular (ZR) y la zona fasciculada interna (ZFI), donde aparecen, además de una notable vasodilatación, edemas y abundantes focos hemorrágicos, casi siempre de pequeña extensión. Independientemente de estos focos hemorrágicos se presentan otros aislados y de mayor amplitud en la zona fasciculada externa (ZFE). Debido a las alteraciones vasculares descritas en el territorio comprendido entre la ZFI y la ZR, ésta última zona muestra una estructura alterada, como si su territorio hubiera sido comprimida por dos zonas que se expanden en sentido inverso.

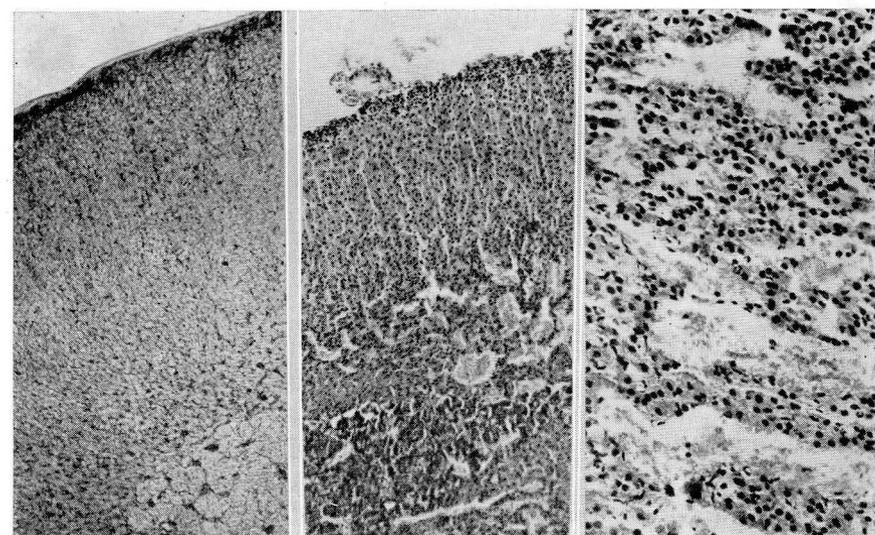


FIG. 1

FIG. 2

FIG. 3

FIG. 1. — Corte de una suprarrenal de rata testigo (70 ×).

FIG. 2. — Corte de una suprarrenal de rata sometida a un stress neurógeno, 90 minutos antes de su sacrificio. Vasodilatación y focos hemorrágicos entre ZFI y ZR (70 ×).

FIG. 3. — Otra zona de la misma suprarrenal, a mayor aumento. La vasodilatación y la extravasación de eritrocitos aparece muy clara (186 ×).

### 2. Cobayos control más stress neurógeno

Las alteraciones vasculares en suprarrenal presentadas por los cobayos, tras la acción del stress neurógeno, son parecidas a las observadas en las ratas, pero de menor intensidad: vasodilatación media o intensa en el territorio correspondiente a la ZR y ZFI, zonas edematosas, especialmente en el territorio más profundo de la

corteza, y focos hemorrágicos de pequeño extensión, presentes en bastantes animales.

Dos diferencias, con respecto a lo que hemos descrito en las ratas merecen señalarse: 1) que los focos hemorrágicos suelen encontrarse en la ZFI, próximos a la ZFE, y 2) que la zona de compresión se sitúa entre las FE y la FI.

### 3. *Ratas hipofisectomizadas más stress neurógeno*

Las ratas hipofisectomizadas un día antes de someterlas al stress neurógeno han presentado unas alteraciones vasculares en la suprarrenal superponibles a las que hemos descrito en las ratas control. En cambio, las ratas hipofisectomizadas no sometidas al stress no presentaban ninguna alteración suprarrenal.

### 4. *Cobayos con la suprarrenal izquierda trasplantada y sometidos a stress neurógeno*

En este grupo de cobayos sorprende el estudio de la suprarrenal trasplantada, pues no aparece ninguna alteración vascular (figura 4), mientras que en la suprarrenal del lado contrario, que sirve de testigo, aparecen las alteraciones características, ya descritas anteriormente.

### 5. *Ratas con sección espinal a nivel T<sup>5</sup> más stress neurógeno*

Las suprarrenales de estas ratas presentan un estado de transformación progresiva, pero no aparecen en ellas alteraciones vasculares tras la acción del stress neurógeno (fig. 5).

### 6. *Destrucción del hipotálamo anterior izquierdo más stress*

En este grupo de ratas destaca, en comparación con las del primer grupo, la disminución en intensidad de las alteraciones vasculares presentadas, tanto en la suprarrenal homo como heterolateral. No obstante, existen alteraciones que llegan hasta pequeños focos hemorrágicos localizados principalmente en la ZR.

### 7. *Destrucción del hipotálamo medio izquierdo más stress*

La reacción vascular de las suprarrenales de las ratas de este grupo es muy pequeña. Sólo se aprecia vasodilatación ligera en ZR y ZFI, algo más manifiesta en la suprarrenal contralateral a la lesión.

### 8. *Destrucción del hipotálamo posterior izquierdo más stress*

Podríamos resumir las alteraciones vasculares de las suprarrenales de las ratas de este grupo como de una intensidad intermedia

entre la observada tras la destrucción del hipotálamo anterior y del medio. Se puede apreciar vasodilatación, con predominio en ZFI y, en algunos animales, zonas de edema y pequeños focos hemorrágicos aislados. Lo mismo que en el grupo anterior, las alteraciones vasculares son algo más manifiestas en la suprarrenal contralateral a la lesión.

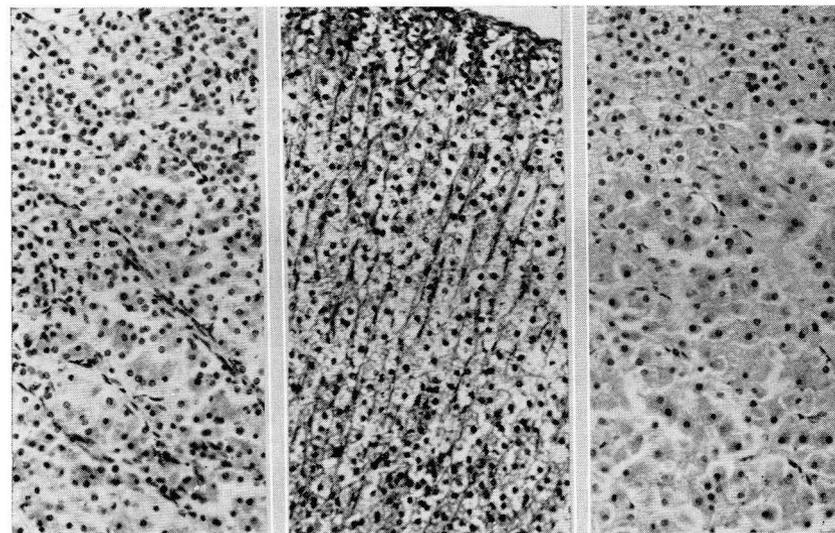


FIG. 4

FIG. 5

FIG. 6

FIG. 4. — Microfotografía de una zona de la suprarrenal que comprende ZFE (parte superior) y ZFI (abajo). Corresponde a la suprarrenal trasplantada de un cobayo que fue sometido a un stress neurógeno. No se aprecia ninguna alteración vascular (186 ×).

FIG. 5. — Microfotografía de un corte suprarrenal de una rata con sección espinal, sometida al stress neurógeno. No aparece ninguna reacción vascular (186 ×).

FIG. 6. — Corte de una suprarrenal derecha de rata con hemidecorticación izquierda. El tercio superior corresponde a la ZFE y los dos tercios inferiores a la ZFI. No se observa ninguna alteración vascular (186 ×).

### 9. *Hemidecorticación en ratas más stress neurógeno*

La reacción vascular de las suprarrenales de las ratas de este grupo, tras la actuación del stress, es mínima (fig. 6). Solamente se pueden apreciar algunos sinusoides dilatados en la suprarrenal contralateral a la hemidecorticación, pero no existe edema ni focos hemorrágicos. La suprarrenal homolateral se puede considerar idéntica a la de los animales hemidecorticados y sacrificados sin someterlos previamente al stress neurógeno.

### 10. Hemidecorticación en cobayos más stress neurógeno

En los animales de este grupo no se ha observado ninguna alteración vascular ni en la suprarrenal homolateral ni contralateral a la hemidecorticación.

#### Discusión

Dada la facilidad con que en la rata, y en menor grado en el cobayo, se producen alteraciones vasculares en la suprarrenal, estos animales se han sacrificado por decapitación, sin anestesia previa y en habitación distinta a la que esperaban los otros animales. De esta forma hemos evitado las alteraciones provocadas por maniobras previas a la muerte de los animales.

En la necropsia se ha tenido especial cuidado en no provocar en la suprarrenal ningún traumatismo que pudiera ocasionar desgarros y ser una fuente de error a la hora de interpretar las alteraciones vasculares de la glándula. Con este fin, siempre se han recogido y fijado con parte de la grasa que las rodea y nunca se ha pinchado directamente.

Hemos practicado la hipofisectomía por vía transauricular, que produce un traumatismo mínimo en las ratas; sólo exige una anestesia con éter de un par de minutos y permite que los animales puedan ser sacrificados 24 horas más tarde totalmente repuestos de la intervención.

Los resultados obtenidos en las ratas hipofisectomizadas sometidas al stress neurógeno, muestra claramente que las alteraciones vasculares producidas por éste no dependen del factor hormonal, es decir, del ACTH, a diferencia de lo que sucede cuando se emplea un stress de tipo tóxico (TONUTTI, 1953, 1956). Que las alteraciones vasculares, en esta situación de stress neurógeno, dependen enteramente de la inervación vegetativa, queda evidenciado por los resultados obtenidos con el trasplante de la suprarrenal en cobayos. Al quedar la suprarrenal trasplantada sin inervación, la aplicación de un stress neurógeno no provoca en esta glándula ninguna reacción, mientras que la suprarrenal del otro lado, que sirve de testigo, muestra las alteraciones típicas. Este factor vegetativo también está confirmado por observaciones clínicas. Así, OWEN (1955) y WILSON y ROTH (1953) han encontrado focos hemorrágicos en suprarrenales en enfermos con colitis ulcerosa.

La sección espinal a nivel T<sub>3</sub> evita por completo las alteraciones vasculares en suprarrenal producidas por el stress neurógeno, lo cual indica que los centros vegetativos que controlan la reacción vascular de la suprarrenal son supraespinales y simpáticos, ya que

a pesar de permanecer indemne el vago no hay ninguna lesión vascular tras la acción del stress neurógeno.

La destrucción de los centros supraespinales, concretamente del hipotálamo medio y de un hemisferio cerebral, disminuye notablemente las alteraciones suprarrenales de origen vascular, siendo este efecto todavía más intenso en la suprarrenal heterolateral a la lesión. Estos resultados hablan claramente en favor de la existencia de una vía cortical e hipotalámica bilateral, pero con predominio cruzado que actúa sobre los vasos suprarrenales.

En el caso de la vía cortical cabe preguntarse si se trata de una vía que del cortex va directamente a los centros vegetativos efectores o bien ha de hacer escala en el hipotálamo. En nuestra opinión se dan ambas posibilidades. En relación con la posibilidad de la existencia de una vía directa, uno de nuestros colaboradores (ULLÁN, 1975) ha demostrado neuroanatómicamente la realidad de esta vía directa.

¿Cómo actúan estos impulsos vasomotores procedentes de la corteza y del hipotálamo sobre los vasos suprarrenales?

Los clínicos, que ya sospecharon el origen vascular de algunas hemorragias suprarrenales, han pensado que la causa última puede ser una lesión de la pared de los capilares (GREEDYKE, 1965) o un espasmo de las arteriolas suprarrenales (TRASH e IRIS, 1963). De esta última opinión son también BROWN y HARRISON (1964). Estos autores, estimulando el esplácnico mayor en la rata, provocaron, tras una latencia de 5 a 10 segundos, una notable vasodilatación que comienza a decrecer a la media hora y que, en bastantes casos, dio lugar a focos hemorrágicos. Estas alteraciones las explican por una vasoconstricción de las arteriolas medulares provocada por el estímulo simpático.

Sin embargo, resulta difícil de explicar por qué la acción vasoconstrictora queda limitada a estas arteriolas y, aun en caso que así suceda, por qué hay repleción de los capilares y sinusoides de la corteza y no más bien el fenómeno contrario.

Nosotros pensamos que el estímulo simpático tiene como principal respuesta la liberación de adrenalina y noradrenalina por parte de la médula suprarrenal. Estas hormonas actúan por difusión sobre la musculatura de la vena central de la suprarrenal produciendo una vasoconstricción de esta vena. Entonces, una parte de la sangre venosa fluye por las venas emisarias (GONZALO e INSAUSTI, 1976; INSAUSTI, 1976) en dirección a la red venosa perisuprarrenal. Al actuar también la adrenalina sobre estas venas perirrenales produce una vasoconstricción, por lo cual el retorno venoso se halla un tanto obstaculizado y la consecuencia inmediata

es la vasodilatación, y, si el bloqueo es grande, el edema y los focos hemorrágicos.

### Resumen

Mediante una serie de experiencias efectuadas en ratas y cobayos se ha estudiado la respuesta vascular de la suprarrenal tras la aplicación de un stress neurógeno (fijación del animal en la mesa de operaciones y pinchazos en el dorso, durante 5 minutos) y las modificaciones que experimenta en distintas circunstancias experimentales.

La hipofisectomía no modifica la respuesta vascular de la suprarrenal tras la aplicación del stress. En cambio, esta respuesta no aparece en las suprarrenales trasplantadas o tras la sección espinal a nivel T<sub>5</sub>. La destrucción unilateral del hipotálamo medio y la hemidecorticación la disminuyen notablemente.

Estos resultados permiten concluir que la respuesta vascular suprarrenal, subsiguiente a la actuación de un stress neurógeno, no depende del factor hormonal y sí del simpático, siendo los centros principales en el control de esta respuesta el hipotálamo y el cortex cerebral.

### Summary

Different experiments carried out on rats and guinea pigs have demonstrated that the vascular alterations caused by the action of a neurogenic stress depend on the sympathetic, and the supraspinal centers that control this sympathetic response are, principally, the hypothalamus medius and the cerebral cortex.

### Zusammenfassung

Durch verschiedene Untersuchungen wurde festgestellt, dass die Steuerung der Gefäßreaktion der Nebennieren, nach der Wirkung eines Neurogenstress, vom sympathicus abhängt. Die Supraspinalzentren, die diese Reaktion steuern, sind vor allem der Hypothalamus medius und der Hirncortex.

### Résumé

Au moyen de différents experiments on a constaté que les altérations vasculaires de la surrénale, secondaires à l'action d'un stress neurogène, dépendent du sympathique, et les centres supraspinaux qu'exercent ce contrôle sont principalement l'hypothalamus medius et le cortex cérébral.

### BIBLIOGRAFÍA

- ALBÉ-FESSARD, D., F. STUTINSKY y F. LIBOUAN (1966): Atlas stéréotaxique du diencéphale du rat blanc. Edit. CNRS, Paris.
- BROWN, K. N., y R. G. HARRISON (1964): The effect of the sympathetic nerve stimulation on suprarrenal cortical vascularization in the rat. "J. Anat.", **98**: 11-16.
- CUMMINGS, J. F. (1969): Thoracolumbar preganglionic neurons and adrenal innervation in the dog. "Acta anat." (Basel), **73**: 27-37.

- FERNÁNDEZ MATÍAS, O. (1972): La participación simpática en la regulación de la corteza suprarrenal. "Rev. Med. Univ. Navarra", **16**: 223-238.
- GONZALO SANZ, L. M. (1965a): El factor vascular en la morfocinética suprarrenal. "Rev. Med. Univ. Navarra", **9**: 206-212.
- GONZALO SANZ, L. M. (1965b): Bases morfológicas del control vascular y celular corticosuprarrenal. "An. Anat.", **14**: 285-300.
- GONZALO SANZ, L. M., y R. INSAUSTI (1976): The structure of the suprarenal venous system and its possible functional significance. "Acta anat." (Basel), en prensa.
- GREENDYKE, R. M. (1965): Adrenal Hemorrhage. "Amer. J. Clin. Pathol.", **43**: 210-215.
- HARRISON, R. G., y M. J. HOEY (1960): The adrenal circulation. Edit. Blackwell, Oxford.
- INSAUSTI, R. (1976): El arco venoso perirrenal en la rata: su significación funcional. "An. Anat." (en prensa).
- OWEN, E. D. (1955): Spontaneous adrenal hemorrhage in ulcerative colitis. "Brit. M. J.", **1188**-1191.
- PLANT, A. (1955): Adrenal necrosis in routine necropsis. "Am. J. Path.", **31**: 93-99.
- TANAKA, A. (1955): Shinogi kenkyuschi nempo, **5**: 678-680. Tomado de "Experimental Endocrinology". Edit. Academic Press, New York, 1964.
- ULLÁN SERRANO, J. (1975): Conexiones del neocortex con centros vegetativos troncocefálicos y espinales. "An. Anat.", **24**: 149-178.
- TONUTTI, E. (1953): Experimentelle Untersuchungen zur Pathophysiologie der Nebennierenrinde. "Verh. dtsch. Ges. Path.", **36**: 123-136, 19.
- TONUTTI, E. (1956): Hormone und örtliche Reizbeantwortung. "Verh. dtsch. Ges. inn. Med.", **62**: 177-192.
- TRASH, A. M., y H. IRIS, (1963): Adrenal infarction. Six case reports. "Arch. Path.", **75**: 538-542.
- WILSON, D. A., y O. ROTH (1953): Adrenal apoplexy occurring during corticotropin therapy of ulcerative colitis. "JAMA", **152**: 230-231.

L. M.<sup>a</sup> GONZALO SANZ  
Departamento de Anatomía  
Facultad de Medicina  
Pamplona (España)

## INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES AMBIENTALES EN EL CICLO VIGILIA-SUEÑO DEL GATO NORMAL<sup>(1)</sup>

POR

J. GÓMEZ-MONTOYA<sup>(2)</sup> e I. DE ANDRÉS<sup>(3)</sup>

### *Introducción*

Los principales estudios cuantitativos llevados a cabo en el gato libre no anestesiado, tratando de precisar el ritmo nictameral normal de esta especie, se inician en la década de los 60 a partir de la caracterización del sueño paradójico (SP).

Los parámetros analizados más frecuentemente han sido el tiempo total de permanencia en cada fase del ciclo vigilia-sueño (CVS), la duración y el número de episodios de las mismas. Por otra parte, también se ha intentado establecer el ritmo horario del ciclo (DELORME y col., 1964; STERMAN y col., 1965; ANDRÉS, 1975; GUTIÉRREZ-RIVAS, 1976). No obstante, los trabajos realizados en este sentido difieren con frecuencia en los resultados de unos autores a otros. Esta circunstancia podría ser debida a la no uniformidad de criterios a la hora de valorar las distintas fases del CVS, especialmente en lo que se refiere a los estados de somnolencia (S) y sueño lento (SL). Otras causas de divergencia en los resultados podría ser la variabilidad de las condiciones experimentales a las que están sometidos los animales durante la obtención de sus registros poligráficos en los distintos laboratorios, así como el estudio de un número insuficiente de animales o bien escasos registros por animal. Se ha comprobado que en los registros de un mismo animal pueden encontrarse diferencias estadísticamente significativas (ANDRÉS, 1975; GUTIÉRREZ-RIVAS, 1976). Las diferentes condiciones de habituación previas a la toma de los registros jugaría, a nuestro

(1) Trabajo realizado con una beca del Plan de Formación de Personal Investigador (M.E.C.) y con la ayuda número 1.776 de la CAICT.

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

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

entender, un papel fundamental en la configuración del CVS de estos animales.

En el presente trabajo se han tratado de objetivar los patrones cuantitativos y el ritmo horario del CVS a lo largo de las 24 horas del día en el animal normal habituado previamente a vivir en el animalario y sometido en el momento de la experimentación a dos situaciones ambientales diferentes: 1) Las presentadas en una cámara insonorizada y acondicionada térmicamente y 2) Las presentadas en las condiciones habituales de estabulación. Posteriormente se han comparado estadísticamente los resultados obtenidos en las dos experiencias.

En este estudio se ha utilizado el gato por ser éste el animal más empleado en las experiencias sobre el sueño.

### *Material y métodos*

Siguiendo las técnicas habituales en los estudios de sueño, se implantaron, bajo anestesia general, ocho electrodos superficiales crónicos para el registro poligráfico del EEG (electroencefalograma), EMG (electromiograma de la musculatura de la nuca) y EOG (electrooculograma), en 19 gatos adultos de ambos sexos y con peso comprendido entre 2'5 y 3'5 kg.

Una vez recuperados del trauma operatorio (entre los 10 y 15 días), de cada animal se obtuvieron tres registros poligráficos, con intervalos semanales entre ellos. La duración de cada uno de estos registros fue de un día completo (24 horas).

Los 19 animales se dividieron en dos grupos. El grupo A, con 11 gatos, en los que la toma de los registros poligráficos se realizó en la jaula habitual del animalario. Estos animales recibían dos veces por día (a las 9 y a las 16 horas), su comida habitual, que fue variable. Tuvieron luz artificial desde las 8 a las 20 horas, permaneciendo el resto del tiempo en oscuridad. La temperatura de la habitación osciló entre 15 y 20° C. A lo largo de cada registro estuvieron presentes los ruidos habituales de una comunidad de animales, los del personal encargado de su cuidado y los ocasionados por los encargados de vigilar la marcha de la toma de los registros, ya que el electroencefalógrafo se encontraba situado en la misma habitación que los animales.

El grupo B lo formaron los 8 gatos restantes, que eran trasladados a una cámara insonorizada durante la toma de sus registros poligráficos. Durante las 24 horas de cada sesión, estos animales permanecieron en oscuridad absoluta y a temperatura constante de 20-22° C. No hubo ninguna interrupción a lo largo de los re-

gistros, ya que el electroencefalógrafo estaba situado en una habitación continua a la cámara insonorizada y la comida se le dejaba al animal en el momento de iniciarse la experiencia. La alimentación de estos animales en el día de la toma de sus registros consistió en 50 cc de agua y 200 gr de alimento "nido" para gatos.

El inicio de los registros, tanto en la cámara como en el animalario fue variable, oscilando entre las 9 y las 11 horas en algunos gatos y entre las 15 y las 19 horas en otros.

Todos los registros fueron leídos y analizados por el mismo investigador de acuerdo a los patrones poligráficos de vigilia (V), somnolencia (S), sueño lento (SL) y sueño paradójico (SP) (MADOZ, 1969). La duración mínima de los períodos tenida en cuenta fue de 30 segundos.

De cada sesión, de cada uno de los animales, se cuantificó el tiempo total y en cada una de las horas de permanencia en los distintos estados del CVS. Los datos se agruparon posteriormente según las distintas condiciones de la experimentación.

Finalmente, se compararon, mediante el estadístico *t* de diferencia entre las medias, el conjunto de los datos obtenidos de los animales registrados en la cámara insonorizada, con los del animalario. De esta forma se estableció la significación estadística de las diferencias encontradas entre las dos condiciones de experimentación.

### *Resultados*

Todos los animales individualmente estudiados presentaron en las 24 horas de cada registro las cuatro fases del CVS consideradas en este trabajo.

En cuanto al ritmo horario del ciclo observamos que en ambos grupos de animales los 4 estados del CVS estuvieron presentes en todas y cada una de las 24 horas del día (figs. 2, 3, 4 y 5).

#### *Características del CVS en el animalario*

Tomando los datos del conjunto de los animales del grupo A, en valor medio de la V a lo largo de las 24 horas fue de 24'35 % ( $\pm 2'00$ ). Entre las 6 y las 19 horas los valores de este estado se encontraron siempre por encima de la media, presentando un pico máximo del 46 % a las 8 horas. Las horas en las que los valores se encontraron por debajo de la media fueron entre las 20 a las 55 horas, con un mínimo del 10 % entre las 23 y las 24 horas (figura 2).

El valor medio de la S resultó ser de un 27'17 % ( $\pm 1'25$ ). Valores superiores a la media se encontraron entre las 3 y las 9 horas,

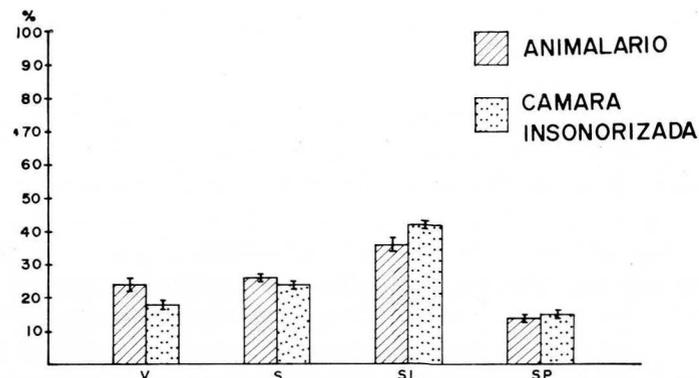


FIG. 1. — Histograma de los tiempos totales de permanencia en cada uno de los cuatro estados del CVS. Se expresan en porcentajes y con los errores standard. El rayado corresponde al grupo A (animales registrados en el animalario) y el punteado al grupo B (animales registrados en la cámara insonorizada). V = vigilia, S = somnolencia, SL = sueño lento y SP = sueño paradójico.

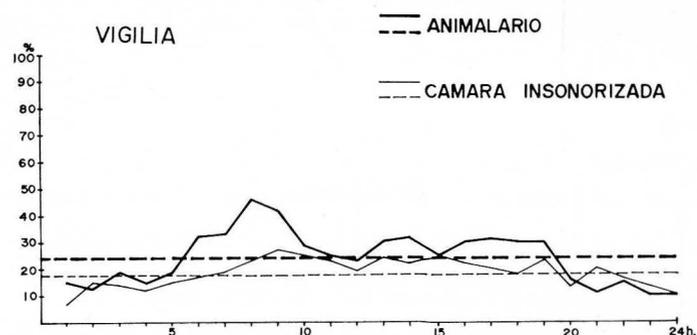


FIG. 2. — Distribución horaria de la V a lo largo de las 24 horas del día. El trazado grueso continuo corresponde a la del animalario (grupo A) y el fino a la de la cámara insonorizada (grupo B). En línea discontinua gruesa se expresa el valor medio de la V en el animalario y en línea discontinua fina el valor medio de la vigilia en la cámara.

así como de 12 a 13 horas, a las 15 y a las 17 horas. Su pico máximo fue el de las 15 horas, con un 41'00 %. Por debajo de la media los animales estuvieron entre las 18 y las 2 horas, de 10 a 11, a las 4 y a las 16 horas, siendo en estas dos últimas horas el mínimo de permanencia en este estado (18'00 %) (fig. 3).

En el SL la media obtenida fue del 35'61 % (1'93). Por encima de esta media encontramos valores entre las 19 y las 4 horas, así como a las 16 horas. El valor máximo fue de 53'30 % y se presentó a las 23 horas. Valores inferiores a la media se dieron entre

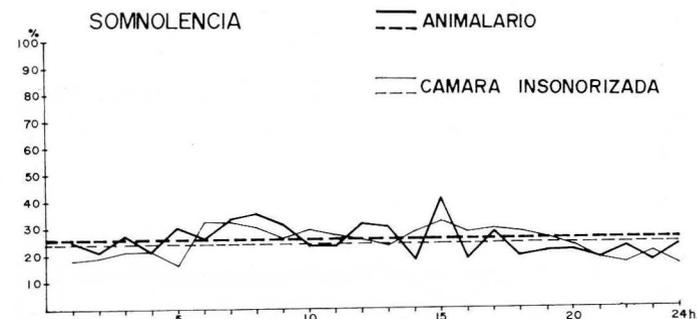


FIG. 3. — Distribución horaria de la S a lo largo de las 24 horas del día. El trazado grueso continuo corresponde a la del animalario (grupo A) y el fino a la de la cámara insonorizada (grupo B). En línea discontinua gruesa se expresa el valor medio de la S en el animalario y en línea discontinua fina el valor medio de la S en la cámara.

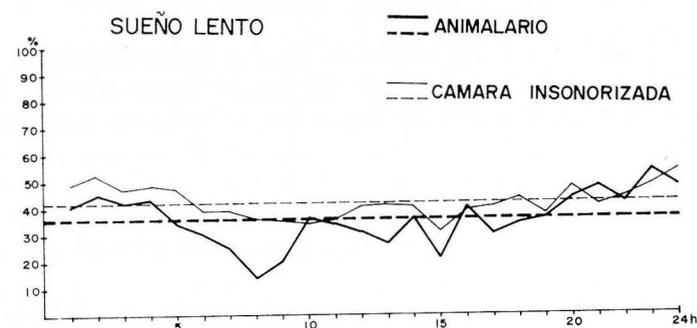


FIG. 4. — Distribución horaria del SL a lo largo de las 24 horas del día. El trazado grueso continuo corresponde a la del animalario (grupo A) y el fino a la de la cámara insonorizada (grupo B). En línea discontinua gruesa se expresa el valor medio del SL en el animalario y en línea discontinua fina el valor medio del SL en la cámara.

las 5 y las 15 horas, con un mínimo del 14'00 % a las 8 horas (figura 4).

En lo que respecta al SP, su media total fue del 14'30 % ( $\pm 0'97$ ). Por encima de los valores de la media los animales estuvieron entre las 20 y las 5 horas, con un máximo de 23'10 % a las 21 horas. Valores por encima de la media también se registraron a las 11 horas. Por debajo de la media se encontraron valores de 6 a 10 y de 12 a 19 horas. El mínimo se dio a las 8 horas y fue del 4'60 % (fig. 5).

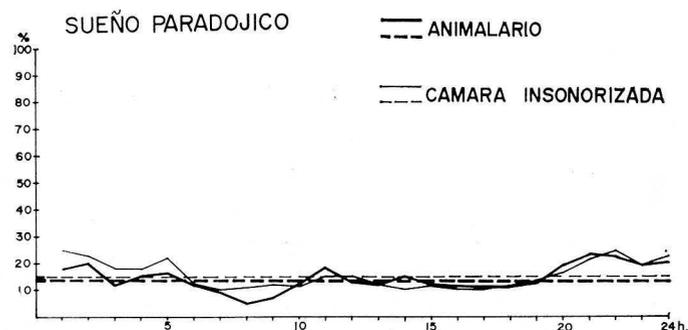


FIG. 5. — Distribución horaria del SP a lo largo de las 24 horas del día. El trazado grueso continuo corresponde a la del animalario (grupo A) y el fino a la de la cámara insonorizada (grupo B). En línea discontinua gruesa se expresa el valor medio del SP en el animalario y en línea discontinua fina el valor medio del SP en la cámara.

#### Características del CVS en la cámara insonorizada

Tomando los datos en conjunto de los animales del grupo B, el valor medio de la V a lo largo de las 24 horas fue del 18'51 % ( $\pm 1'07$ ). Entre las 7 y las 19 horas los valores de este estado se encontraron siempre por encima de los de la media, presentando un pico máximo de 27'30 % a las 9 horas. Las horas en las que los valores se encontraron por debajo de la media comprendieron desde las 20 a las 6 horas, con un mínimo del 7'00 % a la una de la mañana (fig. 21).

El valor medio de la S resultó ser del 24'38 % ( $\pm 1'11$ ). Valores superiores a la media los encontramos entre las 6 y las 12 horas, así como de 14 a 19 horas. Su pico máximo fue a las 15 horas, con un 32'40 %. Por debajo de la media este grupo de animales presentó valores entre las 20 y las 5 horas, siendo el mínimo de permanencia en este estado del 16'2 % a las 5 horas (fig. 3).

En el SL la media obtenida fue del 42'10 % ( $\pm 1'21$ ). Por encima de esta media encontramos valores entre las 20 y las 5 horas. El valor máximo fue del 53'60 % a las 24 horas. Valores inferiores a la media se dieron entre las 6 y las 19 horas, con un mínimo del 31'50 % a las 15 horas (fig. 4).

En lo que respecta al SP, su media total fue del 15'41 % ( $\pm 1'05$ ). Desde las 20 a las 5 horas, con un máximo del 24'10 % a las 22 horas, los valores estuvieron comprendidos por encima de la media. Por debajo de ella se registraron valores entre las 6 y las 10 y de 13 a 19 horas, con un mínimo del 9'60 % a las 7 y 17 horas. De 11 a 12 horas los valores fueron prácticamente los de la media (fig. 5).

#### Estudio comparativo de ambas situaciones

En cuanto al tiempo total de permanencia de cada estado (figura 1), solamente han alcanzado valores de significación estadística el aumento de la V y la disminución del SL presentados en los animales del grupo A (animalario) respecto a los del grupo B (cámara insonorizada) ( $p < 0'02$  y  $p < 0'01$ , respectivamente). Las diferencias en el tiempo total de permanencia en los estados de S y de SP no alcanzaron niveles de significación estadística.

Como puede observarse en la figura 2, el comportamiento de la vigilia en ambos grupos de animales a lo largo de las 24 horas del día es bastante paralelo, aunque permanecen las cifras de los animales del grupo A por encima de las del grupo B. No obstante, al comparar hora a hora el tiempo de permanencia en V de ambos grupos, las variaciones entre ellos alcanzaron significación estadística únicamente a las 8 horas ( $p < 0'05$ ).

El comportamiento del SL a lo largo de las 24 horas, en ambos grupos siguió un curso paralelo (fig. 4), que a su vez fue inverso al encontrado en la V, ya que el grupo A (animalario) permaneció casi siempre con valores inferiores a los del SL del grupo B (cámara). No obstante, y al igual que en el caso de la V, el estudio estadístico comparativo hora a hora, únicamente presentó diferencias significativas ( $p < 0'02$ ) a las 8 horas. En el límite de la significación estadística ( $p < 0'10$ ) se encontraron valores a las 4, 9 y 13 horas.

La S (fig. 3) y el SP (fig. 5) fueron las fases del ciclo que presentaron los valores más constantes en ambos grupos de animales, ya que en el estudio estadístico comparativo del tiempo total de permanencia (fig. 1), así como el de hora a hora a lo largo de todo el día no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Únicamente en el SP se encontraron a las 8 horas valores que rozaron la significación estadística ( $p < 0'10$ ).

#### Discusión

Hasta ahora no se había llevado a cabo ningún intento comparativo y posterior caracterización del CVS del gato en dos condiciones experimentales tan usadas como son la cámara insonorizada y el habitáculo normal del animal de experimentación, el animalario.

De los resultados antes expuestos se advierte que el empobrecimiento de estímulos, gracias al ambiente proporcionado por la cámara insonorizada, facilita una permanencia mayor en el estado de sueño lento a expensas de una disminución de la vigilia. El

tiempo total de permanencia en sueño paradójico y en el cuarto estado valorado también en este trabajo, la somnolencia ha sido prácticamente el mismo en ambos grupos de animales.

El ritmo horario a lo largo de las 24 horas del día de los 4 estados considerados en el CVS ha presentado una notable similitud bajo las dos condiciones de experimentación en las que se ha realizado este trabajo. Así, se ha observado una clara superposición en el ritmo seguido por el sueño paradójico en ambos grupos de animales.

La evolución de la somnolencia, aunque similar en ambos grupos, no fue tan superponible como en el caso del sueño paradójico. No obstante, en ninguno de estos dos estados, el estudio estadístico comparativo hora a hora mostró en ningún momento diferencias significativas.

Lo más característico de la distribución horaria de los valores de la vigilia y del sueño lento es que guardando un paralelismo entre los dos grupos de experimentación, la vigilia presentó en la mayoría de las horas cifras ligeramente superiores en los gatos registrados en el animalario, mientras que en el sueño lento sucedió lo contrario, es decir, sus cifras fueron discretamente inferiores. Estas pequeñas, pero permanentes diferencias, explican que al comparar los valores totales del tiempo de permanencia en estas fases del ciclo se llegase a alcanzar la significación estadística. Sin embargo, hay que destacar que en el estudio comparativo hora a hora, sólo a las 8 horas de la mañana, y tanto para la vigilia como para el sueño lento, las diferencias fueron estadísticamente significativas. La mayor proporción de vigilia presente en los gatos del animalario a esta hora es atribuible a que precisamente en ese momento el personal de la limpieza y los encargados del cuidado de los animales iniciaban el trabajo en el animalario.

Así pues, el ciclo vigilia sueño del gato normal bajo estas dos condiciones ambientales diferentes presentó variaciones que fueron mínimas. Por el contrario, RUCKEBUSH y col. (1975), en estudios llevados a cabo en vacas, estabuladas y en cámara acondicionada, no encontraron variaciones en el tiempo total de permanencia en cada estado, pero sí en el ritmo horario del sueño paradójico.

Aparte de la ausencia de ruido y de las interrupciones del personal, otro de los factores diferenciales de los animales cuyos registros se tomaron en la cámara insonorizada fue la oscuridad absoluta en la que se les mantuvo durante las 24 horas de la toma de los mismos. Nuestros resultados difieren de los encontrados por BORBELY y col. (1975) en ratas. En esta especie, el sueño lento se favorecía cuando los animales estaban expuestos a períodos largos de luz. Los distintos resultados con respecto a las modificaciones

encontradas en el CVS en los trabajos de los autores citados y en el nuestro propio, hablan de la variabilidad de las respuestas comportamentales de unas especies a otras ante condiciones ambientales similares y por tanto evidencian la importancia del establecimiento de las características del CVS del gato normal, puesto que éste es el animal más empleado en los estudios experimentales sobre los estados de vigilia y de sueño.

Aunque la temperatura del animalario fue más inconstante que en la cámara, nunca sus variaciones llegaron a los límites que PARMEGGIANI y RABINI (1970) citan como condicionantes de cambios en el CVS del gato.

En los estudios cuantitativos previos llevados a cabo sobre el ciclo vigilia-sueño del gato normal, muy pocos autores separan la fase de somnolencia como un estado individual del ciclo (STERMAN y col., 1965; LUCAS y STERMAN, 1974). Comparando los resultados obtenidos en gatos registrados en cámara acondicionada por STERMAN y col. (1965) con los nuestros, hay una coincidencia general, especialmente en lo que se refiere al tiempo total de permanencia en sueño lento y sueño paradójico; sus resultados en este parámetro del ciclo en los estados de vigilia y de somnolencia no son tan coincidentes, ya que están en cierta forma invertidos en sus valores, aunque caen dentro de nuestras desviaciones standard. Estos mismos autores (LUCAS y STERMAN, 1974) consiguen, con un número mayor de animales, resultados, para el tiempo total de permanencia en vigilia y somnolencia, que son intermedios entre sus anteriores cifras y las nuestras.

De la misma forma podemos considerar similares a las nuestras, las cifras dadas por URSIN (1968) si tenemos en cuenta que nosotros agrupamos en un solo estado sus dos fases de sueño lento (ligero y profundo) y que la somnolencia quedaría incluida en sus estudios cuantitativos junto con la vigilia. Los valores obtenidos por DELORME y col. (1964) para el tiempo total de permanencia en cada fase del ciclo serían similares a los nuestros si consideramos que la somnolencia individualizada en nuestro estudio quedaría incluida para ellos, parte con la vigilia y parte con el sueño lento.

En los trabajos de STERMAN y col. (1965) y URSIN (1970), que estudian el ritmo horario de las fases del CVS en grupos de gatos registrados en cámara acondicionada, se observa que en todas y cada una de las horas están presentes cada una de las fases del ciclo. En este sentido, nuestros resultados en ambos grupos de animales concuerdan con los de los mencionados autores. Atendiendo a la distribución horaria del ciclo, podemos afirmar que, como ya describieran LUCAS y STERMAN (1974), en ambos grupos de nuestros animales se ha presentado un ritmo policíclico (en todas las

horas estaban presentes todas las fases del ciclo). Ahora bien, en nuestros animales superpuestos a éste se dio un claro ritmo nictameral evidenciado por el hecho de que el comportamiento con respecto a la vigilia y al sueño a lo largo del día y de la noche fue diferente en ambos grupos de animales. Durante el día (de 5 a 20 horas) los gatos estuvieron más despiertos, predominando la vigilia y la somnolencia, mientras que por la noche (de 20 a 5 horas) aumentó tanto el sueño lento como el sueño paradójico. Este ritmo nictameral se observó fundamentalmente en la vigilia y en el sueño lento, no siendo tan aparente, aunque estuvo presente, en los estados de somnolencia y de sueño paradójico, ya que las fluctuaciones de estos estados se encontraron siempre más próximas a sus respectivas medias que en el caso de los anteriores. En estos resultados, nuestros hallazgos difieren de los de los demás autores, ya que URSIN (1970) no observó en sus animales este ritmo nictameral, mientras que DELORME y col. (1964) y STERMAN y col. (1965) describen más de una oscilación a lo largo de las 24 horas del día en el CVS del gato.

Del conjunto de nuestros hallazgos se puede concluir que las características del CVS del gato destinado a la experimentación, habituado a vivir previamente en las condiciones de un animalario, se mantienen con un claro paralelismo cuando a intervalos se le somete a un ambiente completamente distinto proporcionado por la oscuridad y las condiciones de una cámara insonorizada. Hay que destacar que los estados del ciclo que han permanecido más constantes han sido la somnolencia y el sueño paradójico. Las modificaciones, cuando estuvieron presentes, se produjeron en la vigilia y en el sueño lento a expensas uno del otro. El ritmo nictameral y policíclico presente en el gato habituado a vivir en el animalario, también estuvo presente al estar sometido durante la toma de los registros a las condiciones de la cámara insonorizada.

### Resumen

Con el fin de establecer el ciclo vigilia-sueño (CVS) y el ritmo horario normal del gato de experimentación en dos condiciones totalmente distintas, se han estudiado 19 gatos divididos en dos grupos.

En los 11 animales del grupo A los registros se llevaron a cabo en la jaula donde habitualmente vive el animal en el animalario. Los 8 gatos del grupo B, al ser registrados, se les dejaba dentro de una cámara acondicionada térmicamente, insonorizada y con oscuridad completa las 24 horas del registro.

Del conjunto de nuestros hallazgos se puede concluir que las características del CVS del gato habituado a vivir en el animalario se mantienen con un claro paralelismo cuando a intervalos semanales se les somete a un ambiente totalmente diferente proporcionado por la oscuridad total e insonorización de la cámara acondicionada. Además, en ambas condiciones, describen a lo largo de las 24 horas un claro ritmo

nictameral (un solo gran período de sueño en las 24 horas) y policíclico (en todas las horas estaban presentes los 4 estadios del ciclo).

Hay que resaltar que los parámetros que han permanecido más constantes en los dos ambientes de experimentación han sido la somnolencia y el sueño paradójico. Las modificaciones, cuando estuvieron presentes, se produjeron en la vigilia y el sueño lento, a expensas el uno del otro. Estas variaciones han consistido en que la vigilia de los gatos del animalario permanece, en cada hora, con cifras ligeramente superiores a los de la cámara. Con el sueño lento ocurre lo contrario, es decir, que éste presenta, casi constantemente, cifras ligeramente superiores, en cada hora, a los gatos registrados en la cámara.

### Summary

Nineteen cats were used to study the sleep-wakefulness characteristics presented by the normal laboratory cat subjected to two different environmental recording conditions. At weekly intervals three 24 hours polygraphic recordings were obtained from each animal. During these sessions, 11 animals remained in the stall laboratory, while the other 8 cats were removed to a soundproof chamber in which each animal remained alone in complete darkness during the sessions.

Under these different experimental conditions the major constancy was exhibited by drowsiness and paradoxical sleep. The soundproof chamber conditions facilitated mainly the total amount of slow sleep at the expense of wakefulness. In both experimental conditions the animals showed a nycthemeral rhythm; thus paradoxical and slow sleep showed a special increment during the night.

### Zusammenfassung

19 erwachsene Katzen sind benutzt worden, um die Eigenarten des Zyklus Wach-Schlafzustand der normalen Katze zu studieren, die während der Messungen ihrer polygrafischen Ableitungen zwei verschiedenen Umweltsbedingungen ausgesetzt waren. In wöchentlichen Zwischenräumen wurden 3, 24 Stundenableitungen von jeder Katze aufgenommen. Während der Ableitungsperiode blieben 11 Tiere im Animalarium. Jede der restlichen 8 Katzen wurde für die Aufnahme ihrer Ableitungen in einen schalldichten Raum übergeführt, wo sie isoliert und bei völliger Dunkelheit blieben. In diesen zwei verschiedenen Umweltsbedingungen stellte sich die grösste Einheitlichkeit in den Stadien der Somnolenz und des paradoxen Schlafes. Insofern statistisch wertvolle Veränderungen bemerkbar wurden, betrafen diese den Wachzustand und den langsamen Schlaf. Die Bedingungen der schalldichten Kammer bewirkten eine Verlängerung der absoluten Dauer, des Verbleibens im langsamen Schlaf auf Kosten des Wachzustandes. Unter beiden experimentellen Bedingungen zeigten die Tiere einen nyctameralen Rythmus mit grösserem Anteil von langsamen und paradoxen Schlaf während der Nacht.

### Résumé

Ayant pour but d'établir le cycle veille-sommeil (CVS) et le rythme horaire normale du chat d'expérimentation dans deux conditions ambiantales totalement différents, on a étudié 19 chats divisés en deux groupes.

Chez 11 animaux du groupe A les registres se mirent a terme dans la cage où l'animal vit normalement dans l'animalaire.

Les 8 chats du groupe B, pendant la prise de registre on les laissait dans la cage



dans une pièce équipé thermiquement, insonorisée et dans l'obscurité totale pendant les 24 heures de la registration.

Nous pouvons conclure de l'ensemble de nos résultats que les caractéristiques du CVS du chat habitué à vivre dans l'animalaire, se maintiennent avec un clair parallélisme quand à intervalles semanales on les soumet à un ambiente totalement différent donné par l'obscurité totale et insonorisation de la chambre préparés.

En plus, dans les deux conditions, ils décrivent pendant les 24 heures, un clair rythme nictaméral (avec un seul grand period du sommeil dans les 24 heures) et policyclique (les 4 phases étaient presentes dans chaque des heures).

Il faut mettre en valeur que les paramètres qui sont restés les plus constants dans les deux ambientes d'experimentation ont été la somnolance et le sommeil paradoxal. Les modifications quand ils ont été présents se produisirent dans la veille et le sommeil lente au dépend l'une de l'autre. On a trouvé les suivantes modifications: La veille des chats de l'animalaire se maintiennent avec des chiffres, à chaque heure, légèrement supérieures à ceux de la chambre. Avec le sommeil lente il se produit le contraire, c'est à dire que celui-ci, présente, presque constamment des chiffres légèrement supérieures, à chaque heure, chez les chats registrés dans la chambre.

#### BIBLIOGRAFÍA

- ANDRÉS, I. de (1975): Efectos en cronicidad de las lesiones en el brachium conjunctivum y otras estructuras cerebelosas en los estados de vigilia y sueño. "An. Anat.", **25**: .....
- BORBELY, A. A., and J. P. HUSTON (1975): Selective enhancement of slow wave sleep by light in the rat. In: "Sleep", 1974, 2nd. Europ. Congr. Sleep Res. Rome, 1974, pp. 242-244. Ed. Karger, Basel.
- DELORME, F., P. VIMONT et D. JOUVET (1964): Etude statistique du cycle veille-sommeil chez le chat. "C. R. Soc. Biol.", Paris, **158**: 2128-2130.
- GUTIÉRREZ-RIVAS, E. (1976): El ciclo vigilia-sueño del gato en diferentes condiciones de experimentación. Influencia de la región ventro-lateral rostrompontina. Tesis doctoral. Fac. de Med. U. A. Madrid.
- LUCAS, E. A., and M. B. STERMAN (1974): The polycyclic sleep-wake cycle in the cat: Effects produced by sensorimotor rhythm conditiong. "Exp. Neurol.", **42**: 347-368.
- MADOZ, P. (1969): Influencia de la región preóptica en la actividad eléctrica cerebral. "An. Anat.", **18**: 477-537.
- PARMEGGIANI, P. L., and C. RABINI (1970): Sleep and environmental temperature. "Arch. Ital. Biol.", **108**: 369-387.
- RUCKEBUSCH, Y., A. DALLAIRE and P. L. TOUTAIN (1975): Sleep patterns and environmental stimuli. In: "Sleep", 1974, 2nd. Enrop. Congr. Sleep Res., Rome, 1974, pp. 273-276.
- STERMAN, M. B., T. KNAUSS, 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.
- URSIN, R. (1970): Sleep stage relations within the sleep cycles of the cat. "Brain Res.", **20**: 91-97.

J. GÓMEZ-MONTOYA  
Departamento de Morfología  
Facultad de Medicina  
Universidad Autónoma  
Madrid (España)



## ANATOMÍA PSICOLÓGICA

POR

M. GUIRAO-PÉREZ<sup>(1)</sup>

**A**L conocer que la revista "Anales de Anatomía" va a editar un número extraordinario como merecido homenaje a su fundador, el Prof. Escolar García, con motivo de las Bodas de Plata de su publicación, me sumo gustoso a lo que considero un acto de justicia.

Yo fui modesto testigo de la fundación de la revista, que fue precedida por unas efímeras "Publicaciones de Anatomía", donde se encuadraban las primeras publicaciones dispersas de los que entonces constituíamos su equipo. No eran, sin duda, tiempos fáciles aquellos en los que apareció la publicación y si bien la consideración que el trabajo del Prof. Escolar merecía en la Universidad y en el Consejo Superior de Investigaciones Científicas le abría las pocas puertas que podían abrirse entonces, faltaba una tradición y un clima que él mismo tuvo que crear.

A mi juicio, y tratando de mirar con imparcialidad la historia de la Anatomía que yo he podido conocer, considero que la aparición en su campo del Prof. Escolar significó un hito, un estimulante cuyo efecto se dejó sentir bien pronto y sus consecuencias aún perduran.

Recuerdo su llegada a Granada cuando yo era alumno interno de la Facultad y he de reconocer que trajo una manera nueva de vivir la Anatomía, entregándose a ella. Hasta entonces los anatómicos ejercían la Medicina, a veces para subsistir, y si bien es cierto que ya existía alguna honrosísima excepción en cuanto a dedicación, él se planteó un programa de renovación de enfoque y estructura que a mí me pareció extraordinariamente atractivo, todo cimentado en el ejemplo personal.

Llegó a la Facultad en un momento de transición que precisamente él protagonizó. La cátedra que recogió fue hasta entonces un

(1) Catedrático de Anatomía. Granada.

templo para rendir culto a TESTUT, sin otros medios materiales que una excelente sala de disección con suficientes cadáveres todavía y un instrumental insuficiente que tuvo que completar. Necesitó desde el principio microscopios, microtomos, embriones, animales de experimentación, aparatos de microfotografía y todo literalmente lo improvisó hasta que pudo lograr algunas ayudas que al principio debieron ser muy difíciles, por lo que tardaron en ir llegando.

Fue una empresa realmente apasionante para mí, joven e ilusionado, colaborar modestamente a construir objetivos, adaptando con cartón lentes de otro lugar, a hacer las primeras fotografías por la noche a falta de adecuadas cámaras, con ayuda de fuelles históricos, por no decir prehistóricos, a hacer las primeras estereotaxis, a montar preparaciones histológicas cuando no había cubres, y a coleccionarlas en fuelles de papel de filtro a falta de cajas adecuadas. La captura de gatos por las calles de Granada era una empresa casi rutinaria.

Pero el Prof. Escolar comenzó desde el primer instante a crear una auténtica escuela, a preocuparse por sus colaboradores, a luchar por ellos, a hacerles que publicaran y que realizaran sus tesis doctorales, a que salieran al extranjero, consiguiendo ya en esta última faceta ayudas que fueron trascendentes para la consolidación de aquélla; ahí creo que fue donde más se dejó sentir en el terreno anatómico la presencia del Prof. Escolar. Comenzaron a definirse a partir de entonces diversas escuelas anatómicas, brotando con una fuerza extraordinaria la suya, a la que inmediatamente siguió como tal escuela la del Prof. Ors Llorca, cuya labor personal era sin embargo bien conocida y estimada ya cuando nosotros hacíamos las primeras investigaciones embriológicas en Granada; seguía a distancia la escuela vallisoletana, con el sólido prestigio del Prof. López Prieto.

Así pues, yo diría que la irrupción del Prof. Escolar en el campo anatómico se realizó en tres "frentes": la creación de una escuela científica moderna, con proyección académica de sus miembros; la introducción de una moderna investigación experimental en el campo anatómico estricto; y el abandono de unos métodos didácticos clásicos para sustituirlos por una concepción funcional y aplicativa donde se dejó ver muy decisivamente la original manera de pensar del maestro. Porque yo siempre encontré en él como más positivo, aparte su capacidad de trabajo y total entrega al mismo, su enorme originalidad, originalidad tanto por construir un aparato complicado como para resolver problemas de las técnicas experimentales, muchas de las cuales él mismo creaba, tanto para elaborar una publicación con una estructura moderna como para introducir un sistema de enseñanza práctica colectiva con ayuda de

substancias moldeables, reconstrucciones estereométricas y planimétricas, disecciones especiales grupales, etc.

El Prof. Escolar era muy querido por sus alumnos, no sólo por esa reiterada entrega sino por el didactismo que imprimía a sus explicaciones, que yo creo que tenían su única meta en la claridad expositiva, aunque a ella se sacrificara a veces, me parece a mí, el rigor científico.

Especialmente eran atrayentes las explicaciones neuroanatómicas de don José, donde todo parecía evidente porque lo expresaba con inusitada claridad y porque buscaba o improvisaba explicaciones personales lógicas a aquellos puntos que podrían ser oscuros a falta de una interpretación rigurosa suficiente. Creaba conceptos, nombres, y creo que hasta trayectos y funciones si hacían falta y podían intuirse, por supuesto todo siempre tras un conocimiento serio y profundo del problema y con la mirada puesta en el alumno.

Yo confieso que aprendí mucho de sus explicaciones atrayentes y que con ellas nació una personal predisposición hacia este terreno anatómico al que dedico la mayor parte de mi trabajo actual, pero he de reconocer también que me costó más tarde un gran esfuerzo adaptar aquellas ideas, tan esquemáticas y tan claras, pero tan originales, a la compleja realidad estructural escrita en todos los libros especializados. Comprendí bien pronto que ciertos conceptos anatómicos suyos fueran discutidos y, hasta si queremos, no aceptados, y yo mismo, que he confesado aquí lo mucho que aprendí en aquellas sus enseñanzas, también vengo a decir que mi formación independiente posterior me llevó hasta a rectificar cosas aprendidas, si bien me parece que esto entra dentro de la pura lógica del aprendizaje y no modifica un ápice su valía ni el reconocimiento que, como colaborador y alumno en una época de mi vida, profeso a quien entonces me enseñó, me formó y me ayudó.

Precisamente el ciclo se repite y yo también ahora, un cuarto de siglo después —¡cuánto tiempo ha pasado!— pretendo exponer a mis alumnos una Neuroanatomía nueva, que sea más útil, que se diga con un lenguaje más moderno. ¡Cómo no voy a entender ahora en esta situación el esfuerzo que suponía modernizar la Neuroanatomía de entonces...!

Entiendo que en el estado actual de nuestros conocimientos la Neuroanatomía ha de ser revisada para que sirva a una Medicina actual muy distinta de la que se vivía hace más de veinticinco años. En contadas excepciones los textos neuroanatómicos actuales no difieren demasiado de los de entonces o incluso se trata de reediciones idénticas y lógicamente inadecuadas.

De una Medicina organicista se ha pasado por conceptos médicos psicosomáticos, antropológicos y hasta existenciales que han

debido repercutir en la Anatomía y apenas si lo han hecho. Lo que conocemos por Anatomía funcional o aplicada significa en la casi totalidad de los casos apenas una agilización del aparato locomotor con la idea de sistemas funcionales, hace ya mucho tiempo incorporados a la práctica anatómica, o un mejor y más fino conocimiento estructural de las vísceras con la incorporación de nuevas conquistas ultraestructurales y bioquímicas.

La Anatomía del Sistema Nervioso, con excepciones, viene a ser todavía una Anatomía neurológica, que sirve al neurólogo casi exclusivamente queremos decir. Todavía en muchos casos esa Neuroanatomía parece justificarse si el alumno ha aprendido a conocer las bases anatómicas diagnósticas de la hemiplejía, de la afasia, de la disociación sensitiva o del reflejo activado o abolido, y sin embargo, ¡qué poca base se le da así para una medicina actual!

Yo estoy convencido que hay que explicar una Anatomía psicológica que sirva a la interpretación total de nuestro organismo como unidad inseparable. Es curioso que van siendo cada vez más numerosas las psicologías fisiológicas o las fisiologías psicológicas y han irrumpido incluso con tanta fuerza en el campo de las Humanidades que ya se han creado las primeras plazas académicas al más alto nivel. Los "Fundamentos biológicos de la personalidad" y la aludida "Psicología fisiológica" se estudian ya como disciplinas independientes, con toda personalidad y con esos mismos nombres, mientras que la Anatomía, que debe servir de verdadera base estructural, ha vuelto a quedarse desconocida y atrás. A colaborar en ese campo y a reclamar la presencia anatómica en este terreno he dirigido mi reciente publicación "Anatomía de la consciencia", cuyo título y planteamiento concretos obedecen a razones que no vienen al caso.

La Neuroanatomía actual ha de ampliarse con la incorporación de unas bases estructurales de los fenómenos psíquicos que antes venían quedando fuera de su contenido en un injustificable y peligroso divorcio entre Anatomía y Psiquiatría, materias que para algunos no sólo no tenían ningún punto de contacto, sino que llegaban casi a ser incompatibles. Cuando hace ya casi veinticinco años también yo presentaba como lección magistral de una oposición a cátedra la de "Anatomía de la emoción", muchos la consideraron injustificable o cuando menos arriesgada, y sin embargo, desde otro campo que no fuera el anatómico, como el de la propia Medicina interna, sí se podían escribir libros exitosos donde se hablaba de una anatomía nueva que los anatómicos estábamos dispuestos a ignorar, y que a mí me llamó poderosamente la atención.

Todavía en nuestros días, cuando el anatómico trata de escribir —como yo trato de hacerlo ahora— de una Anatomía psicológica tiene que buscar las fuentes en los párrafos de libros de Fisiología, de Psicología, de Medicina interna, acaso de Psiquiatría moderna, donde esa anatomía se encuentra deshilvanada, falta de bases sólidas, muy lejos de las estructuras concretas donde las funciones tienen que latir; ya es hora, pues, de que sea el propio anatómico el que recopile, reorganice y estructure con bases sólidas los conocimientos por ahí dispersos.

En estos últimos años se ha iniciado desde la Psiquiatría una búsqueda de la corporalidad como desde la Anatomía debe brotar el fenómeno psíquico, cualquiera que sea su modalidad de expresión. En ese camino nos encontramos y lo mismo que se habla ya con toda propiedad de una psicofarmacología, de una Psicofisiología y de una Psicocirugía que han venido a ampliar el campo de la clínica psiquiátrica, de la misma manera los anatómicos no podemos permitir que no tome carta de naturaleza una Psicoanatomía o Anatomía psicológica que les sirva de base.

La Anatomía psicológica ha de llamarse ya así, sin vaguedades de expresión, y ha de ser explicada por los anatómicos que tratarán de describir y enseñar los circuitos dinámicos por donde los fenómenos psíquicos discurren y se expresan. La clave está en buscar en las estructuras anatómicas la base a nuevas funciones; no se trata de explicar otros núcleos y conexiones que los que han sido descubiertos y las anatomías convencionales describen con todo lujo de detalles, sino de orientarlos de otra manera y sacarles un fruto más amplio y actual.

No es posible que durante más tiempo estén ausentes de los índices de las obras neuroanatómicas conceptos como motivación, percepción, aprendizaje, afectividad, alerta, acción, coordinación, deliberación, previsión y hasta inteligencia y personalidad y tantas otras que son funciones superiores de un encéfalo-órgano en un hombre-organismo que la Anatomía tiene obligación de analizar y dar a conocer.

Es cierto que todavía la propia trascendencia del hombre se nos escapará, pero en el hecho de darnos cuenta de que nuestra propia consciencia es trascendente está la clave de nuestra situación filogénica privilegiada. La verdad es que un anatómico no tiene que hacer otra cosa que asimilar una panorámica de la psicología a la que tiene que servir de base y se encontrará con la sorpresa de que todo es bien sencillo.

Teniendo en cuenta que nuestra conducta es en todo caso una acción motivada, hemos de buscar primero la arribada de esas *motivaciones* y su camino de entrada en nuestra organicidad y eso no

es difícil. Describimos habitualmente la llegada de las distintas modalidades y *vías de la sensibilidad* y su ascenso a niveles superiores donde se hacen conscientes, y prácticamente terminamos donde el proceso psíquico superior precisamente empieza. Hay que considerar actualmente que la sensibilidad es una información exterior o íntima que motiva nuestro psiquismo hacia la conducta apropiada en respuesta a la información que transmite. Hay mucho más.

Estas motivaciones sensitivo-sensoriales constituyen el punto de partida para la comprensión de la base estructural de un concepto tan básico en Psicología como el de *esquema corporal*; tendremos que enseñar a comprender cómo nuestras *áreas secundarias corticales* no son sino las propias áreas de la *percepción*, así como las *áreas del lóbulo del pliegue curvo* son la base de la gnosis total donde se estructura ese esquema en nuestro fisiologismo mental, esquema que no es sino un reconocimiento del ambiente y de nuestro papel de actores en el mismo en una mutua relación y teniendo consciencia de los límites de nuestra corporalidad individual y neta.

El esquema corporal que se estructura en la *encrucijada parieto-témporo-occipital* se ha de conocer y comprender en conexión dinámica mutua con las áreas prefrontales hasta el punto de que en aquella misma encrucijada el *lóbulo prefrontal* hace prevalecer su influencia. Se dice que el mundo que percibimos no es el que realmente vivimos, sino el que buscamos con nuestra *intención*; es una subjetivización del mundo real, por lo que se comprende de qué manera tan distinta se pueden vivir idénticos fenómenos en estados de ánimo diferentes o en circunstancias personales diversas. Los grandes *fascículos de conexión intrahemisférica* que permiten el establecimiento de estos importantes circuitos nerviosos, han de ser estudiados con toda actualidad lejos del papel casi residual de las anatomías convencionales.

Dentro del lóbulo frontal hay que destacar las capacidades de las *áreas frontales* no sólo en lo que se refiere a las funciones de *reflexión*, de *conceptualización* y de *previsión o futurización*, sino también al manejo que desde ellas se hace de la *atención focalizada* que permite lograr una percepción selectiva mediante la que el individuo capta del ambiente sólo los fenómenos que busca.

Una nueva visión del *hipotálamo* es también necesaria en este camino neuropsicológico. No es el hipotálamo sólo el centro de la sinergia neuroendocrina o el nivel superior del sistema vegetativo como se suele decir, sino que ésta es una visión anticuada y parcial del hipotálamo por cuanto, de una parte, el sistema neurovegetativo se continúa ya hasta la corteza y, de otra, el hipotálamo propiamente tiene importantes conexiones corticales como base de



unos *fenómenos emotivo-afectivos* que la anatomía debe estructurar. Es todo un centro de *motivaciones instintivo-impulsivas* que condicionan toda una conducta.

Es cierto que el hipotálamo regula centripetamente el equilibrio homeostático a través de sus eferencias vegetativas y humorales, pero también lo es, a la altura de nuestros conocimientos, que cuando esa regulación automática no se basta a los efectos que se persiguen, sino que hay que poner en marcha mecanismos superiores, desde el mismo hipotálamo se alerta nuestra corteza prefrontal a través del *núcleo talámico dorsomedial* mediante unas conexiones anatómicas tan evidentes y trascendentes que incluso son buscadas ya por el psicocirujano. Esta conexión hipotalámica o *binomio hipotálamo-corteza*, no bien señalado en las neuroanatomías clásicas, es básico para la comprensión de los fenómenos emotivos-afectivos básicos en nuestra conducta.

El lóbulo prefrontal así, aunando la información perceptiva que le llega desde las áreas parieto-témporo-occipitales con la humoral que recibe desde los receptores homeostáticos especializados hipotalámicos, es capaz de desencadenar *conductas de satisfacción* complicadas que se basan en la doble contemplación de nuestras circunstancias ambientales e íntimas.

No son, por el contrario, muy distintas de las clásicas las reglas descriptivas por la que ha de exponerse la infraestructura anatómica de la *acción motora* aunque esta acción ha de interpretarse como respuesta conductual o *acto volitivo*, no como acción aislada; en el análisis del fenómeno motor ha de incluirse la simultánea *retroalimentación perceptiva* que del movimiento se hace en las áreas sensibles secundarias donde al parecer existe la memoria del acto motor aprendido con la que debe compararse en cada instante la secuencia del que se ejecuta.

En definitiva, este arco reflejo superior, complicado y multisináptico, que acabamos de reconocer y que totaliza una acción psíquica superior, no podría comprenderse, ni aún más realizarse, sin el concurso de la *formación reticular* cuya *alerta*, desencadenante de toda acción psíquica, ha de entenderse en el estudio de sus estructuras anatómicas explicadas con ese sentido aplicativo, así como en la influencia que su acción tiene sobre el *tono muscular* en la *vía motora final común*; consistiendo el estar despiertos en tener una conciencia activa y unos músculos dispuestos, en manos de la formación reticular está, pues, la *alternancia nictameral sueño-vigilia*, hacia cuyo entendimiento debe encaminarse el estudio de esa estructura tan importante.

Por último, en esta pasada rápida que estamos haciendo de la anatomía superior con un sentido psicológico aplicativo, no pode-

mos olvidar la máxima categoría que en el estado actual de nuestros conocimientos tiene la anatomía del *sistema o circuito límbico*.

Llamado con distintas maneras (circuito visceral, emocional, del aprendizaje, de la memoria), sus distintos nombres vienen a abundar en su gran categoría funcional. Para nosotros, y dado que desde él se influyen fenómenos emotivos, vegetativos, endocrinos, perceptivos, memorizadores, etc., se trata de un verdadero *circuito coordinador y equilibrador*, y así es como se debe entender. La búsqueda y descripción seleccionada de la complicada red de núcleos y conexiones que le integran es un tema de la máxima significación e interés anatómicos porque a su través podremos lograr comprender de dónde viene su decisiva influencia.

Es de destacar en este circuito la mecánica del *aprendizaje*, desde el fenómeno de la *anticipación* hasta la *selección y fijación de las imágenes* en los engramas amnésicos de la *memoria* consolidada, mecánica que sólo se puede comprender detrás del estudio anatómico consiguiente. Es curioso ver cómo, por ejemplo, la figura del *hipocampo*, tan desairada a veces en las descripciones anatómicas convencionales, aquí se agiganta, y cómo el *fórnix* se llena de contenido al comprender cuáles son los mensajes que circulan por sus fibras.

En definitiva, por este camino de una anatomía nueva, dinámica y aplicada a la unidad orgánica del hombre, habremos puesto al estudioso en condiciones de adentrarse desde bases sólidas por los caminos de la *inteligencia*, de la *personalidad* y de la *libertad*, comprendiendo al hombre único con una *conducta trascendente*, superior, de la que es responsable. Es, en definitiva, una anatomía que sirve para comprender al hombre en su totalidad, contemplado en su pasado, en su presente y en el futuro.

Este es el modesto homenaje que hoy he querido rendir al Profesor Escolar. El pregón de una Anatomía distinta, obligadamente muy distante, ya en el enfoque y en el contenido, de la que aprendí con él hace una treintena de años, pero en la línea renovadora que él me comunicó y a mí me cautivó desde entonces. Yo ahora le comprendo mejor, cuando veo que a mis propias ideas que aquí expongo a vuelapluma y de modo harto sintético, no les han de faltar críticas y no sé hasta dónde podrán ser comprendidas o aceptadas, si bien representan para mí, como entonces quizás para él, una necesidad vital de búsqueda en una Anatomía que me exige y que quisiera siempre ver brillar en el lugar que le corresponde.

### Resumen

Se trata de hacer unas consideraciones sobre la necesidad de introducir un cambio en el planteamiento de la docencia en Neuroanatomía en el sentido de hacerla más aplicativa a las exigencias de la Medicina actual.

Se propone la inclusión de una Anatomía Psicológica que sirva de base a estudios clínicos en relación con el psiquismo humano y sus trastornos. Hasta el momento, la Neuroanatomía no cubre otro sector que el neurológico, cuando la Medicina de hoy exige estudiar al hombre como una unidad psico-física.

Es necesario que esta Anatomía aparezca junto a la Fisiología Psicológica y otras materias de un contenido psico-biológico que son ya una realidad, y venga a colaborar a la plenitud del conocimiento de la personalidad.

### Summary

Some considerations are made about the necessity of transforming the teaching of Neuroanatomy in the way of a better service to actual Medicine.

The inclusion of a true psychological Anatomy as a base to the understanding of human psychism and its disturbances is proposed. At the moment we usually deal with a Neuroanatomy which is useful only in neurological field when the man has to be considered as a psychophysical entity.

It is necessary for the psychological Anatomy to appear beside the psychological Physiology and others psychological subjects in order to collaborate in the best knowledge of the personality of man.

### Zusammenfassung

Es handelt sich einer Berücksichtigung über den Bedarf eine Veränderung in der Anfröhlung der Dozenz der Neuroanatomie in der Sinne einer grösste Anwendung den Erfordernissen der jetzigen Medizin einzuführen.

Es wird vorgeschlagen die Einverleibung einer Psychologische Anatomie die klinische Untersuchung als Grund dient in Verhältnis mit dem menschlichen Psychismus und ihren Störe wirken. Bis jetzt die Neuroanatomie deckt keinen anderen Sektor als der neurologische wenn die heutige Medizin verlangt, dass der Mensch als eine psychophysische Einigkeit zu erforschen suchen soll.

Es ist notwendig dass diese Anatomie mit der psychologischen Physiologie, die schon eine Realität ist, Zusammen erscheint und mit der Erkenntnis der Personalität mitwirkt.

### Résumé

L'auteur fait quelques considérations sur la nécessité d'introduire dans l'enseignement anatomique des changements qui permettent un meilleur service aux exigences de la Médecine actuelle.

On doit parler aujourd'hui d'une Anatomie Psychologique comme une base aux études de psychisme humain et ses troubles. Jusqu'à ce moment la Neuroanatomie s'est occupée seulement des questions neurologiques en oubliant que la Médecine étudie l'homme comme une unité psychophysique.

Il faut que l'Anatomie Psychologique figure à côté de la Physiologie Psychologique et de quelque autres matières aussi psychologiques très développées en ce moment pour ainsi mieux connaître l'homme dans la plénitude de sa personnalité.

MIGUEL GUIRAO-PÉREZ  
Cátedra de Anatomía  
Granada (España)

## FIBRAS CEREBELOPÓNTICAS. ESTUDIO ANATÓMICO EXPERIMENTAL EN EL GATO<sup>(1)</sup>

POR

J. F. LAGO<sup>(2)</sup>

### *Introducción*

**E**L cerebelo, por su carácter de órgano suprasegmentario, presenta numerosos ejemplos de conexiones recíprocas entre él y diversas estructuras del neuroeje. El progresivo conocimiento de la existencia de estos circuitos, ha permitido postular y posteriormente demostrar el carácter recíproco previamente ignorado de algunos de ellos.

La proyección desde los núcleos del puente al cerebelo es conocida desde antiguo a través de numerosos trabajos. Sin embargo, los estudios tendentes a mostrar la proyección recíproca cerebelopónica, han sido escasos.

Diversos autores, entre los que destacan BECHTEREW (1885) y CAJAL (1909-1911), afirmaron la existencia de fibras cerebelosas descendentes en el pedúnculo cerebeloso medio. Sin embargo, desde los trabajos de VOOGD (1964) se considera que dicho pedúnculo no contiene más que fibras aferentes al cerebelo.

La existencia de una proyección desde los núcleos cerebelosos a los núcleos del puente permanece desconocida hasta los trabajos de VOOGD (1964) y CARPENTER y STROMINGER (1964). VOOGD (1964), en el gato, y utilizando el método de HÄGGQVIST (1936), aunque no refiere en el texto fibras cerebelopónicas, incluye dos figuras pertenecientes a dos gatos con lesiones en los núcleos cerebelosos; en ellas se observa la rama descendente cruzada del brachium conjunctivum (BC) proyectando al núcleo reticularis tegmenti pontis (NRTP); parte de la degeneración atraviesa el lemnisco medio y

(1) El presente forma parte de una serie de trabajos realizados con ayuda de una beca del "Plan de Formación de Personal Investigador", del Ministerio de Educación y Ciencia.

(2) Prof. adjunto del Departamento de Morfología. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid. (Director: Prof. E. Reinoso-Suárez.)

se sitúa en escasa cuantía en los núcleos del puente. Por su parte, CARPENTER y STROMINGER (1964) describen en un trabajo sobre la proyección del cerebelo a los núcleos oculomotores, fibras a los núcleos del puente; estos autores señalan, tras lesiones del BC en monos, fibras de la rama descendente cruzada del BC terminando en el NRTP; algunas de ellas atraviesan el lemnisco medio y se distribuyen por los núcleos del puente dorsales a los fascículos del tracto córtico-espinal; sin embargo, estos autores no reflejan este hallazgo en sus conclusiones.

DESTOMBES (1971) y DESTOMBES y ANGAUT (1971), realizaron el primer estudio experimental de la proyección cerebelopónica en el gato. Posteriormente, BRODAL y SZIKLA (1972), BRODAL y colaboradores (1972) y LAGO (1975 a y b), se han ocupado del estudio de esta proyección.

En este trabajo tratamos de corroborar la existencia de estas conexiones, realizando lesiones estereotáxicas de distinta extensión y topografía en el BC del gato, tiñendo la degeneración resultante por los procederes argénticos de NAUTA-GYGAX (1954) y FINK-HEIMER (1967).

### *Material y métodos*

Se ha utilizado como material de experimentación gatos adultos, cuyo peso osciló entre los 2 y 3'5 Kg. Se operaron 24 animales, de los cuales, 9 fueron considerados útiles para el estudio.

Bajo anestesia con nembutal a razón de 30 mg/Kg de peso administrado intraperitonealmente, se localizó estereotáxicamente el BC mediante el atlas de encéfalo de gato de REINOSO-SUÁREZ (1961). La penetración del electrodo ha sido oblicua, formando con la horizontal 60° y en dirección posteroanterior con el fin de salvar el obstáculo que presenta la tienda del cerebelo al desplazamiento del electrodo.

La lesión se produjo bajo condiciones asépticas, con un aparato diatermocoagulador Grass modelo LM4, siendo la intensidad media utilizada de 80 mA durante 30 segundos.

Los animales, tras una supervivencia que osciló entre los 5 y los 190 días (LAGO, 1974, 1975 a), fueron perfundidos con suero salino y formol al 10 %. Los cortes fueron conseguidos con un microtomo de congelación y posteriormente teñidos por los métodos de NISSL, NAUTA-GYGAX (1954) y FINK-HEIMER (1967), procedimiento I.

El estudio de las tinciones argénticas fue realizado por un sistema de coordenadas cartesianas, que permite una rigurosa precisión en la localización de la degeneración.

En trabajos previos se determinó la validez del período de supervivencia utilizado, así como la morfología y el posible significado de la degeneración observada (LAGO, 1974, 1975 c).

### *Resultados*

De los 24 gatos operados, 9 presentaron lesión en el BC. En el resto de animales las lesiones afectaron diversas estructuras cercanas a este haz, tales como el núcleo parabraquial ventral, núcleo sensitivo principal del trigémino, núcleos vestibulares y el fascículo centrotegmental. Sin embargo, ninguna de estas lesiones determinó degeneración alguna en los núcleos del puente de ambos lados; por ello, no volveremos a hacer referencia a los mismos en el presente apartado.

Los animales con lesiones en el BC presentaron dañadas diversas estructuras vecinas al mismo y que, en parte, corresponden a las arriba señaladas. El BC fue dañado en distinta cuantía en los diferentes animales. Así, el gato GBC-177 presenta destruidas las 5/6 partes laterales de este haz (fig. 1 a), mientras que en los animales GBC-176 (fig. 1 d) y GBC-48 la parte dañada corresponde a los 2/3 laterales; menor extensión de la lesión presentan los gatos GBC-290 (tercio lateral), GBC-6 (mitad lateral) y GBC-7 (labio ventral del BC en toda su extensión); el gato GBC-155 presenta lesionada la mitad medial, salvo su casquete más interno; en los gatos GRPO-43 y GME-14 la lesión se sitúa en la unión del tercio intermedio con el tercio medial, pero en este último animal también se extiende por el tercio lateral del labio ventral del BC.

El estudio de las preparaciones mostró degeneración del BC, localizada la misma en la zona correspondiente a la parte lesionada. A niveles rostrales, la degeneración alcanza la comisura de Wernekink, sufriendo decusación incompleta en la misma (LAGO, 1975 b). Aquellas fibras que se decusan, forman dos ramas de distinta entidad; la más manifiesta asciende en el tegmento mesencefálico hasta alcanzar el tálamo, constituyendo la rama ascendente cruzada del BC; una menor cantidad de fibras descienden situadas junto a la línea media (fig. 1 c), formando la rama descendente cruzada del BC. El curso ulterior de la degeneración ascendente del BC, así como sus núcleos de terminación, han sido descritos con anterioridad (LAGO, 1975 a y c).

En todos los animales con lesión del BC pudo observarse el nacimiento (fig. 1 c), así como su recorrido de la rama descendente cruzada del BC; dicha rama discurre en el tegmento situada junto a la línea media. Todos los animales mostraron numerosas fibras

degeneradas desprendiéndose de dicha rama, las cuales penetran en el NRTP, determinando abundante degeneración terminal a todo lo largo del mismo (fig. 1 b y c).

Salvo en el gato GBC-155, todos los animales han presentado degeneración en los núcleos del puente contralaterales a la lesión. Dicha degeneración era bilateral en los animales GBC-176 (fig. 1 e), GBC-177, GBC-6, GBC-7, GRPO-43 y GME-14, aunque en menor cuantía en el lado ipsilateral.

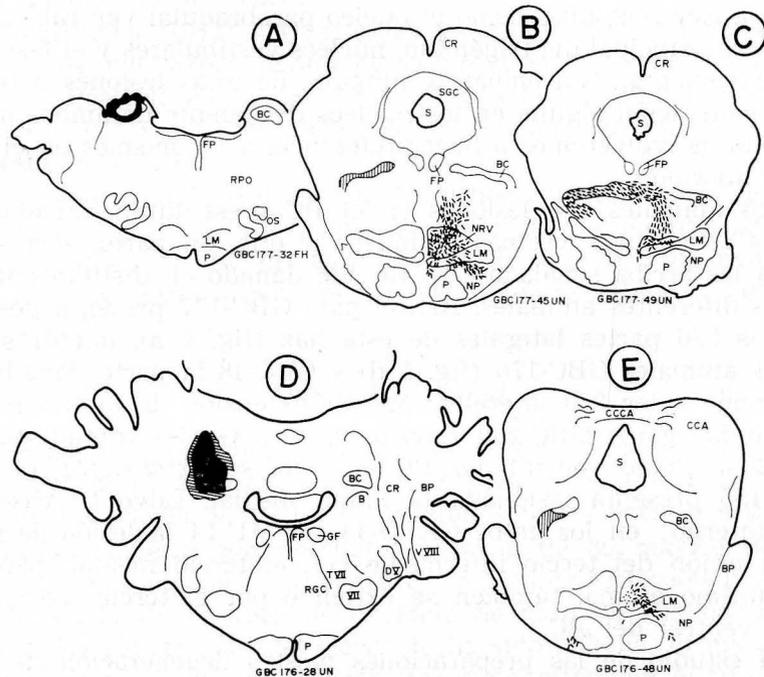


FIG. 1. — Cortes frontales del encéfalo de gato mostrando algunas lesiones que determinan degeneración en los núcleos del puente, así como el recorrido y terminación de las fibras degeneradas.

En el lado contralateral, la degeneración se localizó con preferencia en las regiones mediales y dorsolaterales de los núcleos del puente (fig. 1 b y d); esta disposición de la degeneración sólo en parte contornea a los fascículos del tracto corticoespinal, ya que los núcleos del puente situados ventrales al mismo sólo excepcionalmente son asiento de degeneración. En algunas ocasiones pudo observarse fibras degeneradas, aunque en escasa cuantía, entre los fascículos del tracto corticoespinal. La cuantía de la degeneración existente contralateralmente en ningún caso llega a ser intensa, contrastando con las abundantísimas imágenes observables en el NRTP.

Salvo en el gato GBC-290, todos los animales con degeneración en los núcleos del puente contralaterales han mostrado continuidad entre la degeneración existente en los mismos y la presente en el NRTP. En efecto, puede observarse cómo fibras degeneradas del BC descendente atraviesan el lemnisco medio en todos los niveles en que el NRTP lo tiene por límite ventral (fig. 1 b y c). Las fibras degeneradas no atraviesan el lemnisco medio por un

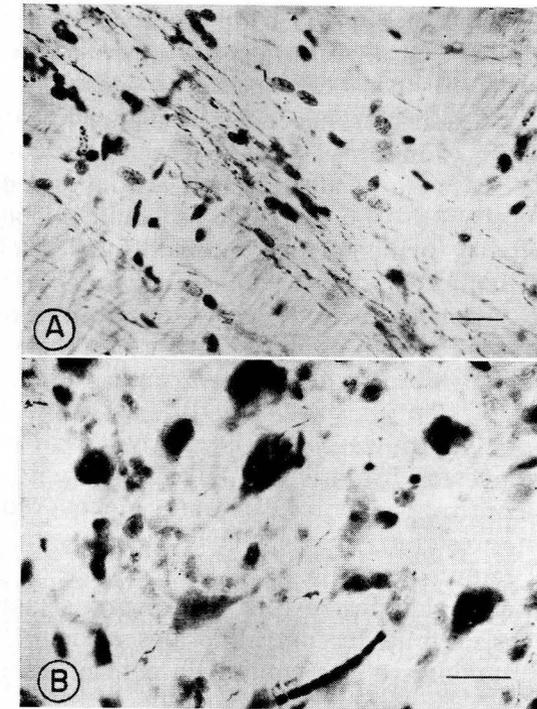


FIG. 2. — A: Gato GBC-6. Haz de fibras degeneradas atravesando el lemnisco medio hacia los núcleos del puente. Lado contralateral. 190 días de supervivencia. Tinción Fink-Heimer. B: Gato GBC-176. Degeneración terminal en los núcleos del puente. Lado contralateral. 5 días de supervivencia. Tinción Fink-Heimer. Barra: 20 micras.

único punto, aunque son más frecuentemente observadas en la unión del tercio medio con el tercio lateral del mismo. El cruce de las fibras degeneradas por los distintos puntos del lemnisco medio puede observarse incluso después de supervivencias tan extremas como la del gato GBC-6 con 190 días (fig. 2 a).

En cuanto a la degeneración existente en los núcleos del puente homolaterales, está situada predominantemente en sus partes dor-

solaterales. En ningún caso se observaron fibras degeneradas atravesando el lemnisco medio. Tampoco fue posible observar en caso alguno fibras degeneradas cruzando la línea media entre los núcleos del puente del lado de la lesión y el NRTP.

### Discusión

Estos hallazgos confirman los obtenidos tanto por el método de HÄGGQVIST (1936) como por los de impregnación argéntica de NAUTA-GYGAX (1954) y FINK-HEIMER (1967), referentes a la existencia de la proyección cerebelopóntica.

En efecto, las lesiones troncoencefálicas que no afectan al BC no han originado en ningún caso degeneración en los núcleos del puente. Tal es el caso de 15 de nuestros animales, en los que las lesiones involucraban a estructuras tales como el locus ceruleus, los núcleos espinal y principal del trigémino, los núcleos vestibulares, etc.

Sólo cuando la lesión incluye al BC, aparece degeneración en los núcleos del puente. Esto es lo que ocurre en 8 de los animales con lesión en dicho haz. En todos ellos pudo observarse degenerada la rama descendente cruzada del BC, así como degeneración en el NRTP y en los núcleos del puente contralaterales a la lesión. También en estos 8 animales, salvo en el gato GBS-290, se pudo observar continuidad entre las fibras degeneradas del BC y la degeneración presente en los núcleos del puente, atravesando las primeras el lemnisco medio.

Nuestro material demuestra, por tanto, proyecciones del cerebelo a los núcleos del puente contralaterales —vía BC descendente cruzado—, resultando éste que concuerda con lo descrito por BRODAL y SZIKLA (1972) y BRODAL y col. (1972).

En cuanto al núcleo o núcleos cerebelosos origen de la proyección a los núcleos del puente, nuestro material es altamente indicativo. En los animales GBC-7, GRPO-43 y GME-14 la lesión interesa de una manera principal al tercio medio del BC; en los tres casos existe degeneración evidente en los núcleos del puente. En dos animales, el GBC-290 y el GBC-6, la lesión afecta predominantemente a las partes laterales del BC, observándose de igual manera degeneración en los núcleos del puente. Los gatos GBC-176, GBC-177, GBC-48 y GBC-7 engloban las lesiones de los dos grupos anteriores, persistiendo la presencia de la degeneración. Todo lo anterior demuestra que tanto la parte lateral como intermedia del BC contienen fibras cerebelopónticas.

Los trabajos de McMASTERS (1957), McMASTERS y RUSSELL (1958) y VoogD (1964) señalan que las fibras procedentes del nú-

cleo interpósitus ocupan el tercio medio del BC, mientras que las procedentes del núcleo dentado se sitúan en su tercio lateral. De acuerdo con esta distribución, la proyección cerebelopóntica se origina tanto del núcleo interpósitus como del núcleo dentado, lo que concuerda con lo señalado por BRODAL y SZIKLA (1972) y BRODAL y col. (1972).

Seis de nuestros animales también presentan degeneración en los núcleos del puente del lado de la lesión. Esta degeneración no puede estar determinada por la rama descendente cruzada del BC, ya que en ningún animal se observaron fibras degeneradas cruzando la línea media entre los núcleos del puente o provinientes del NRTP contralateral. Por otra parte, numerosos autores entre los que destacan CAJAL (1909-1911), METTLER y col. (1956) y CARPENTER y NOVA (1960), han puesto de manifiesto que la rama descendente cruzada del BC no vuelve a cruzarse a nivel alguno desde su origen en la decusación de Wernekink.

VoogD (1964) muestra en dos figuras degeneración sólo en los núcleos del puente contralaterales a los núcleos cerebelosos lesionados; por otra parte, este autor en ningún momento describe tales fibras ni analiza la proyección que nos ocupa.

BRODAL y col. (1972), tras numerosas lesiones en los núcleos interpósitus y dentado, refieren encontrar siempre la degeneración en los núcleos del puente contralaterales.

CAJAL (1909-1911) describió por vez primera que el BC antes de decusarse emitía una rama a la que denominó vía olivobulbar directa. Este hallazgo suyo, realizado primero con el método de Golgi y posteriormente con los de Marchi y Weigert, fue encontrado tanto en el ratón como en el conejo, cavia y gato.

Dado que nuestro material muestra inequívocamente depender la degeneración presente ipsilateralmente en los núcleos del puente, a que exista lesión del BC, forzoso es sospechar que dicho haz pudiera desprender axones o colaterales descendentes antes de su decusación. Nuestro material ha mostrado en algunos animales pequeñas cantidades de fibras degeneradas extendiéndose desde la parte predecusacional del BC hasta las inmediaciones de la parte lateral del lemnisco medio. Sin embargo, el escaso número de animales que las muestran, así como el reducido número de tales fibras, no permite afirmar ni su procedencia del BC ni que sean responsables de la degeneración pónica ipsilateral observada.

El gato GBC-155 es el único de nuestro material con lesión del BC que no presenta degeneración en los núcleos del puente. Este hecho puede ser explicado, al menos en parte, debido a estar su lesión situada en las partes más mediales del BC.

### Resumen

Se han estudiado en gatos adultos las proyecciones del cerebelo a los núcleos del puente. Se realizaron lesiones estereotáxicas unilaterales del brachium conjunctivum (BC) y se tiñó la degeneración resultante por los procedimientos argénticos de Nauta-Gygax (1954) y Fink-Heimer (1967). Las lesiones que afectaron a estructuras tronco-encefálicas distintas del BC, no determinaron degeneración alguna en los núcleos del puente de ambos lados. Las lesiones del BC determinaron degeneración en los núcleos del puente contralaterales, vía rama descendente cruzada del BC; las fibras degeneradas atraviesan el lemnisco medio por diversos puntos para alcanzar los núcleos del puente. Todas las partes del BC, salvo las más mediales, contienen fibras cerebello-pónticas; el origen de esta proyección está situado en los núcleos cerebelosos interpósitus y dentado. Las lesiones del BC también han originado, en parte de los animales, degeneración en los núcleos del puente del lado de la lesión; no se han observado fibras degeneradas cruzando la línea media entre los núcleos del puente, ni entre los mismos del lado de la lesión y el núcleo reticularis tegmenti pontis contralateral.

### Summary

The cerebellar projections to the pontine nuclei (PN) were studied in adult cats. Unilateral stereotaxic lesions of brachium conjunctivum (BC) were performed and the subsequent degeneration was stained by the argentic procedures of Nauta-Gygax (1954) and Fink-Heimer (1967). When lesions affected brain stem structures other than BC, no degeneration was found in either side of PN. The BC lesions produced degenerating fibres which, via the crossed descending branch of BC and by piercing the medial lemniscus, reached the contralateral PN. Cerebello-pontine fibres are placed throughout almost the total BC, sparing only its most medial portion. From this, an interposito-dentate origin is inferred for these fibres. In some cases the BC lesions have also produced degeneration in the ipsilateral PN. No degenerated fibres were observed either crossing the midline on to the contralateral PN, or between the PN ipsilateral to the lesion and the contralateral reticularis tegmenti pontis nucleus.

### Zusammenfassung

Die Projektionen des Kleinhirns zu den Brückenkernen sind in erwachsenen Katzen studiert worden. Durchgeführt wurden einseitige, stereotaktische Verletzungen im Brachium Conjunctivum (BC) und die so entstandene Degeneration wurde nach der Silbermethode von Nauta-Gygax (1954) und Fink-Heimer (1967) gefärbt. Die Verletzungen, die andere Hirnstammstrukturen abgesehen vom BC betrafen, ergaben keine Degeneration in den Brückenkernen auf beiden Seiten. Die Verletzungen des BC ergaben Degeneration in den gegenüberliegenden Brückenkernen; die degenerierten Fasern durchkreuzen den lemniscus medius an mehreren Stellen, um die Brückkerne zu erreichen. Alle Teile des BC, ausser den mittleren, enthalten Fasern vom Kleinhirn zum Brückengrau. Der Ursprung dieser Projektion liegt im nucleus dentatus und interpositus des Kleinhirns. Die Verletzungen des BC haben auch in einem Teil der Tiere Degeneration in den Brückenkernen auf der Seite der Verletzungen ergeben. Es sind keine degenerierten Fasern weder über der Mittellinie zwischen den Brückenkernen beobachtet worden, noch zwischen den Kernen der Seite der Verletzung und dem gegenüberliegenden Nucleus reticularis tegmenti pontis.

### Résumé

Les projections au cervelet aux noyaux du pont ont été étudiées chez le chat adulte. Nous avons réalisé des lésions estéréotaxiques unilatérales du brachium conjunctivum (BC) et nous avons mis en évidence la dégénérescence résultante au moyen des méthodes argentiques de Nauta-Gygax (1954) et Fink-Heimer (1967). Les lésions qui ont affecté les structures tronco-encéphaliques autres que le BC, n'ont déterminé aucune dégénérescence dans les noyaux du pont des deux côtés. Les lésions du BC ont provoqué une dégénérescence dans les noyaux contralatéraux du pont, voie branche descendante croisée du BC; les fibres dégénérées traversent le lemnisque moyen (Ruban de Reil médian) en différents points pour se rendre aux noyaux du pont. Toutes les parties du BC sauf les plus mediales, contiennent fibres cérébello-pontiques; l'origine de cette projection est située dans les noyaux cérébelleux interpósitus et dentelé. Dans quelques animaux les lésions du BC ont aussi originé dégénérescence dans les noyaux du pont du côté de la lésion; nous n'avons pas observé la présence de fibres dégénérées traversant la ligne moyenne, entre les noyaux du pont, ni entre ceux du même côté de la lésion et le noyau reticularis tegmenti pontis contralatéral.

### ABREVIATURAS

- B*, Nucl. vestibularis superior
- BC*, Brachium conjunctivum = Pedunculus cerebellaris superior
- BP*, Brachium pontis = Pedunculus cerebellaris medius
- CCA*, Colliculus inferior (laminae tecti)
- CCCA*, Commissura colliculi inferioris
- CR*, Colliculus superior (laminae tecti) et Corpus restiforme =  
Pedunculus cerebellaris inferior
- DV*, Tractus spinalis nervi trigemini
- FP*, Fasciculus longitudinalis medialis
- GF*, Genu nervi facialis
- LM*, Lemniscus medialis
- NP*, Nucl. pontis
- NRV*, Nucl. reticularis tegmenti pontis
- OS*, Oliva superior
- P*, Tractus pyramidalis
- RGC*, Nucl. reticularis gigantocellularis
- RPO*, Nucl. reticularis pontis caudalis
- S*, Aquaeductus cerebri
- SGC*, Stratum griseum centrale
- TVII*, Tractus nervi facialis
- VVIII*, Nucl. cochlearis ventralis
- VII*, Nucl. nervi facialis

## BIBLIOGRAFÍA

- BECHTEREW, W. (1885): Zur Anatomie der Schenkel des Kleinhirns, insbesondere der Brückenarme. "Neurol. Centr.", **4**: 121-125.
- BRODAL, A., J. DESTOMBES, A. M. LACERDA and P. ANGAUT (1972): A cerebellar projection onto the pontine nuclei. An experimental anatomical study in the cat. "Exp. Brain Res.", **16**: 115-139.
- BRODAL, A., and G. SZIKLA (1972): The termination of the brachium conjunctivum descendens in the nucleus reticularis tegmenti pontis. An experimental anatomical study in the cat. "Brain Res.", **39**: 337-351.
- CAJAL, S. R. (1909-1911): Histologie du Système Nerveux de l'Homme et des Vertébrés. Maloine, Paris.
- CARPENTER, M. B., and H. R. NOVA (1960): Descending division of the brachium conjunctivum in the cat: A cerebello-reticular system. "J. Comp. Neur.", **114**: 295-305.
- CARPENTER, M. B., and N. L. STROMINGER (1964): Cerebello-oculomotor fibers in the rhesus monkey. "J. Comp. Neur.", **123**: 211-230.
- DESTOMBES, J. (1971): Étude anatomique expérimentale des projections cérébello-pontiques. Paris: Thèse, Faculté des Sciences.
- DESTOMBES, J., et P. ANGAUT (1971): Les projections cérébello-pontiques: étude anatomique expérimentale chez le chat. "J. Physiol." (Paris), **63**: 200A.
- FINK, R. P., and L. HEIMER (1967): Two methods for selective silver impregnation of degenerating axons and their synaptic endings in the central nervous system. "Brain Res.", **4**: 369-374.
- HÄGGQVIST, G. (1936): Analyse der Faserverteilung in einem Rückenmarkquerschnitt (Th. 3). "Ztschr. mikr. anat. Forschung", **39**: 1-34.
- LAGO, J. F. (1974): Projection du cervelet par le pédoncule cérébelleux supérieur. "Bull. Ass. Anat.", **58**: 691.
- LAGO, J. F. (1975a): Ascending and descending projection of the brachium conjunctivum in the cat. "10th Int. Cong. Anat.", p. 174. Tokyo, 1975.
- LAGO, J. F. (1975b): Projection of the brachium conjunctivum to the brain stem and prosencephalon. "Exp. Brain Res.", **23** (suppl.): 117.
- LAGO, J. F. (1975c): Proyecciones del cerebelo a través del pedúnculo cerebeloso superior. Estudio de una nueva técnica para poner de manifiesto estructuras terminales degeneradas. Trab. Inst. Cajal Inv. Biol. (en prensa).
- MC MASTERS, R. E. (1957): Efferent of the deep nuclei of the cerebellum of the cat. "Anat. Rec.", **127**: 331-332.
- MC MASTERS, R. E., and G. V. RUSSELL (1958): Efferent pathways from the deep cerebellar nuclei of the cat. "J. Comp. Neur.", **110**: 205-219.
- METTLER, F. A., F. L. ORIOLI and H. GRUNDFEST (1956): The descending limb of the brachium conjunctivum. "Anat. Rec.", **124**: 335.
- NAUTA, W. J. H., and P. A. GYGAX (1954): Silver impregnation of degenerating axons in the central nervous system: A modified technique. "Stain technol.", **29**: 91-93.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1961): Topographischer Hirnatlas der Katze. E. Merck A. G. Darmstadt.
- VOOGD, J. (1964): The cerebellum of the cat. Structure and fibre connexions. Thesis, Assen: Van Gorcum, 215 pp.

J. F. LAGO

Departamento de Morfología  
Facultad de Medicina  
Universidad Autónoma  
Madrid (España)



## ANÁLISIS CITOQUÍMICO CUANTITATIVO DEL ADN DE FIBROBLASTOS DE EMBRIÓN DE POLLO CULTIVADOS IN VITRO, SOMETIDOS A TRATAMIENTO CON ADRIAMICINA<sup>(1)</sup>

Por

J. L. LANCHO ALONSO<sup>(2)</sup>

### Introducción

La adriamicina es un antibiótico antitumoral que inhibe la síntesis de los ácidos nucleicos (DI MARCO y col., 1969).

Las síntesis de ADN y ARN valoradas autorradiográficamente con timidina tritiada y uridina tritiada por SILVISTRINI y col. (1970) han resultado notablemente disminuidas. Estos mismos autores han determinado que la vitalidad de las células HeLa aparece comprometida en medida proporcional al período de tratamiento y concentración del antibiótico. La interferencia que la adriamicina ejerce sobre la síntesis de ADN y ARN ha sido recientemente demostrada de nuevo por HARTEEL y col. (1975).

CASSAZA (1970), al estudiar la acción de la adriamicina sobre cultivo "in vitro" de fibroblastos de ratón, células linfoides de topo, células del sarcoma de metilcolantreno y células HeLa, comprobó que la máxima fijación de la droga tiene lugar durante la fase S del ciclo celular, durante la fase de síntesis que precede a la mitosis. Este hecho ha sido comprobado por HARTEEL y col. (1975). Sin embargo, para WHEATLEY (1972) la adriamicina ejerce su efecto sobre células en G-2 y no impide la progresión en G-1; por otra parte, la síntesis proteica no está alterada y la droga antitumoral provoca una separación del helicoide de ADN. Según DI MARCO y ARCAMONE (1975), la adriamicina inhibe las reacciones de las ADN y ARN-polimerasas y el mayor número de células muertas se ob-

(1) Trabajo realizado en el Instituto de Histología y Embriología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Lieja (Prof. M. Chèvremont), bajo la dirección del Prof. R. Bassleer, con motivo de la beca Post-Doctoral de Formación de Personal Investigador en el extranjero.

(2) Prof. adjunto interino. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca.

serva durante la fase S del ciclo celular, siguiéndole las fases G-1 y G-2.

TROUET y col. (1975) han observado en estudios realizados sobre células leucémicas de ratón que la adriamicina penetra por difusión y si forma complejos con el ADN (adriamicina-ADN) llegaría por endocitosis a los lisosomas, en donde la DNasa digiere el ADN, quedando libre la adriamicina que difunde a través de las membranas lisosomiales y llegaría al núcleo en el que se fijaría a la cromatina perinucleolar (SILVESTRINI y col., 1970) y provocaría un fuerte disturbio de la mitosis con inhibición preprofásica a dosis básicas y un bloqueo mitótico a dosis más elevadas en las células HeLa del carcinoma de la portio uterina humana.

### Material y métodos

#### 1. Cultivo de células

Se han utilizado fibroblastos de embrión de pollo de 10 a 11 días cultivados "in vitro" sobre laminillas de cristal en cajas de Falcon. Como medio de cultivo se empleó una solución de MEM (EAGLE, 1959) y suero de vaca fetal. A las 72 horas de realizado el cultivo se procedió a la renovación del nutriente, que ya contenía adriamicina a dosis de 0'05  $\mu\text{g/ml}$ , 0'1  $\mu\text{g/ml}$  y 0'5  $\mu\text{g/ml}$ . Los tiempos de tratamientos de los fibroblastos por el antibiótico han sido de 24, 48 y 72 horas. Los cultivos controles se realizaron al mismo tiempo y en las mismas condiciones, excepto la administración del antibiótico. La penicilina fue utilizada como agente antibacteriano en todos los cultivos.

#### 2. Evaluación cuantitativa de ADN

La cantidad de ADN de núcleos interfásicos y de figuras de mitosis ha sido determinada en fibroblastos aislados después de haber sido coloreados por la reacción de Feulgen. Hemos realizado la reacción clásica (hidrólisis por CIH 3'5 N a 37° C durante 20 minutos). Las determinaciones citofotométricas han sido efectuadas con la ayuda del microdensitómetro integrador de Barr y Stroud GN-2.

### Resultados

Las evaluaciones citofotométricas de ADN de fibroblastos de embrión de pollo tratados con adriamicina y el estudio de la actividad mitótica nos muestran un bloqueo de las células en la fase de postsíntesis del ADN (fase G-2 del ciclo celular).

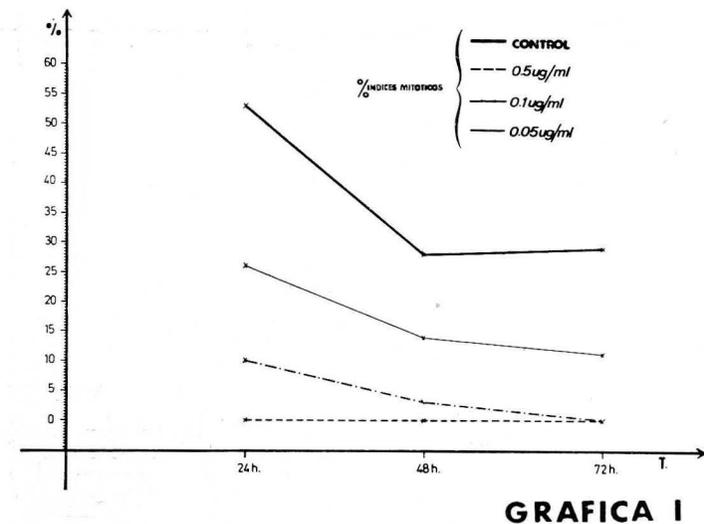
#### 24 horas de tratamiento

La actividad mitótica de los cultivos tratados es menor que la observada en los controles, siendo nula a dosis de 0'5  $\mu\text{g/ml}$  (gráfica I; cuadros I y III).

Los histogramas correspondientes a cada una de las tres dosis administradas y el control están representados en la figura 1. En ellos se observa que el porcentaje de células con valor 4 ADN es mayor en los tratados que en el control (gráfica II y cuadro II). El valor más alto corresponde a los tratados con 0'5  $\mu\text{g/ml}$  y el menor a la dosis de 0'05  $\mu\text{g/ml}$ .

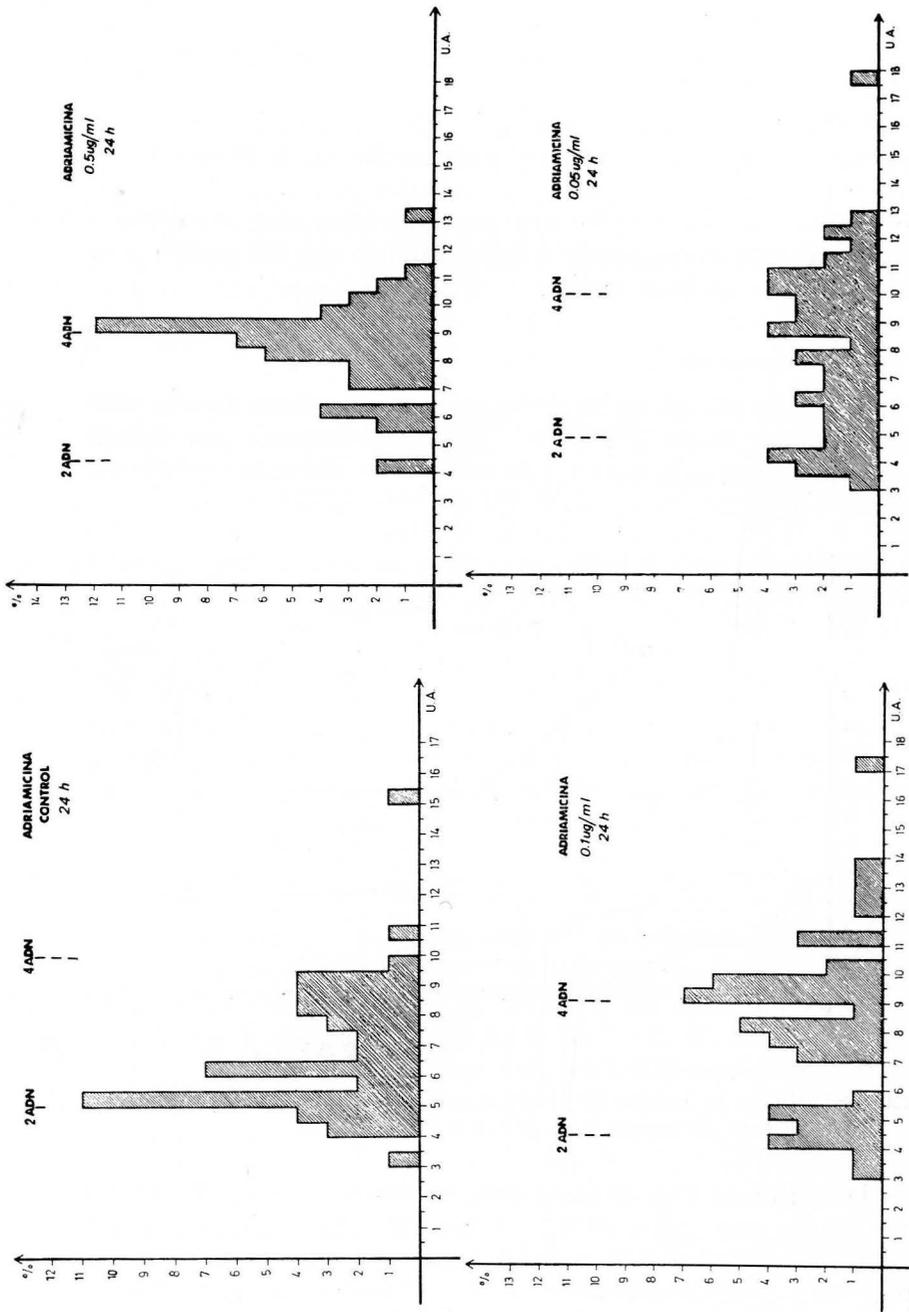
#### 48 horas de tratamiento

A la dosis de 0'5  $\mu\text{g/ml}$  la actividad mitótica sigue siendo nula y a las restantes dosis (0'1 y 0'05  $\mu\text{g/ml}$ ) permanece por debajo del control, aun cuando éste ha descendido en su valor (gráfica I y cuadros I y IV).



Actividad mitótica en cultivos de fibroblastos de embrión de pollo tratados con adriamicina y su control correspondiente.

Los histogramas (fig. 2) presentan distintos aspectos. La cantidad de células con valor 4ADN de los cultivos tratados con 0'5 y 0'05  $\mu\text{g/ml}$  ha descendido en relación con el control (sus valores del 10 y 12 %, respectivamente, están indicados en la gráfica II y cuadro II). El porcentaje mayor corresponde a la dosis de 0'1  $\mu\text{g/ml}$ . En los cultivos controles, el mayor número de células se



**FIGURA Nº 1**

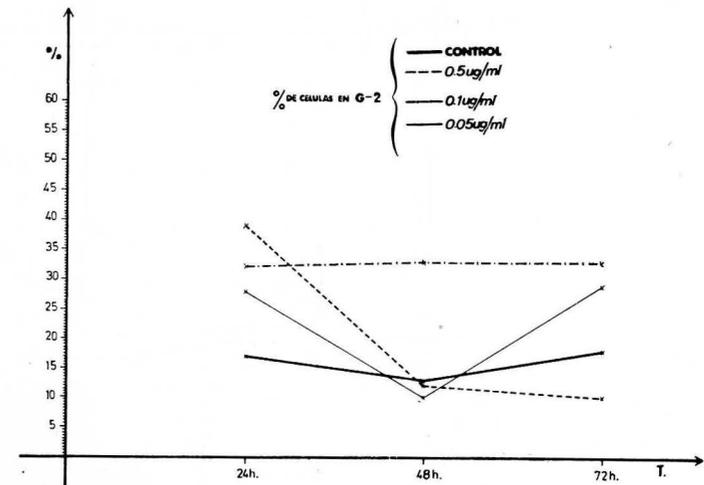
Histogramas correspondientes a las cantidades de ADN determinadas por citotometría después de la reacción de Feulgen en fibroblastos de embrión de pollo. (Control y tratados con adriamicina durante 24 horas.)

**INDICES MITÓTICOS**  
(NUMERO DE MITOSIS POR MIL CELULAS)

TIEMPO	CONTROL	0.5µg/ml	0.1µg/ml	0.05µg/ml
24 H	53 ‰	0 ‰	10 ‰	26 ‰
48 H	28 ‰	0 ‰	3 ‰	14 ‰
72 H	29 ‰	0 ‰	0 ‰	11 ‰

**CUADRO I**

Indices mitóticos. Expresión numérica de la actividad mitótica. Fibroblastos de embrión de pollo. Cultivos tratados con adriamicina y control correspondiente.

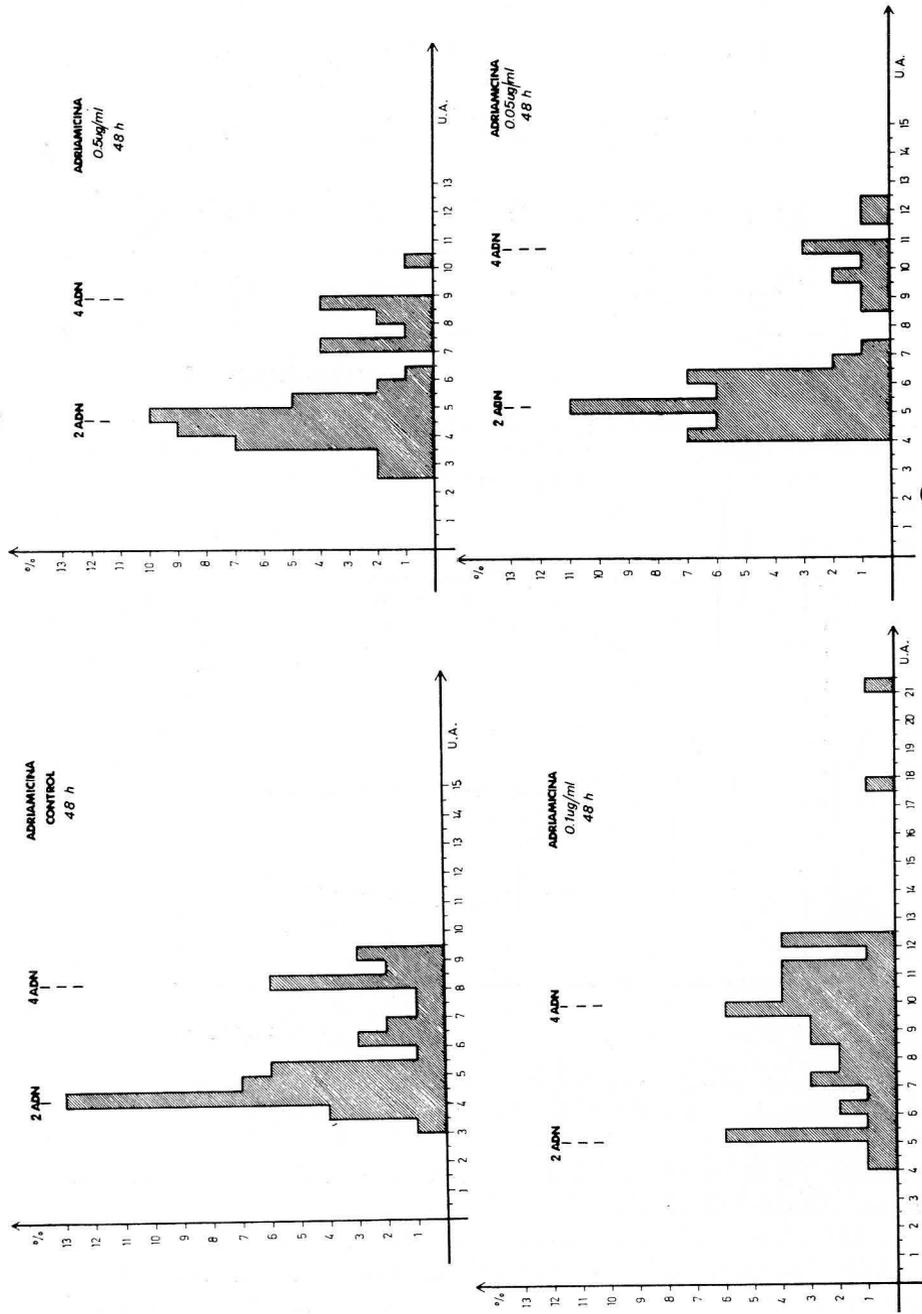


**GRAFICA II**

Porcentaje de células en la fase G-2 del ciclo celular. Cultivos controles y tratados con adriamicina.

encuentra en el valor diploide con respecto al ADN y su evaluación se cifra en el 13 %.

La diferencia existente entre estos datos y los obtenidos a las 24 horas viene determinada por la degeneración de las células bloqueadas en fase G-2 y por la inhibición de la síntesis de ADN. Por consiguiente, las células no entran en fase de postsíntesis. A dosis de 0'1 µg/ml el porcentaje permanece prácticamente constante du-



**FIGURA N° 2**

Histogramas correspondientes a las cantidades de ADN determinadas por citofotometría después de la reacción de Feulgen en fibroblastos de embrión de pollo. (Control y tratados con adriamicina durante 48 horas.)

**% DE CELULAS EN G-2**

TIEMPO	CONTROL	0.5ug/ml	0.1ug/ml	0.05ug/ml
24 h	17 %	39 %	32 %	28 %
48 h	13 %	12 %	33 %	10 %
72 h	18 %	10 %	33 %	29 %

**CUADRO II**

Expresión numérica del porcentaje de células en G-2 (fase de post-síntesis).

rante los tres días del experimento, como ya veremos después, lo cual nos confirma la inhibición de la síntesis de ADN que provoca la adriamicina.

**72 horas de tratamiento**

La actividad mitótica es nula a dosis de 0.5 y 0.1 µg/ml. Para dosis de 0.05 µg/ml se evalúa en un 11 % (valor inferior en relación a las 48 horas). El índice mitótico del cultivo control ha aumentado discretamente con respecto al control del cultivo anterior (29 sobre 28 % a las 48 horas) (gráfica I, cuadros I y V).

En cuanto a los histogramas (fig. 3) podemos observar que están modificados con respecto al control. El porcentaje de células tetraploides en cuanto al ADN es ligeramente inferior para la dosis mayor y superior para las otras dos dosis (gráfica II y cuadro II).

La degeneración ha continuado y el bloqueo en la fase G-2 persiste, así como la inhibición de la síntesis de ADN. Con dosis de 0.05 µg/ml el aumento de células con valor tetraploide de ADN con respecto al obtenido a las 48 horas, nos hace suponer la aparición de nuevas síntesis de ADN, posiblemente por inhibición del efecto de la adriamicina y recuperación del fibroblasto.

Del conjunto de estos datos y observaciones podemos concluir que las células tratadas con adriamicina presentan una inhibición de la síntesis de ADN y un bloqueo en fase G-2 en cuanto al ADN y por consiguiente una incapacidad para entrar en mitosis, al menos a dosis de 0.5 y 0.1 µg/ml, y en nuestras condiciones experimentales. A dosis inferiores, 0.05 µg/ml, hay una pequeña actividad mitótica aún a las 72 horas de tratamiento con adriamicina.

	CONTROL	0.5ug/ml	0.1ug/ml	0.05ug/ml
PROFASE	30 %	—	23 %	21 %
METAFASE	54 %	—	67 %	55 %
ANAFASE	13 %	—	7 %	22 %
TELOFASE	3 %	—	3 %	2 %

CUADRO III

	CONTROL	0.5ug/ml	0.1ug/ml	0.05ug/ml
PROFASE	20 %	—	—	26 %
METAFASE	50 %	—	73 %	53 %
ANAFASE	20 %	—	27 %	17 %
TELOFASE	10 %	—	—	4 %

CUADRO IV

	CONTROL	0.5ug/ml	0.1ug/ml	0.05ug/ml
PROFASE	24 %	—	—	19 %
METAFASE	49 %	—	—	59 %
ANAFASE	15 %	—	—	6 %
TELOFASE	12 %	—	—	16 %

CUADRO V

Porcentajes de células en las distintas fases de la mitosis de cultivos de fibroblastos de embrión de pollo tratados con adriamicina y sus correspondientes controles a las 24, 48 y 72 horas, respectivamente.

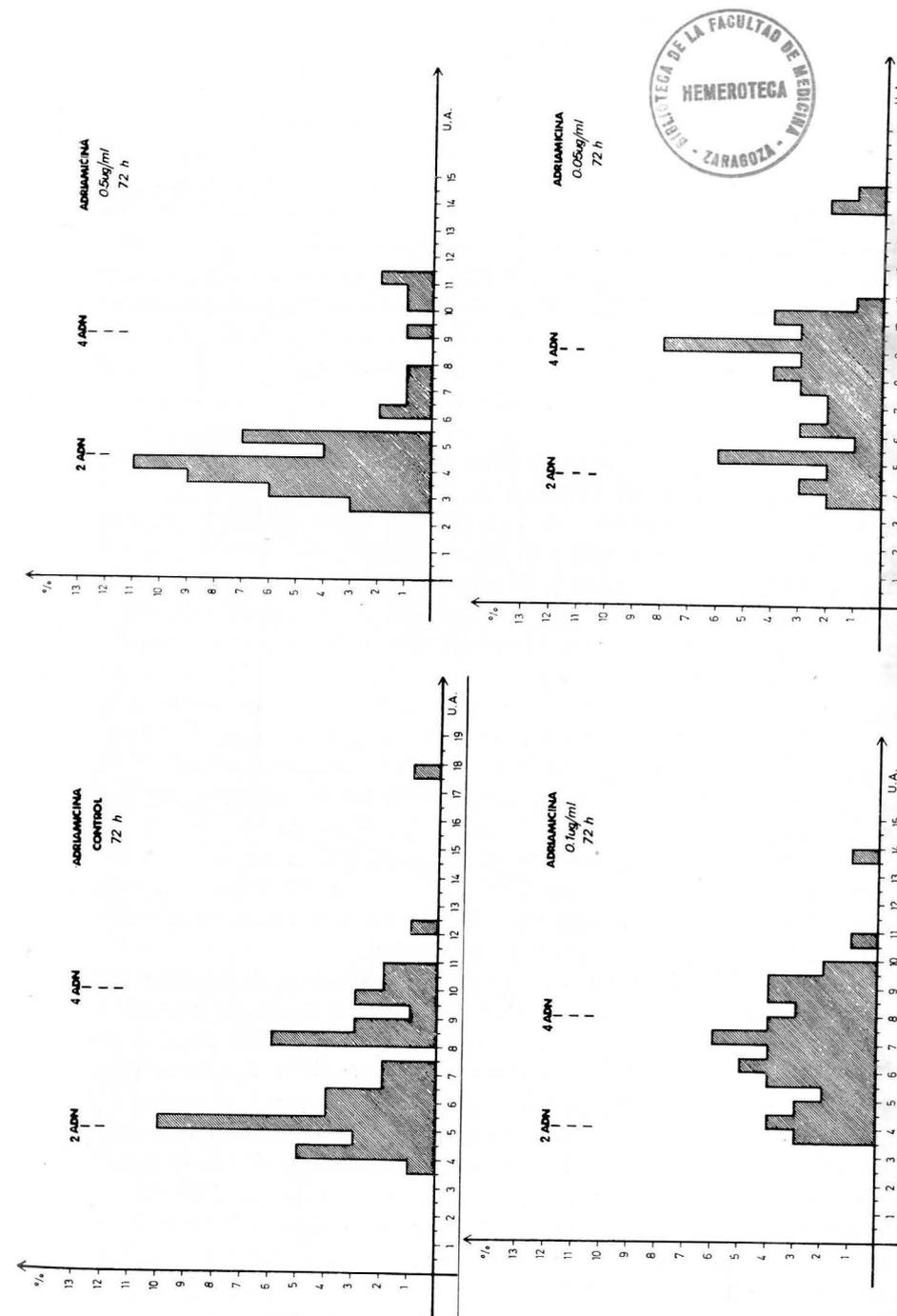


FIGURA N°3

Histogramas correspondientes a las cantidades de ADN determinadas por citofotometría después de la reacción de Feulgen en fibroblastos de embrión de pollo. (Control y tratados con adriamicina durante 72 horas.)

### Comentarios y discusión

De los resultados expuestos anteriormente podemos analizar dos hechos importantes. Uno de ellos es la existencia de una disminución de la actividad mitótica de los cultivos tratados con adriamicina en relación con los controles (gráfica I y cuadro I). Ella es nula a las 24 horas a una dosis importante como la de 0'5  $\mu\text{g/ml}$ . Esta actividad permanece constante durante los 3 días de experimento. Para dosis de 0'1  $\mu\text{g/ml}$ , la actividad aparece muy descendida con respecto al control (10 % a las 24 horas), para ser nula al final del tratamiento (0 % a las 72 horas). En cambio, para la dosis de 0'05  $\mu\text{g/ml}$  existe actividad mitótica a las 72 horas, aunque ésta sea pequeña (26, 14 y 11 % a las 24, 48 y 72 horas, respectivamente).

El otro dato importante se refiere al porcentaje de células con valor tetraploide de ADN (gráfica II y cuadro II).

A las 24 horas el número de células con valor 4ADN es mayor en los cultivos tratados que en los controles. En cambio, a las 48 horas, a dosis de 0'5  $\mu\text{g/ml}$ , el porcentaje de células con dicho valor ha descendido por debajo del control. Esto puede ser explicado por la existencia de una degeneración celular y una incapacidad de los fibroblastos de llegar a la fase G-2 por inhibición de la síntesis de ADN. Si analizamos el trazado correspondiente a la dosis de 0'1  $\mu\text{g/ml}$  en la gráfica II, vemos que éste es casi uniforme y sus valores están por encima del trazado control. Este hecho nos induce a pensar en la existencia de un bloqueo en G-2 y una inhibición de la síntesis de ADN, por lo que las células no pasan a la fase de postsíntesis y al no existir degeneración y ser la entrada en mitosis muy escasas (3 % a las 48 horas) o nula (0 % a las 72 horas), el porcentaje de células con valor tetraploide del ADN permanece prácticamente el mismo.

Con dosis de 0'05  $\mu\text{g/ml}$ , aun cuando el número de células con valor de 4ADN sea superior al control a las 24 horas e inferior a las 48 horas por inhibición de la síntesis de ADN, las células no han dejado de entrar en mitosis, aunque esta actividad es menor al final del experimento (14 % a las 48 horas y 12 % a las 72 horas). Pero si al mismo tiempo observamos el trazado correspondiente a esta dosis en la gráfica II, podemos ver que a las 72 horas hay un aumento del porcentaje de células con valor de 4ADN, que junto con la actividad mitótica anteriormente comentada, nos lleva a pensar en una reactivación de la síntesis de ADN por pérdida del efecto inhibitorio de la adriamicina en el transcurso del tiempo.

La inhibición de la síntesis de ADN que nosotros estimamos en los fibroblastos de embrión de pollo y el bloqueo de las células

en la fase de postsíntesis del ADN fue ya expuesto por SILVESTRINI y col. (1970) en las células HeLa y recientemente corroborado por HARTEEL y col. (1975) en células de mamíferos.

En un trabajo anterior (LANCHO ALONSO, 1976) nosotros presentábamos las alteraciones morfológicas y cromosómicas que la adriamicina provocaba sobre los fibroblastos de embrión de pollo. En aquella ocasión mostrábamos la vacuolización del nucleolo y la presencia de "nucleolos en anillo". Signos éstos de alteración en la síntesis del ADN. Este hecho ha sido confirmado ahora por el análisis citofotométrico que hemos realizado.

Si para WHEATLEY (1972), la adriamicina ejerce su efecto en células HeLa en la fase G-2 y no impide la progresión en fase G-1, para nosotros, junto con CASSAZA (1970) (que estudió células del sarcoma de metilcolantreno, células HeLa, células linfoides de topo y fibroblastos de ratón) y HARTEEL y col. (1975) (que estudió células de mamíferos), la máxima fijación se realiza en la fase S del ciclo celular, inhibiendo la síntesis del ADN, aunque sin impedir la progresión en fase G-1.

El hecho de que en la bibliografía consultada sobre el tema no existieran referencias sobre la acción de esta droga antitumoral sobre fibroblastos de embrión de pollo, nos ha conducido a la presentación de nuestros resultados. Aunque éstos concuerdan en esencia con los de otros autores, en nuestras condiciones la progresión de las células desde la fase S a la fase G-2 se encuentra interrumpida a dosis fuertes (0'5 y 0'1  $\mu\text{g/ml}$ ), mientras que a dosis menores (0'05  $\mu\text{g/ml}$ ) esta interrupción sólo aparece en las primeras 24 horas de tratamiento. Es decir, que la fijación de la adriamicina se realiza principalmente en la fase S del ciclo celular.

### Conclusiones

La adriamicina ejerce un efecto inhibitorio de la síntesis de ADN, en nuestras condiciones experimentales, actuando sobre todo en la fase S del ciclo celular.

Provoca un bloqueo en la fase G-2, impidiendo la entrada de la célula en mitosis. Tanto la inhibición de la síntesis como el bloqueo es proporcional a la dosis administrada. A dosis fuerte (0'5  $\mu\text{g/ml}$ ) provoca una degeneración de las células bloqueadas en G-2.

### Resumen

Se ha hecho un análisis citoquímico cuantitativo del ADN de fibroblastos de embrión de pollo tratados con adriamicina (antibiótico antitumoral). Esta droga provoca una inhibición de la síntesis del ADN y un bloqueo celular en fase G-2. No existe

actividad mitótica a dosis altas de adriamicina (0'5  $\mu\text{g/ml}$ ); a dosis media (0'1  $\mu\text{g/ml}$ ) es muy baja, para ser nula al final del experimento; a dosis inferiores (0'05  $\mu\text{g/ml}$ ) existe actividad mitótica durante los tres días del tratamiento.

### Summary

A quantitative cytochemical analysis of DNA was made of chicken embryo fibroblasts treated with adriamycin (antitumoral antibiotic). This drug provokes inhibition of DNA synthesis and a cellular block in fase G-2.

No mitotic activity exists at adriamycin doses of 0'5  $\mu\text{g/ml}$ . As a moderate dose (0'1  $\mu\text{g/ml}$ ) activity is very low and disappears at the end of the experiment. Lower doses (0'05  $\mu\text{g/ml}$ ) provided mitotic activity during the three days of treatment.

### Zusammenfassung

Es wurde eine zytochemische quantitative Analyse des DRNS in Fibroblasten der Hühnerembryonen, die mit Adriamicine (antitumorale Antibiotika) behandelt wurden. Diese Droge hervorruft eine Zellblockierung in der G-2-Phase.

Bei hoher Adriamicinedosis (0'5  $\mu\text{g/ml}$ ) merkt man keine mitotische Aktivität. Bei mittlerer Dosis (0'1  $\mu\text{g/ml}$ ) die mitotische Aktivität ist sehr niedrig und am Ende des Versuchs hatte sie völlig verschunden. Bei niedriger Dosis (0'05  $\mu\text{g/ml}$ ) dauert diese die 3 Versuchstagen.

### Résumé

On fait un analyse cytochimique quantitative d'ADN des fibroblastes d'embryo de poulet cultivés "in vitro" après un traitement avec adriamicine. La drogue provoque une inhibition des synthèses d'ADN et un blocage en G-2. L'activité mitotique est nulle à la concentration de 0'5  $\mu\text{g/ml}$  pendant le 72 heures du traitement. Après 24 et 48 heures de traitement avec 0'1  $\mu\text{g/ml}$  d'adriamicine l'activité mitotique est très descendue et après 72 heures elle devient nulle. Elle existe après 72 heures de traitement, à une concentration de 0'05  $\mu\text{g/ml}$ .

### BIBLIOGRAFÍA

- CASSAZA, A. M. (1970): L'adriamicina: Chimica, Farmacologica, Attività Biologica. Estrato da: Corso Superiore sulla chemioterapia dei tumori. Milano, 23-27.
- DI MARCO, A., y F. ARCAMONE (1975): Adriamycin and its mechanism of action. "Adriamycin Review", 11-24.
- DI MARCO, A., M. GAETANI y B. SCARPINATO (1969): Adriamycin (NSC-123, 127): A new antibiotic with antitumor activity. "Cancer Chemotherapy Reports", I, 53, 1: 33-37.
- EAGLE, H. (1959): Amino Acid metabolism in mammalian cell cultures. "Science", 130: 432-437.
- HARTEEL, J. C., M. M. DUARTE-KARIM, O. S. KARIM y E. ARLANDINI (1975): Some physicochemical Properties of Adriamycin and Adriamycin-DNA Complex. "Adriamycin Review", I: 27-36.

- LANCHO-ALONSO, J. L. (1976): Modificaciones morfológicas y alteraciones cromosómicas provocadas por la acción de la adriamicina sobre fibroblastos de embrión de pollo cultivados in vitro. En prensa en "An. Anat.", Zaragoza.
- SILVESTRINI, R., C. GAMBARUCCI y T. DASDIA (1970): Attività Biologica dell'Adriamicina in vitro. "Tumori", 56: 137-148.
- TROUET, A., D. DEPREZ-DE CAMPENEERE, A. ZENEBERGH y R. HULHOVEN (1975): Lyso-somotropic Cancer Chemotherapy with Adriamycin-DNA. "Adriamycin Review", I: 62-69.
- WHEATLEY, D. N. (1972): Action of Adriamycin on HeLa cells. Evidence of a G<sub>2</sub> Inhibition. International Symposium on Adriamycin. Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg., II: 47-52.

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

## PINEALECTOMÍA Y GONADA MASCULINA

Por

J. LOSADA<sup>(1)</sup> y R. SARRAT<sup>(2)</sup>

A pesar del sinnúmero de publicaciones realizadas sobre la función pineal, desde las puramente especulativas de antaño hasta las rigurosamente experimentales de la actualidad, la epífisis sigue siendo problema tanto en la interpretación de sus transformaciones estructurales como en su funcionalismo.

Quizás uno de los puntos más tempranamente aclarados fue su relación con la función sexual, toda vez que los tumores destructivos de la glándula en niños conducían clínicamente a una "pubertad precoz". Así quedó etiquetada la epífisis como glándula frenadora de la función sexual, un tanto en contra de la actividad tropogonadal hipofisaria.

Por tres caminos fundamentales ha discurrido la investigación experimental de la función pineal: pinealectomía, inyección de extractos epifisarios y administración de melatonina, una vez que LERNER la aislara en 1959. Desde cualquiera de estos planteamientos se manifiesta la influencia depresora de la glándula sobre la función sexual. SIMONNET y col. (1951), KITAY y ALTSCHULE (1954) y WURTMAN (1959), observan tras pinealectomía un aumento del peso ovárico, así como THIEBLOT y BLAISE (1965) describen en las mismas circunstancias hipertrofia testicular. El extracto de pineal desde hace mucho tiempo (FISCHER, 1938; y ENGEL, 1939) es conocido que produce un retraso considerable del desarrollo genital en animales jóvenes; y finalmente la administración de melatonina, según trabajos de WURTMAN y AXELROD (1963) disminuye el peso gonadal y tiene una acción contrapuesta al efecto tropogonadal del corion (KONING, 1973).

Nosotros, que habíamos tenido ocasión hace años de estudiar series de testículos en animales pinealectomizados, apreciábamos

(1) Prof. adjunto. Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina de Bilbao.

(2) Catedrático. Director del Departamento de Anatomía. Facultad de Medicina de Bilbao.

cuadros muy dispares y fue ello por la poca atención dedicada en las investigaciones anteriores a la estructura anatómica de las gonadas y por las escasas referencias hechas al testículo, pues casi siempre se trabajó sobre ovario, por lo que decidimos plantear la presente pesquisa en rata juvenil (80-100 gr) macho, a quienes en número de 25 pinealectomizamos, sacrificándolos alrededor del mes

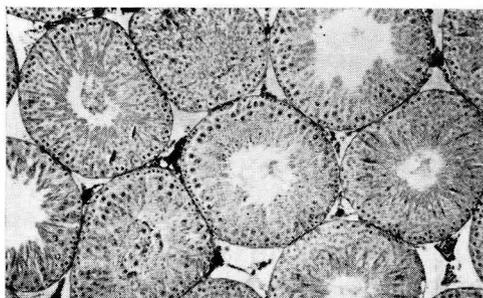


FIG. 1. — Testículo. Rata. Control. Tricrómico de Martins. Nótese la regularidad de la estructura con los tubos seminíferos iniciando la espermatogénesis. 100×.



FIG. 2. — Testículo. Rata pinealectomizada (tres semanas). Tricrómico de Martins. Nótese un cuadro histológico mixto, pues mientras algunos tubos se muestran claramente hiperfuncionales, otros a su lado están en vías de desintegración. 100×.

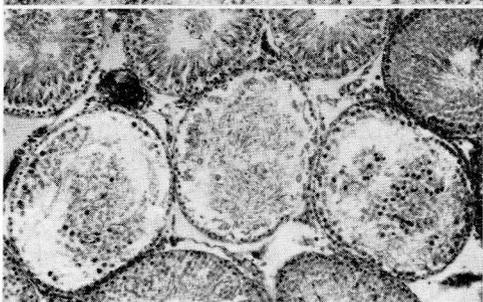


FIG. 3. — Testículo. Rata pinealectomizada (un mes). Tricrómico de Martins. Nótese cómo la gónada ha llegado a una fase regresiva total, en la que algunos tubos quedan reducidos a la capa germinal. 100×.

y extrayendo los testículos que fueron fijados en Bouin, incluidos en parafina, cortados en series a  $7\ \mu$  y coloreados por el tricrómico de Martins.

Como *resultados* merecen destacarse los siguientes:

a) Evidentemente aumentan en un primer período el tamaño de las gonadas, para decrecer con el tiempo.

b) El cuadro histológico, como muestra la figura 2, es de hipertrofia zonal alternando con imágenes de destrucción y atrofia total de los tubos seminíferos (fig. 3).

c) La vascularización del testículo está aumentada.

A la vista de estas imágenes se nos ocurren las siguientes *consideraciones*: La influencia gonadoestimulante de la epifisectomía creo que debe tomarse con ciertas reservas, pues si bien es claro que el testículo manifiesta un cuadro hiperfuncional tras la pinealectomía, no lo es menos que esta circunstancia es pasajera y que la glándula no resiste por tiempo largo ese sobreestímulo, llegándose a un agotamiento de la misma. Creemos que algo parecido puede interpretarse en los cuadros clínicos de pubertad precoz, en los que a pesar de la rápida y florida instauración extemporánea de la función sexual, ésta ni se mantiene estable ni es regular. Pensamos que la epífisis realiza un efecto regulador de la acción tropa estimulante de la hipófisis y que este efecto depresor generado por la pineal es vital para el buen funcionamiento de la glándula genital. Asimismo creemos que sería de un gran interés la fase crónica de la experiencia, que nos proponemos iniciar, para ver la evolución del testículo después de la falta de la epífisis durante varios meses.

### Resumen

Se han realizado pinealectomías en ratas juveniles para estudiar el comportamiento estructural de la gónada masculina. Se observa primero una fase progresiva del testículo que conduce a un agotamiento de la glándula, con destrucción tubular. Parece ser que la tan conocida hiperfunción gonadal tras la epifisectomía es pasajera y que sin la regulación que establece la epífisis, la glándula sexual se agota por el sobrestímulo de las hormonas tropa hipofisarias.

### Summary

We have realized pinealectomy in jung rats, to study the structural changes of the testicles. We took notice of: first of all a progressive phase in the testicle which leads to a gland exhaustion, with tubular destruction. It seems that the well known big gonadal function after the epifisectomy is transitory and without the pineal regulation, the sexual gland is exhausted because of the big stimulus performed by the hypophysary hormones.

### Zusammenfassung

Wir haben in jungendlichen Ratten die Pinealektomie ausgeführt, um das Gliederungs-betragen der männliche Gonade zu untersuchen. Wir haben zuerst ein vorschreitendes Stadium der Hode beobachtet, das zu der Erschöpfung der Drüse, mit einer Zerstörung der Rohre, führt.

Es scheint so aus, dass nach der Epiphysektomie, die sehr bekannte Hiperfunktion der Gonaden nur vergänglich ist, und dass die sexual Drüse, ohne die Regulierung die Zirbeldrüse gestellt als folge des Zuanreizes der Hormonen hypophysarien, ausschöpft.

*Résumé*

On a fait des pinéalectomies avec de jeunes rats pour étudier les changes structurals du testicule. On a constaté: d'abord une phase progressive qui conduit a l'épuisement de la glande et à la destruction tubulaire. On trouve que la si connue hyperfonction gonadale subséquente a l'épiphysectomie est passagère et que la gonade, privé de la regulation épiphysaire, épuise sous la superstimulation des hormones trophiques hypophysaires.

## BIBLIOGRAFÍA

- AIENS-KAPPERS, J. (1962): The development, topographical relations and innervation of the epiphysis cerebri in the albino rat. "Z. Zellforsch. mikroskop. Anat.", **52**: 163.
- BARGMANN, W. (1943): Die Epiphysis cerebri. In Handbuch mikroskop. Anat. Menschen. W. von Mollendorft. Vol. 6. Springer. Berlin.
- KITAY, J. I., and M. D. ALTSCHULE (1954): The Pineal gland. Cambridge, Mass. Harvard.
- (1954): Effects of pineal extract administration on ovary weight in rats. "Endocrinology", **55**: 782.
- QUAY, W. B. (1958): Pineal blood content and its experimental modification. "Am. J. Physiol.", **195**: 391.
- (1961): Reduction of mammalian pineal weight and lipid during continuous light. "Gen. Comp. Endocrinol.", **1**: 211.
- THIEBLOT, L., and H. LEBARS (1955): La Glande pineale ou Epiphyse. Maloine. Paris.
- WRAGG, L. E. (1967): Effects of Pinealectomy in the newborn female rat. "Amer. J. Anat.", **120**: 391.
- WURTMAN, R. J., and Cols. (1963): Melatonin synthesis in the pineal gland: control by light. "Science", **142**: 1071.
- (1968): The pineal. Acad. Press. New York.

J. LOSADA  
Departamento de Anatomía  
Facultad de Medicina  
Bilbao (España)



## CONEXIONES NIGROESTRIADAS EN EL GATO PUESTAS DE MANIFIESTO POR MÉTODOS DE IMPREGNACIÓN ARGÉNTICA

POR

A. LLAMAS<sup>(1)</sup>

*Introducción*

HOLMES (1902) y FERRARO (1928), entre otros, describen, usando métodos de degeneración retrógrada, conexiones nigroestriadas. METTLER (1945), usando el método de Marchi, confirma la existencia de estas conexiones. RANSON y RANSON (1941), KIMMEL (1942) y ROSEGAY (1944), usando el mismo método, describen ligera degeneración en el neostriado. Tras lesiones en la sustancia negra (S.N.). Posteriormente, conexiones nigroestriadas han sido propuestas usando métodos histoquímicos, métodos bioquímicos, métodos neurofisiológicos y por último por Horseradish peroxidase (H.R.P.).

Desde poco más de la última década se han intensificado los estudios de las conexiones nigroestriadas por métodos argénticos de degeneración secundaria. La mayoría de los autores han fallado en demostrar estas conexiones y los pocos que lo han conseguido no ponen de manifiesto las diversas vías por las cuales es abordado el núcleo caudado. Niegan su existencia FAULL y CARMAN (1968). CARPENTER y MAC MASTER (1964), COLE y col. (1964) y CARPENTER y STROMINGER (1967) observaron solamente unas pocas fibras degeneradas en el putamen, después de lesiones en la sustancia negra (S.N.). AFIFI y KAELEBERG (1965), tras lesiones de la sustancia negra (S.N.), señalan la existencia de unas pocas fibras degeneradas en el borde ventral de la cabeza del núcleo caudado, pero no aseguran su terminación en este núcleo. LLAMAS (1966) y LLAMAS y REINOSO-SUÁREZ (1969) describen abundante degeneración en la ca-

(1) Prof. agregado. Departamento de Morfología. Facultad Autónoma de Medicina. Madrid.

beza del núcleo caudado, tras lesiones en la porción medial de la S.N. y/o en el área tegmental ventral de Tsai.

SHIMIZU y OHNISHI (1973), en rata, ponen en evidencia por el método de FINK-HEIMER (1967) conexiones nigroestriadas, y REINOSO-SUÁREZ y LLAMAS (1975), en rata tras hemisecciones a nivel o anteriores a la S.N., muestran en la iconografía abundante degeneración en el caudado-putamen. Por último, NAUTA y col. (1975), por el método del transporte retrógrado axonal de la Horseradish peroxidase, ponen también de manifiesto las conexiones nigro-caudado-putaminales.

En el presente trabajo confirmados las conexiones nigroestriadas por medio de métodos de plata de degeneración secundaria; al mismo tiempo que se pone de manifiesto que el mayor número de conexiones es con la cabeza del núcleo caudado, así como las distintas vías por las que llegan al caudado estas conexiones.

### Material y métodos

Un total de 18 gatos adultos fueron utilizados. Las lesiones fueron realizadas estereotáxicamente en la sustancia negra usando el atlas estereotáxico de REINOSO-SUÁREZ (1961) para la localización de las lesiones. Los electrodos fueron introducidos vertical u oblicuamente desde el mismo hemisferio a lesionar, oblicuamente desde el hemisferio contralateral y oblicuamente con una entrada subtentorial.

Después de una supervivencia de 6 a 13 días y un adecuado período de fijación, los cerebros fueron cortados por congelación a 25  $\mu$  en serie. Con intervalos de 300  $\mu$  las secciones fueron teñidas por el método de NAUTA-GYGAX (1954) y de FINK-HEIMER (1967). La sección contigua a cada uno de los cortes teñidos por los métodos anteriores fueron teñidos por el método de Nissl. Los dibujos fueron realizados a 10 aumentos de la sección original. Las fibras degeneradas y los botones terminales fueron dibujados sobre ellos. La superposición de las imágenes de Nissl sobre los dibujos delimitan las estructuras en las cuales se encuentra contenida la degeneración.

### Resultados

#### 1. Gatos con lesión en la parte rostromedial de la sustancia negra

En 13 gatos las lesiones estereotáxicas fueron localizadas en la porción medial y rostral de la S.N. De estos 13 animales, seis fueron lesionados también en el área tegmental ventral de Tsai. En dos de los seis animales con lesión en el área de Tsai las lesiones

se extendieron dorsalmente a las proximidades del núcleo rojo; en dos, las lesiones afectaron la porción ventral de este mismo núcleo. En el otro animal la lesión fue localizada en el polo rostromedial de la sustancia negra y en el área de Tsai; esta lesión se extendió, asimismo, a la región proximal del hipotálamo lateral.

En estos animales gran cantidad de fibras se dirigen hacia el tegmento mesencefálico; un grueso haz de fibras degeneradas se encuentra constantemente dorsal y medial al núcleo subtalámico. Algunas de estas fibras se dirigen dorsalmente hacia el tálamo, otras siguen una dirección rostral en la región hipotalámica lateral. En los animales con lesión del área de Tsai (fig. 1, E) el grupo de fibras en el hipotálamo lateral es más numeroso, ya que se le

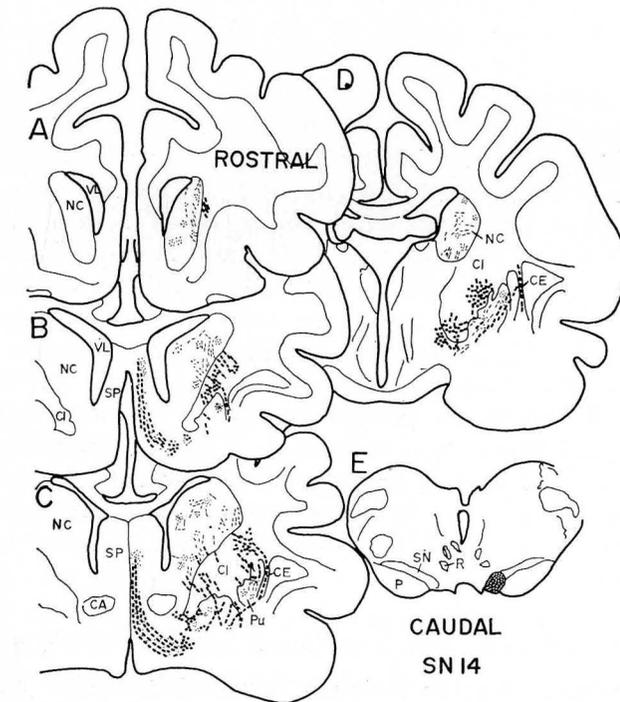


FIG. 1. — Fibras degeneradas después de una lesión en la porción rostromedial de la sustancia negra y área tegmental ventral de Tsai, que se extiende rostralmente al hipotálamo lateral. La lesión de estas últimas estructuras da lugar a las fibras degeneradas en región preóptica y núcleos septales. La lesión de las proyecciones de la S.N. da lugar a degeneración terminal en núcleo interpeduncular, globus pallidus, putamen y cabeza del núcleo caudado. La lesión en el área de Tsai aumenta las fibras degeneradas en el camino del ansa lenticular, aparecen fibras en cápsula externa y se extiende la degeneración del núcleo caudado.

añaden las fibras que se dirigen hacia la región preóptica y región septal. Desde el área hipotalámica lateral, algunas fibras penetran directamente en la cápsula interna (fig. 1, C, D), mientras que otras rodean la cápsula y se introducen en el ansa lenticularis (figura 1, D), con una dirección opuesta a como lleva el mayor número de fibras esta estructura. De las fibras que penetran en la cápsula interna, un grupo muy pequeño la atraviesa para terminar en el núcleo entopeduncular o en el globus pallidus, el resto continúa en la cápsula interna hacia la cabeza del núcleo caudado. El grupo de fibras que camina retrógradamente por el ansa lenticularis es de menor categoría y algunas, en pequeño número, terminan en el globus pallidus y el núcleo entopeduncular. Otras atraviesan el putamen, donde se observan algunas fibras preterminales (fig. 1, C), pero la mayoría de las fibras degeneradas penetran y atraviesan la cápsula interna de paso hacia la cabeza del núcleo caudado.

En los animales en los que se ve afectada el área de Tsai, el grupo de fibras que camina por el ansa lenticularis es más numeroso y un gran número de fibras avanza hacia el núcleo caudado a través de la cápsula externa (fig. 1, B, C, D). En todos los gatos con lesión en el área tegmental ventral de Tsai gran número de fibras degeneradas se observan avanzando a través de la cápsula externa. Parte de estas fibras van a través de la cápsula interna y terminan en la cabeza del núcleo caudado, fibras finas y difusamente distribuidas, haciéndose necesario a veces, para poder observarlos, utilizar objetivos de inmersión (fig. 2, A, B, C, D) y disminuir el tiempo de permanganato en el método de NAUTA-GYGAX (1954). Utilizando el método de FINK-HEIMER (1967) fue más constante su observación. Dentro de la cabeza del núcleo caudado existe un mayor número de fibras preterminales degeneradas en la porción próxima a la cápsula interna. Nunca se observaron fibras en el lado contralateral.

## 2. Lesiones localizadas más lateralmente en la sustancia negra

En tres animales las lesiones fueron localizadas más lateralmente en la S.N. Dos de ellos comprenden una amplia lesión en el pedúnculo cerebral. Por otra parte, en uno de los casos la lesión se extiende al tegmento dorsal, a la S.N. y al lemnisco medial. Estos tres cerebros fueron teñidos con el método de NAUTA-GYGAX (1954).

El comportamiento degenerativo en estos casos fue casi similar entre ellos, con una disminución en el número de fibras situadas dorsales y mediales al núcleo subtalámico. La mayoría de estas fibras degeneradas van dirigidas al tálamo. El resto se incorporan

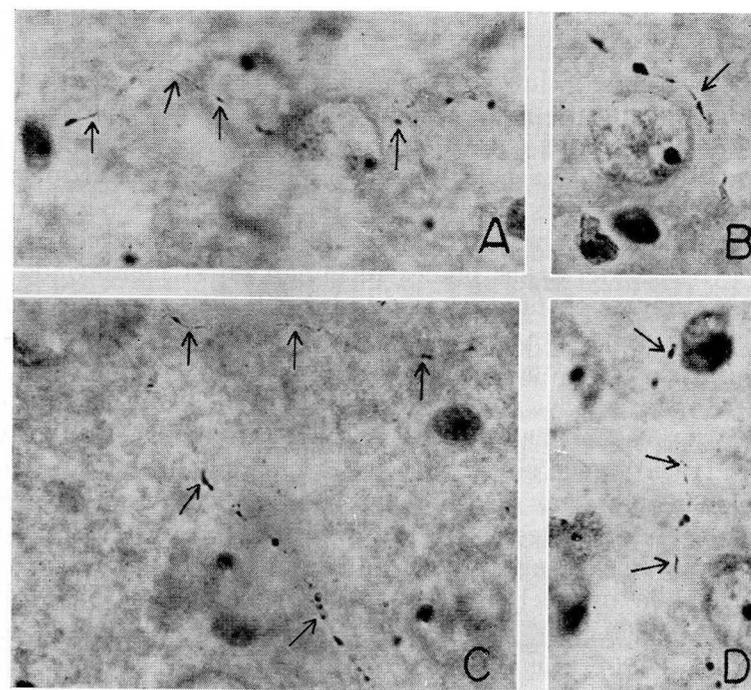


FIG. 2. — Fibras degeneradas de pequeño diámetro (flechas) en la cabeza del núcleo caudado después de una lesión limitada a la porción rostromedial de la S.N. ipsilateral.

a la cápsula interna. Algunas de estas fibras penetran en la cabeza del núcleo caudado, donde se encuentran muy esparcidas en la proximidad de la cápsula interna.

## 3. Lesiones del pedúnculo cerebral

En dos gatos las lesiones fueron situadas en la porción medial del pedúnculo cerebral, sin lesión en la S.N. Un animal fue lesionado por un electrodo entrando oblicuamente a través del hemisferio del mismo lado, y el otro fue lesionado entrando oralmente a través del clivus.

En estos animales no se observaron fibras ascendiendo en la cápsula interna ni fibras degeneradas ni botones terminales en el estriado.

## Discusión

Estos hallazgos nos demuestran la existencia de fibras originándose en la porción medial y anterior de la sustancia negra y

que van a terminar en el estriado, fibras delgadas y difusamente distribuidas. Estas fibras no se originan o pasan a través del tegmento dorsal vecino a la S.N., pues en los animales con lesión limitada a la S.N. y que no se afectó tampoco por el paso del electrodo el tegmento se encuentra degenerado en la cabeza del caudado. Estas fibras del caudado tampoco serían consecuencia de lesión del pedúnculo cerebral, pues lesiones en éste sin afectar la S.N. no causan fibras degeneradas en la cabeza del núcleo caudado. En el área tegmental ventral de Tsai vecina nacen o pasan fibras a través de él, las cuales terminan en el neostriado. Esto se demuestra por el incremento de fibras degeneradas en la cabeza del núcleo caudado y putamen cuando esta área está afectada.

El fracaso para encontrar degeneración en el núcleo caudado tras lesión de la S.N. por otros autores como COLE y col. (1964), AFFIFI y KAELEBERG (1965), CARPENTER y STROMINGER (1967), FAUL y CARMAN (1968) puede ser atribuido principalmente al hecho de que sus lesiones no afectaron la porción rostromedial de la S.N. En este trabajo, cuando las lesiones fueron situadas lateralmente, fueron vistas pocas fibras degeneradas en la cabeza del núcleo caudado, próximas a la cápsula interna, tal como describieron AFFIFI y KAELEBERG (1965).

HOLMES (1902), DRESEL y ROTHMAN (1925) y FERRARO (1925, 1928), entre otros, describieron conexiones nigrocaudadas por medio de degeneración retrógrada. MOLINA (1966) atribuye la degeneración retrógrada encontrada en la S.N. por estos autores a la lesión simultánea del cortex motor y/o a la cápsula interna y la interrupción del camino nigrocortical. Por otra parte, autores que fallan en encontrar esta conexión lo atribuyen a una posible "refractariedad" de las fibras nigroestriadas a este método de plata (COLE y col., 1964; FAUL y CARMAN, 1968). LLAMAS (1966), LLAMAS y REINOSO-SUÁREZ (1969) han probado previamente la existencia de fibras nigrocaudadas. Este trabajo precisa, confirma y demuestra claramente las fibras nigroestriadas usando métodos de plata, dejando probado que no existe tal "refractariedad" de estas fibras a estos métodos, como también describen HEDREEN (1971), SZABO (1971), MOORE y col. (1971), SHIMIZU y OHNISHI (1972) y REINOSO-SUÁREZ y LLAMAS (1975) en rata y gato.

Una descripción de distribución citológica de dopamina en el soma de las neuronas de la pars compacta de la sustancia negra y varicosidades difusas terminales en la proximidad de neuronas del caudado fue descrita por ANDEN y col. (1964) por métodos histoquímicos. FUXE y col. (1969) describieron en rata con procedimientos de histofluorescencia y haciendo uso de lesiones estereotáxicas el camino de fibras dopaminérgicas nigroestriadas. Éstas tienen su

origen en células dopaminérgicas en la S.N. y siguen un camino similar a las fibras nigroestriadas descritas aquí por degeneración anterógrada, las cuales van a terminar en los núcleos putamen y caudado. Un camino similar es atribuido a fibras nigroestriadas por BEDARD y col. (1969) cuando combinan degeneración anterógrada y métodos neuroquímicos. Así como PORTIG y VOG (1969) describen activación de las sinapsis dopaminérgicas por estimulación de la porción oral y medial de la S.N.

NAUTA y col. (1975), tras inyección de H.R.P. en el caudado, encuentran células con peroxidasa en la pars compacta de la S.N. confirmando nuestros hallazgos.

Hemos encontrado pocas fibras degeneradas tras lesión de la S.N. en los núcleos entopeduncular y globus pallidus, las cuales tienen una distribución similar a aquellas que indicaron COLE y col. (1964), LLAMAS (1966) y LLAMAS y REINOSO-SUÁREZ (1969). Por métodos de degeneración anterógrada y tras lesiones en la S.N.; en mono, CARPENTER y MACMASTERS (1964) y CARPENTER y STROMINGER (1967) han encontrado fibras degeneradas en el globus pallidus. ADINOLFI (1968), en gato, observó botones degenerados en contacto con dendritas pallidales siguiendo a lesiones unilaterales de la S.N. KIMMEL (1942), en gato; RANSON y RANSON (1941) y METTLER (1945) en mono, y por el método de Marchi, describieron conexiones nigropallidales. Estos últimos autores señalaban que esta era la principal conexión de la S.N. Algunos autores como AFFIFI y KAELEBERG (1965), en gato, y FAUL y CARMAN (1968), en rata, no encontraron fibras nigropallidales.

Referente al putamen se han visto algunas fibras preterminales y pocos botones terminales siguiendo a lesiones de la S.N. En este trabajo no se encontró una apreciable diferencia en el número de terminales degeneradas en el putamen relativas a la localización de la lesión de la S.N. El presente trabajo no confirma los hallazgos de BEDARD y col. (1969), que por métodos neuroquímicos y degeneración retrógrada, de que las fibras nigroputaminales se originan en la porción laterocaudal de la S.N. Las fibras degeneradas en el putamen son como las observadas en el núcleo caudado, finas y difusamente distribuidas.

Este trabajo describe un nuevo camino para estas proyecciones: fibras degeneradas en el área hipotalámica lateral pasan alrededor de la cápsula interna y corren retrógradamente por el ansa lenticulares, atraviesan el putamen o llegan a la cápsula externa, atravesando después la cápsula interna en su paso hacia el caudado. Otras fibras desde el área hipotalámica lateral se incorporan a la cápsula interna y ascendiendo medialmente en ella alcanzan también la cabeza del núcleo caudado.

### Resumen

La porción medial y rostral de la S.N. es la que fundamentalmente proyecta a striatum. Un haz de fibras degeneradas dorsomediales al núcleo subtalámico se dirigen a hipotálamo lateral y cápsula interna. Estas se dirigirán al núcleo interpeduncular y cabeza del n. caudado. Desde el hipotálamo lateral pasan alrededor de la cápsula interna y corren retrógradamente por el ansa lenticularis, atraviesan el putamen y la cápsula interna en su paso hacia el caudado. Las lesiones en área de Tsai aumentan las fibras degeneradas en el camino del ansa lenticularis y siguiendo la cápsula externa llegarán a n. caudado.

### Summary

In 18 adult cats, stereotaxic lesions were performed in the substantia nigra, and neighbouring ventral tegmental area. Their brains were stained by the silver impregnation procedures of Nauta-Gygax and Fink-Heimer.

Lesions in the anteromedial portions of the S.N. give rise to a dense bundle of degenerated fibers situated medial and dorsal to the subthalamic nucleus. Some of these fibers terminated in the thalamus, while others extended forward in the lateral hypothalamus and internal capsule. Some of these fibers traverse the internal capsule and end in the entopeduncular nucleus. Most of them continued to the head of the caudate nucleus. Yet other degenerated fibers passed around the internal capsule and reached the globus pallidus and putamen, most of them passed across the putamen to penetrate and traverse the internal capsule in passage to the caudate nucleus. When Tsai's ventral tegmental area was damaged these last groupe of degenerated fibers was increased and a wide band of degenerated fibers was found in the external capsule, which traverse the internal capsule and terminate in the head of the caudate nucleus. The degenerated fibers in the head of the caudate nucleus are of small diameter and are diffusely distributed.

### Zusammenfassung

In 18 erwachsenen Katzen sind stereotaktische Verletzungen der Substantia Nigra und benachbarter ventralen, tegmentalen Strukturen. Die Hirne wurden nach der Silbermethode von Nauta-Gygax und Fink-Heimer gefarbt.

Verletzungen der anteromedialen Gegenden der SN ergeben einen dichten Bundel degenerierter Fasern, der medial und dorsal zum nucleus subthalamicus liegt. Einige dieser Fasern enden im Thalamus, während andere weiter im lateralen Hypothalamus und der inneren Kapsel verlaufen, um im n. entopeduncularis, n. caudatus, globus pallidus und putamen zu enden. Bei den Verletzungen der ventralen, tegmentalen Area von Tsai fand sich ein breites Band degenerierter Fasern in der ausseren Kapsel, die innere Kapsel durchqueren und im Kopf des n. caudatus enden.

### Résumé

C'est la partie médiale et rostrale de la S.N. celle que fondamentalement projecte à striatum. Un faisceau de fibres dégénérées, dorsomédial au noyau subthalamic, se dirige à l'hipotalamus latéral et capsule interne. Celui-ci arrivera au noyau interpedunculaire et la tête du noyau caudado. Depuis l'hipotalamus latéral passe autour le putamen et la capsule interne en passant vers le noyau caudado. Les lésions dans l'aire du Tsai augmente les fibres dégénérées dans le chemin de l'ansa lenticularis et suivant la capsule externe arriveront au noyau caudatus.

### ABREVIATURAS

CA, Comisura anterior	Pu, Putamen
CE, Cápsula externa	R, N. ruber
CI, Cápsula interna	SN, Substantia nigra
NC, N. caudatus	Sp, Septum pellucidum
P, Crus cerebri	VL, Ventriculus lateralis

### BIBLIOGRAFÍA

- ADINOLFI, A. M. (1968): The fine structure of pallido-entopeduncular regions and changes following unilateral nigral lesions. "Anat. Rec.", **160**: 305.
- AFIFI, A., W. W. Kaelberg (1965): Efferent connections of the substantia nigra in the cat. "Exp. Neurol.", **11**: 474-482.
- ANDEN, N. E., A. CARLSSON, A. DAHLSTROM, K. FUXE, N. A. HILLARP y K. LARSSON (1964): Demonstration and mapping out of nigro-neostriatal dopamine neurons. "Life Sci.", **3**: 523-530.
- BEDARD, P., L. LAROCHELE, A. PARENT y L. J. POIRIER (1969): The nigrostriatal pathway: a correlative study based on neuroanatomical and neurochemical criteria in the cat and monkey. "Exp. Neurol.", **25**: 365-377.
- CARBENTER, M. B., y R. E. MAC MASTERS (1964): Lesions of the substantia nigra in the rhesus monkey. Efferent degeneration and behavioral observation. "Am. J. Anat.", **114**: 293-320.
- CARPENTER, M. B., y N. L. STROMINGER (1967): Efferent fibers of the subthalamic nucleus in the monkey. A comparison of the efferent projections of the subthalamic nucleus, substantia nigra and globus pallidus. "Am. J. Anat.", **121**: 41-73.
- COLE, M., W. J. H. NAUTA y W. H. MEHLER (1964): The ascending efferent projection of the substantia nigra. "Trans. Am. Neur.", **89**: 74-78.
- DRESEL, K., y H. ROTHMANN (1925): Volliger ausfall der substantia nigra nach extirpation von grooshirn und striatum. "Ztsch. f. ges. Neurol. Psychiat.", **94**: 781-789.
- FAULL, R. L., y J. B. CARMAN (1968): Ascending projections of the substantia nigra in the rat. "J. Comp. Neurol.", **132**: 73-92.
- FERRARO, A. (1925): Contributio sperimentale allo studio della substantia nigra normale e dei suoi rapporti con la corteccia cerebrale e con el corpo striato. "Arch. Gen. Neurol. Psychiat.", **6**: 26-117.
- FERRARO, A. (1928): The connections of the pars suboculomotoria of the substantia nigra. "Arch. Neurol. Psychiat.", **19**: 177-180.
- FINK, R. P., y L. HEIMER (1967): Two methods for selective silver impregnation od degenerating axons and their synaptic endings in the central nervous system. "Brain Res.", **4**: 369-375.
- FUXE, K., T. HOKFELT, U. UNGERSTEDT, N. E. ANDEN, L. BUTCHER y A. RUBENSSON (1969): The effect of drugs and stereotaxic lesions on the nigro-neostriatal dopamine neurons. In: "Third Symposium on Parkinson's Disease", pp. 40-47 (F. J. Gillingham and I. M. L. Donaldson, eds.), London: Livingstone.

- HEDREEN, J. C. (1971): Separate demonstration of dopaminergic and non-dopaminergic projections of substantia nigra in the rat. "Anat. Rec.", **169**: 338.
- HOLMES, G. (1902): The nervous system of the dog without a forebrain. "J. Physiol.", **27**: 1-25.
- KIMMEL, D. L. (1942): Nigro-striatal fibers in the cat. "Anat. Rec.", **82**: 425.
- LLAMAS, A. (1966): Conexiones eferentes de la sustancia negra y del área tegmental ventral de Tsai. Tesis doctoral. Universidad de Navarra.
- LLAMAS, A., y F. REINOSO-SUÁREZ (1969): Projections of the substantia nigra and ventral tegmental mesencephalic area. In: "Third Symposium on Parkinson's Disease", pp. 82-87. (F. J. Gillingham and I. M. L. Donaldson, eds.), London, Livingstone.
- METTLER, F. A. (1945): Fiber connections of the corpus striatum of the monkey and baboon. "J. Comp. Neur.", **82**: 169-204.
- MOLINA, P. (1966): Conexiones nigrocorticales. Tesis doctoral. Universidad de Navarra.
- MOORE, R. Y., R. K. BHATNAGAR y A. HELLER (1971): Anatomical and chemical studies of a nigro-neostriatal projections in the cat. "Brain Res.", **30**: 119-136.
- NAUTA, W. J. H., y P. A. GYGAX (1954): Silver impregnation of degenerating axons in the central nervous system: a modified technic. "Stain Technol.", **29**: 1-93.
- NAUTA, W. J. H., I. R. KAISERMAN-ABRAMOF y R. J. LASEK (1975): Electron microscopic observations of horseradish peroxidase transported from the caudoputamen to the substantia nigra in the rat: possible involvement of the agranular reticulum. "Brain Res.", **85**: 373-384.
- PORTIG, P. J., y M. VOGT (1969): The release of dopamine and other potential transmitters from synapses in the caudate nucleus. In: "Third Symposium on Parkinson's Disease", pp. 22-24 (F. J. Gillingham and I. M. L. Donaldson, eds.), London: Livingstone.
- RANSON, S. W., y S. W. RANSON (1941): Efferent fibers of the corpus striatum. "Tr. Am. Neurol. Assoc.", **67**: 168-171.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1961): "Topographischer Hirnatlas der Katze". Darmstadt, E. Merck AG.
- REINOSO-SUÁREZ, F., y A. LLAMAS (1975): Conexiones aferentes a corteza frontal desde tegmento pontomesencefálico (locus coeruleus, rafe, sustancia negra) en la rata. "An. Anat.", **24**: 337-350.
- ROSEGAY, H. (1944): An experimental investigation of the connections between the corpus striatum and the substantia nigra in the cat. "J. Comp. Neur.", **80**: 293-310.
- SHIMIZU, N., y S. OHNISHI (1973): Demonstration of nigro-neostriatal tract by degeneration silver method. "Exper. Brain Res.", **17**: 133-138.
- SZABO, J. (1971): A silver impregnation study of nigrostriate projection in the cat. "Anat. Rec.", **169**: 441.

A. LLAMAS  
Departamento de Morfología  
Facultad Autónoma de Medicina  
Madrid (España)

## TRANSFORMACIONES EXPERIMENTALES DEL SUBSTRATO ANTEROHIPOFISARIO TRAS LA ESTIMULACIÓN ADENAL EN LA RATA BLANCA JOVEN Y SU REPERCUSIÓN EN EL TIMO<sup>(1)</sup>

POR

J. LLORET GARCÍA<sup>(2)</sup>

*A D. José Escolar, con nuestro más sincero reconocimiento y admiración.*

### *Introducción y antecedentes bibliográficos*

Si consultamos cualquier tratado de histología o biología médica, publicados hasta el último lustro, nos daremos cuenta de las escasas líneas que le dedican al estudio morfofuncional de la glándula tímica, y es que, aparte de la función linfopoyética ya conocida desde antaño, se poseían escasos conocimientos respecto a su papel fisiológico y su relación con los demás órganos del cuerpo.

El desarrollo científico de estos últimos años se ha preocupado del problema hasta el punto que se ha abierto un nuevo capítulo en la percepción morfofuncional de dicha glándula.

El paso inicial fue el de recopilar una bibliografía capaz de darnos una imagen actual sobre los conocimientos más actuales y recientes de la glándula tímica y su relación directa con el sistema endocrino y neuroendocrino.

Para ello nos centramos fundamentalmente en dos puntos: por un lado, el estudio histológico de la glándula, formada en su ma-

(1) Resumen de la tesis doctoral leída en Valencia el 5 de mayo de 1976 y calificada de Sobresaliente "cum laude", por el tribunal formado por los profesores R. Báguena Candela, J. Colomer Sala, M. Valdés Ruiz, V. Smith-Agreda y A. Llombart Bosch. Dirigida por el Prof. Dr. D. V. Smith-Agreda.

(2) Prof. adjunto. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Valencia.

yoría a expensas de linfocitos tímicos, sin olvidar los corpúsculos de Hassal, células epiteliales reticulares, células macrófagas, células mioides, células plasmáticas y eosinófilos.

Por otro lado, en sus funciones. Dos funciones primordiales se le han imputado a dicha glándula.

Una, la función hormonal preconizada por autores como GOLDSSTEIN (1968), HOFFMAN (1969), THRESLEFF (1966), DESMENDT (1966), etc., etc., los cuales le atribuyen al timo la responsabilidad de segregar una sustancia llamada timina que actúa afectando a la transmisión neuromuscular.

Sin embargo, es la función linfopoyética e inmunológica del timo la más estudiada, dada la abundante bibliografía y la infinidad de trabajos realizados en los últimos años.

De los estudios de esta importante función, realizada por multitud de autores como MARCHESI (1964), GOWANS (1964), LITTLE (1962), BUCTON (1964), NOSSAL (1964), METCALF (1956), etc. Se desprende que los linfocitos precursores de células inmunocompetentes se originan en la médula ósea, y que posteriormente entran en el timo multiplicándose rápidamente, para pasar posteriormente a la circulación como linfocitos inmunológicamente competentes. Por otro lado, el timo juega un gran papel en el mantenimiento de la competencia inmunológica, estando en período de comprobación el que exista una hormona capaz de inducir la formación de células inmunocompetentes.

### *Planteamiento del problema*

Alentados por los trabajos de PIERPAOLI y SORKIN (1964), los cuales encuentran una degranulación de las células acidófilas de la hipófisis en ratones timentomizados al nacer, lo mismo que una involución tímica en ratones jóvenes tratados con suero antihipófisis. Nos animaron a realizar un estudio que siguiendo la línea establecida en nuestra Cátedra iniciada por GARCÉS (1971), sobre estimulaciones hipofisarias, nos acercara a comprender un poco más las relaciones neuroendocrinas del eje hipotálamo-hipófisis-timo.

Elejimos como medio de estimulación los procedimientos físicos, siendo la radiación ultravioleta de la hipófisis la escogida.

Basándonos en anteriores trabajos de la Cátedra sobre estimulación hipofisaria y en la extensa bibliografía recopilada, orientamos nuestro trabajo según las directrices siguientes:

1.º Evolución clínica de las ratas irradiadas. 2.º Estudio morfológico de la hipófisis. 3.º Estudio morfológico del timo. 4.º Estu-

dio histoquímico del timo. 5.º Estudio histoquímico de la hipófisis. 6.º Estudio histométrico del timo. 7.º Estudio estadístico del timo. 8.º Estudio ultraestructural del timo. 9.º Valoraciones hormonales con técnica de Ria.

Todos los trabajos se realizaron con un número igual de animales experimentales y testigos.

### *Material y métodos*

El animal elegido para dichas experiencias ha sido la rata albina o *Mus norvegicus*, de tres meses de edad, por ser, según SOREN CRISTENSEN (1952), la edad más apropiada para nuestras experiencias. De sexo macho, a fin de evitar cualquier alteración hormonal que cabe prever en la rata hembra.

El anestésico utilizado ha sido el nembutal sódico vial intraperitoneal a una dosis de 40 mg/Kg peso diluidos al 10 %.

El abordaje de la hipófisis lo realizamos vía retrofaríngea según la técnica empleada por SMITH, P. E. (1930) y modificada por GARCÉS (1972). La maniobra de trepanación de la silla turca la realizamos manualmente con una broca de taladro de 2'5 mm de diámetro.

Terminada esta maniobra dejamos al descubierto la hipófisis anterior; en este momento termina la intervención para los animales control, mientras que los experimentales son expuestos durante 5 minutos a irradiación hipofisaria con rayos ultravioleta.

La irradiación la realizamos con una lámpara de rayos ultravioleta Quarzlampen-Hanau, a una dosis constante de 450 ergios/mm<sup>-2</sup>/seg<sup>-1</sup> medida con un dosificador LATARJET (1963) y durante un tiempo de cinco minutos.

Todos los animales que sirvieron para la experiencia fueron sacrificados bajo anestesia, para proceder a realizar una laparotomía media y toracotomía bilateral a fin de rechazar aquellos que presentasen alguna alteración y recoger las piezas objeto de estudio.

En nuestras experiencias hemos utilizado un total de 80 animales, todos ellos machos. De éstos, a 40 se les irradió la hipófisis, y el resto (40) sufrieron la misma intervención sin ser irradiados. Estos 80 animales fueron divididos en cinco grupos, por lo que cada grupo corresponde a un estudio determinado; el grupo primero y más numeroso estuvo destinado al estudio clínico morfológico y estadísticos (40 animales). El segundo grupo (16 animales), estuvo destinado al estudio histoquímico. El grupo tercero (8 animales) fue dedicado a valoraciones hormonales (Ria). El grupo

cuarto (8 animales), a las técnicas de detección de lípidos. Y el grupo quinto (8 animales) estuvo dedicado al estudio ultraestructural. A todos ellos se les dividió en cuatro series, dependiendo del tiempo de evolución entre la intervención y la autopsia, que se realizó a los 5, 10, 15 y 30 días de la intervención; series A, B, C, D respectivamente.

A todos estos animales añadimos un grupo de cinco, a los que no se les hizo ninguna clase de experiencia, y que los utilizamos como patrón.

Los métodos de tinción que han permitido el logro de las imágenes objetivas sobre los que fundamentar nuestro estudio han sido:

- A) Métodos histológicos generales.
  - Tricrómico de Mason (variante Goldener).
  - Policromo en dos tiempos F-1 de Cabanes.
  - Pearson-O'Neil más tricrómico.
- B) Métodos histológicos especiales.
  - Cromohematoxilina floxina de Gomori.
  - Tricrómico en un tiempo de Gabe y Martoja.
- C) Métodos histoquímicos.
  - Reacción de ác. peryódico-Schiff (PAS).
  - Aldehído tionina PAS de Ezrin y Murray.
  - Azul de toluidina variante de Lison.
  - Estudios de birrefringencia.
  - Fosfina 3R.
  - Azul de Nilo.
  - Oil Red 0.

Los estudios de densidad celular se han centrado fundamentalmente sobre los linfocitos corticales y medulares. Los estudios cariométricos se han centrado sobre los linfocitos corticales y medulares y células epiteliales reticulares.

A estos estudios hemos aplicado el método semicuantitativo de FLODERUS (1944) y los resultados numéricos han sido sometidos al test de Student.

El capítulo lo cerramos con las hojas resumidas de protocolos.

### *Resultados obtenidos*

#### *En el estudio macroscópico del timo*

En todas las series de ratas experimentales, los valores medios del peso de la glándula tímica son mayores que los correspondientes a las series testigo.

La mayor diferencia aparece entre los testigo de 15 días con 0'200 gr de peso medio y los experimentales del mismo tiempo con un peso medio de 0'278 gr, por lo que la diferencia a favor de los segundos es de 0'078 gr.

Tanto las series experimentales como las testigo el peso de la glándula aumenta progresivamente, alcanzando su máximo valor entre los 10 y 15 días de la experiencia, para descender lentamente, alcanzando a los 30 días de la intervención valores ligeramente superiores que los encontrados a los 5 días de la intervención.

#### *En el estudio morfológico de la corteza y médula*

En dichos estudios hemos encontrado una perfecta delimitación entre corteza y médula, tanto en los animales experimentales como en los testigo. Hemos encontrado en ambos grupos de animales perfecta delimitación de los lobulillos tímicos. En ambos grupos de animales hemos encontrado sustancia PAS +. No hemos apreciado ninguna diferencia corticomedular entre animales control y experimental estudiados comparativamente.

#### *En el estudio morfológico de los corpúsculos de Hassal*

Del estudio comparativo entre las dos series de animales se desprende: los corpúsculos de Hassal observados en los animales experimentales nos ha parecido son de mayor superficie que los experimentales con un contenido más abundante de material amorfo degenerativo. El número de capas concéntricas de células epiteliales que los forman es mayor en los animales experimentales. Mayor superficie clara existente entre los corpúsculos y los linfocitos adyacentes. El número de corpúsculos de Hassal por lobulillo tímico se ha mantenido constante en ambos grupos de animales (fig. 1).

#### *En las células epiteliales reticulares*

Del estudio morfológico de estos componentes tímicos realizados por nosotros se desprende: El número de células epiteliales reticulares parece ser mayor en las series experimentales que en las testigo, junto con una mayor afinidad por los colorantes del retículo citoplasmático. La presencia continua de vasos en los alrededores de las células epiteliales reticulares es constante. Aumento de espacios claros ocupados por células epiteliales reticulares y macrófagos en los animales experimentales junto con abundante material PAS+. El dato más característico es quizá el au-

mento del tamaño nuclear comprobado estadística y cuantitativamente (fig. 2).

#### *En los linfocitos corticales y medulares*

Hemos encontrado alteraciones en la densidad celular con respecto a las ratas testigo, que se expresan por un ligero aumento en los primeros días de la experiencia, seguido de una disminución que alcanza su punto máximo a los 15 días para los linfocitos corticales y a los 10 días para los medulares.

Hemos encontrado alteraciones en el tamaño nuclear expresados por un aumento de éste, alcanzando su máximo desarrollo a los 15 días para los linfocitos corticales y entre los 10-15 días para los medulares.

La presencia de células linfocíticas con dos nucleolos nos parece más frecuente en los animales experimentales que en los patrones control.

#### *En el estudio histoquímico del timo*

De los estudios realizados con técnicas especiales para la detección de lípidos en el parénquima tímico se desprenden los siguientes resultados:

En los animales testigo: La técnica de azul de Nilo nos ha puesto en evidencia que la presencia de lípidos es en escasa cantidad y de carácter ácido. Con las técnicas del Oil Red O, birrefringencia y fosfina 3R se ha encontrado escasa presencia de lípidos y que pudiéramos considerar como de normal. Los escasos depósitos de lípidos encontrados se hallan distribuidos anárquicamente formando pequeños grumos, con un ligerísimo predominio en zona cortical.

En los animales experimentales: Con la técnica de azul de Nilo nos ha puesto en evidencia que no existe material lipídico neutro en ninguna de nuestras series experimentales y la escasísima presencia de lípidos de naturaleza ácida.

Con las técnicas del Oil Red O, birrefringencia y fosfina 3R no hemos detectado la presencia de lípidos ácidos neutros en ninguna de nuestras series de animales.

#### *En el estudio histométrico y estadístico*

De este estudio cuantitativo de los componentes tímicos referidos al índice cariométrico se desprenden los siguientes resultados:

En los *linfocitos corticales* de las diferentes series no hemos encontrado diferencia alguna entre el grupo de animales testigo y el de ratas normales. Sin embargo, en los animales experimen-

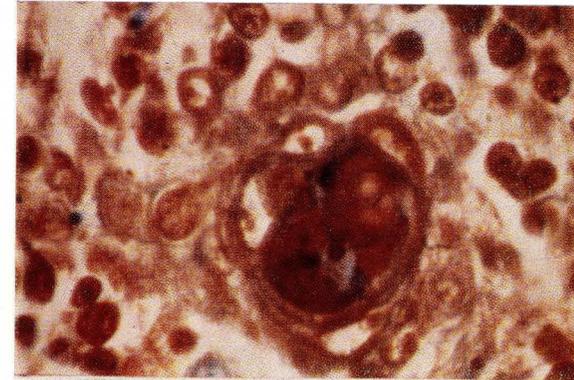


FIG. 1

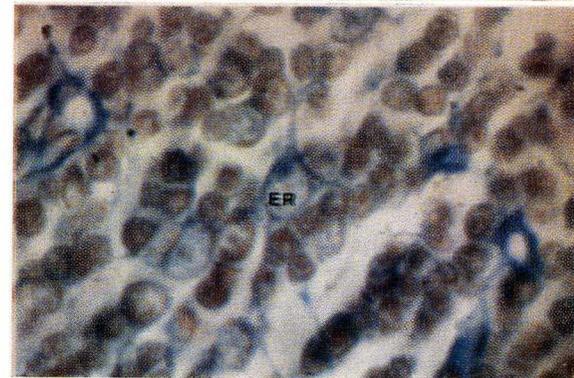


FIG. 2

FIG. 1. — Experimental de 5 días. Medular. Corpúsculo de Hassal bien definido; obsérvese la estructura globulosa hialina, formada por abundantes células epiteliales reticulares dispuestas a manera de hojas de cebolla. Destaca en el centro la abundancia de material amorfo degenerativo. Método tricrómico. Aumentos, 1.250 en negativo.

FIG. 2. — Experimental de 5 días. En ER una célula reticular llamada dendrítica en razón a sus expansiones citoplasmáticas, densamente cromófilas. Método Pearson O'Neil. Aumentos, 1.250 en negativo.

tales el índice cariométrico sufre un franco aumento a los 10 días de la experiencia, alcanzando su culminación a los 15 días, para descender a valores casi normales a los 30 días.

En los *linfocitos medulares* el fenómeno es superponible.

De los estudios realizados en cuanto a la densidad celular de estas mismas células se desprende que mientras para el grupo de ratas normales y testigos las medias se mantienen con igual índice, sin embargo en los grupos de animales experimentales la densidad celular disminuye a partir de los 10 días, alcanzando su punto máximo a los 15 días, para, progresivamente, recuperarse, hasta que a los 30 días de la experiencia la densidad celular alcanza valores prácticamente iguales a los del grupo de ratas normales y testigo.

Los estudios cariométricos realizados en las células epiteliales reticulares revelan que tanto en las ratas testigo como en las normales, los índices cariométricos no varían, mientras que para el grupo de ratas experimentales el tamaño nuclear aumenta progresivamente a valores muy superiores a los normales, alcanzando su máximo desarrollo a los 15 días de la experiencia; pasado esta fecha comienzan a regresar hacia la normalidad, hasta que a los 30 días el tamaño nuclear de estas células en los animales experimentales todavía es ligeramente superior a las respectivas ratas normales y testigo del mismo tiempo.

### *En el estudio ultraestructural del timo*

El estudio ultraestructural de la glándula tímica ha estado enfocado fundamentalmente hacia las células epiteliales reticulares y macrófagos.

Las células macrófagas comienzan a ser más evidentes y numerosas a partir de los 15 días de evolución. Estas células presentan todas las características morfológicas de una célula en intensa actividad, con su aparato de Golgi denso situado paranuclearmente formando pequeñas cisternas concéntricas, abundantes gránulos densamente osmófilos de variado tamaño, abundantes gránulos de lisosomas y cuerpos densos probablemente de material lípido, las mitocondrias por lo general abundantes las encontramos en diferentes estadios funcionales (fig. 3).

Las células epiteliales reticulares han sido las que más atención les hemos prestado. Su típica morfología con las extensiones citoplasmáticas ocupando extensas superficies e intentando contactar con la mayor cantidad de linfocitos posible. Los tonofilamentos característicos en esta especie celular han sido de manifestación constantes; sin embargo, no hemos observado desmosomas. A me-

dida que se avanza más en días de experiencia, las vesículas intraprotoplasmáticas se hacen más numerosas y algunas de ellas rellenas de cierto material de estructura fibrilar (fig. 4).

Sin embargo es a los 30 días de la experiencia cuando hemos encontrado ciertos fenómenos más acusados que en el resto de las otras series. Estos fenómenos consisten en un englobamiento progresivo de los linfocitos por las células reticulares epiteliales hasta conseguir aislarlos del resto de sus vecinos, y posteriormente producir su degeneración y muerte, pero sin incluirlos dentro de su



FIG. 3

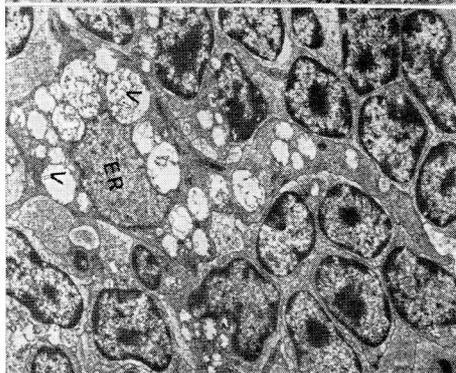


FIG. 4

FIG. 3. — Experimental de 30 días. Medular. Panorámica. El centro de la preparación está ocupado por una célula epitelial reticular (ER) con un núcleo escotado debido a la presión ejercida por las múltiples vesículas (V) y con abundantes tonofilamentos (T). El protoplasma se extiende a manera de dedo de guante intentando contactar con la mayor cantidad de linfocitos posible. 1.700×.

FIG. 4. — Experimental de 15 días. Medular. El centro de la preparación lo ocupa el núcleo de un macrófago (M). La frecuencia de estas células comienza a ser más evidente a partir de los 15 días. El protoplasma contiene abundantes gránulos osmófilos y restos de detritus celulares. Obsérvese en P la presencia de un plasmocito. 1.700×.

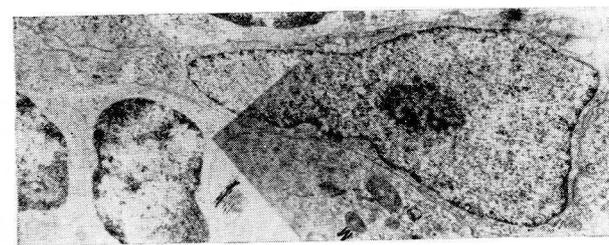


FIG. 5. — En pocas ocasiones hemos observado la presencia de ciertas células caracterizadas por un núcleo N, en forma de botella con buena delimitación de su membrana nuclear conteniendo un nucleolo de disposición central, escasa presencia de protoplasma y ausencia de tonofilamentos y desmosomas. De toda la extensa bibliografía recopilada no hemos encontrado célula alguna que se le asemeje, por lo que creemos se trate de una estirpe celular hasta la fecha no descrita en el timo de la rata. Testigo de 15 días. Medular. 18.000×.

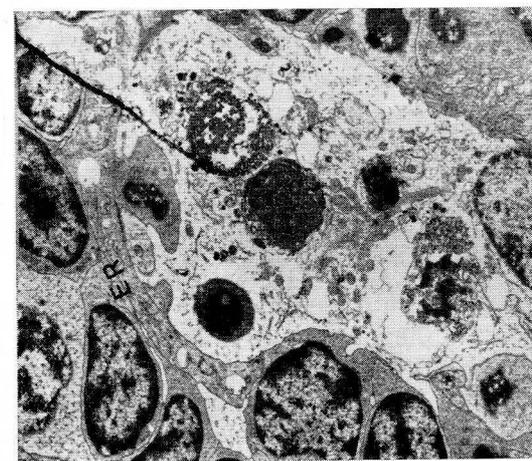


FIG. 6. — Experimental de 30 días. Medular. Fase final del mecanismo de empiropoiesis. En ER el protoplasma de una célula epitelial reticular engloba una superficie extensa de linfocitos pignóticos degenerados y apartados del medio. Los núcleos se conservan, no así su protoplasma, que se ha roto y el contenido ha sido vertido. 1.700×.

protoplasma. Este fenómeno a diferencia de otros mecanismos de lisis celular se les denomina *empiropoiesis*, y es el hecho morfológico más demostrativo encontrado en los animales experimentales de 30 días (fig. 6).

### *En el estudio morfológico de la hipófisis*

Mediante las técnicas descriptivas hemos observado, en primer lugar, un marcado aumento de la caverna hipofisaria, la cual encontramos mucho más ensanchada que en las series de animales testigo, a la vez que rellena en su interior de cierta cantidad de coloide, hecho que concuerda con los resultados obtenidos por GARCÉS (1971).

Con respecto al lóbulo posterior, aplicando las técnicas de la cromohematoxilina floxina de Gomori y de AT-PAS orange G hemos observado un marcado aumento de las granulaciones neurosecretoras, constante en todas las series experimentales y que corroboran los resultados obtenidos por GARCÉS (1971) y ESCRIBÁ (1974).

Con los restantes métodos tintoriales topográficos pusimos de manifiesto dos hechos:

El primero fue la abundancia, así como la apetencia tintorial de las células alfa, que se observan en todas nuestras series experimentales, mucho más teñidas que en las testigo y más numerosas, así como su tamaño, que a nuestro parecer es mayor que el de las testigos.

El segundo hecho fue el hallazgo de una variedad celular que no hemos encontrado en ninguna de las ratas testigo. Se trata de la presencia de ciertas células de aspecto poligonal de gran tamaño, con un gran protoplasma de apetencia basófila ocupado por grandes vacuolas y dispuesto constantemente en situación perivascular que se corresponde con el mismo tipo de célula encontrada por GARCÉS (1971) y ESCRIBÁ (1974) (fig. 7).

Para realizar un intento clasificatorio de estas células llamadas de la "irradiación", aplicamos los métodos de Gomori y fundamentalmente las técnicas del AT-PAS de Ezrin y Murray y PAS.

La célula de la irradiación se nos muestra como PAS+ en su protoplasma; sin embargo, no podemos decir lo mismo de su contenido vacuolar. Sin embargo, con las técnicas de AT-PAS orange G de Ezrin y Murray, nos confirmó el mayor tamaño de las células STH-O-cito de las hipófisis irradiadas, al tiempo que nos permitió encuadrar a las células de la irradiación como de ascendencia cromófila grupo basófilo tipología beta 2, sin descartar la posibilidad de su ascendencia gonadotrófica.

### *En las valoraciones hormonales con la técnica de Ria*

Para confirmar los resultados morfológicos con hechos funcionales determinamos hacer unas valoraciones hormonales referidas a la hormona STG. Pero dado que los productos empleados no se

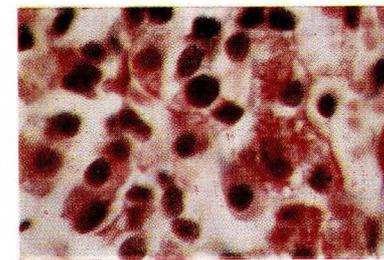


FIG. 7. — Experimental de 30 días. Lóbulo anterior hipofisario. Células de la irradiación. Destaca su gran protoplasma algodonoso, núcleo de disposición central. Dichas células se encuentran adheridas a los vasos y en ocasiones formando grupos celulares. Llama la atención la abundancia de vacuolas citoplasmáticas, así como la abundancia de material PAS+. PAS según McManus. Aumentos, 1.250 en negativo.

corresponden con los del animal utilizado, queremos hacer hincapié en que los resultados no sean los fidedignos que cabría esperar, pero esperamos que en investigaciones próximas nuestras y de nuestros compañeros que trabajan en la misma línea corroboren o declinen estas valoraciones.

Los resultados obtenidos muestran valores más elevados de STH en las ratas experimentales que en las testigo y que en conjunto ofrecen una media de 2'6 ng/ml obtenida en las ratas experimentales frente a un valor medio de 1'65 ng/ml obtenido en los animales testigo.

### *Discusión*

Iniciamos nuestra discusión valorando los hallazgos obtenidos en la glándula adenal, para más tarde correlacionarlos con los obtenidos en la glándula tímica, pues difícilmente podríamos interpretar los resultados en esta última, sin antes no conocer los de aquélla.

El primer hecho morfológico encontrado fue el evidenciar un aumento de las granulaciones de neurosecreción en todas nuestras series experimentales que no se corresponde con los resultados obtenidos en las series testigo. La obtención de este dato nos llevó a pensar si se trataría de una fase de stress o de un proceso hiperfuncionante consecuencia de la acción experimental. En contra del stress se oponen las experiencias de ORTMAN (1951) y SARRAT (1967), los cuales, tras someter a los animales de experimentación al stress de hambre y sed, encuentran que el lóbulo posterior hipofisario disminuye su positividad a la reacción Gomori.

A favor del proceso hiperfuncionante se unen las experiencias de SMITH-AGREDA (1969), DIEPEN, ENGELHARDT y SMITH-AGREDA (1954). Todos ellos coinciden al afirmar que el aumento del depósito de la sustancia Gomori en el lóbulo posterior indica un aumento de la actividad en el eje hipotalámico hipofisario.

Respecto al estudio de la caverna hipofisaria, nos identificamos plenamente con los resultados obtenidos por GARCÉS (1971), a la vez que disentimos de las experiencias de ESCRIBÁ (1974). El hecho de encontrar la caverna hipofisaria más ensanchada en los animales experimentales creemos puede ocasionarla o bien un efecto producido por las técnicas de inclusión o mejor un efecto de exudación y posteriormente trasudación de líquido, pues no podemos olvidar que la irradiación ultravioleta llevaría consigo un efecto similar al de la quemadura, con la consiguiente formación de edema y trasudación de líquidos.

Sin embargo queremos hacer hincapié en el comentario de las células de la "irradiación" obtenidas por GARCÉS (1971), células que no dejan lugar a dudas por su tamaño voluminoso y citoplasma vacuolizado situadas perivascularmente y localizadas en el lóbulo anterior hipofisario. Ha sido nuestro objetivo el procurar clasificarlas dentro del esquema general de Ezrin y Murray.

Ya con el empleo de los métodos morfológicos simples, diferimos de lo que aseguraba GARCÉS (1971), pues les confiere a las células de la irradiación un carácter acidófilo; sin embargo, nosotros hemos podido apreciar con la técnica del tricómico de Mason variante Goldener y policromo F-1 de Cabanes que dichas células de la irradiación pertenecen al grupo de las basófilas, puesto que así lo manifiesta su apetencia tintorial, resultado que concuerda plenamente con el obtenido por ESCRIBÁ (1974).

Con la aplicación de la técnica de PAS, según McMANUS (1948) descartamos la posibilidad se traten de células cromóforas variedad VIII de Pearse o beta-3 de Ezrin y Murray.

Pero con la técnica de AT-PAS anaranjado G es la que más información nos dio al respecto junto con la revisión de los trabajos de PURVES y CRIESBASCH (1951), CURE (1965) y GATZ (1938), que trabajando con animales castrados obtienen una célula llamada de la "castración", que por su descripción morfohistoquímica la haría muy similar a la obtenida por nosotros tras la irradiación. Sin embargo, y teniendo en cuenta que EZRIN y MURRAY (1963) encontraron una variedad celular (TSH) del grupo beta-1 vesiculada en hipófisis de animales hipotiroideos, también nuestras células de la irradiación pudieran ser pertenecientes al grupo beta-1. De esta forma, tras realizar un estudio histoquímico e histológico de la célula de la irradiación, no hemos encontrado un dato lo suficientemente sugestivo capaz de interpretarnos sin lugar a dudas la procedencia de dicha célula de la irradiación, por lo que siguiendo el esquema de Ezrin y Murray a lo sumo podemos decir se trata de una célula cromófila grupo basófilo.

Por último, cabe el señalar que coincidiendo con GARCÉS (1971), ESCRIBÁ (1974) y DÍAZ MAYO (1974), hemos encontrado un aumento del tamaño y número de las células alfa hipofisarias.

De los estudios realizados en la glándula tímica hemos podido objetivar, en primer lugar, que el timo de los animales experimentales se halla más agrandado que el correspondiente a los de las series testigo con una diferencia media de 0'078 gr y una correlación entre peso de la glándula y día de experiencia. Para GOLDSSTEIN y MACKAY (1972), este resultado habría que tomarlo con reservas. Sin embargo, YOUNG y TURBULL (1931) destacan que el peso

del timo alcanza su mayor valor en la pubertad, y BOYD (1932), SELYE (1936), BROLIN y HELLMAN (1954), DAVINSON (1937) demuestran que las fases de stress o los corticoides producen una involución aguda del timo. Hecho que nos corrobora en el sentir de no estar ante una fase de stress y a descartar la participación de las células beta-3 hipofisarias en este proceso.

De los resultados obtenidos estadísticamente referentes al índice cariométrico y densidad celular nos indican, en el sentir de RATHER (1958) y JERUSALEM (1961), que la célula ha aumentado su actividad. Este aumento del índice cariométrico lo podemos explicar al revisar los trabajos de FRAENKEL CONRAT (1940), FEDELMAN (1951) y PIERPAOLI y SORKIN (1967). Imputando el aumento del tamaño nuclear a una hiperproducción de hormona STH como consecuencia de un mayor trabajo de las células acidófilas hipofisarias.

Si a ello unimos los estudios de análisis de lípidos en la glándula tímica, interpretados según los trabajos de CRISTIANA SMITH y HOLST (1953), junto con las valoraciones hormonales de STH, creemos oportuno el afirmar lo que ya dejamos entrever al iniciar la discusión del estudio hipofisario, y es que según los datos reseñados con sus correspondientes comprobaciones, creemos que la glándula hipofisaria influye sobre los componentes celulares de la glándula tímica, fundamentalmente células reticulares epiteliales y linfocitos corticales y medulares, con la producción de STH, la cual actuando específicamente sobre dichos componentes les produciría un efecto trófico durante las dos primeras semanas de la experiencia. En segundo lugar, que el efecto de la irradiación sobre la hipófisis actúa de tal manera que obtiene su máxima expresión morfológica con la aparición de las células de la irradiación y su expresión funcional con una hiperproducción de hormona somatotropa.

Quédanos, por último, y para completar nuestro estudio, el valorar los resultados obtenidos a partir de las observaciones ultraestructurales de la glándula tímica.

En primer lugar encontramos la presencia de un mayor número de macrófagos, sobre todo en los últimos días de la experiencia, unido a la presencia de un mayor predominio de células epiteliales reticulares dendríticas, con aumento del número de las vesículas intraprotoplasmáticas, mayor evidencia de las tonofibrillas y aparición de fenómenos de empiropolesis. Por lo que, los cambios producidos en cuanto a la cantidad y estructura de los macrófagos, los cambios producidos en las células epiteliales reticulares y los fenómenos de empiropolesis, todo ello acaecido en los últimos días de la experiencia, nos hablan, en el sentir de autores tales como

DUNG (1973), METCALF (1967), LLOMBART (1975), HAELST (1967) y BOCKMAN (1972), de un comienzo de involución tímica acontecido en los animales experimentales de 30 días de evolución.

### Conclusiones

1.<sup>a</sup> Hemos realizado un estudio de la hipófisis en la rata blanca joven de tres meses de edad, tras estimulación y exposición hipofisaria, observando alteraciones morfológicas en la misma y su repercusión sobre la glándula tímica, apoyándonos en método morfológicos, estadísticos, histoquímicos, histométricos, inmunológicos y ultraestructurales.

2.<sup>a</sup> La estimulación de la adenohipofisis (realizada con una lámpara de rayos ultravioleta y una dosis de energía constante de  $450 \text{ ergios/mm}^{-2}/\text{seg}^{-1}$ ) provoca alteraciones en el substrato de la misma, comprobando nosotros la aparición de las denominadas "células de la irradiación" obtenidas por GARCÉS y ESCRIBÁ, y la mayor positividad a la reacción Gomori en el lóbulo posterior hipofisario.

3.<sup>a</sup> Dichas células, merced a métodos morfológicos, histológicos e histoquímicos, las clasificamos pertenecientes a la estirpe cromófila grupo basófilo.

4.<sup>a</sup> La estimulación hipofisaria tras la irradiación repercute sobre la glándula tímica de tal forma que, tras un estudio macroscópico, histológico, histométrico y estadístico, hemos determinado una activación de los componentes tímicos, fundamentalmente células epiteliales reticulares y linfocitos corticales y medulares, durante las dos primeras semanas de la experiencia. Pasado dicho período esta alteración morfológica tiende a regresar hacia la normalidad, alcanzando su máxima expresión a los 30 días.

5.<sup>a</sup> El estudio morfológico a microscopía de luz y el histoquímico de los lípidos, con métodos apropiados, nos ponen de manifiesto en todos los animales la ausencia de cualquier signo de involución tímica.

6.<sup>a</sup> Sin embargo, ultraestructuralmente, cierto grado de involución tímica se manifiesta a los 30 días, ya que hemos observado mayor número de células macrófagas, aumento de las vesiculaciones en las células epiteliales reticulares, junto con aumento en el número de sus tonofilamentos y aparición de fenómenos de empiropolesis.

7.<sup>a</sup> Hemos observado tanto en los animales experimentales como en los testigo la aparición de una estirpe celular nueva no

descrita hasta la fecha en el timo de la rata y que creemos se trate de una variedad de célula epitelial reticular.

8.<sup>a</sup> Con métodos de radioinmunoanálisis hemos detectado un aumento considerable de hormona somatotropa en sangre de los animales experimentales.

### Resumen

Tras estimulación anterohipofisaria con luz ultravioleta en la rata blanca joven, hemos determinado la aparición de una célula en el lóbulo anterior hipofisario de los animales experimentales, no encontrada en los testigos, y a la que denominamos "célula de la irradiación".

Al mismo tiempo hemos encontrado alteraciones cuantitativas y cualitativas de los componentes tímicos, fundamentalmente linfocitos, células epiteliales reticulares, macrófagos y corpúsculos de Hassal, así como modificaciones en el índice cariométrico y densidad celular de dichos componentes.

Con técnicas de RIA hemos encontrado variaciones de la hormona somatotropa.

### Summary

Upon anterohypophysal stimulation with ultraviolet light on the young white rat, we have determined the presence of a cell in the anterior hypophyseal lobe of experimental animals, not found on the controls and which we have named "Irradiation cell".

At the same time we found quantitative and qualitative modifications of thymic components, mainly lymphocytes, reticular epithelial cells, macrophages and Hassall's corpuscles, as well as modifications in the cariometric index and cellular density of said components.

With RIA techniques we found variations on the somatotrope hormone.

### Zusammenfassung

In einer jungen weissen Ratte, wurde die Vorhypophyse mit ultravioletten Licht stimuliert.

Wir konnten dabei das Auftauchen einer Zelle im Lappen der Vorhypophyse der dem Experiment unterzogenen Tiere feststellen.

Die gleiche Erscheinung konnte bei Tieren, die nicht dem Experiment unterworfen wurden nicht festgestellt werden.

Diese Zelle wurde darum Radiationszelle benannt.

Gleichzeitig fanden wir eine quantitative Alteration sowie eine qualitative Alteration der Thymuskomponenten, vor allem Lymphozyten, epitheliale Zellen, retikuläre Zellen, makrozophale und Hassalkörperchen, ebenso Modifikationen im Index der Kariometrie und in der Zelldichtheit der genannten Komponenten.

Bei Anwendung der RIA Techniken, haben wir Variationen der somatotropen Hormone feststellen können.

### Résumé

Après stimulation antéhypophysaire avec de la lumière ultra-violette faite sur un jeune rat blanc, on a déterminé l'apparition d'une cellule dans le lobe antérieur hypophysaire des animaux expérimentaux, qui ne se trouvait pas chez les témoins et que l'on a appelé "Cellule de l'irradiation".

En même temps, no a rencontré des altérations quantitatives et qualitatives des composants thymiques, fondamentalement les lymphocytes, les cellules épithéliales réticulaires, les macrophages et les corpuscules de Hassal, ainsi qu'une modification de l'indice caryométrique et de la densité cellulaire de ces composants.

On a rencontré des variations de l'hormone somatotrope par les techniques de RIA.

### BIBLIOGRAFÍA

- ABE, K., e ITO TAKASHI (1970): Fine structure of small lymphocytes in the Thymus of the mouse: Qualitative and Quantitative analysis by electron microscopy. "Z. Zellforsch", **110**: 321-335.
- BOCKMAN y Col. (1972): Fine structure of thymus after bone marrow transplantation, in, and infant with severe combined immunodeficiency. "Lab. Invest.", **26**: 227-239.
- BOYD, E. (1932): The Weight of the Thymus gland in health and in disease. "Am. J. Dis. Child.", **43**: 1162.
- BUCKTON, K. E., y M. C. PIKE (1964): Chromosome investigations on lymphocytes from irradiated patients: effect of time in culture. "Nature", (Londres), **202**: 714.
- CHRISTENSEN, B. (1952): Studies on variations of the argyrophile network in the rat's thymus correlated with the age-groups. "Act. Anat.", **16**: 221-232.
- CURE, M. (1965): Contributions a l'étude cytologique de l'antehypophyse. Tesis. Edit. Bosc. Lyon.
- DAVIDSON, C. S. (1937): Effect of adrenotropic extract upon the accessory reproductive organs of castrated rats. "Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", **36**: 703.
- DESMEDT, J. E. (1966): Pressynaptic mechanisms in myasthenia gravis. "Ann. N. Y. Acad. Sci.", **135**: 209.
- DÍAZ MAYO, M. (1974): Aportaciones al conocimiento de las transformaciones experimentales del substrato anatómico del tiroides tras irradiación ultravioleta hipofisaria en la rata albina. Tesis doctoral. Valencia.
- DIEPEN, R., F. ENGELHARDT y V. SMITH-AGREDA (1954): Über ort und art der Entstehung des neurosekrestes im supra-optico-hypophysären System bei Hund und Katze. "Anat. Anz. Erg. Bol.", **101**: 276-288.
- DUNG, H. C. (1971): Electron microscopic study of the thymus of the normal and "lethargic mice". "Anat. Rec.", **169**: 309 (abstract).
- EZRIN, C., y S. MURRAY (1963): The cells of the human adenohypophysis in pregnancy thyroid disease and adrenal cortical disorders. In Benoit, J. y Lage. Cytologie de l'Adenohypophyse. Colloques internationaux du Centre National de la Recherche Scientifique, n.º 128, Paris.
- ESCRIBÁ, R. I. (1974): Aportaciones a las transformaciones experimentales del substrato anterohipofisario tras la estimulación adrenal en la rata blanca adulta y su repercusión en el callo de fractura diafisario femoral. Tesis doctoral (Valencia).
- FELDMAN, J. D. (1951): Endocrine control of lymphoid tissue. "Anat. Rec.", **110**: 17.
- FLODERUS, S. (1944): Untersuchungen über den Bau der menschlichen Hypophyse mit besonderer Berücksichtigung der quantitativen mikromorphologischen Verhältnisse. "Acta Path. microbiol. Scand.", Suppl. **53**: 271.
- FRAENKEL-CONRAT, H. L., y Col. (1940): Further purification of growth-hormone of anterior pituitary. "Endocrinology", **27**: 605.
- GARCÉS, V. (1971): Aportaciones al conocimiento de las transformaciones experimentales del substrato endocrino suprarrenal tras radiaciones ultravioletas hipofisarias. "An. Anat.", **22**: 247-266.
- GARCÉS, V. (1972): Técnica quirúrgica experimental para la irradiación ultravioleta de la hipófisis en la rata albina. "An. Anat.", **21**: 87-94.
- GATZ (1938): The Cytological relationship between the hypophysis and the germinal epithelium of the testis. "Anat. Rec.", **70**: 619-614.
- GOLDSTEIN, G. (1968): The Thymus and neuromuscular function: a substance in thymus which causes myositis and myasthenic neuromuscular block in guinea pigs. "Lancet", **2**: 119.
- GOLDSTEIN, G., e I. R. MACKAY (1972): El Timo. Su significación en la patología y en la clínica. Ed. Científico-Médica.
- GOWANS, J. L., y E. J. KNIGHT (1964): The route of recirculation of lymphocytes in the rat. "Proc. Roy. Soc. B.", **159**: 257.
- HOFMANN, W. W., y Col. (1969): Subthreshold activity at normal and myasthenic endplates. "Neurology", **13**: 227.
- JERUSALEM, Ch. R. (1961): Funktionelle oder dystrophische Kernschwellung. "Anat. Anz.", **122**: 108-113.
- LITTLE y Col. (1962): Determination of lymphocyte turnover by continuous infusion of H<sup>3</sup> Thymidine. "Blood", **19**: 236.
- LOMBART BOSCH, A. (1975): Epithelio-Reticular Cell Thymoma with lymphocytic "Emperipolesis" an ultrastructural study. "Cancer", **36**: 1794-1803.
- MARCHESI, V. T., y J. L. GOWANS (1964): The migration of lymphocytes through the endothelium of venules in lymph nodes: an electron microscope study. "Proc. Roy. Soc. B.", **159**: 283.
- MCMANUS, J. F. (1948): Histological and histochemical uses of periodic acid. "Stain Technol.", **23**: 99-108.
- METCALFT, D. (1956): The thymic origin of the plasma lymphocytosis stimulating factor. "Brit. J. Cancer", **10**: 442-457.
- METCALFT, D. (1966): The thymus: its role in immune responses leukaemia development and carcinogenesis. Springer Verlag. Nueva York.
- NOSSAL, G. J. V. (1964): Studies on the rate of seeding of lymphocytes from the intact guinea pig thymus. "Ann. N. Y. Acad. Sci.", **120**: 171-181.
- ORTMAN, R. (1951): Über experimentelle Veränderungen der Morphologie des Hypophysen-Zwischenhirn-Systems und die Beziehungen der sog. Gomori-Substanzen zum Adiuiretin. "Z. Zellforsch", **36**: 92-104.
- PIERPAOLI, W., y SORKIN (1967): Relationships between thymus and hypophysis. "Nature" (Londres), **215**: 834.
- PURVES, H. D., y W. E. GRIESBACH (1951): The site of thyrotrophin and gonadotrophin production in the rat pituitary studied by the McManus-Hotchkiss staining for glycoprotein. "Endocrinology", **49**: 144-164.
- RATHER, L. J. (1958): The significance of nuclear size in physiological and pathological processes. "Ergebn. Allg. Path. U. Path. Anat.", **38**: 125-199.
- SARRAT, R. (1967): Modificaciones de la pars intermedia y posterior de la hipófisis producidas por el hambre y la sed. "An. Anat.", **37**: 59-98.
- SELYE, H. (1936): Thymus and adrenal in response of organism to injuries and intoxications. "Brit. J. Exp. Path.", **17**: 234.

- SMITH, C., y E. A. HOLST (1953): Studies on the thymus of the mammal VII. Lipids in the Tymuses of irradiated mice. "Anat. Record", **116**: 123-132.
- SMITH, P. E. (1930): Hypophisectomy and replacement therapy in the rat. "Amer. Jour. Anat.", **45**: 205-273.
- SMITH-AGREDA, V. (1955): La pars infundibularis y la superficie de contacto hipofisaria relacionada con la neurosecreción. "An. Anat.", **4**: 271-278.
- SMITH-AGREDA, V. (1969): Complejo adenohipofisario y relaciones neurovasculares. "Sandorama", **14**: 13-19.
- YOUNG, M., y H. M. TURBULL (1931): An. Analysis— of the data collected bi the status lymphaticus investigation committee. "J. Path. Bact.", **34**: 213.
- THESLEFF, S. (1966): Acetylcholine utilization in myasthenia gravis. "Ann. N. Y. Acad. Sci.", 135-195.

J. LLORET GARCÍA  
Departamento Anatómico  
Facultad de Medicina  
Valencia (España)

## CONEXIONES HORIZONTALES DEL ISOCORTEZ CEREBRAL (Estudio tras el marcaje con peroxidasa)<sup>(1)</sup>

POR

L. MARTÍNEZ MILLÁN<sup>(2)</sup>

### Introducción

EN el estudio de las conexiones verticales del cortex cerebral, NAUTA y col. (1973) practicaron lesiones térmicas de las capas corticales del isocortex de diversos mamíferos. En el mono *Saimiri sciureus*, SPATZ y otros (1970) practicaron lesiones, algunas de ellas superficiales, que permitieron demostrar conexiones descendentes a las capas infragranulares. Posteriormente, MARTÍNEZ-MILLÁN y HOLLÄNDER, (1975) utilizaron inyecciones de leucina tritiada en el mono ardilla y confirmaron los hallazgos de SPATZ y otros.

Al estudiar experimentalmente las conexiones horizontales del cortex puede recurrirse a practicar lesiones estrechas y de profundidad variable. Esto nos permitiría sobre todo visualizar las fibras horizontales degeneradas que se desprendan de la zona lesionada.

Recurriendo al empleo del enzima horteradish peroxidasa pueden visualizarse los somas neuronales que envían su axón hasta el lugar de inyección de la misma. De esta forma se han marcado neuronas neuronales a nivel de la inyección (DOÑATE-OLIVER y MARTÍNEZ-MILLÁN, 1975) y otras origen de conexión cortico-cortical contralateral (JACOBSON y TROJANOVSKI, 1974).

En un primer intento se practicaron iontoforesis de cuantía y duración diversas. Los focos obtenidos fueron lo suficientemente poco intensos como para permitir visualizar somas neuronales a las distancias de conexión intracortical. Por ello hubieron de practicarse microinyecciones de 0'5 a 1 microlitro, que ofrecen marcaje suficiente para un estudio en microscopía de luz.

(1) Trabajo realizado en el Departamento de Anatomía de Zaragoza y dedicado al director del mismo y director de "Anales de Anatomía" Profesor doctor don José Escobar García en el XXV aniversario de la fundación de esta revista.

(2) Colaborador científico del C.S.I.C. en el Departamento Anatómico de Zaragoza.

A fin de poder seguir la evolución de estas conexiones durante el desarrollo hemos realizado una serie experimental de diversas edades desde el recién nacido hasta el adulto.

### *Material y métodos*

El animal experimental utilizado en este estudio es el conejo, debido a que por su facilidad de reproducción puede disponerse de animales de diversas edades. Además, los animales recién nacidos de esta especie ofrecen un tamaño suficiente como para practicar sin dificultad inyecciones en cortex cerebral.

Se realizó una serie de inyecciones desde el recién nacido hasta el adulto, comprendiendo edades de 7, 15, 30 y 60 días. De cada edad se inyectaron dos animales. Tras anestesia intraperitoneal con uretano (1'250 gr/Kg de peso) se practicó un orificio a nivel de ambas áreas 17 y se inyectaron 0'5 microlitros de una solución de horseradish peroxidasa (sigma VI) al 30 % en agua destilada. El sistema de inyección consistió en una microjeringa Hamilton de 5 microlitros impulsada hidráulicamente por una bomba Braun de inyección lenta. El tiempo que duró la inyección osciló de 10 a 15'. Tras una sobrevivencia de 1 a 3 días, los animales se perfundieron pericárdicamente con una solución de paraformaldehído al 2 % y glutaraldehído al 0'5 % en puffer (pH 7'6), se pasaron durante 30' a la solución de incubación: tris-puffer, diaminobencidintetracloruro al 0'05 % y agua oxigenada al 1 %. Después, nuevo lavado breve en tris-buffer y paso al cacodilato; desde allí, montaje en alcohol gelatina.

El material así obtenido fue estudiado y fotografiado con un fotomicroscopio II (Zeiss) mediante luz transmitida convencional.

### *Resultados*

En el animal recién nacido el marcaje de peroxidasa correspondiente al lugar de inyección afecta a todas las capas del cortex cerebral, intensificándose en las inferiores y marcando también a la sustancia blanca. En la figura 1 se visualiza la parte inferior de este lugar de inyección, observándose algunas neuronas homogéneamente marcadas que ofrecen una ramificación dendrítica próxima al soma neuronal. A ambos lados de la inyección aparece en este caso algunas células marcadas por granos de peroxidasa. Son neuronas de tamaño grande y medio; en algunas de ellas se distingue el perfil piramidal de su soma y en otras la forma es más o menos redondeada. Se sitúan en las capas III, IV y V del

cortex. En la figura 2 aparece una neurona piramidal de la capa IV y distante unas 400 micras del lugar de inyección. El marcaje de estas neuronas no es intenso y no se distingue más que el soma. Las células corticales marcadas se distribuyen en una banda de 400-800 micras distantes del centro del lugar de inyección. En este caso sorprende la escasez de fibras marcadas con peroxidasa que se alejan del lugar de inyección.

En el material de los casos de 7 días de edad, el lugar de inyección marca también en profundidad a todo el cortex cerebral. A los lados del lugar de inyección y a nivel de la capa IV se desprenden fibras de trayectos horizontales y de aspecto continuo o arrosariado. A ambos lados del lugar de inyección se observan neuronas de tamaño medio y de forma piramidal o redondeada distribuidas en las capas I-IV a distancias que oscilan de 200 a 600 micras a partir del centro del lugar de inyección.

Los lugares de inyección del animal de 15 días ofrecen un extenso marcaje debido a la gran difusión de peroxidasa. En estos animales, no aparecen neuronas marcadas próximas, sino a mayor distancia, y éstas, fundamentalmente, en las capas III-IV y V y con un marcaje bastante intenso.

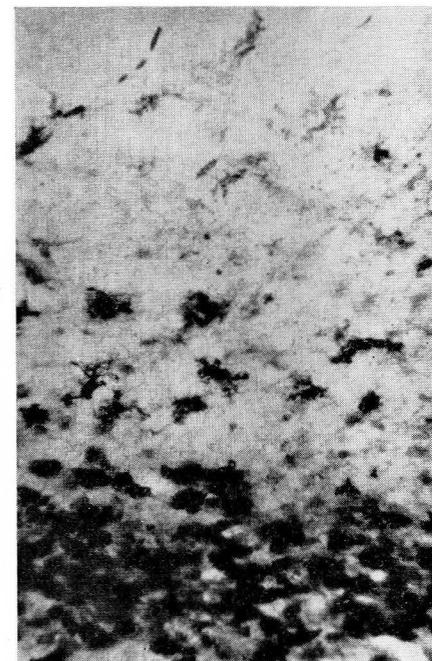


FIG. 1 (400X).

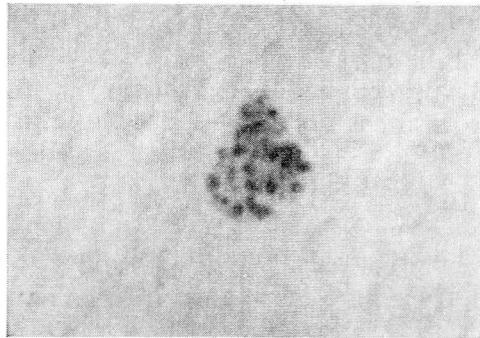


FIG. 2 (4.000×).

En el animal de un mes, el lugar de inyección está menos marcado, aunque comprende todas las capas corticales. De las porciones medias del mismo se desprenden fibras de curso horizontal o ligeramente oblicuo; son de calibre fino y trayectos sinuosos (figura 3). A una distancia de 200-250 micras del lugar de inyección aparecen algunas células de tamaño medio cuyo marcado es débil. Se distribuyen las capas II, III y IV. En la figura 4 aparecen fotografiadas, apreciándose en forma de acúmulos granulares oscuros sobre fondo blanco; en algunas de ellas se distingue bien la porción libre de granos correspondiente al núcleo neuronal cortado a ese nivel.

El animal de 2 meses ofrece un lugar de inyección estrecho que abarca en profundidad a todo el córtex y que muestra hemo-

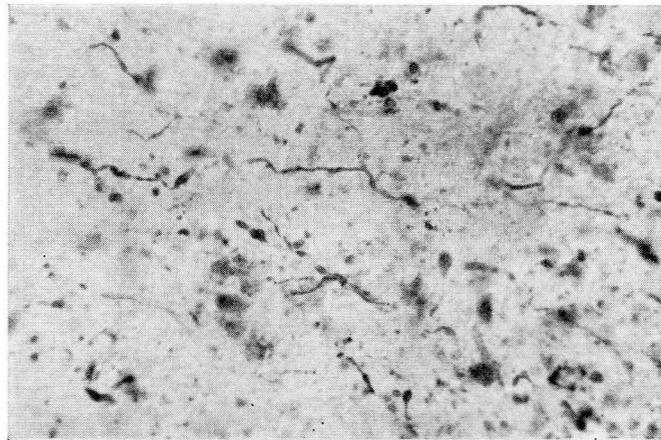


FIG. 3 (400×).

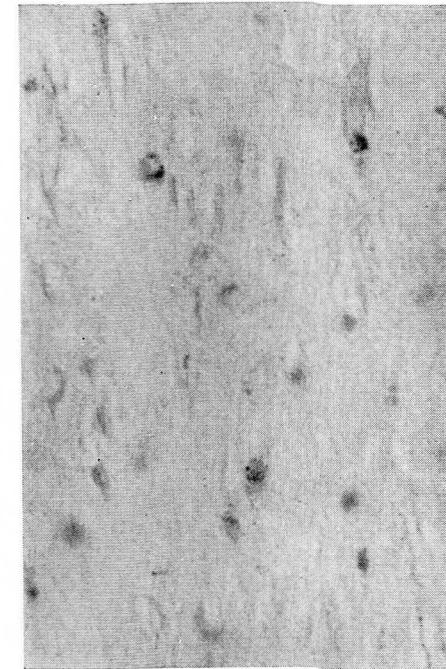


FIG. 4 (400×).

rragia en su centro. En los bordes del mismo se distinguen intensa y homogéneamente marcadas algunas neuronas piramidales grandes, pudiendo seguirse en bastante extensión la dendrita apical de las mismas. En uno de los lados del lugar de inyección se distinguen pequeñas células débilmente marcadas situadas en la capa III y distantes unas 300 micras del lugar de inyección. En este caso es muy abundante el número de axones marcados que, provenientes del lugar de inyección, se dirigen a sustancia blanca para efectuar conexiones cortico-corticales alejadas o conexiones cortico-subcorticales. Los lugares de inyección del animal adulto son amplios. A poca distancia de los mismos (250 micras) aparecen ya neuronas débilmente marcadas en las capas II, III y IV. Alcanzan hasta una distancia de 600 micras. En algunos preparados se visualizan neuronas algo más marcadas y de mayor tamaño situadas en la capa V. En este caso, y a una distancia de 10 milímetros del lugar de inyección, aparecen una serie de neuronas bien marcadas. Esta distancia pertenece ya a otra área cortical. Las neuronas de esta área se distribuyen preferentemente en las capas infragranulares y son de gran tamaño. La forma de las mismas es

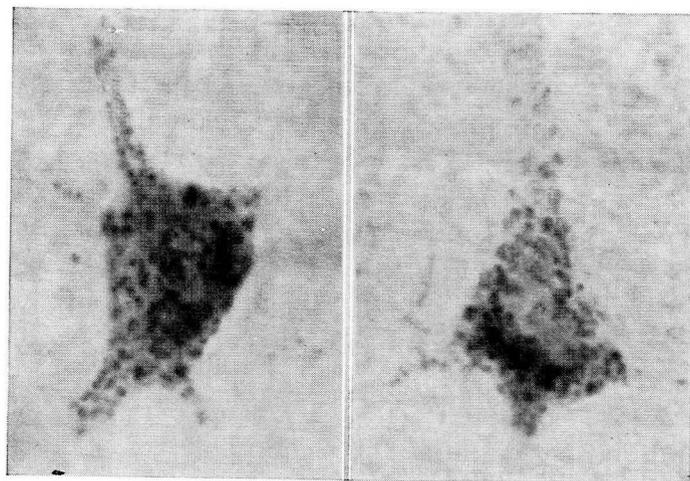


FIG. 5 (4.000X).

FIG. 6 (4.000X).

variable, aunque abundan las piramidales (figs. 5 y 6). El marcado adopta la forma granular típica, se extiende a todo el soma y se insinúa en las porciones iniciales de las dendritas apicales y basales. En algunas (fig. 6) se aprecia en el centro una zona más clara correspondiente al núcleo exento de marcado.

### Discusión

Los lugares de inyección de todos los casos aparecen bien marcados, índice de la buena captación de peroxidasa a todas las edades, a pesar de la inmadurez cortical que se ofrece en el recién nacido. Hemos vuelto a observar la presencia de neuronas homogéneamente marcadas en el mismo lugar de inyección y otras algo más alejadas con un contenido granular. En un trabajo anterior (DOÑATE-OLIVER y MARTÍNEZ-MILLÁN, 1975), comentamos ya que estas diferencias se deben a una captación directa en el primer caso y a un transporte retrógrado terminal-soma en el segundo.

En todas las edades existe la presencia de células de tamaño pequeño-medio y de forma variable que con un débil marcado son el origen de aquellos axones que terminan o pasan por el lugar de inyección. El débil marcado de las mismas contrasta con el gran contenido granular del soma de las neuronas más alejadas, cuyos somas son también de mayor tamaño y se sitúan de preferencia en las capas infragranulares. Estas diferencias pueden explicarse por una menor captación de peroxidasa en los terminales

axonales o en los axones lesionados que, con toda seguridad, son de menor calibre que los de las células grandes alejadas de mayor tamaño. Según HALPERIN y LAVAIL (1975) los axones lesionados captan con más lentitud la peroxidasa, pero ésta tarda más tiempo en desaparecer de los somas neuronales. Nuestros tiempos de sobrevivencia después de la inyección permiten acúmulo y persistencia de peroxidasa, con lo que el menor marcado de estas neuronas se explicaría por la menor captación y transporte retrógrado axonal de las mismas.

Al contrario de lo que ocurre con el marcado de las neuronas, los axones no se distinguen con intensidad hasta en el animal de un mes. Hasta entonces el marcado axonal es poco intenso y se localiza fundamentalmente en aquellas fibras que se dirigen hacia la sustancia blanca o que están situadas en capas infragranulares.

WINFIELD y otros (1975) practicaron inyecciones de peroxidasa en condiciones similares a las expuestas en este trabajo, pero en el mono *Macacus rhesus*. Aunque los autores centran su atención fundamentalmente en conexiones cortico-corticales alejadas y en las cortico-subcorticales (talámicas) describen también la presencia de células débilmente marcadas en la proximidad del lugar de inyección y las fibras marcadas que, a nivel del cortex, llevan un curso horizontal. No aparecen, sin embargo, datos sobre distancias de estas neuronas al lugar de inyección ni distribución exacta de las mismas dentro del cortex. NAUTA y col. (1973) citan la existencia de fibras corticales tangenciales degeneradas tras lesión de capas superficiales del cortex de varias especies de mamíferos. Pero este último trabajo se centra fundamentalmente en el estudio de conexiones verticales descendentes.

Las fibras de curso horizontal que se observan en nuestro material aparecen sinuosas, bien marcadas y de calibre medio. Se localizan fundamentalmente a la altura de las capas IV y V del cortex. Aunque existen células marcadas en capas superiores (II y III). No se observan fibras marcadas que se desprendan del lugar de inyección a ese nivel. Probablemente el fino calibre de estos axones explique esta ausencia de marcados en las mismas. También puede aducirse aquí el mayor transporte retrógrado de peroxidasa que tiene lugar horas después de la inyección en los axones lesionados y que se detiene posteriormente.

En el material de todos nuestros casos, las células corticales débilmente marcadas y próximas al lugar de inyección con peroxidasa se sitúan a distancias variables desde el lugar de inyección, pero agrupadas en una banda longitudinal cuya amplitud oscila entre 200 y 600 micras. Esta distancia parece equivaler o ser un múltiplo de la amplitud de las columnas funcionales de

orientación y dominancia ocular, estas últimas determinadas morfológicamente mediante el empleo del transporte transneuronal después de la inyección en cámara ocular posterior de grandes cantidades de aminoácidos tritiados (HUBEL y WIESEL, 1974; WIESEL y HUBEL, 1974). A su vez estas columnas estarían constituidas por cilindros verticales (CREUTZFELD y otros, 1974), en los que la proporción de inhibición funcional sería superior a la excitatoria.

### Resumen

Se estudian las neuronas origen de conexión cortico-cortical corta tras inyección de peroxidasa en el cortex visual de una serie de conejos desde el recién nacido hasta el adulto. Las neuronas observadas están débilmente marcadas, se distribuyen en las capas II-IV fundamentalmente y se agrupan en una banda de 200-600 micras, alejadas unas 200 micras del lugar de inyección.

### Summary

After injection of horseradish peroxidase in visual cortex of rabbits whose ages reached between newborn and adult, cortical neurons, origin of short cortico-cortical connections, were studied. The observed neurons appeared weakly labelled, were distributed fundamentally in the II, and IV layers. These neurons were situated in a 200-600 microns band at a distance of 200 microns from the injection site.

### Zusammenfassung

In einer Serie von Kanninchen —von neugeborenen bis zum erwachsenen Alter— wurden die Neuronen, Ursprung der nahen kortiko-kortikalen Verbindungen, nach der Injektion von Peroxidase in der visuellen Rinde studiert. Die beobachtete Neuronen waren schwach markiert, verteilten sich hauptsächlich in der II und IV. Sichten und gruppierten sich in einer Streife von 200-600 Mikronen, 200 Mikronen der Injektionsstelle entfernt.

### Résumé

On a étudié les neurones origine des conections cortico-corticales courtes après l'injection de peroxidase dans le cortex visuel d'une série de lapins dès le nouveau né jusque l'adult. Les neurones observés sont faiblement marquées, apparaissent distribuées fondamentalement dans les couches II-IV et sont agrupées dans une bande de 200-600 microns éloignée 200 microns de le lieu d'injection.

### BIBLIOGRAFÍA

- CREUTZFELDT, O., G. M. INNOCENTI and D. BROOKS (1974): Vertical Organization in the Visual Cortex (Area 17) in the Cat. "Exp. Brain Res.", **21**: 315-336.  
 DOÑATE OLIVER, F., y L. MARTÍNEZ MILLÁN (1975): Marcaje con peroxidasa de las neuronas de l cortex cerebral. "An. Anat.", **24**: 231-237.  
 HALTERIN, J. J., y JENNIFER H. LAVAIL (1975): A study of the dynamics of retrograde transport and accumulation of horseradish peroxidase in injured neurons. "Brain Res.", **100**: 253-269.

- HUBEL, D. H., y T. N. WIESEL (1974): Sequence regularity and geometry of orientation columns in the monkey striate cortex. "J. Com. Neurol.", **158**: 267-294.  
 JACOBSON, S., y J. Q. TROJANOVSKI (1974): The cells of origin of the corpus callosum in rat, cat and rhesus monkey. "Brain Res.", **74**: 149-155.  
 MARTÍNEZ MILLÁN, L., y H. HOLLÄNDER (1975): Cortico-cortical projections from striate cortex of the squirrel monkey (*saimiri sciureus*). A. radioautographic study. "Brain Res.", **83**: 405-417.  
 NAUTA, H. J. W., ALBERT B. BUTLER y JOHN A. JANE (1973): Some observations on axonal degeneration resulting from superficial lesions of the cerebral cortex. "J. Comp. Neurol.", **150**: 349-360.  
 SPATZ, W. B., J. TIGGES y M. TIGGES (1970): Subcortical projections, cortical associations and some intrinsic interlaminar connections of the striate cortex in the squirrel monkey (*saimiri*). "J. Comp. Neurol.", **140**: 155-174.  
 WIESEL, T. N., D. H. HUBEL y D. M. K. LAM (1974): Autoradiographic demonstration of ocular-dominance columns in the monkey striate cortex by means of transneuronal transport. "Brain Res.", **79**: 273-279.  
 WINFIELD, D. A., K. C. GATTER y T. P. S. POWEL (1975): Certain connections of the visual cortex of the monkey shown by the use of horseradish peroxidase. "Brain Res.", **92**: 456-461.

L. MARTÍNEZ MILLÁN  
 Departamento Anatómico  
 Facultad de Medicina  
 Zaragoza (España)

## PROYECCIONES A LA CORTEZA PREFRONTAL DEL NÚCLEO SUBMEDIO DEL TÁLAMO EN EL GATO<sup>(1)</sup>

POR

E. MARTÍNEZ-MORENO<sup>(2)</sup>

### *Introducción*

**E**L estudio de las proyecciones talamocorticales que tienen su origen en núcleos inespecíficos talámicos, agrupados bajo el nombre de sistema talámico de proyección difusa en oposición al ya conocido sistema talámico de proyección específico, es tema de discusión en cuanto a los hallazgos obtenidos según los métodos empleados.

Trabajos de LE GROSS CLARK y BOGGON (1935) y ROSE y WOOLSEY (1943) pusieron de manifiesto proyecciones talamocorticales de grupos celulares no específicos hacia corteza.

Las estructuras talámicas implicadas en estas proyecciones son los núcleos de la línea media (núcleos submedio, reuniens, central medial, ventral medial, anteromedial y romboidal), lámina medular interna, así como núcleo ventral anterior y complejo reticular del tálamo.

Estudios sobre la organización de estos núcleos talámicos se han realizado por métodos electrofisiológicos (DEMPSEY y MORISON, 1942; JASPER, 1949; STARZL y MAGOUN, 1951; JOUVET y MICHEL, 1958; VELASCO y LINDSLEY, 1965).

Estudios de las proyecciones talamocorticales de los núcleos de la línea media también se han realizado empleando métodos anterógrados y retrógrados.

WARREN y col. (1962), en gatos, tras extirpaciones de corteza del gyrus proreus, encuentran gliosis en núcleo submedio. NAUTA y WHITLOCK (1954), tras pequeñas lesiones en núcleos de la línea

(1) Este trabajo ha sido realizado, en parte, con una ayuda a la investigación del Instituto Nacional de Previsión.

(2) Profesor agregado de Anatomía. Departamento de Morfología. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid. Prof. F. Reinoso-Suárez.

media que afectan al núcleo submedio, encuentran proyecciones en gyrus proreus, corteza medial y orbitofrontal. MARTÍNEZ-MORENO (1969-1972), tras lesiones en núcleos de la línea media, encuentra proyecciones al gyrus proreus. En ratas, JONES y LEAVITT (1974), inyectando peroxidasa en su corteza medial frontal, encuentra neuronas marcadas con peroxidasa en núcleo submedio.

Con los métodos empleados hasta ahora es difícil señalar qué zona del gyrus proreus que comprende la corteza prefrontal es la relacionada con las proyecciones del núcleo submedio.

El objetivo de nuestro trabajo es demostrar las proyecciones del núcleo submedio sobre corteza prefrontal del gato. Para ello, inyectamos horseradish peroxidase (H.R.P.) en distintas zonas del gyrus proreus y observamos la aparición de neuronas marcadas con peroxidasa en el núcleo submedio.

### Material y métodos

La aparición del método del transporte axonal retrógrado de una peroxidasa vegetal (H.R.P.), nos permite explorar con gran precisión la situación de somas neuronales que proyectan sus axones a otras partes del sistema nervioso. Para explorar la corteza prefrontal del gato (gyrus proreus) se han utilizado 18 gatos adultos. Bajo anestesia con nembutal se han practicado inyecciones de H.R.P. en el gyrus proreus de 0'5-1'5 ml de H.R.P. (sigma tipo VI). Las zonas ocupadas por las diversas inyecciones se muestra en la figura 1, A y B. Tras supervivencias que oscilan entre 44 y 56 horas, los animales fueron perfundidos, previa anestesia con nembutal, con 400 ml de una solución de glutaraldehído-paraformaldehído (2'5-2 %) en puffer fosfato 0'2 M (pH 7'2) y a continuación 300 ml de esta misma solución, pero a doble concentración (5-4 %). Los cerebros fueron extraídos y procesados con la modificación de LLAMAS y MARTÍNEZ-MORENO (1974) a la técnica introducida por LA VAIL y LA VAIL (1972) para revelar la H.R.P. en el sistema nervioso central. Para identificación de estructuras nerviosas hemos empleado el atlas de REINOSO-SUÁREZ (1961).

### Resultados

#### *Inyecciones de H.R.P. en corteza prefrontal que dan lugar a la aparición de neuronas marcadas en núcleo submedio*

Cuando la inyección es tan amplia que afecta tanto a la cara basal como a la lateral y medial de la corteza prefrontal (fig. 1 A, G-1 y G-17) aparecen masivamente neuronas marcadas con peroxi-

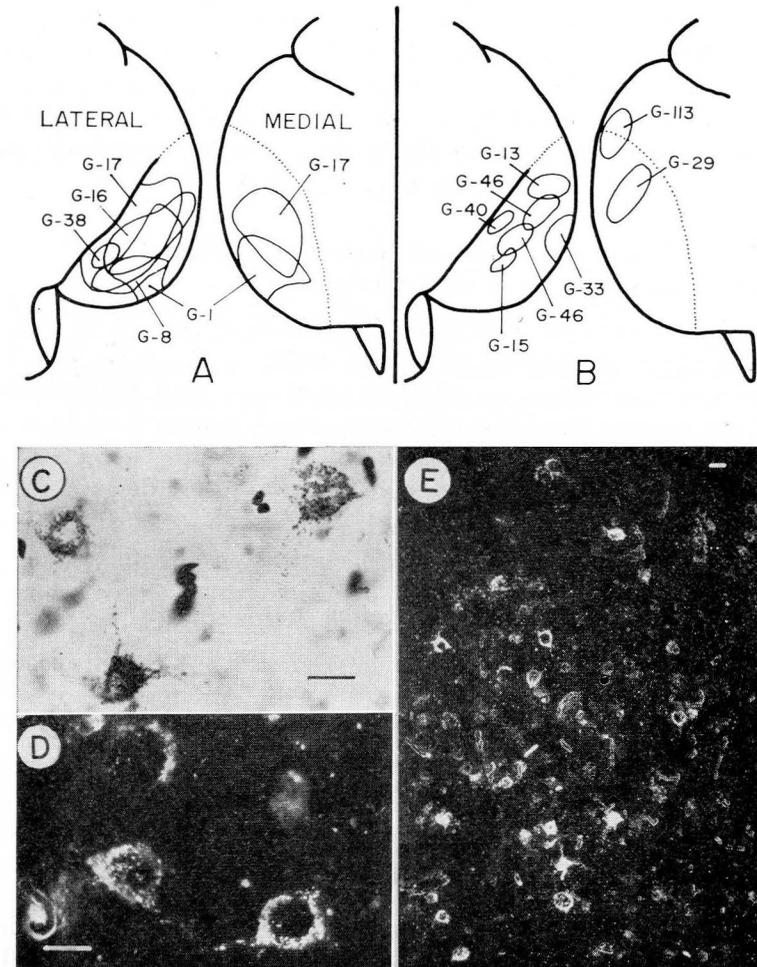


FIG. 1. — A) Extensión y situación de las inyecciones de H.R.P. en corteza prefrontal que dan lugar a neuronas marcadas en núcleo submedio. B) Inyecciones de H.R.P. con ausencia de neuronas marcadas en dicho núcleo. Línea de puntos, es el límite posterior de corteza prefrontal. Microfotografías en campo claro (C) y oscuro (D y E) de neuronas marcadas con H.R.P. en núcleo submedio después de inyecciones de esta enzima en gyrus proreus. Barra=80  $\mu$ .

dasa en este núcleo. Igualmente en inyecciones amplias en la cara basal del gyrus proreus, como el G-16 (fig. 1 A), que se extiende desde la porción rostral hacia la zona caudal y basal, pero que no afecta a cara medial; también se encuentran neuronas marcadas con peroxidasa en dicho núcleo. Inyecciones limitadas a la cara basal del gyrus proreus (fig. 1 A, G-8) dan lugar a neuronas marcadas con H.R.P. en el mismo núcleo. Finalmente, tras una pequeña inyección en el límite entre las caras lateral y basal del gyrus proreus en su porción caudal se observan escasas neuronas marcadas en núcleo submedio (fig. 1 A, G-38).

#### *Inyecciones de H.R.P. en corteza prefrontal y ausencia de neuronas marcadas en el núcleo submedio*

Con inyecciones de H.R.P. en la porción dorsal de la cara medial de corteza prefrontal (fig. 1 B, G-113 y G-29) no dan lugar a neuronas marcadas en núcleo submedio. Las inyecciones de H.R.P. en la cara lateral del gyrus proreus tampoco marcan neuronas en este núcleo (fig. 1 B, G-13, G-46, G-40, G-46, G-15), así como las inyecciones situadas en la parte anterior de la cara basal de esta circunvolución (fig. 1 B, G-33).

#### *Discusión*

Los datos que existen en la literatura sobre las proyecciones corticales de los núcleos de la línea media son en la mayoría de tipo electrofisiológico.

Lo que sí resulta claro es la íntima relación entre núcleos inespecíficos talámicos y corteza prefrontal. El precisar sobre las proyecciones de cada una de las formaciones que integran los núcleos de la línea media es difícil. Con los métodos anterógrados, al lesionar estructuras talámicas se afectan también las proyecciones de otras vías. Con los métodos retrógrados los problemas de interpretación de la gliosis y la consideración de que la lesión afecte a mayor o menor número de colaterales, es un obstáculo para precisar. Actualmente, con la nueva técnica de la H.R.P., podemos precisar qué grupos neuronales proyectan sobre zonas muy concretas del sistema nervioso.

WARREN y col. (1962), en gatos tras extirpaciones de corteza del gyrus proreus, encuentran gliosis en el núcleo submedio. NAUTA y W.)2514; (1954) tras lesiones en núcleo submedio, encuentra degeneración terminal en gyrus proreus, corteza medial y orbitofrontal. MARTÍNEZ-MORENO (1964, 1972), tras lesiones en núcleos de la línea media, encuentra proyecciones a gyrus proreus. Estos hallaz-

gos con H.R.P. confirman los resultados de estos autores, ya que inyecciones extensas en gyrus proreus muestran abundantes neuronas marcadas con H.R.P. en núcleo submedio (fig. 1 A, G-1 y G-17). También inyecciones limitadas a la cara basal en su porción caudal, incluso a la porción más caudal de la cara lateral (aunque en menos cantidad) dan lugar a neuronas marcadas en este núcleo. No sucede así con las inyecciones situadas en la porción anterior y media de la cara lateral ni en las situadas en la porción anterior de la cara basal y en la porción dorsal de la cara medial del gyrus proreus. Esto hace suponer que el núcleo submedio proyecta principalmente a la cara basal del gyrus proreus en sus dos tercios posteriores haciéndolo posiblemente también a la parte ventral de la cara medial de la corteza prefrontal y en menor cuantía a la porción caudal de la cara lateral del gyrus proreus.

JONES y LEAVITT (1974), en ratas inyectando H.R.P. en corteza medial frontal, encuentran neuronas marcadas en núcleo submedio. Es difícil hacer una correlación topográfica de los hallazgos de los autores citados con los aquí señalados por la distinta disposición de la corteza precentral en estas dos especies animales. Sin embargo, tanto después de las lesiones en la porción rostral de núcleos de la línea media (MARTÍNEZ-MORENO, 1969) como en lesiones de núcleo submedio de NAUTA y WHITLOCK (1954) se observan fibras degeneradas que son más abundantes en parte caudal de la división basolateral del gyrus proreus. Estas proyecciones se extienden hacia delante, en el caso de MARTÍNEZ-MORENO (1969) a la cara basal y porción ventral de la cara medial del gyrus proreus, coincidiendo en ello con estos hallazgos.

#### *Resumen*

Se han realizado inyecciones de H.R.P. en corteza prefrontal de gatos adultos, estudiándose la aparición de neuronas marcadas en núcleo submedio.

Las inyecciones amplias en gyrus proreus y las que afectan los dos tercios posteriores de la cara basal del gyrus proreus y la parte ventral de su cara medial, dan lugar a neuronas H.R.P. positivas en núcleo submedio. No ocurre así con las inyecciones situadas en la cara lateral y parte superior de la cara medial de esta corteza prefrontal.

#### *Summary*

Eighteen adult cats have been injected in gyrus proreus (prefrontal cortex) with 0.5-1.5 ul. of H.R.P. After survival intervals around 48 h., the animals were perfused and brains processed according to a modification to the method of La Vail and La Vail (1972). Extensive H.R.P. injections in the gyrus proreus of the cat gave rise to labelled cells in the nucleus submedius thalami. When small injections were made to survey the entire gyrus proreus, only those placed either in the caudal 2/3 of its basal face or ventrally in the medial side of this gyrus produced labelling of cells in the nucleus

submedius. No labelled neurons did appear in this nucleus after injections situated either in the lateral face or in the dorsal portion of the medial face of the gyrus proreus.

### Zusammenfassung

Weitgreifende H.R.P. Inyecciones im ganzen Gyrus proreus der Katze ergaben markierte Zellen im n. submedius thalami. Fuhrte man geringe Inyecciones durch, um den ganzen Gyrus proreus zu studieren, so ergaben nur diejenigen, die entweder die caudalen 2/3 seiner basalen Fläche oder ventral auf der medialen Seite dieses Gyrus gelegen waren, markierte Zellen im n. submedius.

### Résumé

On a étudié la présence de neurones teintés dans le noyau submedius en pratiquant des piqûres avec H.R.P. dans l'écorce préfrontale chez les chats adultes.

Seulement les grandes piqûres dans le gyrus proreus et celles-là qui atteignent aux deux tiers postérieurs de la face basale du gyrus proreus et la région ventrale de sa face médiale, donnent origine à des neurones H.R.P. positives dans le noyau submedius. Par contre, les piqûres localisées dans la face latérale et partie supérieure de la face médiale dans l'écorce préfrontale ne se teignent pas.

### BIBLIOGRAFÍA

- DEMPSEY, E. W., y R. S. MORISON (1942): The production of rhythmically recurrent cortical potentials after localized thalamic stimulation. "Amer. J. Physiol.", **135**: 293-300.
- JASPER, H. H. (1949): Diffuse projection systems: the integrative action of the thalamic reticular system. "Electroenceph. clin. neurophysiol.", **1**: 405-420.
- JONES, E. G., y R. Y. LEAVITT (1974): Retrograde axonal transport and the demonstration of non-specific projections to the cerebral cortex and striatum from thalamic intralaminar nuclei in the rat, cat and monkey. "J. Comp. Neur.", **154**: 349-378.
- JOUVET, M., y F. MICHEL (1958): Recherches sur l'activité électrique cérébrale au cours du sommeil. "C. R. Soc. Biol." (Paris), **152**: 1167-1170.
- LA VAIL, J. H., y M. M. LA VAIL (1972): Retrograde axonal transport in the central nervous system. "Science", **176**: 1416-1417.
- LE GROS-CLARK, W. E., y R. H. BOGGON (1935): The thalamic connections of the parietal and frontal lobes of the brain in the monkey. "Phil. Trans. Roy. Soc. London", **224 B**: 313-359.
- LLAMAS, A., y E. MARTÍNEZ-MORENO (1974): Modificaciones al método del transporte axonal retrógrado de la horseradish peroxidase en el sistema nervioso central en el gato adulto. "An. Anat.", **23**: 431-443.
- MARTÍNEZ-MORENO, E. (1969): Degeneración anterógrada tras lesiones en la región ventro-oral del tálamo. "Trab. Inst. Cajal Invest. Biol.", **61**: 169-214.
- MARTÍNEZ-MORENO, E. (1972): Proyecciones aferentes a gyrus proreus. "An. Anat.", **21**: 513-526.
- NAUTA, W. J. H., y D. G. WHITLOCK (1954): An anatomical analysis of the non-specific thalamic projection system. In: "Brain mechanisms and consciousness, Blackwell, Oxford", pp. 81-116.

- REINOSO-SUÁREZ, F. (1961): "Topographischer Hirnatlas der Katze". E. Merck, AG. Darmstadt.
- ROSE, J. E., y C. N. WOOLSEY (1943): A study of thalamocortical connections in the rabbit. "Bull. Johns. Hopk. Hosp.", **73**: 65-128.
- STARZL, T. E., y H. W. MAGOUN (1951): Organization of the diffuse thalamic projection system. "J. Neurophysiol.", **14**: 133-146.
- VELASCO, M., y D. B. LINDSLEY (1965): Role of orbital cortex in regulation of thalamocortical electrical activity. "Science", **149**: 1375-1377.
- WARREN, J. M., H. WARREN y K. AKERT (1962): Orbitofrontal cortical lesions and learning in cats. "J. Comp. Neurol.", **118**: 105-113.

E. MARTÍNEZ-MORENO  
Departamento de Morfología  
Facultad de Medicina  
Universidad Autónoma  
Madrid (España)

# ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL DE LA MORFOLOGÍA DEL EPITELIO TUBÁRICO HUMANO EN LAS DIVERSAS FASES DE LA VIDA GENITAL DE LA MUJER

POR

M. MONTESINOS CASTRO-GIRONA<sup>(1)</sup>

*Al Prof. Escolar, ejemplo de dedicación y entrega*

## *Introducción*

Los estudios realizados sobre las características morfológicas y funcionales, tanto a microscopía óptica como a microscopía electrónica de transmisión, del epitelio tubárico, han sido numerosos, pero no han conseguido resolver los problemas que se plantean acerca del origen de las células que constituyen este epitelio y las modificaciones que sufren las mismas a lo largo de las diversas fases del ciclo sexual en la mujer.

Desde los trabajos de FROMMEL (1886), NICOLAS (1890) y VOINOT (1900) sabemos que el epitelio monoestratificado que reviste el interior de la trompa se halla formado por tres tipos celulares: las células secretoras, las células ciliadas y las células en empalizada.

Los estudios a microscopía electrónica realizados en trompas fetales con el fin de aclarar el origen y características de estos tres tipos celulares y sus posibles transformaciones de unos en otros son muy escasos en la literatura mundial. CLAYMAN (1966) ha demostrado que las células secretoras poseen numerosas organelas, un complejo de Golgi bien desarrollado, y microvillis en la superficie libre de la membrana, pero no encontró la presencia de gránulos de secreción.

VOINOT (1900), y más tarde NOVAK y EVERT (1928), a pesar de que consideraban que el epitelio tubárico de la recién nacida era

(1) Profesor adjunto. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Valencia.

semejante al de la mujer adulta, no fueron capaces de demostrar histológicamente la presencia de cilios en la trompa fetal. HASHIMOTO (1962) y CLAYMAN (1966) han descrito células tubáricas fetales que presentaban una sola línea de cilios y que estructuralmente se hallaban formados por dos pares de túbulos en vez de los nueve normales.

Las primeras comunicaciones sobre los posibles cambios típicos de este epitelio tubárico se deben a HOLZBACH (1908), que apreciaba un aumento considerable de las células en empalizada en la fase premenstrual. JÄGERROOS (1912) demostró un aumento de las células secretoras en la fase final del ciclo. Los estudios a microscopía electrónica de transmisión son bastante numerosos (BORREL, 1956; MORICARD, 1960; HASHIMOTO, 1962, 164; BRENNER, 1967; MARTNEK, 1967, 1968; OVERBECK, 1967, 1968; STEGNER, 1962; BRENNER, 1969; BULLON, 1974) con resultados discordantes acerca de las modificaciones que sufrían los diversos tipos celulares del epitelio tubárico en las diversas fases del ciclo genital durante la vida sexual activa de la mujer.

Por último, los estudios ultraestructurales realizados sobre las características morfológicas del epitelio tubárico en el embarazo y en la menopausia y senilidad tampoco son demasiado numerosos ni concordantes. NOVAK, EVERT y col. (1928) hablan de un aplanamiento del epitelio tubárico en la última fase de la gestación. TIETZE (1929) considera que las características del epitelio tubárico en la gestación son semejantes a las de la fase premenstrual del ciclo. KATZ (1929) considera que en el embarazo hay una deciliación del epitelio por transformación de estas células en células secretoras. YUHARA (1955) considera que durante el embarazo existe un aplanamiento del epitelio tubárico por atrofia de las células ciliadas y careciendo también de función secretora.

Hemos de llegar hasta los años 1964 y 1967 en los que HASHIMOTO y MARTINEK estudian con detalle las características del epitelio tubárico durante el embarazo. Más recientemente, son HORBELT (1970) y PATEK (1973) los que estudian ultraestructuralmente las características del epitelio tubárico durante la gestación. Los resultados de estos últimos autores tampoco son concordantes.

Por lo que se refiere a las características morfológicas del epitelio tubárico en la menopausia y senilidad, los trabajos existentes en la literatura mundial dejan algunos puntos oscuros, así como revelan opiniones contradictorias. Los trabajos de HEEHNE (1903), HEIST (1913) y TROCHER (1919) afirmaban que existía una pérdida de las células ciliadas a lo largo de la menopausia sin determinar con exactitud cuándo se producía esta desaparición. El último de los autores citados observaba la persistencia de corpúsculos ba-

sales durante mucho tiempo después de que las células hubiesen perdido sus cilios. NOVAK y EVERETT (1920) y TIETZE (1929) encontraban un adelgazamiento progresivo del epitelio a lo largo de la menopausia con disminución del número de células ciliadas, aumentando sin embargo las células secretoras. HASHIMOTO y col. (1964) estudiaron ultraestructuralmente el epitelio tubárico en la menopausia precoz, encontrando una deciliación del mismo con persistencia de los corpúsculos basales y una disminución de tamaño de las células secretoras que no hacían hernia en la luz tubárica y no presentaban gránulos de secreción.

Con el fin de aportar algún dato positivo sobre las características morfológicas del epitelio tubárico aclarando los puntos oscuros existentes, epitelio tubárico que desempeña un papel fundamental en los mecanismos de transporte y nutrición del concepto durante las primeras fases del desarrollo embrionario, hemos realizado un estudio ultraestructural de dicho epitelio a lo largo del ciclo vital de la mujer.

### *Material y técnicas*

Para este estudio se han utilizado un total de treinta trompas. Seis de ellas pertenecientes a fetos y recién nacidas obtenidas por biopsia postmortem inmediata. Doce pertenecientes a mujeres normales obtenidas mediante biopsia durante laparotomías por diversos motivos y pertenecientes a las diversas fases del ciclo genital normal. Seis pertenecientes a mujeres embarazadas, tres de ellas correspondientes al primer trimestre de la gestación (5, 6 y 8 semanas), obtenidas en el curso de la intervención por gestación ectópica, y otras tres pertenecientes a gestación a término obtenidas por biopsia tubárica en el curso de la operación cesárea a que fueron sometidas. Y por último, seis trompas, tres correspondientes a la menopausia precoz y la menopausia tardía y tres correspondientes a la senilidad.

Todas ellas se fijaron en glutaraldehído tamponado a pH 7.4 y se incluyeron y prepararon en la forma habitual en la sección de microscopía electrónica de nuestro departamento.

### *Resultados obtenidos y discusión*

#### *Epitelio tubárico fetal y de la recién nacida*

A microscopía electrónica observamos un epitelio uniestratificado con células pobres en organelas de núcleo oval o redondo, con una membrana nuclear envolvente doble y de muy escasas

invaginaciones. El núcleo presenta una cromatina granular fina, con pequeña tendencia a colocarse en la membrana nuclear. Las mitocondrias son escasas, pequeñas y distribuidas homogéneamente por el citoplasma. Poseen un retículo endoplasmático pobre de tipo granular y formado por ribosomas y escasos polirribosomas. El complejo de Golgi está escasamente desarrollado. No se observan gránulos de secreción típicos de las células secretoras maduras y esporádicamente se encuentran gránulos densos próximos a las mitocondrias y al retículo endoplasmático (fig. 1).

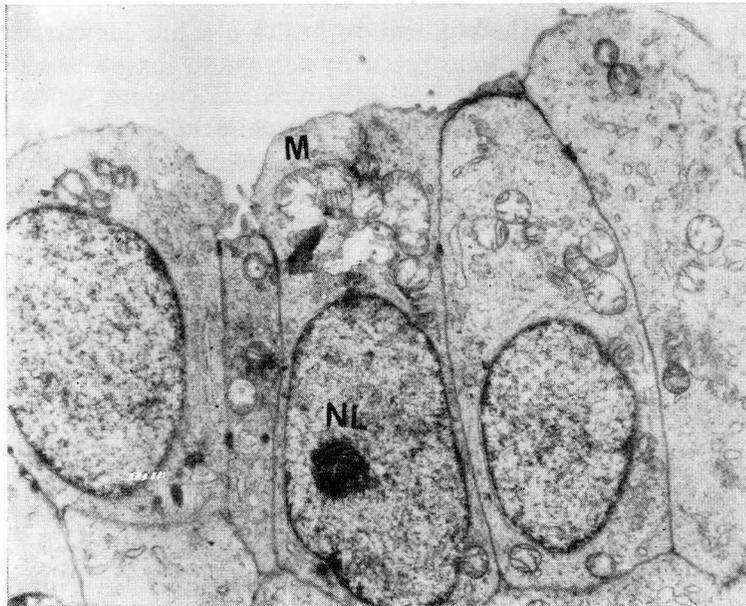


FIG. 1. — Epitelio tubárico fetal. Se trata de células cúbicas, de núcleo grande, oval o redondo, con escaso citoplasma pobre en organelas.

La membrana celular es de límites netos, con desmosomas pequeños poco numerosos y prácticamente lisa a nivel de la luz; sólo excepcionalmente se observan microvillis.

En ninguno de los casos fetales se observaron cilios perfectamente desarrollados, y sólo en uno de ellos se observó en el interior del citoplasma una fase de ciliogénesis inicial al observar un centríolo con sus nueve pares de túbulos periféricos y el par central, no habiendo encontrado los cilios descritos por HASHIMOTO (1962) y CLAYMAN (1966) formados por los dos pares de túbulos (fig. 2).

La célula ciliada la encontramos ya claramente presente en el epitelio de la recién nacida, siendo posible observar todas las fases

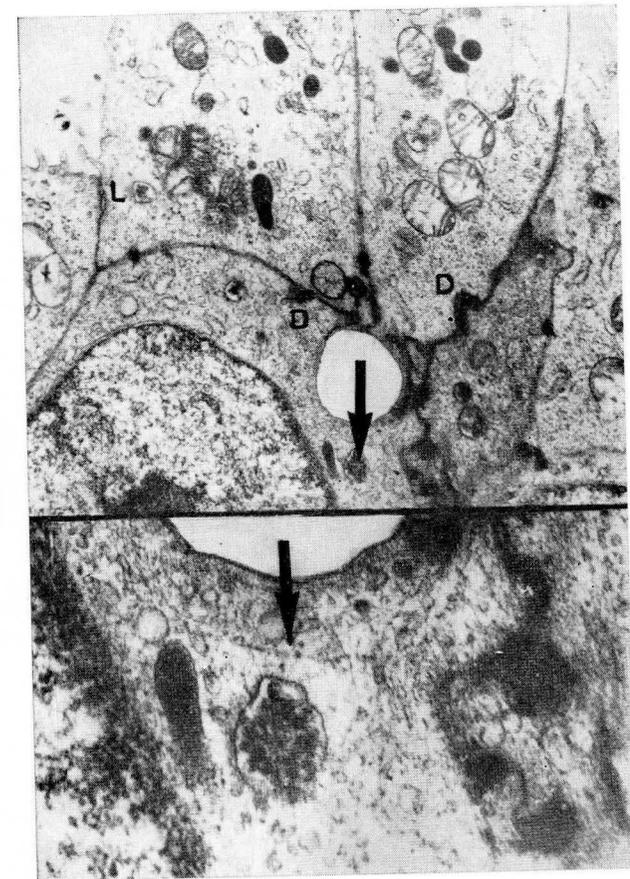


FIG. 2. — Epitelio tubárico fetal en el que se aprecia una fase de ciliogénesis inicial (flecha).

de la ciliogénesis que se ajustan al esquema de DIRKSEN, CROKER (1965) SOROKIN (1962, 1968) (figs. 3, 4, 5).

#### *Epitelio tubárico a lo largo del ciclo genital*

Las células ciliadas a lo largo de todo el ciclo presentan pocas modificaciones apreciables ultraestructuralmente. No hemos apreciado el aumento descrito por OVERBECK (1967) de estas células en la fase ovulatoria (figs. 6 y 7).

El núcleo de estas células es grande, oval o redondeado, cuya forma, tamaño y estructura no varía a lo largo del ciclo. Únicamente hemos hallado un mayor acodamiento de la cromatina formando una banda gruesa en la segunda fase del ciclo. No hemos



FIG. 3. — Epitelio tubárico de la recién nacida, en el que se aprecian células secretoras y células ciliadas.

podido apreciar los abundantes gránulos de cromatina densa apreciados por OVERBECK (1967) ni los cuerpos multivesiculares densos de estructura laminar vacuolada descritos por BJÖRKMAN (1962) probables partículas de glucógeno aisladas.

El citoplasma es electrónicamente claro, con abundantísimas mitocondrias en ambas fases del ciclo, no habiendo podido apreciar el aumento de las mismas en la fase preovulatoria (HASHIMOTO, 1962, 1964), habiendo encontrado, de acuerdo con OVERBECK (1967) y BJÖRKMAN (1962), un aumento en longitud en las épocas pre y postovulatorias. BJÖRKMAN (1962) las sitúa supranuclearmente; MORICARD (1960), por el contrario, las describe situadas en la zona infranuclear; nosotros las encontramos perinuclearmente, sobre todo al final del ciclo.

Los desmosomas de unión entre estas células son muy numerosos, en lo que no coincidimos con OVERBECK (1967), que afirma que son muy escasos.

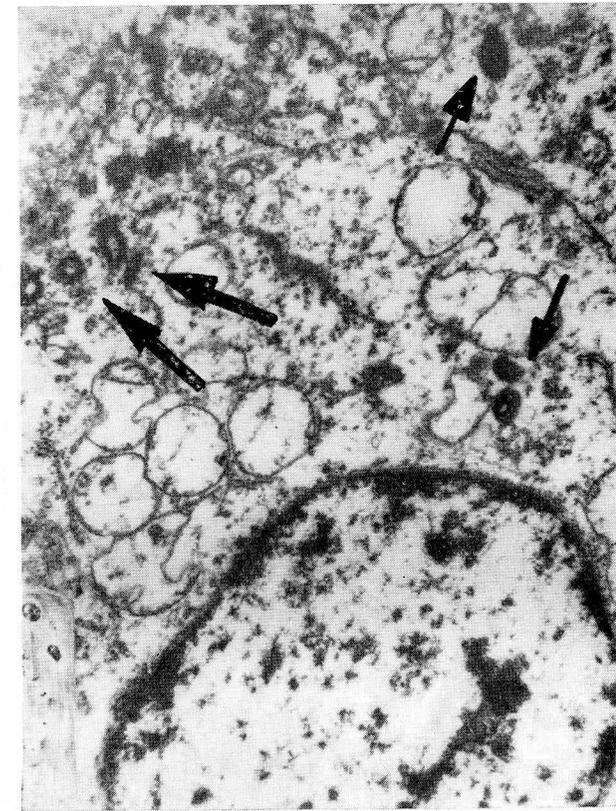


FIG. 4. — Epitelio tubárico de la recién nacida. Las flechas marcan acúmulos de centriolos.

La zona apical de estas células se caracteriza por la presencia de microvillis y la estructura típica que les da su nombre los cilios que presentan una estructura normal de  $9 \times 2$  pares de túbulos que se originan de los corpúsculos parabasales, aumentando en número en la época ovulatoria. Los procesos de ciliogénesis se observan en todas las fases del ciclo, pero son más frecuentes en la primera mitad.

Por el contrario, las células secretoras presentan una serie de cambios cíclicos ultraestructuralmente muy manifiestos y mejor sistematizados por los diversos investigadores (figs. 8 y 9).

Con respecto al núcleo y de acuerdo con lo descrito por HASHIMOTO (1962, 1964), OVERBECK (1967), BJÖRKMAN (1962), BORRELL (1956) y BULLON (1974) se hace más irregular en la segunda fase del ciclo presentando la doble membrana nuclear múltiples inva-



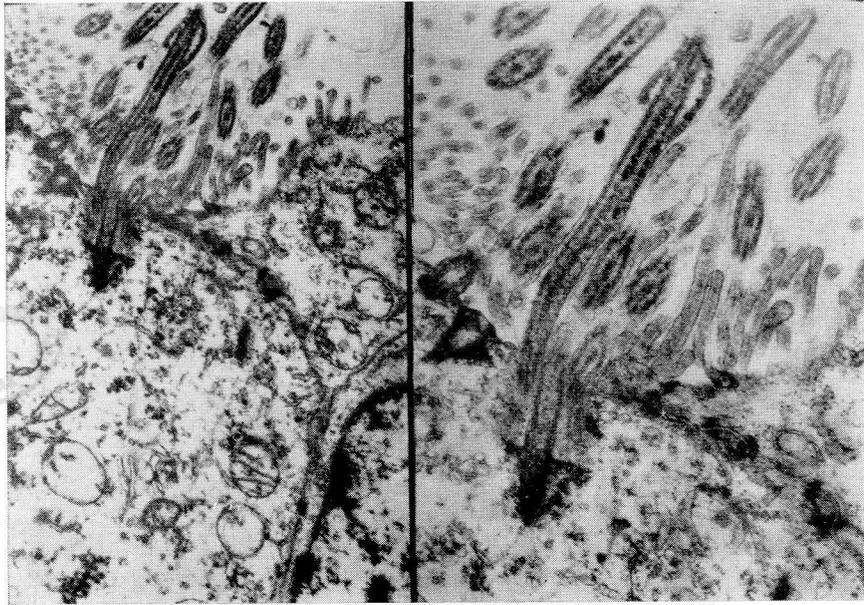


FIG. 5. — Epitelio tubárico de la recién nacida. Fase tardía de la ciliogénesis. Se aprecian los cuerpos parabasales y los cilios desembocando en la luz.

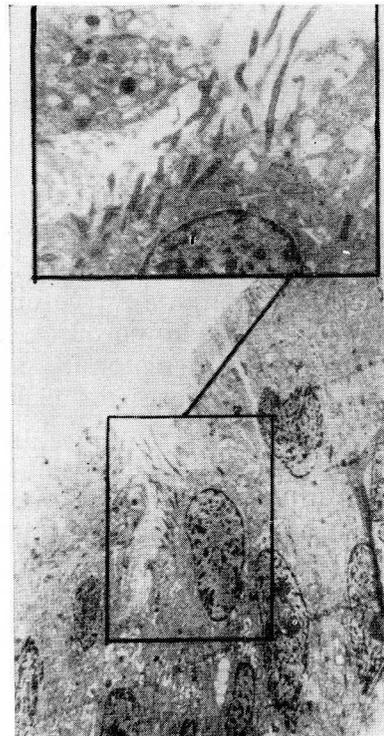


FIG. 6. — Sección de epitelio tubárico correspondiente al día 4 del ciclo y en el que se observan las características de las células ciliadas. Se aprecia su núcleo oval, de escaso contenido cromatinico.

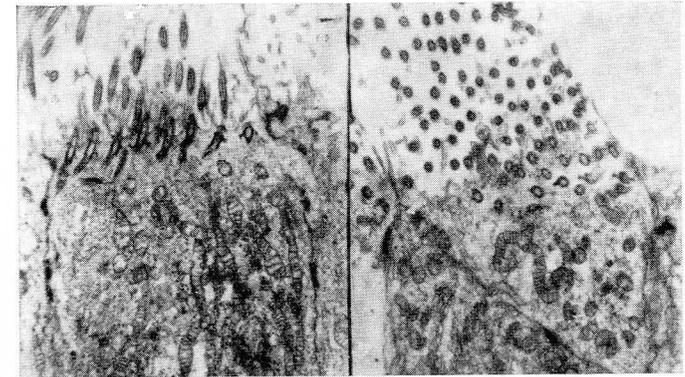


FIG. 7. — Sección del epitelio tubárico correspondiente al día 17 del ciclo. Se aprecian las características de las mitocondrias de las células ciliadas, extraordinariamente grandes, alargadas y paralelas al eje celular.

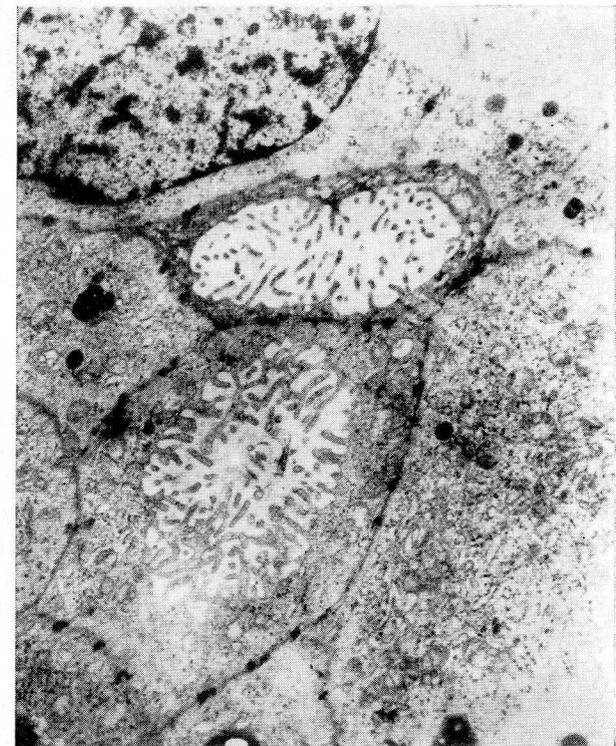


FIG. 8. — Células secretoras del epitelio tubárico en el día 4 del ciclo. Se aprecian los microvillis escasos, largos y finos desembocando en dos grandes vesículas intracitoplasmáticas. En el citoplasma observamos un retículo endoplásmico granular abundante y escasas mitocondrias.

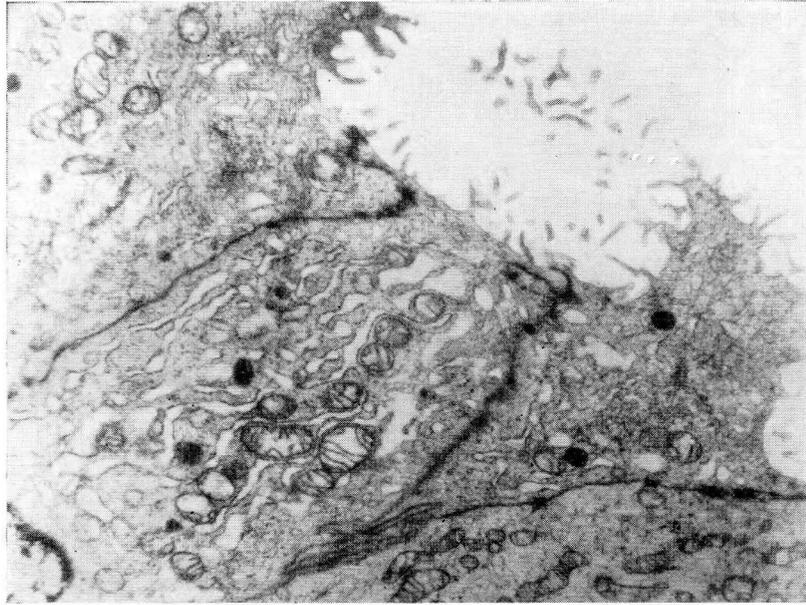


FIG. 9. — Células secretoras del epitelio tubárico correspondiente al día 23 del ciclo. Retículo endoplásmico laminar muy dilatado formando grandes vesículas y cisternas. Se observan gránulos densos de inclusión y elongaciones de la membrana celular con microvillis que hacen hernia en la luz.

ginaciones, a diferencia de las muy escasas que presenta en la primera mitad del ciclo.

En el citoplasma hemos encontrado las dos fases descritas por PULLE; ergastoplásmica en la primera mitad, con una gran concentración de finos gránulos en el retículo endoplásmico, y mitocondrial en la segunda, aumentando el número y tamaño de las mitocondrias, que de estar situadas infranuclearmente en la primera fase del ciclo en la segunda se localizan perinuclearmente y en el polo apical de la célula sobre todo. En esta segunda mitad aparecen también múltiples vesículas en el citoplasma por dilatación del retículo endoplásmico laminar y que coincide con las grandes vacuolas descritas por HASHIMOTO (1962, 1964), OVERBECK y STEGNER (1962).

Pero lo más característico en estas células es la presencia de gránulos poco densos que sufren una descamación apocrina en ambas fases del ciclo, siendo más abundantes en la segunda mitad del mismo y que OVERBECK sólo los halla, lo mismo que STEGNER (1962), en la segunda fase del ciclo. Nuestras observaciones coinciden con las de HASHIMOTO (1962, 1964) BJÖRKMANN (1962), y Bo-

RRELL (1956). Están rodeados por una membrana y su estructura es homogénea.

Las células presentan grandes elongaciones de la membrana celular (fig. 9) que a veces se observan cómo se independizan y aíslan progresivamente de la célula, descamándose a la luz. Los microvillis escasos, largos y poco ramificados en la primera mitad del ciclo aumentan extraordinariamente en número, grosor y ramificación al final de la fase folicular y comienzos de la luteínica.

#### *Epitelio tubárico en la gestación*

Durante la gestación hemos hallado igualmente los tres tipos celulares característicos del epitelio tubárico, es decir, las células secretoras, ciliadas y células de reserva; estas últimas, a diferencia del epitelio normal de la mujer no embarazada, las hallamos en número escasísimo. Durante la gestación hemos observado también una disminución del número de células ciliadas cuyas características ultraestructurales son semejantes a las células ciliadas normales, no habiendo observado diferencias entre las células ciliadas de las porciones intersticial, ampular y fimbriada. Tampoco hemos observado cambios ultraestructurales en estas células entre el comienzo y el fin de la gestación.

Las células secretoras presentan diferencias ultraestructurales significativas entre el comienzo y el final de la gestación.

Al comienzo de la gestación (fig. 10) presentan un aspecto en todo semejante a la de la fase secretora tardía. Son células grandes, de aspecto extraordinariamente globuloso, con un núcleo grande y regular, con numerosas invaginaciones y evaginaciones de la membrana nuclear. La cromatina es generalmente de grano fino. En el citoplasma globuloso llama la atención el gran número de vesículas en su interior que corresponden a las dilataciones del retículo endoplasmático laminar y a lo que se debe la enorme prominencia que hacen estas células en la luz tubárica que llegan a borrar los microvillis. Estas células en la fase final de la gestación (fig. 11) disminuyen extraordinariamente en altura por desaparición de las vesículas del retículo endoplasmático, laminar predominando en el citoplasma el retículo endoplasmático granular formado por ribosomas y escaso número de polirribosomas homogéneamente distribuidos por todo el citoplasma. Las mitocondrias son de menor tamaño que al comienzo de la gestación y el núcleo tiene una forma más regular.

En la parte fimbriada del epitelio tubárico del principio de la gestación hemos hallado un tercer tipo celular formado por células de forma regular y un citoplasma electrónicamente muy denso por

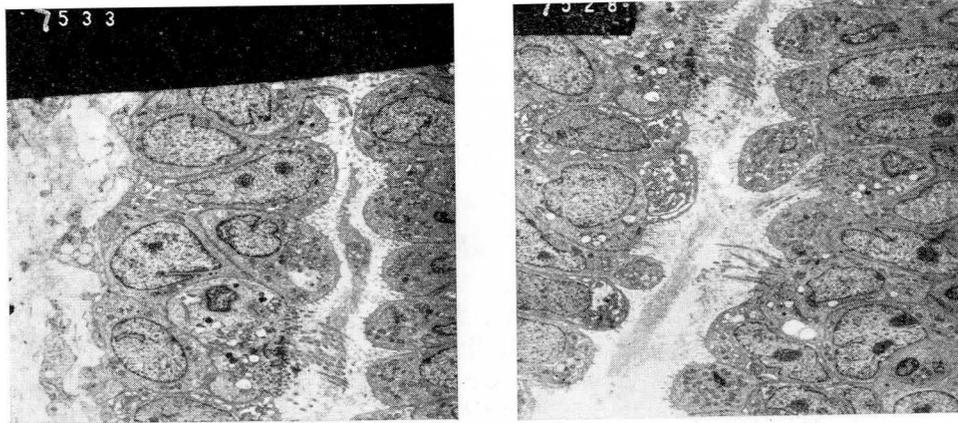


FIG. 10. — Sección del epitelio tubárico correspondiente al primer trimestre de la gestación. Se aprecian las características de las células secretoras, con grandes dilataciones del retículo endoplásmico laminar, que aumenta su tamaño y las hace herniarse en la luz y de las ciliadas.



FIG. 11. — Sección del epitelio tubárico en la fase final del embarazo. Las características morfológicas ultraestructurales de las células ciliadas y secretoras corresponden a un epitelio en fase de reposo.

la presencia de un abundante retículo endoplasmático granular. El núcleo es de forma muy irregular y en la parte apical la membrana celular presenta numerosos microvillis pequeños y aislados. Estas células son probablemente células de reserva iniciales en fase de transformación progresiva hacia células secretoras; a medida que el acúmulo de retículo endoplasmático laminar es mayor, se irían transformando en células normales del epitelio secretor tubárico.

Ocasionalmente hemos hallado en el epitelio de la fimbria al comienzo de la gestación alguna que otra célula de Reynolds o células migratorias del estroma.

#### *Epitelio tubárico en la menopausia y senilidad*

Las características ultraestructurales del epitelio tubárico en la postmenopausia inmediata (fig. 12) y tardía son muy semejantes. Se trata de un epitelio alto con aspecto de pseudopoliestratificación y en la que llaman la atención dos datos importantes; en primer lugar, la disminución brusca de las células ciliadas de caracteres absolutamente normales, y en segundo lugar, la persistencia de una marcada actividad secretora por parte de las células más superficiales. El citoplasma de estas células secretoras es mucho más escaso en la postmenopausia tardía.

La impresión que se tiene al observar el epitelio tubárico senil (fig. 13) es totalmente distinto del epitelio tubárico en la postmenopausia. Éste aparece totalmente liso de altura celular muy baja y formado exclusivamente por una sola línea epitelial que recubre al estroma. Las células son electrónicamente claras debido a la escasa actividad metabólica que poseen.

El núcleo es de forma altamente irregular y la cromatina se deposita formando verdaderos pelotones sobre la membrana. No es infrecuente la presencia de núcleos en cariorrexis con destrucción de la doble membrana nuclear, que presenta grandes poros y zonas de dehiscencias.

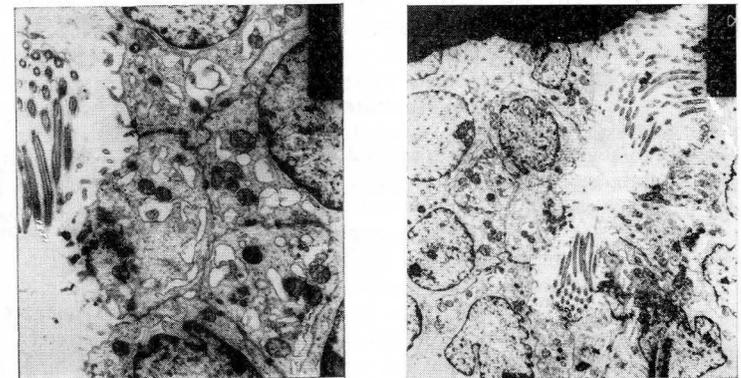


FIG. 12. — Epitelio tubárico en la menopausia precoz. Se observan las células ciliadas, que conservan sus características normales con numerosos cilios, algunos seccionados transversalmente. Las células secretoras, con retículo endoplásmico dilatado y abundantes mitocondrias, revelan en este momento su actividad.



FIG. 13. — Sección del epitelio tubárico en la senilidad. Se aprecia su intenso aplanamiento, la desaparición de las células ciliadas. Las células presentan muy escasos desmosomas, lo que explica su fácil descamación.

Son muy poco frecuentes los desmosomas y puentes intercelulares de unión, lo que da a este epitelio una fácil tendencia a la descamación. El complejo de Golgi está prácticamente ausente. En el citoplasma se aprecia la presencia de elementos de tipo degenerativo. En la superficie de las células se observa una membrana celular prácticamente lisa que no hace hernia a la luz tubárica y en ella se observan aisladamente pequeños microvillis casi siempre únicos, sin ningún tipo de ramificación.

En ninguna de las trompas estudiadas en esta fase senil hemos hallado la presencia de células ciliadas ni hemos encontrado la existencia de corpúsculos basales.

### Resumen

Se ha realizado un estudio ultraestructural de las características morfológicas del epitelio tubárico humano en trompas de feto, recién nacida, mujer adulta en las diversas fases del ciclo genital, en el embarazo y en la menopausia.

Se han estudiado las características que presentan los dos principales tipos celulares que constituyen el epitelio tubárico, células ciliadas y células secretoras.

En el feto sólo se observa un tipo celular común, únicamente en el último tercio de la vida fetal aparece la diferenciación hacia el tipo ciliado, cilios que presentan desde el principio la típica constitución 9-2 pares de filamentos. En la recién nacida aparecen células ciliadas perfectamente diferenciadas.

A lo largo del ciclo se aprecian modificaciones en ambas clases de células, más marcadas en las secretoras y muy características de las mismas y que afectan tanto a la morfología en conjunto de la célula como a sus distintas organelas.

Durante el embarazo, las características del epitelio tubárico, especialmente al final del mismo, son propias de un epitelio en reposo y semejantes a los de la fase de intervalo.

En la menopausia, el epitelio conserva durante mucho tiempo sus características, y sólo en fases avanzadas de la vida desaparecen los cilios y microvillis y hay un aplanamiento general de todo el epitelio.

### Summary

An ultrastructural survey has been performed on the morphological characteristics of human tubal epithelium in foetus tubes, newly-born girls, on adult women in the different phases of the genital cycle, during pregnancy and menopause.

The study has considered the characteristics of the two main cellular types constituting the tubal epithelium, ciliated cells and secretory cells.

In the foetus, a single common cellular type may be observed; only during the last third of the foetal life the differentiation towards the ciliated type appears, these cilia presenting from the beginning the typical constitution 9-2 pairs of filaments. In the newly-born girl, there are ciliated cells, clearly discriminated.

Along the cycle, some modifications are noted on both kinds of cells, more marked on the secretory cells and very typical on the same, and affecting, either to the whole cell morphology or to its different organelles.

During pregnancy, the characteristics of the tubal epithelium, mainly in the last part of pregnancy, are those proper to a relaxed epithelium and similar to those of the interval phase.

During menopause, the epithelium keeps its characteristics for a long time, and only in advanced phases of life the cilia and microvilli disappear and there is a general flattening of the whole epithelium.

### Zusammenfassung

Es wurde eine ultrastrukturelle Studie der morphologischen Charakteristika des menschlichen tubulösen Epithel in der Fallopröhre eines Fötus, eines Neugeborenen (weiblich) und einer erwachsenen Frau während der verschiedenen Phasen des Genitalzyklus, der Schwangerschaft und der Menopause, durchgeführt.

Es wurden die Charakteristika untersucht, die die beiden zellularen Haupttypen, Kiliadenzellen und Sekretzellen, die das tubulöse Epithel bilden, aufweisen. Im Fötus wurde nur ein gemeinsamer Zellentyp beobachtet. Einzig im letzten Drittel des Fötuslebens erscheint eine Differenzierung hin zum Ziliatentyp, Zyliaten, die von Anfang an die typische Konstitution 9-2 Faserpaare aufweisen. Im Neugeborenen (weiblich) erscheinen diese Zyliatenzellen vollkommen differenziert.

Während des Zyklus wurden Modifikationen in beiden Zellenklassen festgestellt. Allerdings bemerkenswerter in den Sekretzellen in denen sie ausserdem sehr charakteristisch sind und die ebenso die Morphologie im Zellenganzen berühren wie ihre verschiedenen Organchen.

Die Charakteristika des tubulösen Epithel während der Schwangerschaft und besonders in deren Endphase, sind die echten Charakteristika des Epithel in Ruhe und ähnlich derjenigen der Intervallphase.

In der Menopause bewahrt das Epithel langezeit seine Charakteristika, und nur in vortgeschrittenen Phasen des Lebens verschwinden die Zyliaten sowie die Mikro- villis und es findet ein allgemeines Einebenen des gesamten Epithel statt.

### Résumé

On a réalisé une étude ultrastructurale des caractéristiques morphologiques de l'épithélium tubaire humain sur les trompes d'un foetus, d'une nouvelle-née, d'une

femme adulte au cours des diverses phases du cycle génital, de la grossesse et à la ménopause.

On a étudié les caractéristiques que présentaient les deux types cellulaires principaux qui constituent l'épithélium tubaire, les cellules ciliées et les cellules sécrétrices.

Chez le fœtus, on observe seulement un type cellulaire commun, et uniquement dans le dernier tiers de la vie foetale, apparaît la différenciation vers un type cilié, cils qui présentent dès le début la constitution typique 2-9 paires de filaments. Chez la nouvelle-née, apparaissent des cellules ciliées parfaitement différenciées.

Au cours du cycle, on remarque des modifications dans les deux types cellulaires, plus marquées pour les sécrétrices et très caractéristiques de celles-ci, affectant autant la morphologie de l'ensemble de la cellule que ses différentes organites.

Au cours de la grossesse, les caractéristiques de l'épithélium tubaire, en particulier à la fin de celle-ci, sont propres à un épithélium au repos et semblables à ceux de la phase de repos.

Au cours de la ménopause, l'épithélium conserve longtemps ses caractéristiques, et les cils et microvillosités disparaissent seulement dans les phases avancées de la vie, se produisant alors un aplatissement général de tout l'épithélium.

#### BIBLIOGRAFÍA

- BJÖRKMAN, N., y B. FREDRICSSON (1962): Ultrastructural features of the human oviduct epithelium. "Int. J. Fertil.", **7**: 259-268.
- BORELL, V., O. NILSSON, J. WERSÄLL y A. WESTMAN (1956): Electron microscopy studies on the epithelium of the rabbit fallopian tube under different hormonal influences. "Acta Obstec. Gynec. Scand.", **35**: 35.
- BRENNER, R. M. (1967): Ciliogenesis during the menstrual cycle in the rhesus monkey oviduct. "J. Cell. Biol.", **35**: 16-30.
- BRENNER, R. M. (1969): Renewal of oviduct cilia during the menstrual cycle in the rhesus monkey. "Fertil Steril", **20**: 599.
- BULLON, F., A. BULLON y F. GONZÁLEZ (1974): Estudio electromicroscópico del epitelio humano. "Reproducción", **1**: 129-149.
- CLAYMAN, N. Y. (1966): Electromicroscopy of the human fallopian tube. "Fertil Steril", **17**: 281.
- DIRKSEN, E. R., y T. T. CROKER (1965): Centriole replication in differentiating ciliated cells of mamalian respiratory epithelium. An electron microscopic study. "J. Microscopie", **5**: 529-644.
- FROMMEL, R. (1886): Beitrag zur Histologie der Eileiter. "München Med. Wschr.", **33**: 469.
- HASHIMOTO, M., T. SHIMOYAMA, M. KOSAKA, A. KOMORI, T. HIRASAWA, Y. YOKOYAMA y K. AKHASHI (1962): Electron microscopic studies on the epithelial cells of the human fallopian tube (Raport I). "J. Jap. Obst. Gynec. Soc.", **9**: 200.
- HASHIMOTO, M., T. SHIMOYAMA, M. KOSAKA, A. KOMORI, T. HIRASAWA, Y. YOKOYAMA, N. KAWASE y R. NAKAMURA (1964): Electron microscopic studies on the epithelial cells of the human fallopian tube (Raport II). "J. Jap. Obst. Gynec. Soc.", **11**: 92-97.
- HOLZBACH, E. (1908): Vergleichende-Anatomische Untersuchungen über die Tubenbrust und die Tubenmenstruation. "Z. Geburtsh. Gynäk.", **61**: 565-572.
- JÄGERROS, B. H. (1912): Zur Kenntnis der Veräderungen der Eileiterschleimhaut während der Menstruation. "Z. Geburtsh. Gynäk.", **72**: 28-40.
- HORBELT, D. V. (1970): Ultrastructural changes in fallopian tube epithelium at term gestation and during postpartum period. "Texas Med.", **66**: 76.
- MARTINEK, J., R. KRAUS y Z. JIRSOVA (1967): Citology of tubal epithelium I. "Folia Morphol." (Praha), **15**: 241-249.
- MARTINEK, J., Z. JIRSOVA y R. KRAUS (1968): Citology of tubal epithelium II. On the question of clear cells. "Folia Morphol." (Praha), **16**: 378-380.
- MORICARD, R., y R. PALMER (1960): Recherches sur les ultrastructures des franjes du pavillon tubaire humain. "Bull. Gyn. Obst.", **12**: 363-372.
- NICOLAS, A. (1890): Note preliminaire sur la constitution de l'epithelium des trompes uterines. "Inst. Mschr. Anat. Physiol.", **7**: 414.
- NOVAK, E., y H. S. EVERETT (1928): Ciclical and other variations in the tubal epithelium. "Amer. J. Obst. Gynec.", **16**: 499.
- OVERBECK, L. (1967): Entwicklung der Kinocilien im Tubenepithel des Menschen. "Naturwissenschaften", **9**: 229-241.
- OVERBECK, L. (1969): Die Ultrastruktur des Tubenepithels in Mensuellen Zyklus bei der Frau. "Arch. Gynäk.", **207**: 165-169.
- PATEK, E., L. NILSSON y E. JOHANNISSON (1972): Scanning electron microscopy study of the human fallopian tube. Rapport I. The proliferative and secretory stages. "Fertil. Steril.", **22**: 249-262.
- PULLE, C., y R. SERMAN (1962): L'ultrastruttura dell'endosalpinge umana. "Arch. Obst. Gynec.", **67**: 33-76.
- SOROKIN, S. (1962): Centrioles and the formation of rudimentary cilia by fibroblast and smooth muscle cells. "J. Cell. Biol.", **15**: 366-377.
- SOROKIN, S. (1968): Reconstructions of centriole formation and ciliogenesis in mamalian lungs. "J. Cell. Sci.", **3**: 207-230.
- STEGNER, H. E. (1962): Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Sekretionsmorphologie des Menschlichen Tubenepithels. "Arch. Gynäk.", **197**: 351-363.
- VOINOT, J. B. M. J. (1900): Essai sur l'épithélium de la trompe de Fallope chez la femme. These de Nancy.

M. MONTESINOS CASTRO-GIRONA  
Departamento Anatómico  
Facultad de Medicina  
Valencia (España)

## SOBRE LA INTEGRACIÓN FUNCIONAL DE LAS CÉLULAS DE LOS ISLOTES DE LANGERHANS<sup>(1)</sup>

POR

L. MUÑOZ BARRAGÁN<sup>(2)</sup>

**D**ESDE el descubrimiento en el espesor del parénquima pancreático, de unos islotes celulares con características tintoriales diferentes al resto del tejido glandular (LANGERHANS, 1869), han sido necesarios más de cien años de laboriosos estudios para llegar a establecer la función secretora endocrina de los tres tipos de células que, de forma constante, pueblan aquellos islotes celulares. De otra parte, en los últimos años se ha avanzado rápidamente en el conocimiento de las relaciones funcionales que las células insulares pancreáticas guardan entre sí, aunque sin conseguir establecer de una manera precisa los mecanismos íntimos que pudieran regir la cada vez más aceptada integración funcional insular.

### *1. Clasificación de las células insulares*

Las primeras referencias sobre la citología de los islotes se deben a LAGUESSE (1893), quien señaló la presencia de granulaciones citoplasmáticas específicas en algunas células insulares. A su vez, SsBOLEW (1902) y TSCHASSOWNIKOW (1906) describieron dos tipos celulares diferentes en los islotes del conejo y cobayo, a los que LANE (1907) denominó como células A (alfa) aquellas cuyas granulaciones citoplasmáticas se disuelven en agua y como células B (beta) aquellas cuyas granulaciones citoplasmáticas se disuelven en alcohol. Un tercer tipo de células, con granulaciones citoplasmáticas diferentes a las arriba indicadas, fue descrito por BOWIE (1924) en el teleósteo *neomaenis griseus*. Unos años después,

(1) Trabajo realizado en el Departamento de Anatomía de la Facultad de Medicina de Salamanca.

(2) Profesor adjunto interino de Anatomía de la Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca.

BLOOM (1931) demostró este tercer tipo de células en los islotes de Langerhans humanos, denominándolas células D (delta), las cuales están presentes en las cuarenta y una especie de mamíferos estudiadas por THOMAS (1937).

Como quiera que en los islotes de Langerhans de determinadas especies de animales, han sido demostradas otras células cuyas granulaciones citoplasmáticas específicas son diferentes de las existentes en los tres tipos arriba señalados, nosotros (MUÑOZ BARRAGÁN y col., 1974) hemos clasificado las células insulares en dos grupos, con el objeto de facilitar el estudio de la citología del páncreas endocrino. En el *grupo I* englobamos los tipos celulares constantes en los islotes de Langerhans de la mayoría de las especies de animales (ya sean mamíferos, aves o reptiles). Nos referimos a las células A, B y D. En el *grupo II* quedarían englobadas las células insulares propias de determinadas especies. Así, células C del cobayo (BENSLEY, 1939). Células E de la rarigüeya (THOMAS, 1937; MUNGER y col., 1965; CARAMIA y col., 1966). Células F del proceso uncinado del perro (fueron primeramente descritas como células X por BENCOSME y col., 1955; posteriormente, MUNGER, 1965, sugirió el término de células F para evitar confusiones con las células X, típicas del caballo). Células X del caballo (FERNER, 1952). Células enterocromafines tipo II del conejo (PARRILLA y col., 1969).

En esta clasificación conservamos las primitivas nominaciones dadas por Lane y Bloom para los tipos celulares fundamentales, a pesar de la corriente actual de numerosos autores de clasificar a las células insulares en dos grandes grupos: A y B. Las primeras, phloxinófilas, comprenderían a unas células capaces de impregnarse por las sales de plata con el método propuesto por HELLERSTRÖM y HELLMAN (1960) (células A<sub>1</sub>), mientras que otras no poseerían esta cualidad (células A<sub>2</sub>). Las células A<sub>1</sub> serían las células D descritas por Bloom y las A<sub>2</sub> serían las descritas por Lane.

Esta clasificación propuesta por los autores de la escuela sueca de Upsala (HELLMAN y HELLERSTRÖM, 1960, 1961; HELLERSTRÖM y col., 1964) fue discutida ampliamente por FUJITA (1964, 1967) y refutadas por nosotros (MUÑOZ BARRAGÁN y col., 1974; MUÑOZ BARRAGÁN y MOSQUEIRA, 1974) como confusa y artificiosa; en efecto, trabajando con páncreas de pato, pudimos comprobar que no todas las células de los islotes oscuros eran células phloxinófilas, tal y como había manifestado Hellman y Hellerström, sino que un número relativamente alto de aquéllas no se tenían con la phloxina. En adición, al teñir los islotes con un método tintorial propuesto por nosotros (MUÑOZ BARRAGÁN, 1974, 1975), en el que junto al aldehído tionina y la phloxina utilizamos el líquido de Mallory II, comprobamos que las células no phloxinófilas de los islotes oscuros

de pato, se tenían débilmente con el azul de anilina. Aplicando la tinción tetracrómica de HERLANT (1960), demostramos que un 27'6 % del total de las células presentes en los islotes oscuros no eran eritrosinófilas, tiñéndose en cambio con el azul de anilina (fig. 1). Un número similar de células argirófilas pudo ser demostrado con el método de Hellerström y Hellman (fig. 2). Estos resultados confirmaron que tanto las células A como las células D son elementos con características histomorfológicas y tintoriales diferentes y que las células argirófilas, demostrables con el método de Hellerström y Hellman, no son una parte de las células A phloxinófilas, sino las células D anilínicas descritas por Bloom.

## 2. Actividad secretora de las células insulares

Desde el descubrimiento de la insulina por BANTING y BEST (1922) se han considerado a las células B como responsables de la secreción de la hormona del influjo extracelular de glucosa (LEVINE, 1972), hecho éste hoy aceptado sin reservas. Así mismo, SUTHERLAND y DE DUVE (1948) asignaron a las células A la necesidad de secretar glucagón, factor hiperglucemiante y glucogenolítico descrito primeramente por KIMBALL y MURLIN (1923) y calificado por Levine como la hormona del influjo extracelular de glucosa. Los trabajos de BAUM y col. (1962) y de LOMSKY (1968), utilizando técnicas inmunocitológicas, han confirmado a las células A como fuente principal del glucagón circulante.

Muy recientemente, MUÑOZ BARRAGÁN y col. (1975), con métodos histoquímicos, MUÑOZ BARRAGÁN y col. (en prensa) con métodos inmunocitoquímicos y BAETENS y col. (en prensa) con métodos inmunocitoquímicos, han demostrado la presencia en la mucosa gástrica de células secretoras de un glucagón prácticamente idéntico al glucagón pancreático. Dichas células contienen un material que reacciona selectivamente con el antiglucagón 30K, considerado como específico para el glucagón pancreático y del que no se conocen reacciones cruzadas con el enteroglucagón (GLI).

Si establecer la actividad secretora de las células A y B insulares no ha sido fácil, mucho más difícil ha sido concretar la función de las células D que, incluso, fueron consideradas como elementos inconstantes o precursores de células B (KOBAYASHI y col., 1964). Por su parte, FUJITA (1973) ha insistido sobre la probable capacidad de las células D para elaborar una hormona tipo secretina, frente a la opinión de SOLCIA y SAMPIETRO (1965), MUNGER (1968) y otros autores, que consideraban a esta entidad celular como fuente pancreática de gastrina. En favor de esta corriente de

opinión hablan los resultados de LOMSKY y col. (1969) y de GREIDER y McGUIGAN (1971), quienes observaron con métodos inmunocitológicos la presencia en algunas células insulares un material que reaccionaba fuertemente con anticuerpos antigástrica. Sin embargo, varios autores han fracasado al pretender encontrar gastrina en extractos pancreáticos (véase HALLENBECK y col., 1963;

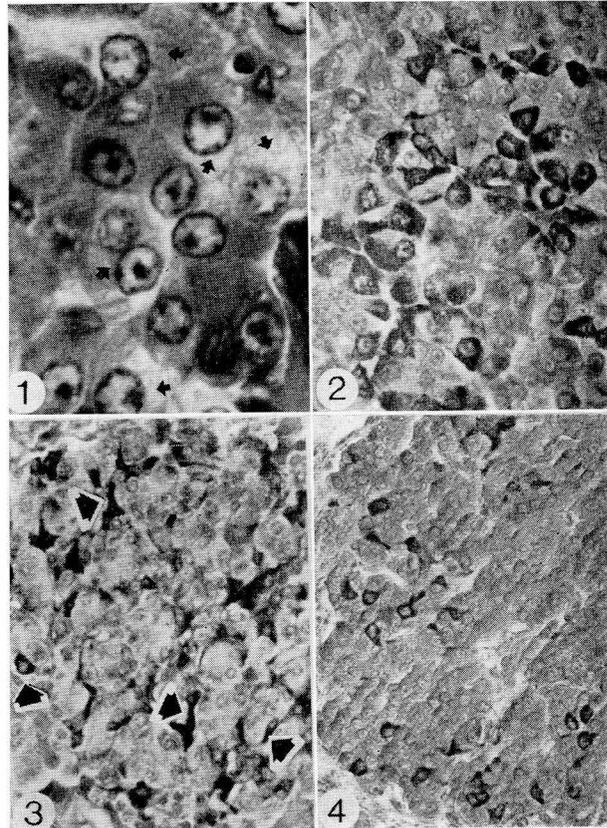


FIG. 1. — Porción de un islote oscuro de páncreas de pato. Además de las células A, eritrosinófilas, pueden observarse varias células D teñidas con el azul de anilina (flechas). Tinc.: tetracromo de Herlant. 1.000×.

FIG. 2. — Islote oscuro de páncreas de pato; obsérvense numerosas células D argirófilas. Tinc.: Hellerström y Hellman. 400×.

FIG. 3. — Islote de cobayo adulto tratado subcutáneamente con glucagón (0.5 mg/día, durante 45 días consecutivos). Varias células aparecen fuertemente teñidas con el aldehído tionina y presentan largos procesos citoplasmáticos, similares a los presentes en las células D (flechas). Las células B están degranuladas. Tinc.: Tionina-Phloxina-Mallory II. 300×.

FIG. 4. — Idem caso anterior. Otro islote mostrando varias células D argirófilas. Tinc.: Hellerström y Hellman. 300×.

BLAIR y col., 1969). Tampoco LOTSTRA y col. (1974), en trabajos combinados de inmunocitología y radioinmunoanálisis (estos últimos aplicados a sangre obtenida de la vena pancreática), han conseguido detectar la presencia de gastrina ni en cortes histológicos de islotes pancreáticos ni en el plasma sanguíneo de ninguna de las especies de animales estudiadas. Muy recientemente, DUBOIS (1975) ha detectado la presencia de somatostatina (SRIF) en las células D del hombre, oveja, cerdo, rata y pollo por métodos de inmunofluorescencia. Los elegantes trabajos de Dubois han sido confirmados por ORCI y col. (1975).

Resulta sorprendente el hecho de que un tipo celular insular sea capaz de elaborar una hormona considerada desde BRAZEAU y col. (1973) y SILER y col. (1973) como el factor hipotalámico inhibitor de la secreción de STH por la adenohipófisis. Con respecto a este problema, nosotros hemos observado dos hechos que pueden tener valor a la hora de enjuiciar los resultados últimamente enunciados (datos no publicados). El primero es la presencia en los islotes de Langerhans de ratas y cobayos tratados prolongadamente con glucagón, de unas células intensamente teñidas con el aldehído tionina (fig. 3), mientras que las células B (habitualmente consideradas como tionínicas) aparecen degranuladas como consecuencia de la marcada liberación de insulina provocada por el glucagón y, por lo tanto, sin teñir. La morfología de aquellas células recuerdan a la de las células D puestas de manifiesto con el método de Hellerström y Hellman (fig. 4). Para comprobar si las células D eran capaces de reaccionar con el aldehído tionina, hemos teñido cortes pancreáticos de hombre y cobayo con el método de Hellerström y Hellman. Después de fotografiar al microscopio los islotes elegidos, blanqueamos con metabisulfito sódico al 3% y volvemos a teñir, ahora con el método tetracrómico propuesto por nosotros (MUÑOZ BARRAGÁN, 1974, 1975), fotografiando a continuación los mismos islotes. Tanto las células B como las D aparecen débilmente teñidas por el aldehído tionina. Estos datos parecen indicarnos la presencia de ambos tipos celulares de radicales químicos comunes. Éstos podrían ser los puentes disulfuros que unen las cadenas A y B de la molécula de insulina y los aminoácidos cisteína 3 y 15 de la molécula de somatostatina.

El segundo hecho que queremos comentar aquí parece estar en total contraposición con el anteriormente enunciado. En efecto, cuando tratamos con nuestra tinción tetracrómica los cortes del páncreas de pato, observamos unos islotes (islotes claros) en los que la totalidad de sus células se tiñen intensamente con el aldehído tionina. Son células B, ya que sólo aisladamente algunas de ellas son argirófilas. Al lado aparecen otros islotes (islotes os-

curos) compuestos por células A phloxinófilas y células D anilínicas. Al contrario de lo que ocurría en los islotes humanos o de cobayo, las células D anilínicas del pato no se tiñen con el aldehído tionina, aunque sí son fuertemente argirófilas.

Este último dato parece sugerir que bajo la denominación común de células D, pudieran estar englobándose dos tipos celulares distintos. Uno presente en mamíferos y ciertas aves, responsable de la secreción de SRIF, y otro, presente en el pato, de actividad secretora no determinada.

### 3. Integración funcional de las células insulares

Un ejemplo que puede ilustrar sobre la existencia de una perfecta integración funcional de las células A y B insulares es la correcta regulación de los niveles extracelulares de glucosa, los cuales variarán dentro de unos límites muy estrechos en relación con el aporte exógeno de carbohidratos y con los requerimientos periféricos de energía. Mediante la actividad secretora sincronizada de ambos tipos de células, el páncreas endocrino ejerce en ambas direcciones su influencia reguladora sobre el nivel de la glucosa sanguínea. Este hecho fue enunciado primeramente por FERNER (1953), aunque ha sido establecido paso a paso por UNGER (1976) en una larga serie de trabajos resumidos en su Banting Memorial Lecture de 1975. En efecto, este autor habla de cómo las células A y B son unos extraordinarios "sensores" para la percepción de los niveles de glucemia y los productos de su actividad secretora (insulina y glucagón) forman un fino *sistema bihormonal*, que responde a cada cambio de la glucemia con cambios recíprocos en su concentración sanguínea.

Partiendo de la base de que la insulina facilita el eflujo de glucosa desde el espacio extracelular hasta el hígado, músculos y adipocitos, mientras que el glucagón promueve el influjo de glucosa hasta el líquido extracelular, se puede comprender que una perfecta sincronización de la actividad secretora de las células A y B insulares, se traducirá en cambio en el flujo de glucosa al o desde el espacio extracelular con el objeto de mantener constante los niveles de la glucemia.

Así, durante el ayuno se incrementa la liberación de glucagón por las células A, favoreciéndose el influjo de glucosa desde el hígado (glucogenólisis y neoglucogénesis). Simultáneamente, la liberación de insulina por las células B estaría frenada, evitándose el eflujo de glucosa hacia el hígado, músculos y adipocitos. En el extremo opuesto, durante la ingesta de carbohidratos, la función

secretora de las células B se incrementa notablemente, frenándose, en cambio, la liberación de glucagón por las células A. El resultado es un incremento de la insulina circulante que favorece el depósito de los carbohidratos en hígado, adipocitos, etc., evitándose así una excesiva elevación de la glucemia. Al mismo tiempo, la simultánea inhibición de la secreción de glucagón impide la salida de glucosa desde el hígado.

Otro ejemplo que permite estudiar este sistema funcional bihormonal será la regulación de la homeostasis de otros nutrientes (proteínas). La ingesta de proteínas determina un rápido incremento de la liberación, tanto de insulina (favoreciendo la incorporación de aminoácidos a las proteínas tisulares, [MANCHESTER y YOUNG, 1958; WOLL y KRAHL, 1959]) como de glucagón (quien, estimulando la salida de glucosa desde el hígado, impedirá la hipoglucemia subsiguiente al incremento de la insulina plasmática).

No cabe duda de que estos dos tipos celulares (A y B) están íntimamente ligados desde el punto de vista funcional, aunque, conforme decíamos al comienzo de este artículo, los mecanismos íntimos que rigen esta integración no son conocidos. Parece claro que tanto las células A como las B son capaces de reconocer determinadas variaciones en la concentración de la glucosa sanguínea (por debajo de 50 mg/% las células A segregan abundante glucagón; por encima de 160 mg/% la secreción de glucagón declina rápidamente. Cambios inversos ocurren con la secreción de insulina; véase OHNEDA y col., 1969, y BUCHANAN y col., 1969). Este dato sugiere la presencia de unos receptores especializados, situados a nivel de membrana y capaces de captar los niveles de glucemia. A través de estos *glucorreceptores*, se canalizarían las señales estimulantes o inhibidores para la secreción de ambas hormonas. La existencia de un *glucorreceptor* ha sido postulada para las células B, pero no para las células A (MATSCHINSKY y col., 1970). En cualquier caso, ni su existencia ni su especificidad han sido debidamente establecidas (véase LIN y HAIST, 1975).

Otra forma de intentar explicar esta integración funcional ha sido estudiando la respuesta de cada entidad celular ante la hormona secretada por su oponente. Desde HAGEMANN (1953) y Mc GRATH y SNEDECOR (1953) se conoce la acción estimulante de la insulina sobre la función secretora de las células A, aunque tal acción parece deberse a la hipoglucemia subsiguiente (FOA, 1957), ya que en cualquier tipo de diabetes experimental e incluso en la diabetes mellitus humana insulinodependiente, la hiperglucagonemia basal se corrige fácilmente con la administración de insulina exógena (ASSAN y col., 1969; UNGER y col., 1970). En sentido con-

trario responden las células B ante la administración subcutánea y endovenosa de glucagón, el cual provoca una rápida y sostenida liberación de insulina que precede a la elevación de la glucemia (SAMOLS y col., 1965, 1966). Este hecho pudiera deberse a una activación del sistema ciclasa de adenilo-cAMP de células B, ya que se ve favorecido por la administración simultánea de teofilina o o imidazol (TURTLE y KIPNIS, 1967; TURTLE y col., 1967).

Muy recientemente, DUBOIS (1975) ha demostrado la presencia de SRIF en las células D del páncreas endocrino. Este hallazgo presupone un avance extraordinario para fundamentar la hipótesis de una actividad integrada de las células insulares. Tengamos presente que un buen número de investigadores habían establecido, con anterioridad al hallazgo de Dubois, que la somatostatina (SRIF) inhibía de forma muy enérgica la liberación de insulina y glucagón (ALBERTI y col., 1973; MORTIMER y col., 1974; IVERSEN, 1974; KOERKER y col., 1974), siendo el único polipéptido capaz de inhibir de forma simultánea la secreción de ambas hormonas. De otra parte, nuevos hallazgos en relación con el efecto supresivo del SRIF sobre la secreción de glucagón en diabetes humana y experimental, conforme han demostrado GERICH y col. (1974), KOERKER y col. (1974), SAKURAI y col. (1974 a y b) y DOBBS y col. (1975) confirman el interés creciente que ha despertado el estudio de las células D de los islotes de Langerhans. No debemos olvidar que FERNER (1942, 1952), CREUTZFELD (1953), GEPTS (1958) y FUJITA (1966), habían señalado un incremento notorio en el número de células D de sujetos afectados de diabetes mellitus, similar al observado por HELLMAN y PETERSON (1963) y KOBAYASHI y col. (1964) en diabetes experimental.

Aunque se sabe muy poco sobre el mecanismo de actuación del SRIF sobre las células A y B, y prácticamente nada sobre los agentes capaces de estimular la actividad secretora de las células D, la descripción por ARIMURA (1975) de un método de radioinmunoanálisis para la valoración del SRIF plasmático promete un rápido avance en este terreno.

Hemos comentado cómo el producto de secreción de cada una de las células insulares es capaz de modificar la actividad secretora de los restantes componentes celulares de los islotes de Langerhans, lo que justifica la singular organización anatómica del páncreas endocrino y su especial sistema de irrigación (véase a este respecto ALVAREZ-MORUJO, 1966; FUJITA, 1973; FUJITA y MURAKAMI, 1973). Muchos autores se han preguntado el porqué de la existencia de tal multitud de islotes esparcidos por el parénquima pancreático. Dejando a un lado la cuestionable existencia de un

sistema vascular porta insulino-acinar (tema de gran interés para explicar las relaciones funcionales entre el páncreas endocrino y el páncreas exocrino), la disposición de los islotes facilita considerablemente la actuación coordinada de las células insulares. Según FUJITA (1973) y FUJITA y MURAKAMI (1973), cada islote de Langerhans recibe un vaso aferente, ramas de una arteriola intralobular, que se ramifica en el interior de aquél. Esta división del vaso aferente parece llevarse a cabo en las zonas del islote ocupadas por las células A, continuándose después con un sistema de capilares que rodean a las células B y D. De esta forma, cualquier célula insular se informará "in situ" del nivel de respuesta secretora de otro tipo celular ante un estímulo determinado, modificando o no su propio ciclo secretor.

Otra posibilidad de explicación del funcionamiento coordinado de las células insulares podría estar en la existencia de conexiones intercelulares, tal y como han sido demostradas por BENNET (1966), a nivel de microscopía electrónica de transmisión y por STAEHELIN y col. (1969) y FARQUHAR y PALADE (1972) mediante técnicas de freeze-etching, entre células epiteliales.

Tales conexiones han sido demostradas entre los diferentes tipos celulares de los islotes de Langerhans (ORCI y col., 1973; ORCI y col., 1975). De ellas, las "gap junctions" han sido definidas como zonas membranosas intercelulares especializadas que permiten el paso de iones y de sustancias con peso molecular inferior a 500. Las "gap junctions" aparecen como agrupaciones compactas de partículas de 80-90 Å de diámetro, visibles en la superficie "A" de fractura de la membrana celular y que aparecen orientadas hacia el espacio extracelular (KRETZINGER, 1968). Mediante estas uniones, ciertas sustancias podrían pasar de una célula a otra sin necesidad de atravesar el espacio intercelular, permitiendo el que los islotes puedan funcionar como auténticos sincitios.

Otro tipo de conexiones son las "tight junction", visibles en la superficie "A" de fracturas como un conjunto lineal de pequeñas crestas que, con frecuencia, se conexionan con las "gap junctions". Las "tight junction" parecen la consecuencia del continuo remodelamiento de la membrana plasmática, pudiendo atrapar gran cantidad de gránulos de secreción que difunden a través de espacio extracelular sin entrar en contacto con los receptores específicos de la célula adyacente. Estas hipótesis han sido expuestas por UNGER (1976) sobre la base de estudios morfológicos realizados por ORCI y col. (1974, 1975) y, aunque aparentemente especulativos, abren nuevos caminos al estudio de la integración funcional de las células de los islotes de Langerhans.

Otros factores pueden jugar un papel importante sobre la actividad secretora coordinada de los islotes de Langerhans. Así, el control nervioso, la capacidad de síntesis de monaminas por las células insulares y las modificaciones en la concentración de iones en el medio extracelular, parecen ser factores reguladores de primer orden. De su estudio nos ocuparemos en un próximo artículo.

### Resumen

En este artículo se hace una amplia revisión de los nuevos hallazgos sobre la organización morfológica y funcional de los islotes de Langerhans, con especial referencia a la clasificación y actividad secretora de las células insulares. Asimismo, se ha realizado un estudio crítico sobre el papel de los glucorreceptores, la microcirculación insular y las interconexiones celulares (gap junctions y tight junctions), en la integración funcional de los tres tipos celulares constantes de los islotes de Langerhans. Se aportan datos a favor de la existencia de dos tipos diferentes de células D.

### Summary

Has been performed a large review of new finding on morphological and functional organizations of Langerhans'islets, as soon as the role of glucoreceptor, the insular microcirculation and the structural coupling (gap junctions and tight junctions), for to explain the functional integrations of different cellular types of islets. In addition, has been founded histochemical facts suggestive of existence of two different D cells.

### Zusammenfassung

In diesem Beitrag versucht man eine breite Revision über die neue Befunde der morphologischen und funktionellen Anordnung der Langerhans'Inseln, mit einer besonderen Erwähnung der Einteilung und sekretorischen Aktivität der Inselzellen auszuführen. Es wurde auch ein kritisches Studium über der Tätigkeit der Glukorezeptoren, der Blutkreislauf in der Inseln und den interzelluläre Verbindungen (gap junctions und tight junctions), in der funktionelle Integration der drei ständige Zelltypen der Langerhans'Inseln. Es werden Angaben zugunsten des Vorkommens zweier D-Zelltypen gebraucht.

### Résumé

On a fait une large révision des nouvelles recherches sur l'organisation morphologique et fonctionnelle chez les îlots de Langerhans. On a aussi réalisé un special commentaire sur le classement et l'activité sécrétoire des cellules insulaires. Par surcroît, on fait une étude critique du rôle des gluco-récepteurs, de la microcirculation insulaire et des liaisons cellulaires ("gap junctions et tight junctions") dans l'intégration fonctionnelle des trois constants types cellulaires des îlots de Langerhans. On fournissent des données en faveur de l'existence de deux différents types de cellules D.

### BIBLIOGRAFÍA

- ALVAREZ MORUJO, A. (1966): Las arterias terminales y el segmento arterial. Gráficas Europa, Salamanca, 1966. Editor: Alvarez Morujo.
- ALBERTI, K. G., N. J. CHRISTENSEN, S. E. CHRISTENSEN, A. P. HANSEN, J. IVERSEN, K. SEYER-HANSEN y H. ORSKOV (1973): Inhibition of insulin secretion by somatostatin. "Lancet", **2**: 1299-1301.
- ARIMURA, A., H. SATO, D. H. COY y A. V. SCHALLY (1975): Radioimmunoassay for GH-Release Inhibiting hormone (38631). "Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", **148**: 784-789.
- ASSAN, R., G. HAUTEVOOVERTURE, S. GUILLEMANT, F. DOUCHY, P. PROTIN y M. DEROT (1969): Evolution de parametres hormonaux (glucagon, cortisol, hormone somatope) et energetiques (glucose, acides gras libres, glycerol) dans dix acido-cetoses diabetiques graves traites. "Pathol. Biol.", **17**: 1095-1105.
- BAETENS, D., C. RUFENER, C. B. SRIKANT, R. E. DOBBS, R. H. UNGER y L. ORCI (En prensa): Identification of glucagon-producing cells (A-cells) in dog gastrig glucosa. "J. Cell. Biol."
- BANTING, F. G., y C. H. BEST (1922): The internal secretion of the pancreas. "J. Lab. Clin. Med.", **7**: 251-266.
- BAUM, J., B. E. SIMONS, R. H. UNGER y L. L. MADISON (1962): Localization of glucagon in the alpha cells in the pancreatic islets by immunofluorescent techniques. "Diabetes", **11**: 371-374.
- BENCOSME, S. A., y E. LIEPA (1955): Regional differences of the pancreatic islets. "Endocrinology", **57**: 588-593.
- BENNET, M. V. L. (1966): "Ann. N. Y. Acad. Sci.", **137**: 509.
- BENSLEY, R. R. (1911): Studies on the pancreas of the guinea pig. "Amer. J. Anat.", **12**: 297-388.
- BLAIR, E. L., S. FALKMER, C. HELLERSTRÖM, H. OSTEMBERG y RICHARDSON (1969): Investigation of gastrin activity in pancreatic islets tissue. "Acta Pathol. Microbiol. Scand.", **75**: 583-597.
- BLOOM, W. (1931): A new type of the granular cell in the islets of Langerhans of man. "Anat. Rec.", **49**: 363-371.
- BOWIE, D. J. (1924): Cytological studies of the islets of Langerhans in a teleost, *Neomaenis griseus*. "Anat. Rec.", **29**: 57.
- BRAZEAU, P., W. VALE, R. BURGUS y Col. (1973): Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary hormone. "Science", **179**: 77-79.
- BUCHANAN, K. D., J. E. VANCE, K. DINSTL y R. H. WILLIAMS (1969): Effect of blood glucose on glucagon secretion in anesthetized dog. "Diabetes", **18**: 11-18.
- CARAMIA, F., B. L. MUNGER y P. E. LACY (1966): The ultrastructural basis for identification of cell types in the pancreatic islets. I: Guinea pig. "Z. Zellforsch.", **67**: 533-546.
- CREUTZFELD, W. (1953) Zur detung des silberzellbildes und anderer pankreasbefunde beim diabetes mellitus und inseladenom. "Beitr. Pathol. Anat.", **113**: 133-168.
- DOBBS, R. E., H. SAKURAI, H. SASAKI, G. FALLOONA, I. VALVERDE, D. BAETENS, L. ORCI y R. H. UNGER (1975): Glucagon: role in the hyperglycemia of diabetes mellitus. "Science", **187**: 544-546.
- DUBOIS, M. P. (1975): Immunoreactive somatostatin is present in discrete cells of the endocrine pancreas. "Proc. Nat. Acad. Sci.", **72**: 1340-1343.
- FARQUHAR, M. G., y G. E. PALADE (1963): Junctional complexes in various epithelia. "J. Cell. Biol.", **17**: 375.

- FERNER, H. (1942): Beitrage zur histologie der Langerhansschen inseln des menschen mit besonderer berücksichtigung der silberzellen und ihrer beziehung zum pankreasdiabetes. "Virchows. Arch. pathol. Anat.", **309**: 87-136.
- FERNER, H. (1952): Das inselsystem des pankreas. Stuttgart, Georg Thieme: The structure and metabolism of the pancreatic islets. Proc. 3 Wenner-Gren Center Internat. Sympos. Upsala and Stockholm, 1963. London, Pergamon Press, 117-130.
- FERNER, H. (1953): The A and A cells of the pancreatic islets as sources of the antagonist hormones glucagon and insulin. The shift of the AB-relation in diabetes mellitus. "Amer. J. Dig. Dis.", Oct. 1953, 301-306.
- FOA, P. P., G. GALANSINO y G. POZZA (1957): Glucagon a second pancreatic hormone. "Recent. Progr. Hormone Res.", **13**: 473-474.
- FUJITA, T. (1964): The identification of argirofild cells of pancreatic islets. "Arch. Histol. Jap.", **25**: 189-197.
- FUJITA, T. (1967): D cell, the third endocrine element of the pancreatic islets. "Arch. Histol. Jap.", **29**: 1-40.
- FUJITA, T. (1966): D-zellen der pankreasinseln beim diabetes mellitus mit besonderer berücksichtigung iehre argyrophilie. "Z. Zellforsch.", **69**: 363-370.
- FUJITA, T. (1973): Insulo-acinar porta system in the horse pancreas. "Arch. Histol. Jap.", **35**: 161-171.
- FUJITA, T. (1973): The effects of islets hormones upon the exocrine pancreas. In: Gastro-entero-Pancreatic Endocrine System— A cell-Biological Approach. Edite. by T. Fujita. Igaku Shoin Ltd., Tokyo.
- FUJITA, T., y T. MURAKAMI (1973): Microcirculation of monkey pancreas with special reference to the insulo-acinar porta system. A scanning electron microscope study of vascular casts. "Arch. Histol. Jap.", **35**: 255-263.
- GEPTS, W. (1958): Die histopathologischen veränderungen der Langerhansschen inseln und ihre bedeutung in der frage der pathogenese des menschlichen diabetes. "Endokrinologie", **36**: 185-211.
- GERICH, J., M. V. LORENZI, V. SCHNEIDER, J. KARAN, J. RIVIER, R. GUILLEMIN y P. FORSHAM (1974): Effect of somatostatin on plasma glucose and glucagon levels in human diabetes mellitus. "N. Engl. J. Med.", **291**: 544-547.
- GREIDER, M. H., y J. E. MC GUIGAN (1971): Cellular localization of gastrin in the human pancreas. "Diabetes", **20**: 389-396.
- HAGEMANN, V. (1953): Das verhalten der hypophyse und nebennieren bei experimentell-inducierter kontransulinarer adaptation. "Beitr. Pathol. Anat. Allgem. Pathol.", **113**: 121-132.
- HALLEMBECK, G. A., C. E. CODE y MC ILRATH (1963): Absence of demonstrable gastric secretagogue in normal pancreatic tissue. "Gastroenterology", **44**: 627-633.
- HELLERSTRÖM, C., y B. HELLMAN (1960): Some aspects of silver impregnation of the islets of Langerhans in the rats. "Acta Endocr." (Kbh), **35**: 518-532.
- HELLERSTRÖM, C., G. PETERSSON y G. ALM (1964): The two types of pancreatic A-cells and relation to the glucagon secretion. (Ed. by Brolin, S.E., B. Hellman y Knutson.
- HELLMAN, B., y C. HELLERSTRÖM (1961): The specifity of the argyrophil reaction in the islets of Langerhans in man. "Acta Endocr." (Kbh), **36**: 22.
- HELLMAN, B., y B. PETERSON (1963): Long term changes of the alfa<sub>1</sub> and alfa<sub>2</sub> cells in the islets of Langerhans of rats with allosan diabetes. "Endocrinology", **72**: 338-342.
- HERLANT, M. (1960): Etude critique de deux techniques nouvelles destinées a mettre en evidence les differents categories cellulaires presents dans la glande pituitaire. "Bull. Micr. Appl.", **10**: 37-44.
- IYERSEN, J. (1974): Inhibition of pancreatic glucagon release by somatostatin: in vitro. "Scand.", **33**: 125-129.

- KIMBALL, C. P., y J. R. MURLIN (1923): Aqueous extracts of pancreas. III. Some precipitation reactions of insulin. "J. Biol. Chem.", **58**: 337-346.
- KOBAYASHI, S., I. TAKAHASHI y T. JONHITA (1964): Influences of alloxan administration and hypophysectomy on the pancreatic islets of the rat. "Arch. Histol. Jap.", **25**: 199-216.
- KOERKER, D. J., W. RUCH, E. CHIDECKEL, C. PALMER, J. GOODNER, L. ENSINCK y C. C. GALE (1974): Somatostatin: hypothalamic inhibitor of the endocrine pancreas. "Science (Wash. D. C.)", **184**: 482-483.
- KREUTZIGER, G. O. (1968): Specimen surface contamination and the loss of structural detail in freeze-fracture and freeze-etch preparations. In: Proceeding Electron Microscopy Society of America, 138-139. Baton Rouge: Claitor's Publishing Division.
- LAGUESSE, E. (1893): Sur la formation des ilots de Langerhans dans la pancreas. "C. R. Soc. Biol.", **45**: 819-920.
- LANE, M. A. (1907): The citological characters of the areas of Langerhans. "Amer. J. Anat.", **7**: 409-422.
- LANGERHANS, P. (1969): Beitrage zur mikroskopischen anatomie der bauchspeicheldrüse (thesis). Berlin: Friedrich-Wilhelms-Universiät.
- LEVINE, R. (1972): Action of insulin: an attempt at a summary. "Diabetes", **21** (suppl. 2): 454-456.
- LIN, B. J., y R. E. HAIST (1975): Insulin Biosynthesis: The monoaminergic mechanisms and the specificity of "Glucoreceptor". "Endocrinology", **96**: 1247-1253.
- LOMSKY, R., F. LANGR y V. VORTEL (1968): Site of glucagon in the islets of Langerhans of man as studied by the immunofluorescent technic. "Sborn. Ved. Pract. Let. Fak. Hrad. Králové", **1**: 585-590.
- LOTSTRA, F., van der LOO y W. GEPTS (1974): Area gastrin cells present in mammalian pancreatic islets? "Diabetologia", **10**: 291-302.
- MANCHESTER, K. L., y F. G. YOUNG (1956): The effect of insulin on incorporation of amine acids into protein of normal rat diaphragm. "Biochem. J.", **70**: 353-358.
- MATSCHINSKY, F. M., J. ELLERMAN, J. KOTLER, J. KRAZANOWSKY, R. FERTEL y R. LANDGRAF (1970): Methabolic events in pancreatic islets during insulin release stimulated by glucose. "Diabetes", **19**: 365.
- MCGRATH, W. B. Jr., y J. C. SNEDECOR (1953): The effect of insulin on the glucagon content of the pancreas. "Diabetes", **2**: 443-447.
- MORTIMER, C. H., W. M. G. TURNBRIDGE, D. CARR, L. YEOMANS, C. N. MALLINSON, T. LIND, D. H. COY, S. R. BLOOM, A. KASTIN, G. M. BESSER, S. SCHLLY y R. HALL (1974): Effects of growth-hormone release-inhibiting hormone on circulating glucagon, insulin and growth hormone in normal, diabetic, acromegalie and hypopituitary patiens. "Lancet", **1**: 697-701.
- MUNGER, B. L., F. CARAMIA y P. E. LACY (1965): The ultrastructural basis for the identification of cell types in the pancreatic islets. II. Rabbit, dog and opossum. "Z. Zellforsch.", **67**: 776-798.
- MUNGER, B. L. (1968): The pancreatic islets D-cell. A controversy in biology with clinical implications. "Penn. Med.", **71**: 63-67.
- MUÑOZ BARRAGÁN, L. (1974): Aportaciones histomorfológicas y humorales al estudio de la actividad metabólica y endocrina del glucagón. "Med. Astur.", **45**: 15-72.
- MUÑOZ BARRAGÁN, L., M. I. MOSQUEIRA y P. AMAT (1975): Estudio relativo a la existencia de células eritrosinófilas y aldehído-tionina positivas en el duodeno y antro pilórico humano. "An. Anat.", **24**: 623-671.
- MUÑOZ BARRAGÁN, L., y M. I. MOSQUEIRA (1975): Étude des cellules D du pancreas endocrine. "Bull. Ass. Anat.", **59**: 291.
- MUÑOZ BARRAGÁN, L., C. RUFENER, C. B. SRIKANT, R. E. DOBBS, W. A. SHANON, D. BAETENS y R. H. UNGER (en prensa): Immunocytochemical evidence for glucagon containing cells in the human stomach.

- OHNEDA, A. E., E. AGUILAR-PARADA, A. M. EISENTRAU y R. H. UUGER (1969): Control of pancreatic secretion by glucose. "Diabetes", **18**: 1-10.
- ORCI, L., R. H. UNGER y A. E. RENOLD (1973): Structural coupling between pancreatic islets cells. "Experientia", **29**: 1015-1018.
- ORCI, L., D. BAETENS, M. P. DUBOIS y C. RUFNER (1975): Evidence for the D-cell of the pancreas secreting somatostatin. "Horm. Met. Res.", **7**: 400-402.
- PARRILLA, R., J. GÓMEZ ACEBO y J. L. R. CANDELA (1969): Ultrastructural evidence for the presence of enterochromaffin type II cells in the pancreatic islets of the rabbit. "J. Ultrastruc. Res.", **26**: 1-7.
- SAKURAI, H., E. BLÁZQUEZ, L. MUÑOZ BARRAGÁN, R. E. DOBBS y R. H. UUGER (1974a): Prevention of hyperglycemia during insulin deficiency by glucagon blockade. "Clin. Res.", **22**: 44A.
- SAKURAI, H., R. E. DOBBS y R. H. UUGER (1974): Somatostatin-induced changes in insulin and glucagon secretion in normal and diabetic dogs. "J. Clin. Invest.", **54**: 1395-1402.
- SAMOLS, E., G. MARRI y V. MARKS (1965): Promotion of insulin secretion by glucagon. "Lancet", **2**: 215-216.
- SAMOLS, E., G. MARRI y V. MARKS (1966): Interrelationship of glucagon, insulin and glucose. The insulogenic effects of glucagon. "Diabetes", **15**: 855-866.
- SILER, T. M., G. VANDENBERG y S. S. C. YEN (1973): Inhibition of growth hormone release in humans by somatostatin. "J. Clin. Endocrinol. Metab.", **37**: 632-634.
- SOLCIA, E., y M. SAMPIETRO (1975): On the nature of the metachromatic cells of pancreatic islets. "Z. Zellforsch.", **65**: 131-138.
- SSBOLEW, L. W. (1902): Zur normales und pathologischen morphologie der inneren secretion der bauchspeicheldrüse. "Virchows. Arch. Pathol. Anat.", **168**: 91-118.
- STAHELIN, L. A., T. M. MUKHERJEE y W. A. WILLIAMS (1969): Freezeetch appearance of the tight junctions of small and large intestine of mice. "Protoplasma (Wien)", **67**: 165-184.
- SUTHERLAND, W. W., y C. V. DE DUVE (1948): Origin and distribution of the hyperglycemic-glycogenolytic factor of the pancreas. "J. Clin. Invest.", **27**: 663-674.
- TSCHASSOWNIKOW, S. (1906): Über die histologischen veränderungen der bauchspeicheldrüse nach unterbindung des ansführungsganges. "Arch. Mikros. Anat.", **67**: 758-772.
- TURTLE, J. R., y D. M. KIPNIS (1967): An adrenergic receptor mechanism for the control of cyclic 3'5 adenosine monophosphate synthesis in tissues. "Biochem. Biophys. Res. Commun.", **28**: 797-802.
- TURTLE, J. R., G. K. LITTLETON y D. M. KIPNIS (1967): Stimulation of insulin secretion by theophylline. "Nature", **213**: 727-728.
- UNGER, R. H., E. AGUILAR-PARADA, W. A. MÜLLER y Col. (1970): Studies of pancreatic alpha cell function in normal and diabetic subjects. "J. Clin. Invest.", **49**: 837-848.
- UNGER, R. H. (1976): Diabetes and the alpha cell. "Diabetes", **25**: 136-151.
- WOOL, I. G., y M. E. KRAHL (1959): Incorporation of C<sup>14</sup> amino acids into protein of isolated diaphragms: an action of insulin of glucose entry. "Amer. J. Physiol.", **196**: 961-964.

L. MUÑOZ BARRAGÁN  
Departamento de Anatomía  
Facultad de Medicina  
Salamanca (España)

## PARAGANGLIOS DEL EPIDÍDIMO HUMANO<sup>(1)</sup>

POR

M. NISTAL<sup>(2)</sup>

### Introducción

EL sistema de paraganglios está formado por la médula adrenal y una serie de pequeños cuerpos, de tamaño variable, desde varios milímetros a tan sólo grupos celulares, relacionados con el sistema nervioso autónomo (KOHN, 1903).

Los paraganglios extraadrenales son formaciones ovoideas o lobuladas revestidas externamente por una cápsula fina. Están constituidos, generalmente, por dos tipos celulares, células principales y células de sostén. Las primeras son de origen neural y contienen en su citoplasma granos de secreción de noradrenalina (LASSMANN y BOCK, 1972; GRIMLEY y GLENNER, 1968). Las segundas son semejantes a las células de Schwann. Ambos tipos celulares se agrupan en nidos o cordones, separados unos de otros, por abundantes capilares. Entre estas células hay abundantes fibras nerviosas.

Los paraganglios extraadrenales se distribuyen simétricamente y de forma segmentaria, a cada lado de la línea media, en el cuello y tronco o siguiendo las ramificaciones periféricas del sistema nervioso vegetativo.

En las autopsias de fetos y de niños recién nacidos se observan fácilmente en las localizaciones clásicas. La mayoría de los paraganglios tienden a involucionar con la edad.

Los paraganglios más estudiados han sido los cuerpos carotídeos y aórticos, que actúan básicamente como quimiorreceptores (DE CASTRO, 1928). La función precisa de los restantes paraganglios es desconocida.

(1) Departamento de Morfología. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid. (Director: Prof. F. Reinoso-Suárez.)

(2) Profesor agregado de Histología y Embriología General.

Uno de los grupos de paraganglios menos conocido es el formado por los paraganglios viscerales. A él pertenecen las agrupaciones celulares descritas en el septo interatrial del corazón (JACOBOWITZ, 1967; MURATORI, 1962), en el hilio hepático (GOORMAGHTICH, 1936), en la pared de la vejiga (LEESTMA y PRICE, 1971) y en íntima asociación con los vasos mesentéricos (ELLIOTT, 1965).

En el presente trabajo se describen tres casos de paraganglios localizados en el epidídimo, que incluimos en este grupo. La presencia de paraganglios a este nivel no ha sido observada previamente en la literatura.

### Material y métodos

Este trabajo forma parte de un estudio que estamos llevando a cabo sobre el desarrollo normal y las anomalías malformativas del testículo y epidídimo humano. Para este trabajo se han estudiado selectivamente los epidídimos de 82 autopsias consecutivas de recién nacidos. Fueron realizadas durante los años 1970 y 1971 en el Departamento de Anatomía Patológica de la clínica "La Paz".

Los tres paraganglios se observaron en dos niños recién nacidos. Los hallazgos clínicos y autopsicos de interés fueron los siguientes:

CASO 1 (paraganglio I). — Varón de 1.360 gr, procedente de parto gemelar. Nace con distress respiratorio completo que no cede a la terapéutica con O<sub>2</sub>. Desarrolla un cuadro neurológico con hipotonía e hiporreflexia. Fallece a las 26 horas de vida. En el estudio necrópsico se observa una inmadurez grave. Enfermedad de las membranas hialinas. Hemorragia cerebral intraventricular y testículos abdominales. Se identificó un paraganglio en el epidídimo izquierdo.

CASO 2 (paraganglios II y III). — Varón de 2.750 gr, con historia de incompatibilidad Rh. Desarrolla rápidamente una intensa anemia y púrpura generalizada. Fallece de insuficiencia respiratoria a los tres días de vida. La autopsia revela múltiples focos de eritroblastosis en hígado, bazo, páncreas y riñones, como expresividad de la incompatibilidad Rh. Hemorragia pulmonar masiva como causa de muerte; y un cuadro malformativo asociado, consistente en: hipoplasia renal izquierda sin displasia, megauréteres y megavejiga. Se identificó un paraganglio en cada uno de los epidídimos. Los testículos eran abdominales.

Los testículos y epidídimos fueron fijados en bloque en formol tamponado al 10 % durante varios días. Se seccionaron en piezas

de dos milímetros de grosor e incluyeron en parafina en su totalidad. De todos los bloques se hicieron cortes de 6 micras de grosor que se tiñeron con H.E. En los bloques en los que se identificaron paraganglios se realizaron además las siguientes técnicas: tricrómico de Masson, Laidlaw, Gless y Grimelius.

### Resultados

Los tres paraganglios estaban situados a nivel de la cabeza de los epidídimos respectivos (fig. 1). Un paraganglio asentaba en un epidídimo derecho y dos en epidídimos izquierdos.

El tamaño de los paraganglios está comprendido entre 0'1 y 0'5 mm. El paraganglio I es esférico y carece de cápsula. Los paraganglios II y III son ovoideos y están recubiertos por una cápsula de tejido conjuntivo (fig. 2).

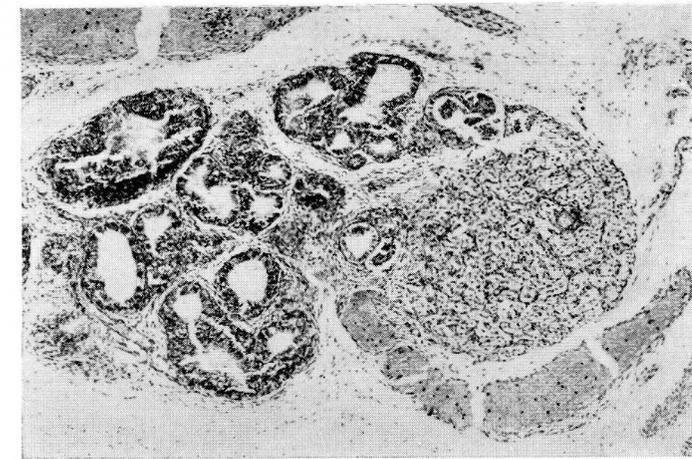


FIG. 1. — Paraganglio I. Formación esférica, no encapsulada, situada al lado de secciones transversales y oblicuas de los conductos eferentes (Tricrómico de Masson, 62'5×).

El patrón histológico de los tres paraganglios es semejante, por lo que la descripción histológica se realiza en conjunto. Están formados por acúmulos celulares, separados unos de otros, por un escaso tejido conjuntivo (fig. 3). En el espesor de este tejido destacan abundantes capilares. Los nidos celulares están constituidos por células poliédricas de gran tamaño (fig. 4, A). El núcleo es esférico u ovoideo, el nucleolo prominente y las granulaciones de heterocromatina abundantes. El tamaño del núcleo y la condensación de la cromatina varían de una célula a otra.

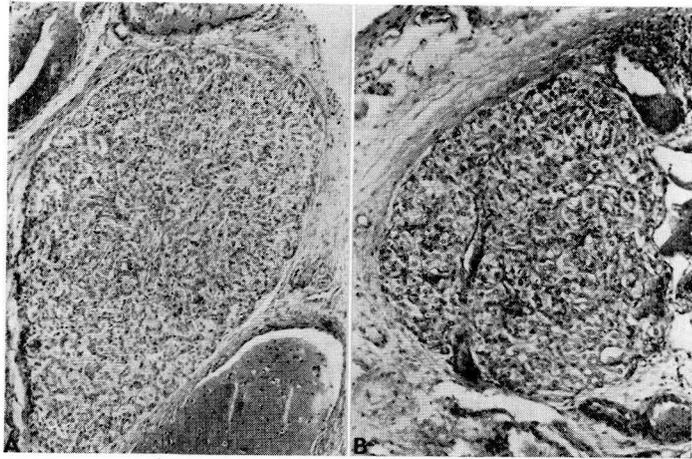


FIG. 2. — A) Paraganglio II. Formación piriforme rodeada por una cápsula fina de tejido conectivo (HE. 62'5×). B) Paraganglio III. Formación ovoidea surcada por varios vasos y rodeada por venas ligeramente dilatadas (Tricrómico de Masson, 62'5×).

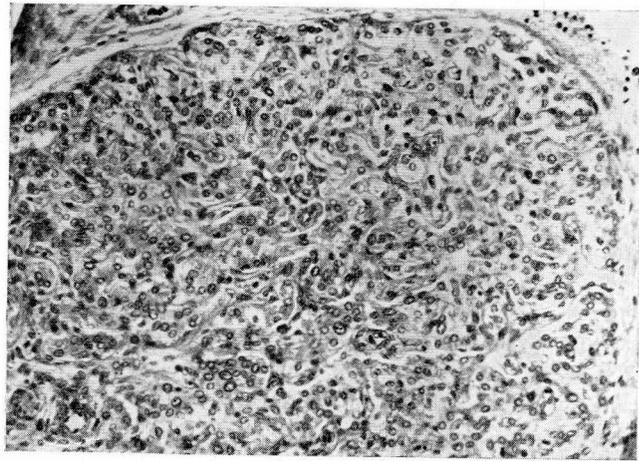


FIG. 3. — Las células principales forman acúmulos que están separados unos de otros por las células de sostén y los capilares sanguíneos (HE. 125×).

El citoplasma de la mayoría de las células es granular y eosinófilo; el de las restantes, claro o vacuolado. Cada acúmulo celular está constituido por un número de células que varía de cuatro o cinco o varias docenas.

En la periferia de estos acúmulos hay un segundo tipo celular. Es de menor tamaño y de aspecto fusiforme. Tiene núcleos alargados e hiper cromáticos y muestra límites citoplásmicos imprecisos.

Con las técnicas argénticas (Laidlaw y Grimelius) se observó una marcada argirofilia en muchas de las granulaciones del primer tipo celular descrito (células principales) (fig. 4, B). Con la técnica de Gless se identifican estructuras fibrilares, finas, entre las células principales, que pudieran corresponder a fibras nerviosas amielínicas.

### Discusión

El estudio de los paraganglios extraadrenales se ha realizado tomando como modelo la médula adrenal. Diferentes técnicas, morfológicas, histoquímicas y bioquímicas, habitualmente usadas en la exploración de la médula adrenal se han practicado también en los paraganglios extraadrenales. Los resultados han sido en muchas ocasiones discordantes.

La reacción cromafín, que tan buenos resultados da para detectar catecolaminas en la médula adrenal o en los tumores en ella originados, cuando se realiza en los paraganglios extraadrenales, da resultados negativos. Este hecho ha sido el punto de partida para la introducción del término paraganglio no cromafín

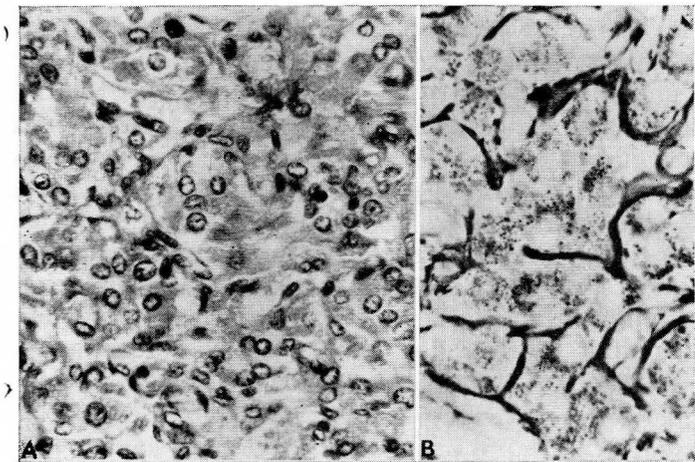


FIG. 4. — A) El citoplasma de las células principales es eosinófilo y granular, mientras que el de las células de sostén es fusiforme y de contornos más imprecisos (HE. 250×). B) En el citoplasma de las células principales hay numerosas granulaciones de pequeño tamaño intensamente argirófilas (Laidlaw, 625×).

(WATZKA, 1943). La mayoría de los paraganglios extraadrenales han sido y aún están considerados dentro de este grupo.

Hoy sabemos que todos los paraganglios contienen catecolaminas en las granulaciones citoplásmicas de las células principales (BOCK y LASSMANN, 1972; CHIOCCHIO y col., 1971). La explicación del porqué estos tejidos no adquieren un color pardo después de la fijación con ácido crómico se ha hecho utilizando varias hipótesis (GLENNER y GRIMLEY, 1974). Diferencias en la naturaleza y estado de la proteína que retiene el compuesto reactivo en el interior de los gránulos. Baja concentración del compuesto en el interior de las células o pérdida de catecolaminas durante la realización de la técnica histológica.

Dado que la ausencia de positividad de la reacción cromafín no indica necesariamente una ausencia de catecolaminas, el término paraganglio no cromafín no tiene ningún valor clasificatorio y debe evitarse.

Los intentos realizados, tratando de buscar argentafinidad o argirofilia, han dado resultados más concluyentes. En los tres paraganglios estudiados hay grupos celulares que muestran granulaciones citoplásmicas con gran apetencia por las sales de plata, del mismo modo que lo hacen las células secretoras de noradrenalina de la médula adrenal. Pero la valoración de estas técnicas se hace difícil por carecer de especificidad.

Una técnica precisa para demostrar la existencia de catecolaminas consiste en la búsqueda de la fluorescencia inducida por los vapores de formol (FALCK y OWMAN, 1965). El color amarillo verdoso es sumamente característico. El material que se requiere ha de estar en fresco.

El patrón histológico de los paraganglios puede variar de unos a otros. Se han fijado, como base de una clasificación morfofuncional, dos tipos polares. El primero comprende a los paraganglios que reproducen la estructura de la médula adrenal y, como en ella, las células tienen gran apetencia por los iones dicromato y están funcionalmente en conexión con el sistema nervioso ortosimpático. El segundo agrupa a los que se asemejan a los cuerpos carotídeos, son paraganglios relacionados con los nervios craneales y sus células no reaccionan con el dicromato potásico.

Los paraganglios del epidídimo, que hemos estudiado, tienen una morfología variable de un campo a otro, lo que hace difícil clasificarlos. Si consideramos a las células fusiformes, situadas en la periferia de los nódulos, como células de "sostén", estarían formados por dos tipos celulares y habría que incluirlos entre los que tienen un patrón tipo cuerpo carotídeo. Aun así, el parecido está más cercano a los cuerpos carotídeos hiperplásicos.

Para sistematizar el estudio de los paraganglios extraadrenales se ha recurrido a la valoración conjunta de una serie de datos que incluyen, además de la estructura microscópica, datos referentes a la distribución anatómica, embriología, inervación y vascularización.

Se distinguen así (GLENNER y GRIMLEY, 1974) varios grupos o familias de paraganglios con peculiaridades propias: paraganglios branquioméricos, intravagales, aórtico-simpáticos y viscerales-autónomos.

Los paraganglios branquiméricos se distribuyen por la cabeza, cuello y mediastino superior. Están íntimamente relacionados con los nervios craneales y los vasos arteriales derivados de los diferentes arcos branquiales. Histológicamente tienen una imagen similar, siendo el prototipo el cuerpo carotídeo. Integran este grupo los paraganglios yugulares (GUILD, 1953; MARTÍNEZ y col., 1974), intercarotídeos (KJAERGAARD, 1973), de la subclavia, laríngeos (WATZKA, 1963; KLEINSASSER, 1964), coronarios (BECKER, 1966), pulmonares (BLESSING y HORA, 1968) y muy probablemente el paraganglio de la órbita (MAWAS, 1936).

Los paraganglios intravagales están distribuidos a lo largo de las ramas periféricas del nervio vago. Se sitúan bien entre las fibras nerviosas o inmediatamente bajo el perineuro. No están relacionados tan íntimamente con los vasos sanguíneos como los del grupo anterior. Se han descrito en el interior de los ganglios yugular y nodoso. La histología es similar a la del cuerpo carotídeo (CHEN y YATES, 1970).

Los paraganglios simpáticos aórticos son fáciles de identificar en la región retroperitoneal del recién nacido, próximos a la aorta, en el trayecto de las cadenas simpáticas o en sus ganglios. El más voluminoso es el órgano de Zuckerkandl, histológicamente muy parecido al cuerpo carotídeo (MASCORRO y YATES, 1970). El paraganglio asociado al ganglio cervical superior es también un paraganglio simpático, pero su imagen histológica recuerda más a la médula adrenal (MATTHEWS y RAISMAN, 1969). Este grupo incluye también otros paraganglios con imágenes histológicas intermedias entre los dos grupos polares.

Los paraganglios viscerales autónomos forman el grupo peor sistematizado. Se incluyen en él los paraganglios observados en la pared de los vasos mesentéricos (ELLIOT, 1965), en la pared de la vejiga (LEESTMA y PRICE, 1971), en el hilio hepático (GOORMAGHTIGH, 1936) y en el tabique interauricular (JACOBOWITZ, 1967; MURATORI, 1962). Los diferentes grupos celulares que los constituyen han sido generalmente hallazgos durante el estudio de piezas quirúrgicas con diferente patología.

Los paraganglios del epidídimo reúnen las características generales de este grupo y, como ellos, probablemente están inervados por el parasimpático. Este grupo de paraganglios viscerales autónomos tiene muchos puntos en común con los paraganglios intravagales y es muy posible que a medida que se conozcan mejor queden incluidos en él.

Los paraganglios del epidídimo son inconstantes; en los cortes seriados, que hemos practicado en varios casos, no se encuentran. Pero su frecuencia debe ser superior a lo que podía deducirse del presente trabajo (tres paraganglios en 164 epidídimos). Dado su pequeño tamaño, pudieron no ser interesados por las secciones de rutina realizadas en cada uno de los bloques.

Probablemente los paraganglios del epidídimo, como la mayoría de los paraganglios de otros grupos, involucionan con la edad; no hemos observado ningún caso en epidídimos de autopsia o en piezas quirúrgicas de adultos. Si tienen o no una función específica es algo que hoy por hoy no podemos contestar.

#### Resumen

Se estudian tres paraganglios situados en el epidídimo, localización no descrita con anterioridad en la bibliografía. Se observaron, en un estudio retrospectivo de 164 epidídimos de recién nacidos, en dos niños de 1360 y 2750 gramos.

Están situados en la cabeza del epidídimo, dos en epidídimos izquierdos y uno en el lado derecho.

Histológicamente están formados por células principales, que muestran abundantes granulaciones argentafines, células de sostén, vasos sanguíneos y fibras nerviosas. Externamente, dos de los tres paraganglios están recubiertos por una cápsula.

Por su estructura y situación se incluyen en el grupo de los paraganglios viscerales autónomos.

#### Summary

We present here for the first time a study of three paraganglia situated in the epididymis. One hundred sixty four epididymis of new borns were studied. The three paraganglia corresponded to two children, who weighed 1360 and 2750 grs.

The paraganglia are situated in the head of the epididymis, two in the left epididymis and one in the right.

Histologically, they are formed by the chief cells which have abundant argentaffin granules, sustentacular cells, blood vessels and nerve fibers. Two of three paraganglia are surrounded by a connective tissue.

Because of their structure and location, we classified them in the visceral-autonomic paraganglia group.

#### Zusammenfassung

Zum erstenmal sind drei Paraganglien vom Nebenhoden, die in einer Untersuchung von 164 Nebenhoden neugeborener Kinder gefunden wurden, dargestellt. Die drei Paraganglien gehörten zu zwei Kinder die 1360 und 2750 g. auswogen. Zwei Paraganglien liegen im Caput epididymis: zwei im linken Nebenhoden und das andere

im rechten Nebenhoden. Die Paraganglien bestanden aus Hauptzellen, die viele argentaffine Granula besaßen, Unterstützenzellen, Blutgefäße und Nervenfasern. Zwei Paraganglien waren mit einer Kapsel bedeckt. Wegen ihrer struktur und Lokalisierung sollen diese Paraganglien als eingeweiderte autonome Paraganglien betrachtet werden.

#### Résumé

Nous avons étudié trois paraganglies situés dans l'épididyme, situation qui n'a pas été décrite antérieurement dans la bibliographie. Ils ont été observés dans un étude rétrospectif de 164 épiddimes de nouveaux-nés, chez 2 enfants pesant 1360 et 2750 grs. Ils sont situés dans la tête de l'épididyme, deux dans d'épididimes gauches et un du coté droit.

Du point de vue histologique, sont formés par des cellules principales, qui montrent des granulations argentafines abondantes, des cellules de support, des vaisseaux sanguins et des fibres nerveuses. A l'extérieur deux des trois paraganglies sont recouverts d'une capsule.

Suivant leur structure et situation ils appartiennent au groupe de paraganglies viscéraux.

#### BIBLIOGRAFÍA

- BECKER, A. E. (1966): The glomera in the region of the heart and great vessels. A microscopic-anatomical and histochemical study. Thesis: University of Amsterdam.
- BLESSING, M. H., and B. I. HORA (1968): Glomera in der Lunge des Menschen. "Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.", **87**: 562-570.
- BOCK, P., and H. LASSMANN (1972): Histochemische untersuchungen über die reserpinwirkung am glomus caroticum (Ratte). "Verh. Anat. Ges.", **67**: 20-24.
- CHEN, I.-L., and R. D. YATES (1970): Ultrastructural studies of vagal paraganglia in Syrian hamsters. "Z. Zellforsch.", **108**: 309-323.
- CHIOCCHIO, S. R., M. P. KING and E. T. ANGELAKOS (1971): Carotid body catecholamines. Histochemical studies on the effects of drug treatments. "Histochemie", **25**: 52-59.
- DE CASTRO, F. (1928): Sur la structure et l'innervation du sinus carotidien de l'homme et des mammifères. Nouveaux faits sur l'innervation et la fonction du glomus caroticum. Études anatomiques et physiologiques. "Trav. Lab. Recherches Biol. Univ. Madrid", **25**: 331-380.
- ELLIOTT, G. B. (1965): Glomus-like bodies on the superior mesenteric artery. "Can. Med. Assoc. J.", **92**: 1203-1305.
- FALCK, B., and C. OWMAN (1965): A detailed methodological description of the fluorescence method for the cellular demonstration of biogenic monoamines. "Acta Univ. Lund. Sec. II", **7**: 1-23.
- GLENNER, G. G., and P. M. GRIMLEY (1974): Tumors of the extraadrenal paraganglion system. "Armed forces Instituts of Pathology". Washington.
- GOORMAGHTIGH, N. (1936): On the existence of abdominal vagal paraganglia in the adult mouse. "J. Anat.", **71**: 77-90.
- GRIMLEY, P. M., and G. G. GLENNER (1968): Ultrastructure of the human carotid body. A perspective on the mode of chemoreception. "Circulation", **37**: 648-665.
- GUILD, S. R. (1953): The glomus jugulare, a nonchromaffin paraganglion, in man. "Ann. Otolaryngol.", **62**: 1045-1071.

- JACOBOWITZ, D. (1967): Histochemical studies of the relationship of chromaffin cells and adrenergic nerve fibers to the cardiac ganglia of several species. "J. Pharmacol. Exp. Ther.", **158**: 227-240.
- KJAERGAARD, J. (1973): Anatomy of the carotid glomus and carotid glomus-like bodies (non-chromaffin paraganglia). With electron microscopy and comparison of human foetal carotid, aorticopulmonary, subclavian, tympanojugular, and vagal glomera. Translated from the danish by LaCour, A. Copenhagen: F.A.D.L.'s Forlag.
- KLEINSASSER, O. (1964): Das glomus laryngicum inferior. Ein bisher unbekanntes, nichtchromaffines paraganglion vom bau der sog. Carotisdruse im menschlichen Kehlkopf. "Arch. Klin. Exp. Ohren, Nasen, Kehlkopfheilkd", **184**: 214-224.
- KOHN, A. (1903): Die paraganglien. "Arch. Mikrobiol.", **62**: 263-365.
- LASSMAN, H., and P. BOCK (1972): Die Wirkung von 6-Hydroxydopamin auf den Katecholamingehalt des Glomus caroticum der Ratte. "Z. Zellforsch.", **127**: 220-229.
- LEESTMA, J. E., and E. B. PRICE, Jr. (1971): Paraganglioma of the urinary bladder. "Cancer", **28**: 1063-1073.
- MARTÍNEZ, V., C. GAVILÁN, L. VALBUENA, J. SILVELA y M. NISTAL (1974): Los tumores glómicos timpanoyugulares. "O.R.L. Iber.-Amer.", **2**: 248-268.
- MASCORRO, J. A., and R. D. YATES (1970): Sympathetic paraganglia. "Tex. Rep. Biol. Med.", **28**: 363-372.
- MATTHEWS, M. R., and G. RAISMAN (1969): The ultrastructure and somatic efferent synapses of small granule-containing cells in the superior cervical ganglion. "J. Anat.", **105**: 255-282.
- MAWAS, J. (1936): Sur un organe épithélial non décrit, le paraganglion infra-orbitaire. "C. R. Acad. Sci.", **202**: 977-978.
- MURATORI, G. (1962): Histological observations on the cervico-thoracic paraganglia of amniotes. "Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.", **140**: 217-226.
- WATZKA, M. (1943): Die Paraganglien. Einführung; Wesen und Einteilung der Paraganglien, pp. 262-308. In: Handbuch der Mikroskopischen Anatomie des Menschen, vol. 6, part 4. (Ed.) Mollendorff, W. V. Berlin: Springer Verlag.
- WATZKA, M. (1963): On paraganglia in the plica ventricularis of the human larynx. "Dtsch. Med. Forschung.", **1**: 19-20.

M. NISTAL  
Departamento de Morfología  
Facultad de Medicina  
Universidad Autónoma  
Madrid (España)



## APORTACIÓN AL ESTUDIO ELECTROLÍTICO DEL LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO NORMAL

POR

J. NÚÑEZ FUSTER<sup>(1)</sup> y F. CASTELLANOS MATEOS<sup>(2)</sup>

### Introducción

DESDE que MESTREZAT (1911), habiendo estudiado el contenido de los electrolitos del líquido cefalorraquídeo (L.C.R.), publica en 1911 sus primeras investigaciones, y años más tarde, KATZELBORGEN (1937), MERRIT y FREEMON-SMITH (1937) establecen las bases del conocimiento actual en lo concerniente a la mayoría de los componentes inorgánicos del L.C.R., numerosos trabajos se han ocupado de los mismos con la pretensión de dilucidar a través de su estudio la compleja fisiología del L.C.R., o bien las relaciones que se establecen entre los cambios iónicos del L.C.R. y el funcionalismo del Sistema Nervioso Central.

Principalmente sabemos que el estudio de los electrolitos del L.C.R. en sus relaciones con el medio extracerebral ha aportado nuevos conocimientos a la producción, circulación, relaciones y absorción del L.C.R. en condiciones normales y patológicas.

El Sistema Nervioso Central está aislado del resto del organismo por medio de la barrera hematoencefálica y mantiene por ello una llamativa independencia en relación con posibles cambios iónicos extraneurales. Pero esta independencia en modo alguno es total, ya que a través de la irrigación sanguínea cerebral y meníngea sigue existiendo una relación funcional con todo el organismo en general y, por lo mismo, con el metabolismo hidroelectrolítico.

Surgen serias objeciones si se pretende establecer una analogía entre la regulación hidroelectrolítica del Sistema Nervioso Central y la del resto del organismo si se considera que la magnitud del

(1) Profesor adjunto. Primera Cátedra de Anatomía. Facultad de Medicina. Sevilla.  
(2) Profesor adjunto. Primera Cátedra de Anatomía. Facultad de Medicina. Sevilla.

flujo sanguíneo cerebral, y por lo tanto el volumen de fluido disponible para el Sistema Nervioso Central se hallan sujetos a la regulación de los vasos cerebrales (BROCK y col., 1969; LUYENDUJK, 1968), y por otra parte, que las concentraciones de electrolitos a uno y otro lado de la barrera hematoencefálica no son semejantes. En efecto, los electrolitos del L.C.R. y líquido intercelular del Sistema Nervioso no se corresponden en cuanto a su concentración con los de la sangre. Es evidente que los mecanismos de regulación del metabolismo hidroelectrolítico de los centros neurales están bien salvaguardados en condiciones normales sin que (a diferencia de los conocidos en el espacio exterior al Sistema Nervioso Central) nos percatemos de sus mecanismos de regulación.

En relación con el metabolismo iónico de los centros nerviosos se ha procurado buscar una significación funcional a toda una serie de estructuras que adquieren personalidad a partir de estadios embrionarios y que están situadas junto a las angosturas del sistema ventricular, como son, en concreto, el órgano subfornical, el órgano subcomisural y la comisura blanca posterior; formaciones endimarias que, influidas por la carga iónica del sodio, actuarían en virtud de su secreción interna en la regulación de la secreción coroidea (JIMÉNEZ-CASTELLANOS, 1965).

El sodio es transportado activamente desde la sangre al L.C.R. con la intervención de las enzimas anhidrasa carbónica y adenosintrifosfatasa (CSERR, 1971), que formarían parte de la llamada "bomba de sodio" para el L.C.R. (DAVSON, 1967), contribuyendo a a mantener niveles más altos de sodio licuoral que los encontrados en la sangre, y ello de forma constante. Concretamente el sodio del L.C.R. es un 3-4 % más alto que la natremia (MERRIT y col., 1937; BERNSTEIN, 1953; COOPER y col., 1955; KOBAYASHI y col., 1955; MOLLARET y col., 1966). Pero, con todo, el sodio licuoral no se mantiene independiente de la natremia, sino que, por el contrario, después del intervalo necesario (corto siempre y más rápido cuanto más cercano a los ventrículos laterales (SWEET, 1950), las variaciones de la natremia se reflejan fielmente en la concentración del sodio del L.C.R., pero manteniendo siempre la concentración en este último medio más alta que en la sangre.

La concentración del potasio en el L.C.R. está situada, en condiciones normales, alrededor del 60 % de la kaliemia, con un estrecho margen de variabilidad (MOND, 1952; COOPER y col., 1955; KOBAYASHI y col., 1955; ROGEMONT y col., 1960; CSERR, 1965; PRILL, 1969). El potasio pasa de la sangre al L.C.R. por los plexos coroideos a través de un mecanismo activo (DAVSON, 1967) con la intervención de la enzima adenosintrifosfatasa (CSERR, 1971). Una

elevación y una disminución experimental de la kaliemia tiene escasa repercusión sobre el potasio del L.C.R. (BEKAERT y col., 1954; COOPER y col., 1955; BRADBURY y col., 1965; CHAZAN y col., 1969). El hecho de que el potasio del L.C.R. sea menos variable que el potasio del plasma tiene un significado funcional si consideramos que el potasio licuoral está en equilibrio dinámico con el compartimento extracelular o glial del Sistema Nervioso Central. De esta forma se mantendrían unos niveles constantes de este ion alrededor de las neuronas, lo que resulta providencial para ellas, ya que pequeñas variaciones en la concentración del potasio fuera de las neuronas puede causar cambios en el potencial de membrana de las mismas (HODGKIN y col., 1955).

En cuanto a la concentración del calcio licuoral en relación con el del plasma, todos los autores admiten que las cifras de aquél giran con estrecho margen alrededor de la mitad de la concentración de la calcemia (MERRIT y col., 1938; VILELA, 1941; BRUNO, 1940; CASTELLS y col., 1947; LUPS y col., 1954; STUTZMAN y col., 1952; HARRIS y col., 1955; HUNTER y col., 1960; LEUSEN, 1964; DAVSON, 1967). Los valores de la calcirraquia se corresponden bastante fielmente con la concentración del calcio difusible, no ligado por tanto a las proteínas de la sangre (CAMERON y col., 1925; LA-FONTAINE, 1946), o mejor aún, con el calcio ionizado plasmático (PAUPE, 1962; MININNI, 1962). La concentración de calcio en el L.C.R. permanece estable con las variaciones experimentales, bruscas o mantenidas, de la calcemia, bien sea en el sentido de un aumento (CAMERON y col., 1925; BERENCZY, 1929; MORGULIS y col., 1930; MERRIT y col., 1931; GREGORY y col., 1936; KEMENY y col., 1961; SCHEIN, 1964) o bien una disminución de la misma (CAMERON y col., 1925; MORGULIS y col., 1930; HERBERT, 1933; KLOTZ y col., 1952; LEICHER, 1922; NOURSE y col., 1925; MERRIT y col., HERBERT, 1933; GREGORY y col., 1936; PAUPE, 1959).

Se conoce la existencia del antagonismo existente entre el potasio y el calcio del L.C.R. En efecto, un aumento experimental de la concentración del potasio ventricular provoca signos de actividad nerviosa y excitación y un incremento en la amplitud y frecuencia de los movimientos respiratorios (HILAROWICZ y col., 1929; STERN y col., 1933; RESNIK y col., 1936; EULER, 1938; MULLIN y col., 1938; SERGIEWSKY y col., 1938; DOWNMAN y col., 1943; WALKER y col., 1945). La disminución experimental del potasio intraventricular tiene poca o ninguna repercusión sobre el resto del organismo (VERSTRAETE, 1950; LEUSEN, 1950; BEKAERT, 1950). Por el contrario, un incremento experimental del ion calcio en el L.C.R. causa una inhibición de la respiración (VERSTRAETEN, 1950; MAR-

QUARDT y col., 1951; BERNT y col., 1969). Un descenso experimental del calcio iónico intraventricular causa una sorprendente hiperpnea (RESNIK y col., 1936; MULLIN y col., 1938; VERSTRAETEN, 1950). Cuando el potasio y el calcio intraventriculares están elevados experimentalmente en la misma proporción se hacen preponderantes los efectos del calcio (VERSTRAETEN, 1950; LEUSEN, 1950). En la disminución artificial de las concentraciones de potasio y de calcio intraventriculares, el efecto ocasionado por la disminución del calcio del L.C.R. no se modifica por los efectos de un potasio bajo en el mismo medio. Los efectos de las altas concentraciones de potasio y bajas del calcio en el L.C.R. sobre el tejido nervioso han sido achacados a una disminución en la estabilidad de la membrana celular. En ausencia de calcio extracelular la resistencia de la membrana de la neurona disminuye, el movimiento pasivo de sodio y potasio a través de la membrana neuronal aumenta y la excitabilidad se hace mayor, de tal forma que puede llegar a producirse una actividad espontánea; efectos opuestos se observan con un aumento de la concentración de calcio extracelular (BRINK, 1954; SHANES, 1958; CERF, 1963).

### Material y métodos

Hemos realizado un estudio de la concentración de sodio, potasio y calcio del L.C.R. considerados aisladamente y en relación con el sodio, potasio y calcio contenidos en el plasma sanguíneo de catorce niños con edades comprendidas entre cuatro meses y seis años cumplidos. El tiempo transcurrido entre la toma de muestras en ambos medios fue sólo de unos minutos.

Se consideraron sujetos normales aquellos que en el momento de hacer la punción lumbar no padecían alteración neurológica alguna evolutiva o establecida, el examen rutinario del L.C.R. era normal, el E.E.G. no mostraba alteración alguna y también estaban dentro de la normalidad el recuento y la fórmula de las células sanguíneas, la velocidad de sedimentación globular y el análisis rutinario de orina; por otra parte, ninguno de los niños estudiados tenían antecedentes de enfermedades graves en otros aparatos.

La extracción de la muestra de plasma se efectúa por punción capilar y la del L.C.R. según la técnica habitual. La determinación de la concentración de sodios y potasio del plasma sanguíneo y del L.C.R. se ha llevado a efecto con el fotómetro de llama standard de litio de lectura directa (digital) de Instrumentation Laboratory, modelo 143, con el cual no suelen ser necesaria una cantidad de plasma o L.C.R. superior a 0'1 ml. Para la determinación

de la calcemia y la calcirraquia se han usado los reactivos para investigación bioquímica del "Calcium Test Wako" (Japón) realizando la lectura de los resultados en un colorímetro espectrofotómetro "Spectronic 20"; la cantidad necesaria de plasma o L.C.R. es de 0'5 ml en cada caso. Ambos métodos tienen una común doble cualidad: la simplicidad de los mismos y la precisión de sus resultados (lo que en definitiva les da un alto grado de rigor científico).

Con los resultados obtenidos por la aplicación de estos métodos se practicó un estudio estadístico, determinando así los valores medios (media aritmética), desviación y error standard, con lo cual obtenimos con gran aproximación el valor medio normal de la población de la que se han tomado las muestras (en nuestros casos de Sevilla, capital y provincia). Se establece para cada electrolito en estudio y en cada sujeto una relación o índice hematoliquoral (I.H.L.) y así mismo se relaciona en cada caso el cociente potasio/calcio en el L.C.R. (tan importante como vimos para un correcto metabolismo neuronal) y la relación de los I.H.L. del potasio y del calcio. De todos estos coeficientes se determinan así mismo la media, la desviación y el error standad.

### Resultados

Los datos que corresponden al sodio, potasio y calcio contenido en el plasma sanguíneo y en el L.C.R., el I.H.L. para cada electrolito, la relación de las concentraciones de potasio y calcio en el L.C.R. y la relación de los I.H.L. de ambos iones (potasio y calcio) en cada uno de los niños estudiados pueden verse en el cuadro de la página siguiente.

Los valores medios normales de sodio, potasio y calcio del plasma y del L.C.R. en el medio ambiente en que nos desenvolvemos mediante el estudio estadístico de los resultados hallados en los casos examinados considerados como normales son los siguientes (media  $\pm$  3 errores standard).

En plasma sanguíneo:

Sodio:  $142'1 \pm 6'6 = 135'5 - 148'7$  mEq/litro  
 Potasio:  $4'9 \pm 0'3 = 4'6 - 5'2$  mEq/litro  
 Calcio:  $9'9 \pm 0'4 = 9'5 - 10'5$  mg/100

En líquido cefalorraquídeo:

Sodio:  $145'6 \pm 5'3 = 140'3 - 150'9$  mEq/litro  
 Potasio:  $2'9 \pm 0'3 = 2'6 - 3'2$  mEq/litro  
 Calcio:  $4'7 \pm 0'5 = 4'4 - 5'0$  mg/100

Caso	Edad	Sexo	Plasma			L.C.R.			I.H.L.			Relación K/Ca	
			Na	K	Ca	Na	K	Ca	Na	K	Ca	En el L.C.R.	De los I.H.L.
1	2 años	V	138	5'2	10'4	141	3'4	4'7	0'98	1'53	2'22	1'45	0'69
2	1 año	H	156	4'9	9'8	156	3'1	4'5	1'00	1'58	2'18	1'39	0'72
3	5 años	H	128	4'8	9'4	136	2'6	5'3	0'94	1'85	1'76	0'98	1'05
4	6 años	V	140	4'4	9'6	143	2'4	4'7	0'98	1'83	2'04	1'02	0'9
5	3 años	V	146	5'1	10'9	150	2'6	4'6	0'98	1'96	2'27	1'13	0'86
6	4 meses	H	131	3'9	9'9	133	2'6	4'9	0'98	1'50	2'02	1'06	0'74
7	2 años	H	146	4'9	9'8	148	3'0	4'6	0'99	1'63	2'12	1'3	0'77
8	6 meses	V	136	5'2	10'5	146	2'9	5'0	0'93	1'79	2'10	1'16	0'85
9	1 año	H	138	5'0	10'9	142	2'9	5'2	0'97	1'72	2'10	1'12	0'82
10	6 años	H	148	5'1	9'6	149	3'3	4'7	0'99	1'55	2'08	1'4	0'75
11	4 años	V	143	5'4	10'8	146	3'1	5'8	0'98	1'74	1'86	1'07	0'94
12	4 meses	V	143	5'2	9'4	147	2'9	4'4	0'97	1'79	2'05	1'32	0'87
13	1 año	H	157	4'3	10'4	157	2'2	4'9	1'00	1'95	2'12	0'9	0'92
14	2 años	V	139	5'1	10'0	144	3'0	5'2	0'97	1'70	1'92	1'15	0'89

Los valores normales de los I.H.L. del sodio, potasio y calcio (media  $\pm$  3 errores standards) que hemos encontrado son los siguientes:

I.H.L. del sodio:  $0'98 \pm 0'00 = 0'98$

I.H.L. del potasio:  $1'72 \pm 0'09 = 1'63 - 1'81$

I.H.L. del calcio:  $2'06 \pm 0'09 = 4'4 - 2'15$

El valor medio hallado para la relación potasio/calcio del L.C.R. normal (importante como vimos para el establecimiento de un adecuado metabolismo neuronal) es el siguiente (media  $\pm$  3 errores standards):

$1'17 \pm 0'13 = 1'04 - 1'3$

Al comparar los I.H.L. del potasio y del calcio corregimos el cociente que establece la relación potasio/calcio del L.C.R. El valor normal que hemos hallado para la relación de los I.H.L. del potasio y del calcio (media  $\pm$  3 errores standard) es el siguiente:

$0'84 \pm 0'00 = 0'84$

### Discusión de los resultados

Como puede observarse hemos encontrado en el L.C.R. con relación al plasma sanguíneo una mayor concentración de sodio (3-4 mEq/litro), una menor concentración de potasio (alrededor del 60 % de la kaliemia) y una menor concentración de calcio (alrededor del 50 % de la calcemia). Basados en el hecho de la influencia, grande para el sodio y escasa para el potasio y el calcio, que la concentración de estos iones en la sangre tienen sobre los valores de los mismos en el L.C.R., establecemos una relación hematocinética para cada electrolito en estudio. Índice que lógicamente oscila muy poco en el caso del sodio (error standard igual a cero) y poco más en el caso del potasio y del calcio, con igual error standard (0'09). Los valores hallados para los I.H.L. del potasio y del calcio tienen mucha menor dispersión que los encontrados para el potasio y calcio del L.C.R. considerados aisladamente, sin relación con los correspondientes valores de la concentración de los mismos en sangre. Por ello el error standard de los I.H.L. del potasio y del calcio es igual a 0'09, cifra muy inferior al error standard de los valores hallados para el potasio y calcio licuorales, que también es el mismo para los dos iones e igual a 0'3. La relación entre el potasio y el calcio ionizado del L.C.R. y espacio intercelular del Sistema Nervioso Central oscila entre límites muy estrechos, con un error standard de 0'13. Si corregimos esta rela-



ción comparando los I.H.L. del potasio y del calcio, la media es de 0'84, el error standard es igual a cero y el valor medio normal queda fijado en 0'84, sin margen de variabilidad.

Al igual que la mayoría de los autores que se han ocupado del problema, hemos hallado en el L.C.R., con relación a la sangre, una mayor concentración de sodio y una menor concentración de potasio y calcio. COOPER y col. (1955) encuentran para el sodio del L.C.R. una media de 141'2 mEq/litro y para la natremia 140'6 mEq/litro; KOBAYASHI y KODEMA (1955) encuentran en su serie una natremia media de 138 mEq/litro y un sodio licuoral medio de 155 mEq/litro; SPINA-FRANCA y col. (1963) encuentran para el sodio del L.C.R. una media de 150 mEq/litro; DOS REIS y col. (1963) hallan una media de 145 mEq/litro; MOLLARET y col. (1966) una media de 145 mEq/litro de sodio licuoral. Todos los autores citados encuentran una llamativa dispersión de los valores con desviación standard entre 3 y 7 mEq/litro, según los casos.

Por el contrario, el potasio licuoral oscila dentro de muy estrechos márgenes en los resultados obtenidos por los diversos autores. MOND (1952) encuentra una media de potasio en el L.C.R. de 2'74 mEq/litro; COOPER y col. (1955), media de 2'96 mEq/litro; PLUM (1958) una media de 2'43 mEq/litro, y por último, SPINA-FRANCA y col. (1963) una media de 3'04 mEq/litro. A semejanza de los valores hallados por nosotros el margen de oscilación de los valores de potasio plasmáticos y del L.C.R. es muy estrecho (con desviación standard alrededor de 0'3), cualidad ésta más acusada en el L.C.R. que en el plasma.

En lo que a la calcirraquia se refiere, MOND (1952) encuentra un valor medio de 5 mg/100; KOBAYASHI y KODAMA (1955) una media de 6'61 mg/100; KARCHER (1957), media de 5'2 mg/100; PAUPE (1959), de 5'04 mg/100; MININNI (1962), una media de 4'95 mg/100. La dispersión de los valores dan desviaciones standard que oscilan entre 0'19 y 0'32, según los distintos autores.

Interesa destacar, por último y una vez más, el estrecho margen de variabilidad que hemos hallado para las concentraciones de potasio y de calcio en el líquido cefalorraquídeo y en el plasma sanguíneo. Mayor es la oscilación del sodio en ambos medios. Todo ello resulta lógico y explicable si nos atenemos al alto valor biológico de los iones en estudio y a las alteraciones que conllevan modificaciones mínimas en su concentración. Los márgenes de variabilidad que hemos hallado correspondientes a las concentraciones de sodio, potasio y calcio son más estrechos en el L.C.R. que en la sangre, hecho que se corresponde con la mayor y especial susceptibilidad del tejido nervioso a los cambios iónicos en relación con otros tejidos.

### Conclusiones

I. Se ha determinado la concentración de sodio, potasio y calcio de catorce líquidos cefalorraquídeos pertenecientes a catorce niños considerados como "normales" tras una rigurosa selección. Se ha efectuado también la determinación de sodio, potasio y calcio en el plasma de cada niño en estudio y, a partir de estos resultados, se ha elaborado en cada caso un índice hematoliquoral para cada electrolito, un cociente que expresa la relación potasio/calcio en el L.C.R. y, por último, un cociente que expresa la relación de los índices hematoliquorales del potasio y del calcio.

II. Los valores medios normales de sodio, potasio y calcio del L.C.R. que hemos encontrado son compatibles con los hallados en la literatura. Valorando la media  $\pm 3$  errores standard, los valores normales son los siguientes:

Sodio:	$145'6 \pm 5'3 = 140'6 - 150'9$	mEq/litro
Potasio:	$2'9 \pm 0'3 = 2'6 - 3'2$	mEq/litro
Calcio:	$4'7 \pm 0'3 = 4'4 - 5$	mg/100

III. Hemos encontrado en el L.C.R. con relación al plasma sanguíneo una mayor concentración de sodio (3-4 mEq/litro), una menor concentración de potasio (alrededor del 60 % de la kaliemia) y una menor concentración de calcio (alrededor del 50 % de la calcemia).

IV. Los márgenes normales de variabilidad que hemos hallado correspondientes a las concentraciones de sodio, potasio y calcio son muy estrechos en lo que se refiere al potasio y al calcio en ambos medios (plasma y L.C.R.); más amplias son las oscilaciones del sodio. De cualquier forma conviene destacar que, con los tres iones, las oscilaciones de los valores encontrados son más amplias en la sangre que en el líquido cefalorraquídeo, hecho que se corresponde con la mayor y especial susceptibilidad del tejido nervioso a los cambios iónicos en relación con otros tejidos.

V. Basados en la interrelación, grande para el sodio y escasa para el potasio y el calcio, que la concentración de estos iones en la sangre tienen con los valores de los mismos en el L.C.R., establecemos un índice o relación hematoliquoral para cada electrolito en estudio. Hemos obtenido los siguientes valores para estos índices (media  $\pm 3$  errores standard):

I.H.L. del sodio:	$0'98 \pm 0'00 = 0'98$
I.H.L. del potasio:	$1'72 \pm 0'09 = 1'63 - 1'81$
I.H.L. del calcio:	$2'06 \pm 0'09 = 4'4 - 2'15$

VI. Así mismo hemos establecido el cociente que existe entre el potasio y el calcio del L.C.R. normal cuya relación es de suma importancia para el establecimiento de un correcto metabolismo neuronal y que en nuestros casos oscila entre límites muy estrechos, según vemos a continuación (media  $\pm 3$  errores standard):

$$1'17 \pm 0'13 = 1'04 - 1'3$$

VII. Por último, hemos establecido la corrección de este cociente comparando los índices hematoliquorales del potasio y del calcio entre sí. El valor medio normal obtenido es el siguiente (media  $\pm 3$  errores standard):

$$0'84 \pm 0'00 = 0'84$$

Observamos cómo al corregir el cociente que establece la relación potasio/calcio del L.C.R. por medio de la relación de los I.H.L. del potasio y del calcio, el error standard de este último cocientes disminuye con relación al de aquél, hasta tal punto que que se hace igual a cero, y el valor medio normal establecido para la relación de los índices hematoliquorales entre sí queda fijado en 0'84, sin margen estadístico de variabilidad.

### Resumen

Tras hacer una síntesis de los principales datos bibliográficos acerca del metabolismo hidroelectrolítico del L.C.R., el autor expone los resultados de su investigación sobre las concentraciones de sodio, potasio y calcio del L.C.R. en condiciones de normalidad, considerándolas aisladamente y en relación con las concentraciones de estos mismos tres electrolitos en el plasma sanguíneo, cotejando sus resultados con los de la bibliografía mundial.

### Summary

After making a synthesis of the principal bibliographical data on the hidroelectrolitical metabolism of cerebral spinal fluid, the authors reveal the results of their investigation on the concentration of Sodium, Potassium and Calcium of C.S.F. in normal conditions, considering them in isolation and in relation to the concentrations of these three electrolites in plasm comparing the results with those in world bibliography.

### Zusammenfassung

Es wird das elektrolytische Bild (Na, K und Ca) der normalen Cerebrospinalflüssigkeit aufgestellt, und eine vergleichende Studie mit den Ergebnissen anderer Verfasser vorgenommen.

Es werden die erzielten Ergebnisse kommentiert, und in erster Linie eine Beziehung zu der deissig Elektrolyten der Cerebrospinal- und Blutflüssigkeit hergestellt.

### Résumé

Après avoir fait une synthèse des principaux renseignements bibliographiques au sujet du métabolisme hydro-électrolytique du L.C.R., les auteurs exposent les résultats de son investigation sur les concentrations de sodium, de potassium et de calcium du L.C.R. dans les conditions de normalité, en les considérant isolément et en rapport avec les concentrations de ces mêmes trois électrolytes dans le plasma sanguin, en collationnant leurs résultats avec ceux de la bibliographie mondiale.

### BIBLIOGRAFÍA

- BEKAERT, J. (1950): Influence de la teneur en potassium, calcium et magnesium du liquide céphalo-rachidien sur les mouvements de l'estomac. "Arch. Intern. Physiol.", **58**: 69-89.
- BEKAERT, J., y G. DEMEESTER (1954): Influence of the potassium concentration of the blood on the potassium level of the cerebrospinal fluid. "Exptl. Med. Surg.", **12**: 480-501.
- BERENCZY, G. (1929): Über die Veränderung des Kalium und Calciumgehaltes des Liquor cerebrospinalis unter parathyroidea Wirkung Parathyroogene Reaktion. "Klin. Wochschr.", **8**: 2428-2429.
- BERNDT, J., A. FENNER y K. BERGER (1969): Influence of calcium and magnesium on the respiratory response to changes in C.S.F. pH. "Resp. Physiol.", **7**: 216-229.
- BERNSTEIN, R. E. (1953): Flame analysis of sodium and potassium in small volumes of serum, heparinized plasma and cerebrospinal fluid. "Amer. J. Clin. Path.", **23**: 933.
- BRADBURY, M. W. B., y H. DAVSON (1965): The transport of potassium between blood, cerebrospinal fluid and brain. "J. Physiol. (Londres)", **181**: 151-174.
- BRINK, F. (1954): The role of calcium ions in neural processes. "Pharmacol. Rev.", **243-298**.
- BROCK, M., C. FIESCHI, D. H. INGVAR, N. A. LASSEN y K. SCHURMANN (1969): Cerebral Blood Flow. Clinical and exp. results. International Symposium. Mainz. 10.12 abril. Impreso en Berlín, Heidelberg y New York.
- BRUNO, A. A. (1940): El líquido cefalorraquídeo normal y patológico. Ed. E. Fenner. Rosario. Argentina.
- CAMERON, A. T., y V. H. K. MOORHOUSE (1925): The tetany of parathyroid deficiency and the calcium of the blood and cerebrospinal fluid. "J. Biol. Chem.", **63**: 687-720.
- CASTELLS, C., y J. GERARDI (1947): El líquido cefalorraquídeo. "Ed. Cient. del Sind. Med. del Uruguay", **97**: 233.
- CERF, J. A. (1963): La acción fisiológica y farmacológica de los iones alcalino-térreos sobre las fibras nerviosas. En: "Handbuch der experimentellen Pharmakologie". Editado por Z. M. Bacq. Berlín.
- CHAZAN, J. A., A. M. APPLETON, A. M. LONDON y W. B. SCHWARTZ (1969): Effects of chronic metabolic acid-base disturbances on the composition of the cerebrospinal fluid in the dog. "Clin. Sci.", **36**: 345-358.
- COOPER, E. S., E. LECNER y S. BELLET (1955): Relation between serum and cerebrospinal fluid electrolytes under normal and abnormal conditions. "American J. Med.", **18**: 613-621.

- CSERR, H. (1971): Physiology of the chroid plexus. "Physiol. Rev.", **51**: 273.
- CSERR, H. (1965): Potassium exchange between cerebrospinal fluid, plasma and brain. "Am. J. Physiol.", **209**: 1219-1226.
- DAVSON, H. (1967): Physiology of the cerebrospinal fluid. Londres. Churchill.
- DOS REIS, J. B., Jr. I. DOS REIS y A. BEI (1963): Sódio e potasio no liquido cefalorraqueano em condicoes normais e pathological. "Arch. Neuro Psiquiat.", **21**: 7-12.
- DOWNMAN, C. B. B., y C. C. MACKENZIE (1943): Intracisternal injection of potassium phosphate. "Lancet", **2**: 471-475.
- EULER, U. S. (1938): Reflektorische und zentralen Wirkung von K-ionen auf Blutdruck und Atmung. "Skand. Arch. Physiol.", **80**: 94-123.
- GREGORY, R., y M. ANDERSCH (1936): The filterable calcium of blood serum. I. Comparison of filterable calcium of serum and total calcium of cerebrospinal fluid in normal, hyperparathyroid and hypoparathyroid states. "Am. J. Med. Sci.", **191**: 263-271.
- HARRIS, H. W., y H. E. SONNEBLICK (1955): A study of calcium and magnesium in the cerebrospinal fluid. "Yale Jour. of Biol. and Med.", **27**: 297.
- HERBERT, F. K. (1933): The total and diffusible calcium of serum and the calcium of cerebrospinal fluid in human cases of hypocalcemia and hypercalcemia. "Biochem. J.", **27**: 1978-1991.
- HILAROWICZ, H., y M. MIECZYSLAW (1929): Über den Einfluss der subduralen Darreichung von Kalium-chlorid auf die Vasomotoren, Herhemmung und Atemzentrum. "Z. Exptl. Med.", **64**: 772-781.
- HODGKIN, A., y R. D. KEINES (1955): The potassium permeability of a giant nerve fibre. "J. Physiol.", **128**: 61.
- HUNTER, G., y H. V. SMITH (1960): Ca and Mg in humen cerebrospinal fluid. "Nature", **188**: 4719.
- JIMÉNEZ CASTELLANOS, J. (1965): Lecciones de Neuroanatomía clínica. 2.<sup>a</sup> ed. G.E.H.A. Sevilla.
- JIMÉNEZ CASTELLANOS, J. (1965): Desarrollo y malformaciones neurales. G.E.H.A. Sevilla.
- KARCHER, D., A. LOWENTHAL y M. VAN SADE (1957): Determination de la teneur du liquide cephalo-rachidien en Ca, en K et en Na. "Rev. Belge Path.", **26**: 49-61.
- KEMENY, A., H. BOLDIZSAR y G. PETHES (1961): The distribution of cations in plasma and cerebrospinal fluid following infusion of solutions of salts of sodium, potassium, magnesium and calcium. "J. Neurochem.", **7**: 218-227.
- KLOTZ, H. P., y H. ELMALEH (1952): Étude préliminaire de certaines variations du liquide céphalorachidien chez le chien parathyroïdoprive. "Ann. Endocrinol. (Paris)", **13**: 102-115.
- KOBAYASHI, O., y B. KODAMA (1955): Studies on electrolytes in the cerebrospinal fluid in children. "Japan Mie. Med. J.", **5**: 97-107.
- LEICHER, H. (1922): Calciumbestimmungen im Liquor cerebrospinalis des Menschen. "Deut. Arch. Klin. Med.", **141**: 196-203.
- LEUSEN, I. (1964): Iones alcalinotérreos, líquido cefalorraquídeo y sistema nervioso central. En "Handbuch der experimentellen Pharmakologie. Ions alcalinoterreux". Editado por Z. M. Bacq. Berlin. Vol. 17, parte 2.<sup>a</sup>, cap. 3-A, pg. 483-528.
- LEUSEN, I. (1950): The influence of calcium, potassium and mangesium ions in cerebrospinal fluid on vasomotor system. "J. Physiol. (Londres)", **110**: 319-329.
- LUPS, S., y A. HAAN (1954): The cerebrospinal fluid. Elsevier Publ. Amsterdam.

- LUYENDIJK, W. (1968): Cerebral circulation. Progr. in "Brain Res.", vol. 30. Elsevier. Amsterdam.
- MARQUARDT, P., y H. T. RIEM-SCHNEIDER (1951): Über die Wirkung von intrazisternal injizierem calcium. "Arch. Inter. Pharmacodyn", **85**: 273-287.
- MERRITT, H. H., y F. FREMONT-SMITH (1937): The cerebrospinal fluid. Saunders. Philadelphia.
- MESTREZAT, W. (1911): Étude der Liquide Céphalorachidien normal. "Montpel. Med.", **32**: 610.
- MINNINI, G. (1962): Il comportamento del magnesio e del calcio del liquido cerebrospinale nel infanzia. "Riv. Clin. Pediat.", **70**: 147-152.
- MOLLARET, P., J. J. POCIDALO, C. GAUDEBOUT, M. C. BLAYO, F. VACHON y M. VICTOR (1966): Interet en pathologie des determinations physicochimiques dans le liquide cephalo-rachidien (pressions partielles gazeuses, equilibre acido-basique, osmolarité et equilibre hydroelectrolytique). "Bull. Soc. Med. Hosp.", Paris, **177**: 11-26.
- MOND, W. (1952): Über den Gehalt von Na, K und Ca in normalen und pathologisch veränderten Liquor. "Klin. Wschr.", **30**: 87-88.
- MORGULIS, S., y A. MC. GREGOR PERLEY (1930): Studies on cerebrospinal fluid and serum calcium, with special reference to the parathyroid hormona. "J. Biol. Chem.", **88**: 169-188.
- MULLING, F. J., A. B. HASTING y W. M. LEES (1938): Neuromuscular response to variations in Ca and K concentration in the cerebrospinal fluid. "Am. J. Physiol.", **121**: 719-727.
- NOURSE, J. D., D. N. SMITH y J. I. HATMAN (1925): Spasmophilia inorganic constituents of blood and cerebrospinal fluid. "Am. J. Dis. Child.", **30**: 210-218.
- PAUPE, J. (1959): Le calcium du liquide cephalorachidien et ses fractions. "Pathol. Biol. Semaine Hop.", **7**: 1665-1674.
- PLUM, C. M. (1958): Electrolyte variations in the cerebrospinal fluid in various pathological conditions. "Acta Psychiat. Scand.", **33**: 477-489.
- PRILL, A. (1969): Die Bedeutung des K/ca Quotienten sowie der isolierten Kaliumerhöhung im Liquor cerebrospinalis für die Beurteilung zentralnervöser Funktionen. "Deut. Med. Wochschr.", **94**: 1743-1749.
- RESNIK, H., M. F. MASON, R. T. TERRY, C. P. PILCHER y T. R. HARRISON (1936): The effect of injecting certain electrolytes into the cisterna. "Am. J. Med. Sci.", **191**: 835-850.
- ROUGEMONT, J., A. AMES, F. B. NESBETT y H. F. HOFMANN (1960): Fluid formed by choroid plexus. "J. Neurophysiol.", **23**: 485.
- SCHAIN, R. J. (1964): Cerebrospinal fluid and serum cation levels. "Arch. Neurol.", **11**: 330-333.
- SERGIEWSKY, M., N. OSTROUMONT y A. GOLOVIN (1938): Zur Frage der Regulation der Atembewegung. II. Veränderung der Atembewegung unter dem Einfluss von Lathium, Kalzium, Pilocarpin, Atropin und Morphin. "Fiziol. Z.", **25**: 685-694.
- SHANES, A. M. (1958): Electrochemical aspects of physiological and pharmacological action in excitable cells. Part. I: The resting cell and its alteration by extrinsic factors. "Pharmacol. Rev.", **10**: 59-164.
- SPINA-FRANCA, A., y F. B. DE JORGE (1963): Concentrações de cloro, sodio, potasio y fosforo no liquido cefalorraqueano normal. "Arch. Neuro-psiquiat.", **21**: 96-104.
- STERN, L., y G. L. CHVOLES (1933): Effet du l'injection intraventriculaire des ions Ca et K. "Compt. Rend. Soc. Biol.", **112**: 568-570.

- STUTZMANN, L. F., y S. D. AMATUZIO (1952): A study of serum and spinal fluid calcium and magnesium in normal humans. "Arch. Bioch. Biophys.", **39**: 271.
- SWEET, W. H., B. SALVERSTONE, S. SOLLOWAY y D. STETTEN (1950): Studies of formation, flow and absorption of cerebrospinal fluid. II. Studies with heavy water in the normal man. American College of Surgeons Surgical Forum. Ed. Saunders. Philadelphia.
- VERSTRAETEN, J. M. (1950): Influence de la concentration en ions potassium, calcium et magnesium du liquide céphalorachidien sur le respiration. "Rev. Belge Pathol. Med. Exptl.", **20**: 1-21.
- VILELA, G. G. (1941): Bioquímica do sangue. Odeon Ed. Rio de Janeiro, pg. 115.
- WALKER, M. S., E. A. SMOLIK y A. S. GILSON (1945): The effects of intracisternal injection of potassium phosphate on the rate and rhythm of the heart and on the blood pressure and on respiration of the dog. "Am. J. Physiol.", **145**: 223-238.

J. NÚÑEZ FUSTER  
1.<sup>a</sup> Cátedra de Anatomía  
Facultad de Medicina  
Sevilla (España)



## ULTRAESTRUCTURA DE LA GLÁNDULA TIROIDES EN GATOS PARCIALMENTE TIROIDECTOMIZADOS

POR

G. PALOMERO<sup>(1)</sup>

### Introducción

La utilización de la tiroidectomía como técnica experimental alcanza dos fines primordiales: el estudio de la función tiroidea en una situación de mayor trabajo glandular y el estudio de la regeneración de la glándula.

Diversos trabajos de tiroidectomía en animales (ELSE, 1926; ZECHER, 1931; JOHANSEN y col., 1951; FUNAKOSHI, 1961; VOITKEVICH, 1962; EGUCHI, 1966; FABRE y MARESCAUX, 1968; PALOMERO, 1972) muestran que existe un proceso de regeneración en la glándula tiroidea. En ella, tras una fase de estructuración más o menos compacta, se forman nuevos folículos que suplen a los que antes existían.

La regeneración alcanza una restauración funcional (KNIGGE, 1961; FABRE y MARESCAUX, 1968), pero no hay datos concretos sobre la forma de llevarse a cabo la restauración morfológica y ni siquiera si ella llega a alcanzarse completamente.

En estudios previos (PALOMERO, 1970, 1972) hemos observado al microscopio óptico que las más importantes modificaciones morfológicas aparecen en un tiempo de evolución relativamente corto. Es por ello que nuestro interés en el presente trabajo está en estudiar al microscopio electrónico los mismos estadios, con objeto de ver los datos morfológicos que pueden indicarnos la actividad funcional a que se encuentran sometidos estos animales.

(1) Profesor agregado numerario de Anatomía de la Facultad de Medicina de Bilbao.

### Material y técnicas

Se han utilizado gatos de un peso aproximado de 2.500 gr sometidos a tiroidectomía quirúrgica. A unos se les ha extirpado un lóbulo completo (hemitiroidectomía), mientras que a otros se les quita un lóbulo completo y la mitad del lóbulo del otro lado (tiroidectomía subtotal).

Después de un tiempo de evolución que oscila entre los 14 y 45 días, los animales son sacrificados.

Bajo anestesia con pentobarbital (nembutal), la extracción de residuos ha sido efectuada después de perfusión con glutaraldehído al 5 % en tampón fosfato a pH 7.4 y ulterior fijación en tetraóxido de osmio al 1 %, o bien extraídas e introducidas directamente en osmio. Las piezas fueron teñidas en bloque en acetato de uranilo-acetona al 2 % e incluidas en araldita. Los cortes ultrafinos (300 Å), tratados con el método de Reynold, fueron estudiados en un microscopio electrónico Philips EM 201.

### Resultados obtenidos

#### I. Hemitiroidectomía

En los animales de hemitiroidectomía persiste la estructura glandular, predominando los folículos pequeños y de epitelio cúbico. Este epitelio, que se hace discretamente más elevado a medida que el tiempo de evolución es mayor (figs. 1 y 2), está constituido por células de base amplia y núcleo grande en posición basal.

De los límites celulares, la membrana apical es la que mayor interés presenta, pues las microvellosidades son abundantes y surgen numerosos y frondosos pseudópodos en los animales de mayor tiempo de evolución (fig. 2). Por otra parte, en alguna ocasión aparecen numerosos cilios.

Los elementos intracitoplasmáticos son bien evidentes en estos animales. El retículo, que presenta un desarrollo y configuración normal, disminuye a medida que el tiempo de evolución es más largo. En la parte basal se dispone en forma de canales o cisternas irregulares, mientras que en la parte apical es vesicular. Los ribosomas que contactan con este retículo apical son menos numerosos y distribuidos de forma más irregular que en el basal.

Las mitocondrias, de estructura característica y forma discretamente alargada, son abundantes y se distribuyen por todo el citoplasma, aunque es frecuente observarlas con tendencia a estar agrupadas.

El aparato de Golgi parece estar poco desarrollado en estos animales, pues tan sólo le hemos encontrado en el de 45 días de evolución (fig. 2), donde se ponen de manifiesto varias agrupaciones de cisternas y vesículas en la misma célula.

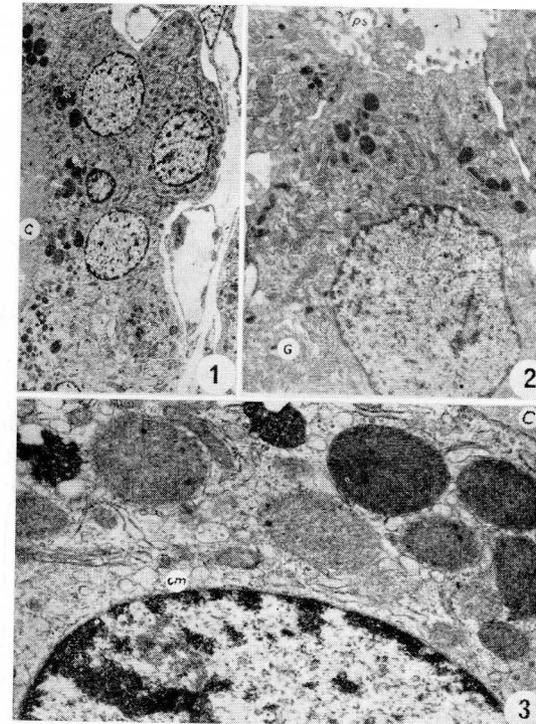


FIG. 1. — Hemitiroidectomía de 20 días de evolución. Epitelio con abundantes cuerpos densos.  $\times 1750$ .

FIG. 2. — Hemitiroidectomía de 45 días de evolución. Epitelio alto con pseudópodos y ap. de Golgi bien desarrollado.  $\times 2240$ .

FIG. 3. — Hemitiroidectomía de 20 días de evolución. Cuerpos densos de tamaño variable en el polo apical.  $\times 4380$ .

Si hay algo que llama la atención en estas glándulas son las formaciones granulares. En el polo apical, pero sin llegar a alcanzar la membrana, existen numerosos cuerpos densos (fig. 1). Aunque hay diversidad de tamaño, todos tienen forma redondeada u oval, contorno regular y contenido homogéneo de material finamente granular. Su densidad muestra una discreta diferencia de unos a otros y algunos presentan inclusiones lipídicas o pequeñas inclusiones densas que parecen vesículas (figs. 1 y 3). Están limitados por una membrana nítida y es posible apreciar un halo periférico claro entre la membrana y el contenido.

La concentración de estos granos es menor a medida que el tiempo de evolución se alarga.

Hacia el polo apical se ven cuerpos multivesiculares (fig. 3), pequeñas vesículas y "coated vesicles" (fig. 4).

Otros elementos sobre los que interesa llamar la atención son unas formaciones membranosas de aspecto sacular y contornos regulares (fig. 4). Poseen un pequeño contenido finamente granular y su membrana limitante desaparece parcialmente al ponerse en contacto con cuerpos densos o con vesículas de la misma especie.

Gotas coloidales incluidas en el citoplasma sólo se ven en el animal de 40 días de evolución, donde se agrupan grandes gotas con un contenido granular de moderada densidad.

Por otra parte, se evidencian masas celulares interfoliculares, así como auténticas cavidades con microvellosidades en el espesor de células que quedan apartadas de la luz folicular (figs. 5 y 6).

## II. Tiroidectomía subtotal

Las características estructurales del residuo tiroideo de animales sometidos a tiroidectomía subtotal (extirpación de 3/4 de la glándula tiroidea) muestra diferencias ostensibles con respecto al animal normal y al animal hemitiroidectomizado.

En los animales de menos tiempo de evolución (14 y 28 días) es posible hacer una diferenciación celular por la disposición que adquieren los elementos citoplasmáticos. Así, mientras que las células que limitan la cavidad folicular tienen un aspecto claro y esponjoso, las que se disponen en masas interfoliculares son más oscuras.

El retículo, que es el determinante de estas diferencias, se encuentra muy dilatado en las células foliculares (fig. 7). Las grandes cisternas que le constituyen llegan a ocupar la mayor parte del citoplasma, con lo que desplazan el resto de los elementos hacia un polo.

En las células interfoliculares el desarrollo del retículo es grande, pero sus cisternas, que son de menor tamaño, se distribuyen por toda la superficie citoplasmática.

El resto de los elementos, Golgi, mitocondrias y granos, no muestran características especiales.

Cuando el tiempo de evolución es mayor (animales de 30 y 43 días), el aspecto granular es distinto y muestra pequeños folículos que constituyen por sí solos auténticos lobulillos. En ellos se aprecia la existencia de pequeñas luces foliculares, que más bien son intersticios celulares ocupados por coloide y microvellosidades de las células limitantes (figs. 8 y 9).

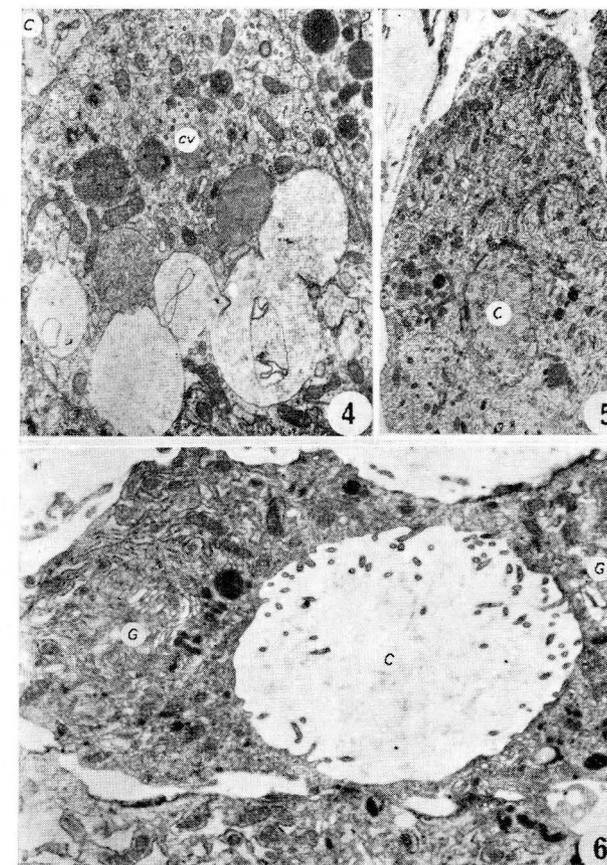


FIG. 4. — Hemitiroidectomía de 20 días de evolución. Grandes formaciones membranosas.  $\times 6000$ .

FIG. 5. — Hemitiroidectomía de 20 días de evolución. Cavidad folicular intracitoplasmática.  $\times 1750$ .

FIG. 6. — Hemitiroidectomía de 45 días de evolución. Cavidad folicular intracitoplasmática.  $\times 2240$ .

El epitelio, de tipo cilíndrico, presenta un núcleo en posición central y deja ver bien todos los orgánulos citoplasmáticos (fig. 10).

El retículo, con ribosomas bien manifiestos, alcanza un buen desarrollo en todas las células. Forma pequeñas cisternas distribuidas por todo el citoplasma, aunque está discretamente más dilatado en la posición basal.

Las mitocondrias, que son numerosas y alargadas, están bien constituidas y adaptadas a las cisternas del retículo.

El aparato de Golgi es tal vez lo que más caracteriza a estas células, pues aunque no muestra dilataciones que indiquen un gran desarrollo, sí que se observa en casi todas las células e incluso está constituido por varias agrupaciones de láminas, cisternas y vesículas en la misma célula (figs. 8 y 10).

El material granular lo constituyen pequeños cuerpos densos de forma regular y contenido homogéneo. Se encuentran distribuidos por toda la superficie celular, aunque predominan en la mitad apical.

Por otra parte, pueden observarse pequeñas vesículas en la vecindad del Golgi y "coated vesicles" en las proximidades de la superficie libre de la célula.

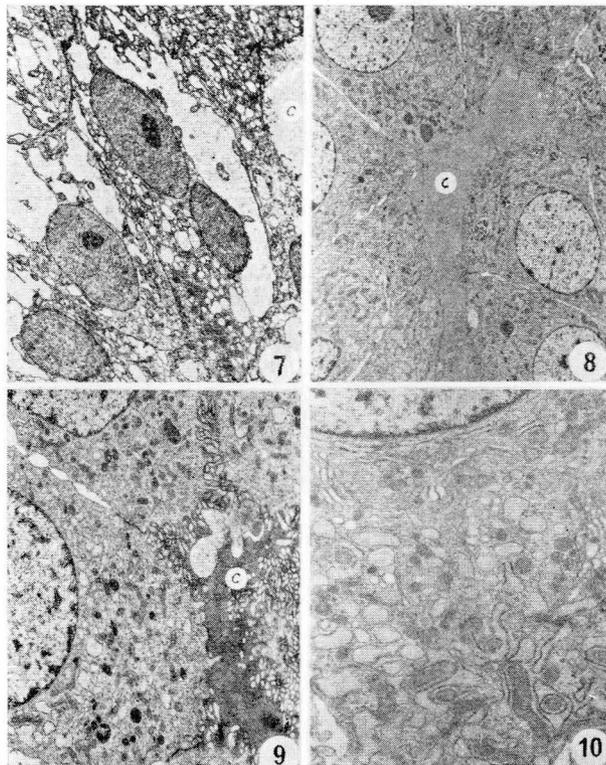


FIG. 7. — Tiroidectomía subtotal de 14 días de evolución. Epitelio folicular con ergastoplasma muy desarrollado.  $\times 1750$ .

FIG. 8. — Tiroidectomía subtotal de 30 días de evolución. Cavidad folicular reducida y erizada de microvellosidades.  $\times 975$ .

FIG. 9. — Iguales características de la figura anterior.  $\times 2240$ .

FIG. 10. — Tiroidectomía subtotal de 45 días de evolución. Orgánulos citoplasmáticos en polo basal.  $\times 4380$ .

### Comentario y discusión

Las imágenes ultraestructurales de animales hemitiroidectomizados muestran cómo el epitelio, que ya es alto en los animales de menor tiempo de evolución, aumenta progresivamente su altura al tiempo que aumentan las microvellosidades apicales y llegan a constituir grandes pseudópodos en aquellos animales de mayor tiempo de evolución.

Estos datos, junto a la disminución del coloide, hacen pensar, de acuerdo con TASHIRO y SUGIYAMA (1964), PASTAN y WOLLMAN (1967) y NEVE y DUMONT (1970), en la existencia de una hiperactividad funcional.

Mucho más manifiestas son las diferencias encontradas en el epitelio de los animales de tiroidectomía subtotal. En los animales de menor tiempo de evolución es más bajo y parece pluriestratificado, mientras que en el resto de los animales se trata de un epitelio cilíndrico que limita luces foliculares reducidas que, como antes hemos indicado, parece tratarse de dilataciones de los espacios intercelulares. De acuerdo con MICHEL-BECHET y col. (1969) también estos residuos se encuentran en una fase de hiperactividad funcional.

Así pues, los datos morfológicos de todos los animales son de hiperactividad funcional. No obstante, las diferencias existentes nos llevan a pensar que se encuentran en distinta situación.

En los hemitiroidectomizados el dato morfológico que los caracteriza es la aparición en el polo apical de abundantes cuerpos densos que tienen las mismas características morfológicas que JOUSON y col. (1968) describen en los lisosomas. Este aumento de lisosomas, puesto ya de manifiesto por SELJELID (1967) y por SHIVELY y PHEMISTER (1969) en estimulación con TSH, y el hecho de que su intervención en el proceso de captación de material por atrofitosis (OLIVA ALDAMIZ, 1970), nos lleva a pensar que este lóbulo se encuentra en una situación de hiperactividad en fase de excreción, en la que TOUJAS (1969) ya describe como característico el predominio de lisosomas, y en la que nosotros (PALOMERO y col., 1975) considerábamos como más característico las denominadas "formaciones globulosas" o elementos resultantes de la fusión lisosoma y gota de coloide.

La situación en los animales de tiroidectomía subtotal es distinta. El predominio de orgánulos corresponde al retículo y al Golgi, lo que indica una activación del proceso de proteosíntesis. Estamos, por tanto, ante una hiperactividad en fase de secreción, en

la que TOUJAS (1969) apunta como característico ese predominio del ergastoplasma.

Otro punto que interesa comentar es el de la neoformación de folículos que asegure la restauración grandular.

El aspecto de luces foliculares reducidas, que incluso se encuentran estranguladas en algunos puntos porque células vecinas se adosan, nos lleva a considerar como dato importante el que aparezcan pequeñas dilataciones con microvellosidades en los espacios intercelulares. Este hecho, evidenciado por HANBA (1966) y MATTHAES (1972) y relacionado con el paso de tiroglobulina (HANBA, 1966), hace pensar que sean el punto de partida de nuevos folículos, como ya indicó ISHIKAWA (1965).

Por otra parte, la aparición de luces foliculares salpicadas de microvellosidades en células que se encuentran fuera del epitelio folicular, pueden representar otro aspecto de la restauración morfológica.

La formación de microfoliculos de este tipo ya es considerada por autores como FUJITA (1961), VOITKEVICH y ZENZEROV (1968), ZUFAROV (1969) y MICHEL-BECHET y col. (1969), quien los denomina "canalículos intracitoplasmáticos". Para FUJITA (1961), que los describe en un estudio en embriones de pollo, se forman por la reunión de varias gotas coloidales que posteriormente rompen las membranas que las separan. La presencia de formaciones membranosas podría estar en relación con este mecanismo de formación de folículos.

De esta manera, uno u otro mecanismo pueden explicar el que se formen nuevos folículos a partir de las masas o cordones celulares descritos por muchos autores.

### Resumen

Se realiza un estudio al microscopio electrónico en gatos sometidos a hemitiroidectomía y tiroidectomía subtotal.

La actividad a que se encuentra sometido el resto tiroideo es diferente en uno y otro caso.

En los animales hemitiroidectomizados, el aspecto ultraestructural deja ver un epitelio progresivamente más alto, con abundantes microvellosidades y grandes pseudópodos. Esto, y la existencia de abundantes cuerpos densos en el polo apical del citoplasma, nos hacen pensar que se encuentra en una fase de hiperactividad excretora.

En la tiroidectomía subtotal, el predominio del ergastoplasma y del aparato de Golgi parecen indicar una hiperactividad secretora.

Sobre la neoformación conviene prestar atención a la importancia que puede tener la aparición de luces intracitoplasmáticas y las dilataciones del espacio intercelular.

### Summary

An ultrastructural study has been done in cats subjected to hemithyroidectomy and subtotal thyroidectomy.

The activity of the thyroid rest appears to be different from normal. In hemithyroidectomy cats, the ultrastructural aspect is characterized by an epithelium that becomes progressively taller, with abundant microvilli and great pseudopods. This observation, along with the existence of abundant dense bodies in the apical cytoplasmic portion, leads us to believe that it is a hyperactive state in an excretory phase.

In subtotal thyroidectomized cats, the abundant ergastoplasm and Golgi complex appears to indicate hyperactivity with a secretory phase.

We call attention to the follicular neoformation, as to the significance that they may have in the formation of intracytoplasmic follicular lumina and the dilatation of the intercellular space.

### Zusammenfassung

Es wurde eine Studie mit dem elektronischen Mikroskop durchgeführt, in der Katzen einer Hemithyroidectomie und einer fast totalen Thyroidectomie unterzogen wurden.

Die Aktivität des thyroiden Restes war bei den behandelten Katzen von Fall zu Fall verschieden.

Bei den Katzen, die eine Hemithyroidectomie erfahren haben, macht der ultrastrukturelle Aspekt eine progressive, sich weiter vergrößernde Epithel sichtbar mit reichlicher mikroskopischfeiner Behaarung und grossen Scheinflüsschen. Dies, sowie die reichliche Existenz von dichten Körpern, lässt uns zu der Schlussfolgerung gelangen, dass sich die Thyroidea in einer hyperaktiven Phase der Absonderung befindet.

Bei der fast totalen Thyroidectomie sieht es so aus, als ob die Vorherrschaft des Ergastoplasmas sowie die des Golgiapparates eine hyperaktive Absonderung anzeigen.

Was die Neoformation anbelangt, so ist es nötig, die Aufmerksamkeit auf die Bedeutung, die die Erscheinung von intrazytoplasmatischen Hohlräumen und die Dilatationen des interzellularen Raums haben kann.

### Résumé

Chez les chats soumis à l'hemithyroidectomie et à la thyroidectomie subtotal on a réalisé une étude au microscope électronique.

L'activité à laquelle se trouve soumis la portion glandulaire qui s'évolue est différente.

Chez les animaux hemithyroidectomisés, l'aspect ultrastructural laisse voir un epithelium progressivement plus haut, avec des microvillosités abondantes et de grandes pseudopodes. Cela, et l'existence d'abondants corps denses au pôle apical du cytoplasme, nous font penser qu'il s'agit d'une hyperactivité en phase d'excrétion.

Dans la thyroidectomie subtotal, la prédominance de l'ergastoplasme et de l'appareil de Golgi semblent indiquer une hyperactivité en phase de sécrétion.

Sur la neoformation il convient de prêter l'attention à l'importance que peuvent avoir l'apparition de lumières intracitoplasmiques et les dilatations de l'espace intercellulaire.

## ABREVIATURAS UTILIZADAS

C, cavidad folicular  
 G, aparato de Golgi  
 cm, cuerpo multivesicular  
 cv, "coated vesicles"  
 ps, pseudópodos

## BIBLIOGRAFÍA

- EARL ELSE, J., and cols. (1926): Regeneration of the thyroid an sperimental study. "Endocrinology", **10**: 165-174.
- EGUCHI, Y., and Y. MORIKAWA (1966): A study of the rat thyroid during perinatal days with observations of compensatory changes following unilateral thyroidectomy. "Anat. Rec.", **156/4**: 415-422.
- FABRE, M., et J. MARESCAUX (1968): Étude ultrastructurale de régénérats thyroïdiens développés chez le cobaye après thyroïdectomie chirurgicale. "C. R. Ass. Anat.", **141**: 853-859.
- FUJITA, H., and M. MACHINO (1961): On the follicle formation of the thyroid gland in the chick embryo. "Exp. Cell. Res.", **25**: 204-207.
- FUNAKOSHI, M. (1961): Morphologic studies on hypertrophy, hyperplasia, atrophy and regeneration (experimental studies on thyroid atrophy). "Yokohama Med. J.", **12**: 892-907.
- HANBA, K. (1966): Staining of the thyroid gland with ferritin-conjugated a antithyroglobulin. "J. Wakayama Med. Soc.", **17**: 495-508.
- ISHIKAWA, K. (1965): Electron microscopic studies of the thyroid gland of the rat in embrionic life. "Fol. Anat. Jap.", **41**: 295-311.
- JOHANSEN, R., and cols. (1951): An experimental study of thyroid regeneration following subtotal thyroidectomy. "Surg. Gyn. Obs.", **93**: 303-309.
- KNIGGE, K. M. (1961): Normal thyroid function and response to hemithyroidectomy in the cat. "Anat. Rec.", **141**: 151-157.
- MATTHAES, P. (1972): Ultrastructural lesions of the cell membrane and capillary in different states of function of the human thyroid. "Acta Endocr.", **69/5**: 459-472.
- MICHEL BECHET, M., G. COTTE and A. M. HAON (1969): The microfollicular ultrastructural aspect of compact epithelial formations in pathological human thyroids. "C. R. Ass. Anat.", **142**: 1238-1246.
- NEVE, P., and J. E. DUMONT (1970): Time sequence of ultrastructural changes in the stimulated dog thyroid. "Z. Zellforsch.", **103/1**: 61-74.
- PALOMERO, G. (1970): Desarrollo embrionario y evolución regenerativa de la glándula tiroides del cobaya. "An. Anat.", **19**: 99-112.
- PALOMERO, G. (1972): Estudio de la regeneración experimental de la glándula tiroides del gato. "An. Anat.", **21**: 181-188.
- PALOMERO, G., P. AMAT y R. VÁZQUEZ (1975): Estudio comparativo de la ultraestructura tiroidea en distintas especies animales. "An. Anat.", **24**: 135-148.
- PASTAN, I., and H. WOLLMAN (1967): Colloid droplet formation in dog thyroid in vitro. Induction by dibutyryl cyclic-amp. "J. Cell. Biol.", **53/1**: 262-266.
- SELJELID, R. (1967): Endocytosis in thyroid follicles cells. V. On the redistribution of citosomes following stimulation with thyrotrophic hormone. "J. Ultrastruct. Res.", **18/5-6**: 479-488.

- SHIVELY, J. N., R. D. PHEMISTER and G. P. EPLING (1969): Fine structure of thyroid epithelium of young dogs treated with thyrotropin. "Amer. J. Vet. Res.", **30/2**: 229-241.
- TASHIRO, M., and S. SUGIYAMA (1964): Electron microscopic studies of the follicle cells in the thyroid gland of the dog. "Fol. Anat. Jap.", **40**: 131-159.
- TOUJAS, L., et J. GUELFY (1969): Sur l'ultrastructure de la glande thyroïde humaine. "Z. Zellforsch.", **94/1**: 118-128.
- VOITKEVICH, A. A. (1962): Modes of regeneration of the thyroid gland. "Doklady Akad. Nauk. SSSR", **147**: 977-980.
- VOITKEVICH, A. A., and V. S. ZENZEROV (1968): Intracellular formation of thyroid follicles. "Tsitologiya", **10/8**: 945-952.
- YOUSON, J., and H. VAN HEYNINGEN (1968): Dense granules (lysosomes?) and cristals in the thyroid of senile rats. "Amer. J. Anat.", **122/2**: 377-395.
- ZECHEL, G. (1931): Experimental régénération of the thyroid gland. "Surg. Gynec. Obstet.", **53**: 12-15.
- ZUFAROV, K. A. (1969): Ultrastructure of interfollicular cells of the thyroid gland. "Arkh. Anat. Gistol. Embriol.", **57/9**: 76-91.

G. PALOMERO

Departamento de Anatomía  
 Facultad de Medicina  
 Bilbao (España)

## ANGIOARQUITECTURA DE LA VESÍCULA BILIAR HUMANA<sup>(1)</sup>

POR

J. L. PUENTE DOMÍNGUEZ<sup>(2)</sup> y J. POTEL LESQUEREUX<sup>(3)</sup>

Es sorprendente el escasísimo número de observaciones que pueden recogerse en la literatura anatómica sobre la vascularización de la vesícula humana, tanto en los tratados como en publicaciones y trabajos más especializados. Posiblemente la causa se debe a la dificultad de obtener material adecuado. En efecto, la vesícula biliar se deteriora muy rápidamente, a las pocas horas de la muerte la bilis altera y destruye la textura vesicular, de modo que no sirve para estudios morfológicos. Por ello, el material que se utiliza es el que se obtiene de vesículas patológicas, extirpadas por colecistitis u otras causas. Material que muy pocas veces puede utilizarse para estudios vasculares, por la simple razón de su alteración hística. Por ello, sólo en muy contados casos de extirpación de vesículas con muy escasa patología —litiasis biliar sin procesos agudos— podemos disponer de piezas en las que poder practicar inyecciones vasculares.

En una obra tan especializada como el “Handbuch der Mikroskopischen Anatomie des Menschen 1969”, y en capítulo muy amplio que WALLRAFF dedica a la vesícula biliar, hay sólo siete líneas dedicadas a describir su vascularización. Pero tampoco abundan los trabajos de vascularización procedentes de estudios de vesículas de animales. En este sentido, sólo encontramos uno de J. LANG, de 1968, realizado sobre vesículas de perros.

Nuestra diaria actividad quirúrgica y un viejo y permanente cariño por los estudios morfológicos nos fue llevando paulatinamente en el curso de los últimos veinte años a estudiar la mor-

(1) Trabajo realizado con la subvención del Fondo Nacional para el Desarrollo de la Investigación (núm. 11.01.721/74).

(2) Catedrático de Cirugía. Facultad de Medicina. Santiago de Compostela.

(3) Profesor agregado de Cirugía. Departamento de Cirugía. Facultad de Medicina. Santiago de Compostela.

fología vascular a la vesícula, basándonos en la observación y análisis que permite la disección y preparación operatorias en el curso de colecistectomías, practicadas por una variadísima patología biliar.

Esta misma práctica quirúrgica nos ha permitido seleccionar algunos especímenes de vesícula que, por sus especiales condiciones, podían ser inyectados postoperatoriamente.

Había también otra razón para que intentáramos el estudio de la vascularización vesicular, y era que en el curso de nuestros trabajos sobre la colesterosis vesicular (1970) descubrimos que los depósitos de colesterolina se producían de modo preferente sobre la pared de los plexos venosos, y justamente de aquellos que más sobresalían de los pliegues mucosos. La porción de la mucosa de las criptas y fondo no presentaban depósitos colesterínicos, pero tampoco tenían redes capilares densas, y sí sólo una muy escasa vascularización.

### *Material y método*

Como ya señalamos, nuestras observaciones se basan en el estudio proporcionado por la disección operatoria practicada en el curso de colecistectomías; hasta el momento actual, mil cuatrocientas intervenciones realizadas personalmente.

En algunas ocasiones la vesícula, muy poco lesionada, permite el empleo de inyecciones. En total hemos estudiado setenta piezas operatorias. La inyección fue hecha por la arteria cística, por las venas que la acompañan y, simultáneamente, por ambas vías.

Utilizamos tinta china, neoprene, con diversos colorantes incorporados. En ocasiones, diferentes variedades de metacrilatos en soluciones, en acetona o toluol con distinta concentración. También se empleó la inyección simultánea de arterias y venas con colorantes de diferente intensidad para estudiar las anastomosis arteriovenosas, de muy difícil visualización con técnicas histológicas ordinarias. Últimamente empleamos la técnica del profesor G. Oliveros, con la que obtuvimos muy buenos moldes angiográficos. Las piezas fueron sometidas a corrosión, a estudio directo con medianos aumentos y, finalmente, a cortes completos después de fijadas y teñidas con las técnicas habituales.

Hemos utilizado también el estudio de las piezas inyectadas y cortadas por congelación sin sobretinción. Luz polarizada y contraste de fases en algún caso.

Finalmente debemos destacar la importancia que para este tipo de estudio tiene el análisis de la vesícula inmediatamente después de la extirpación, sumergida en suero fisiológico tibio y colocada sobre la platina de un microscopio estereoscópico (modelo Leitz:

ES-ER); como los capilares y finos plexos venosos contienen todavía sangre con cierta tensión, si aplicamos diferentes sistemas de transiluminación logramos ver muy claramente los detalles de la fina vascularización en todas las capas de la vesícula; y lo que es más importante, sin alterar con fijadores ni colorantes la morfología normal de los vasos. Gracias a esta técnicas hemos logrado seguramente los preparados más demostrativos y más reales, pues no se modifica para nada la normal textura vascular. Es una técnica que recomendamos en general para el estudio de la vascularización de otras vísceras, siempre que procedan de operaciones quirúrgicas realizadas inmediatamente antes de la observación anatómica.

### *Descripción de las observaciones*

Antes de comenzar a describir la disposición vascular de la vesícula parece oportuno hacer algunas consideraciones a propósito de la nomenclatura que vamos a utilizar. Cuando se describen las diferentes capas o extractos de la vesícula humana se asiste a un cierto confusiónismo a propósito de la nomenclatura utilizada, puesto que los diferentes autores no están de acuerdo en los nombres que utilizan. Nosotros hemos seguido el criterio utilizado por WALLRAFF y DITRICH, el cual divide las capas de la vesícula en cinco extractos: 1.º *Mucosa*, que comprende el epitelio y el tejido conjuntivo subepitelial. 2.º *Túnica muscular*, formada por finos fascículos ordenados en el espacio de manera bastante variable. 3.º *Subserosa*, que comprende el tejido conjuntivo y la grasa; es la capa más exterior, más ancha y más lasa en la vesícula humana; por otra parte, es aquella en la cual los fenómenos edematosos se hacen evidentes más precozmente. 4.º *La serosa* o capa peritoneal que, como se sabe, ocupa sólo una porción de la totalidad de la vesícula.

A continuación vamos a describir los vasos de la vesícula, comenzando por las arterias, que tienen una importancia relativamente pequeña en la vascularización de esta víscera, siguiendo por las venas que forman la verdadera arquitectura vascular de la vesícula, haciendo de ella un órgano eminentemente venoso, y finalmente citaremos, sólo de pasada, los linfáticos.

### *Arterias*

La arteria cística es una de las más variables de todas las arterias y viscerales. De modo que el esquema considerado como clásico sólo lo encontramos en el 50 % de los operados. Bajo tres formas de distribución arterial podemos sintetizar lo observado por

nosotros: 1.º La arteria cística, que, procedente de la hepática derecha y después de cruzar por delante del colédoco, ingresa en la vesícula por medio del meso vesicular (triángulo de Calot), para dividirse inmediatamente en dos ramas que se distribuyen por la cara serosa de la vesícula: 50 % de los casos. 2.º Arteria que cruza por detrás del coledoco, a diferentes niveles, y después de doblarse en forma de sifón penetra en la vesícula a nivel del infundíbulo: 30 %. 3.º Arteria cística, que penetra por debajo del conducto cístico, muy pegado al mismo, y por ello invisible a primera vista para el cirujano: 10 %. El 10 % restante de los casos encontrados por su enorme variabilidad no pueden ser catalogados.

Finalmente debemos señalar un detalle de enorme importancia para el cirujano, y es la frecuencia con la cual la rama derecha de la arteria hepática se aproxima al infundíbulo para dejar allí, casi en la pared de la vesícula, a la arteria cística, con el peligro de ligar la hepática confundiéndola con la cística, y dando lugar a una posible necrosis de hígado. Nunca nos cansaremos de insistir en la imperiosa necesidad de disecar la arteria en cada caso, para identificarla exactamente antes de proceder a su ligadura. Nunca como aquí es tan necesario al cirujano un perfecto conocimiento de la anatomía vascular.

Una vez que la arteria alcanza el infundíbulo se divide en dos ramas, que se abren en forma de horquilla y se distribuyen por el cuerpo vesicular. Distinguimos dos plexos arteriales: uno para la serosa y otro para la subserosa.

#### a) Plexo seroso o peritoneal

Está formado por una rama arterial que se distribuye a lo largo de la superficie serosa de la vesícula y va cediendo ramillas muy finas que se agotan rápidamente. Sorprende la escasez tanto del calibre como del número de finas ramas. No se encuentran anastomosis poligonales ni arciformes en este plexo. Finalmente, a nivel arteriolar, la red de este sistema es escasa, finamente distribuida y muy poco densa (se observa muy bien esta disposición en la fig. 1).

#### b) Plexo subseroso

Este plexo está formado por las arterias que se distribuyen por la superficie hepática de la vesícula. Lo forman arterias de más calibre que el plexo peritoneal, pero en todo caso tampoco excesivamente voluminosas. La distribución de estas arterias forma arborizaciones terminales que van agotándose muy lentamente; no hemos visto nunca anastomosis entre las arterias de este plexo y

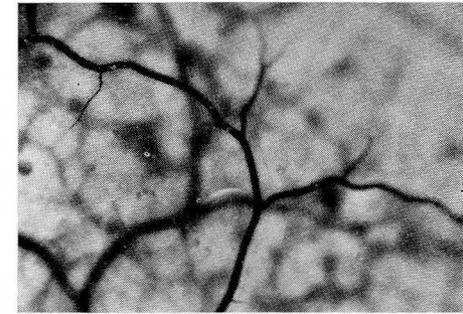


FIG. 1. — Plexo arterial. En esta preparación aparecen las dos arborizaciones arteriales. La más superficial —en primer plano y muy bien dibujada—, la arteria de la serosa vesicular; muy escasas ramificaciones y ausencia de anastomosis aparentes. En un segundo plano —más borrosas—, las arterias de la subserosa, también con escasas ramificaciones y ausencia de anastomosis arciformes.

las arterias hepáticas, aunque no negamos que puedan encontrarse. Las ramillas arteriolas del plexo, muy escasas, penetran hasta el nivel del plexo mucoso, en donde se continúan con los capilares venosos.

#### Venas

##### 1.º Plexo mucoso (subepitelial) (fig. 2)

Situado inmediatamente por debajo del epitelio, está formado por una red capilar muy densa esencialmente constituida por capilares venosos. Las arteriolas que lo nutren son muy escasas.

En la figura 2 se observa la disposición de este plexo mucoso y la ordenación de sus capilares en forma muy variable. El plexo capilar está en íntimo contacto con el pie de las células epiteliales, apenas separado por una finísima capa basal, de tal modo que se facilite enormemente el transporte de sustancias desde el polo basal de la célula hasta el propio lecho capilar. Como ya hemos descrito y demostrado en el caso del colesterol mediante trabajos con microscopía electrónica.

Una característica fundamental del plexo venoso subepitelial es el de su disposición en forma de campos poligonales, tal como aparece representado en la figura 6, y que se corresponden exactamente con la cresta o parte más elevada de los pliegues del epitelio. En contraposición con la base de las crípticas, en donde el plexo venoso es muy escaso, tanto que en la mayor parte de los

preparados por inyección no llegan a observarse fácilmente capilares venosos.

En síntesis, de acuerdo con la ordenación de la mucosa vesicular, en forma de campos poligonales, con crestas elevadas y criptas profundas, se dispone exactamente el plexo venoso: muy denso a nivel de las crestas y escasísimo en el fondo de las criptas. Este hecho nos parece de enorme importancia porque hemos visto que la zona en donde se produce la máxima absorción por parte del



FIG. 2. — Plexo mucoso (subepitelial). Se observa una red de capilares muy densa, que rodea a una vena principal en la cual desembocan. Esta red capilar aparece sólo en la cresta de la mucosa; la cripta aparece en el fondo caso desprovista de red capilar, sólo representada por unas escasas ramificaciones capilares. El contraste de la vascularización entre ambas zonas —cresta y fondo de la cripta— es evidente.

epitelio es justamente a nivel de las crestas de los pliegues, allí en donde el plexo capilar venoso es más denso. En la figura 3 se observa perfectamente cómo los depósitos de colessterina y ésteres de colesterol aparecen exactamente cubriendo a este plexo venoso capilar y a los troncos venosos situados en la porción más alta de las crestas de los pliegues mucosos.

## 2.º Plexo mucoso (poligonal) (fig. 4)

Los capilares que hemos descrito anteriormente van confluyendo hacia la profundidad desembocando en troncos cada vez más gruesos que terminan por organizarse en un sistema de vasos dispuestos en forma de polígono, y justamente ubicados a nivel de las crestas de la mucosa, a las cuales contribuye a configurar de una manera especial. Podemos afirmar sin duda que precisamente

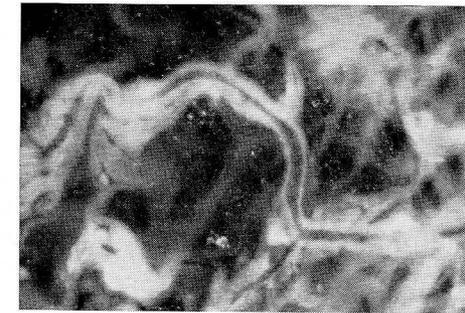


FIG. 3. — Vesícula colessterótica. La colessterina aparece adherida al contorno exterior de las venas del plexo poligonal, dibujándolo perfectamente nítido. La vena se observa en el centro y el precipitado colessterótico tapizándola. Se dibuja así el plexo poligonal, y se demuestra cómo en esta zona es donde se produce la máxima absorción de líquidos.

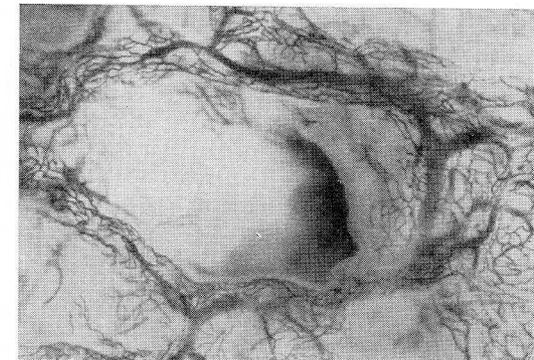


FIG. 4. — Plexo mucoso (poligonal). Inmediatamente por debajo del fino plexo capilar se observan los troncos venosos ordenados en forma de polígonos con brazos de calibre diferente, y encargados de recibir la corriente venosa procedente del plexo capilar. De uno de los brazos sale una rama, la más gruesa (en la figura, a la derecha), y que a su vez drena a los polígonos hacia los troncos terminales.

la estructura y configuración de la mucosa de la vesícula viene apoyada por la disposición de sus vasos más gruesos y finos. De tal modo que en realidad son ellos, los vasos, los que dan apoyo a la estructura de las finas capas de la vesícula.

El calibre de las venas que forman cada uno de los lados del polígono es variable, como puede comprobarse en la preparación. Algunos de estos lados están formados por troncos relativamente finos y otros por troncos más gruesos, y justamente este paso de los troncos finos a los gruesos es el que indica la dirección de desagüe venoso. En algunos trechos las venas que resumen el arco venoso del polígono desembocan en los troncos terminales de la vesícula.

### 3.º Anastomosis arteriovenosas (fig. 5)

Son muy difíciles de observar en los cortes histológicos ordinarios. Es preciso obtener muy buenos preparados con inyección simultánea de arterias y venas para lograr visualizar, y esto en raras ocasiones, las anastomosis arteriovenosas. En la figura aparece una microfotografía y una anastomosis arteriovenosa en la cual se observa perfectamente los dos brazos del a rama arterial y venosa. Éstas se ubican en dos zonas, una inmediatamente debajo del plexo subepitelial y en la zona subserosa, en donde nos parecen más abundantes. Por otra parte, es normal que la situación corresponda precisamente a la zona subserosa, puesto que indica que las anastomosis arteriovenosas, al funcionar y cerrarse o abrirse, permite que el riego de la mucosa vesicular sea más o menos intenso, de acuerdo con el estado funcional de la vesícula.



FIG. 5. — Anastomosis arteriovenosa, a nivel de la capa subserosa. Se observa una arteria central y las dos venas acompañantes. De la arteria sale una fina ramilla arteriolar que pasa sobre la vena y se resuelve en una espiral —o bucle venoso— que termina por desembocar en una de las venas acompañantes.

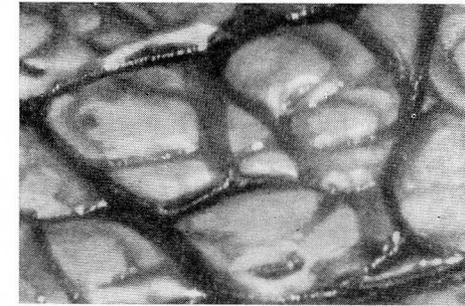


FIG. 6. — Aspecto de la mucosa de la vesícula biliar humana vista desde el interior de la luz, con aumento de lupa ( $\times 10$ ) y a los pocos minutos de su extirpación quirúrgica. Se observa cómo la mucosa se dispone formando campos poligonales que aparecen como barras oscuras y que se corresponden con las crestas de las vellosidades. Entre los campos poligonales hay espacios más claros que corresponden a las criptas mucosas. Las barras oscuras —crestas— presentan una densa red capilar y troncos venosos en contraste con el fondo de las criptas, sin apenas vascularización. Este armazón de la mucosa está realmente configurado por las venas y capilares, que son quienes prestan el esqueleto anatómico para que sobre él se pliegue, como un manto, el epitelio.

### 4.º Capa subserosa (plexo venoso terminal)

En la capa subserosa se encuentran los gruesos troncos venosos que se han formado al ir recibiendo progresivamente las venas procedentes de los polígonos venosos de la capa mucosa. Ya hemos señalado que uno de los cortes del polígono, justamente la vena más gruesa, atraviesa la capa muscular y desemboca inmediatamente en dos pares de venas, entre las cuales discurre siempre una arteria. Esta disposición en forma de trío, una arteria central y dos venas laterales, se mantiene a todo lo largo de la pared de la vesícula.

La ordenación de estos troncos venosos terminales y pares es muy variable entre una y otra vesícula. No hay dos esquemas iguales y por ello no puede hablarse de un modo especial de disposición venosa a este nivel.

Pero sea cual fuere la ordenación espacial de estas venas, el modo de drenaje de las mismas se hace siempre hacia tres zonas perfectamente definidas: 1.ª, las venas drenan hacia el plexo venoso del colédoco y del hepático común; 2.ª, drenan hacia las venas del parénquima hepático directamente a través del lecho hepá-

tico, es decir, en el área desprovista de serosa, y 3.<sup>a</sup>, las venas que cursan por el área serosa o peritoneal de la vesícula siguen a esta serosa hasta el momento en que se continúa con la cápsula del hígado y entonces penetran en el parénquima hepático atravesando esta cápsula de Glisson.

Así pues, la vesícula biliar tiene un triple sistema de drenaje venoso: hacia el plexo del colédoco y hepáticos directamente; hacia el hígado y a través de la cápsula de Glisson. Queremos destacar que la observación más completa y exacta del modo como se produce este drenaje vesicular lo constituye la observación detallada o incluso con lupa en el vivo, es decir, durante la intervención quirúrgica sobre la vesícula biliar y a lo largo de la práctica de una colecistectomía. El cirujano tiene entonces el privilegio de ver directamente y en vivo lo que no es posible luego observar, incluso en el más perfecto preparado anatómico.

### Conclusiones

1.<sup>a</sup> La angioarquitectura de la vesícula biliar humana está compuesta, sobre todo, por plexos venosos que se disponen estratigráficamente.

2.<sup>a</sup> Distinguimos los siguientes plexos venosos: 1.<sup>o</sup> Mucoso, ordenado en dos capas: subepitelial y poligonal. 2.<sup>o</sup> Plexos subserosos. 3.<sup>o</sup> Plexo terminal.

3.<sup>a</sup> Se encuentran anastomosis arteriovenosas con una especial disposición en bucle o espiral, ubicadas sobre todo a nivel del plexo subseroso.

4.<sup>a</sup> El drenaje venoso de la vesícula se hace hacia tres áreas: venas del colédoco y hepático; parénquima hepático directamente y a través de la cápsula de Glisson.

### Resumen

Se ha estudiado la vascularización de la vesícula biliar humana, utilizando sobre todo material procedente de operaciones quirúrgicas.

Las observaciones deben ser realizadas a los pocos minutos de concluida la extirpación; de lo contrario, los vasos se deterioran demasiado.

El elemento fundamental de la angiotectónica de la vesícula son sus plexos venosos, hasta tal punto que sobre ellos se moldean las capas estratigráficas vesiculares. Es posible diferenciar varios plexos venosos, y describir su forma y características.

De acuerdo con su función principal —absorber diariamente más de un litro de líquido para concentrar la bilis—, se comprende perfectamente que lo fundamental de la textura vesicular sean los plexos venosos y su disposición especial.

Se describen tres sistemas de desagüe de la sangre vesicular hacia el hígado y hacia los hepáticos y colédoco.

### Summary

The vascularization of the human gallbladder, mainly using material from surgical operations has been studied.

The observations should be made upon a few minutes upon concluding the ablation; otherwise, the vessels suffer excessive deterioration.

The main element of the bladder angiotectonics are its venous plexus, up to a degree that the vesicular stratigraphic layers are moulded on them. It is possible to differentiate several venous plexus and to describe their shape and characteristics.

According to its main function —to absorb daily more than one liter of liquid to concentrate the bile —it is readily understood that the essential in the vesicular texture are the venous plexus and their special arrangement.

Three systems of drainage of vesicular blood towards the liver and the hepatics and choledochus are described.

### Zusammenfassung

Es wurde das Blutgefäßsystem der menschlichen Gallenblase untersucht. Das Material hierfür stammt zur Hauptsache aus chirurgischen Operationen.

Die Beobachtungen müssen in den wenigen Minuten nach erfolgter Extirpation realisiert werden. Andernfalls würde eine zu grosse Beschädigung der Gefäße eintreten.

Das fundamentale Element der Gefäßkonstruktion der Gallenblase sind ihre Gefäßnetze. Es ist möglich, unterschiedliche Gefäßnetze auszumachen, und diese nach Form und Charakteristika zu beschreiben.

In übereinstimmung mit ihrer Hauptfunktion —täglich mehr als einen Liter Flüssigkeit zu absorbieren, um die Galle zu konzentrieren— versteht man vollkommen, dass das Fundamentale des Gallenblasenstoffes die Gefäßnetze sowie seine spezielle Disposition sind.

Es existieren 3 Abflusssysteme für das Blut der Gallenblase; hin zur Leber, zum hepatischen— und zum koledoken Leiter.

### Résumé

On a étudié la vascularisation de la vésicule biliaire humaine, en utilisant surtout du matériel provenant d'opérations chirurgicales.

Les observations doivent être réalisées dans les quelques minutes qui suivent l'extirpation; dans le cas contraire, les vaisseaux se détériorent trop.

L'élément fondamental de l'angiotectonie de la vésicule, sont ses plexus veineux, jusqu'au point que sur eux se moulent les couches stratigraphiques vésiculaires. Il est possible de différencier plusieurs plexus veineux et décrire leur forme et caractéristiques.

En accord avec sa fonction principale —absorber journellement plus d'un litre de liquide pour concentrer la bile— on comprend parfaitement que ce qu'il y a de fondamental dans la texture vésiculaire soient les plexus veineux et leur disposition particulière.

On décrit trois systèmes d'écoulement du sang vésiculaire vers le foie et vers les canaux hépatiques et cholédoque.

## BIBLIOGRAFÍA

LANG, J. (1968): Über die Kapillren der Gallenblasensleimhaut beim Hund. "Ant. Anz.", **98**: 564-576.

Handbuch der Mikroskopischen Anatomie des Menschen. Funfter Band. 4 teil, Springer Verlag. Berlin 1969. Wallreaff, pag. 297.

J. L. PUENTE DOMÍNGUEZ  
Departamento de Cirugía  
Facultad de Medicina  
Santiago de Compostela (España)

APORTACIONES A LAS TRANSFORMACIONES EXPERIMENTALES DEL SUBSTRATO ANTEROHIPOFISARIO TRAS LA ESTIMULACIÓN ADENAL EN LA RATA BLANCA COMÚN Y SU REPERCUSIÓN EN EL OVARIO<sup>(1)</sup>

POR

A. RENOVELL MARTÍNEZ<sup>(2)</sup>

Las gonadotropinas elaboradas por el lóbulo anterior hipofisario bajo el control de los centros hipotalámicos gobiernan el funcionamiento de las gónadas. El conocimiento de su papel fisiológico está todavía en evolución. Los trabajos más importantes han sido realizados en animales de especies pequeñas, tales como ratas, conejos, cobayas, etc., por lo que las conclusiones obtenidas son solamente aplicables a la especie humana con ciertas reservas.

J. COHEN (1973) nos sistematiza los efectos de las gonadotropinas de la siguiente manera:

1. *Efecto gametocinético*: Producido por la hormona foliculoestimulante (F.S.H.) y cuyos efectos en los animales no hipofisectomizados, tanto si son impúberes como adultos, son un desarrollo folicular masivo, seguido de una reacción clara de los caracteres sexuales secundarios.

2. *Efecto endocrino-sexocinético*: Producido por la hormona de luteinización (L.H.) y cuyos efectos en los animales no hipofisectomizados son provocar un aumento de la luteinización. Estos cuerpos lúteos serían funcionantes si la dosis ha sido suficiente.

3. *Efecto luteotrófico*: Producido por la hormona luteotrófica (L.T.H.) inseparable de la prolactina en el estado actual de nuestros conocimientos.

(1) Resumen de la tesis doctoral, dirigida por el profesor doctor don Víctor Smith-Agreda, leída en Valencia el 2-10-1976, ante el tribunal constituido por los profesores Francisco Bonilla Martín, Vicente Belloch Zimmerman, Víctor Smith-Agreda, Antón Llombart Bosch y Amando Peydró.

(2) Prof. adjunto. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Valencia.

Estos efectos están conexionados entre sí, como dice el mismo J. COHEN, de tal manera que si la F.S.H. tiene actividad esencialmente trófica, provocando el crecimiento y maduración de los folículos de Graaf, no parece tener efecto sobre la estereidogénesis ovárica.

La hormona luteinizante (L.H.) no puede estimular la biosíntesis de los esteroides a nivel del folículo si éste, antes, no ha sido preparado por la acción de la F.S.H.

La L.T.H. tiene un efecto heterotrófico en la rata, influyendo modestamente sobre el mantenimiento del cuerpo amarillo.

Este eje hipotálamo-hipófisis-ovario ha sido sometido experimentalmente a variaciones tendentes a la hiper o hipofunción del sistema, parcial o totalmente y por medios físicos y químicos. Así tenemos que:

SAHUN (1966) observa cómo la inyección intramuscular de materia seca de la hipófisis acetonzada produce una división meiótica del oocito.

T. MILLS (1971) aprecia que una concentración homogénea del lóbulo anterior hipofisario puede inducir las ovulaciones.

BORDYUSHKOV (1973) observa cómo tras la estimulación con electrodos del hipotálamo en la rata blanca, un aumento de la actividad de la hipófisis y cambios en la estructura ovárica.

H. LACH (1965), tras la irradiación con ultravioleta ( $52.800 \text{ ergios/seg/cm}^{-2}$ ) a la rata blanca, se producen disturbios en el ciclo.

### Planteamiento del problema

Nos encontramos que al estudiar la bibliografía, los efectos que con menos precisión habían sido estudiados eran los efectos físicos, por lo que decidimos realizar nuestro experimento con la radiación ultravioleta, aplicándola directamente sobre la hipófisis, ya que con mayor probabilidad nos proporcionaría una transformación morfofuncional reversible de la hipófisis, como afirman A. HAM (1975) y J. BRACHET (1974).

Este fenómeno había sido estudiado ya, en parte, por V. GARCÉS (1971), M. DÍAZ MAYO (1973), J. ESCRIVÁ (1974) y J. LLORET (1975), que habían irradiado directamente la hipófisis con el mismo tipo de radiación.

Para llevar a cabo nuestra experiencia hemos seguido las siguientes directrices:

1. Estudio morfológico adenohipofisario.
2. Estudio histoquímico adenohipofisario.

3. Estudio a microscopía electrónica del lóbulo anterior hipofisario.
4. Estudio morfológico del ovario.
5. Estudio citométrico de las células ováricas.
6. Recuento de folículos y cuerpos lúteos.
7. Estudio del ovario a microscopía electrónica.
8. Valoración de grasas en el ovario.
9. Radioinmunoanálisis.

### Material y métodos

Hemos utilizado la rata blanca común (*Mus norvegicus*), a la que hemos sometido a la intervención quirúrgica de P. SMITH (1930) para poder irradiar directamente la glándula con  $450 \text{ ergios/cm}^{-2}/\text{seg.}$ , energía que hemos seleccionado de una lámpara Quartz Lamp per Hanau por medio de un filtro de walamita y medida con un dosímetro de Latarjet.

Las técnicas de tinción que hemos utilizado han sido:

En *hipófisis*, como métodos morfológicos, la hematoxilina-eosina y el tricrómico de Goldener-Masson; como métodos histoquímicos, el P.A.S., A.T. P.A.S. y la hematoxilina floxina de Gomori.

En el *ovario*, como métodos morfológicos, la hematoxilina-eosina, el tricrómico de Goldener-Masson y el método de Gallego-Dualde; como métodos de valoración de lípidos, el azul de Nilo, método de birrefringencia, Red-Oil y Red-Oil con azul de alizarina.

### Citometría

Hemos llevado a cabo la valoración de los índices citonucleares de las células de la granulosa, de las células de la teca interna, de las células de la teca externa del *folículo*.

Hemos calculado también los índices citonucleares de las células luteínicas y de las células de la teca externa del *cuerpo lúteo*.

### Radioinmunoanálisis

En la valoración del radioinmunoanálisis hemos utilizado suero de ratas testigos y suero de ratas experimentales. Así mismo, el KIT utilizado en el estudio radioinmunológico ha sido el CEA-IRE-SORIN para la S.T.H., F.S.H y L.H.



### Casuística

En nuestra experiencia utilizamos un total de ochenta y cuatro animales, los cuales distribuimos de la siguiente manera:

- Para la interpretación morfológica de la hipófisis y del ovario, así como la citometría y el recuento de folículos y cuerpos lúteos, empleamos cuarenta y ocho animales, de los cuales la mitad eran testigos y la mitad experimentales.
- Para radioinmunoanálisis, el número de animales fue de doce, de los que seis eran testigos y seis experimentales.
- Para la valoración de lípidos el total fue dieciocho, distribuidos también equitativamente en testigos y experimentales.
- Para la interpretación a microscopía electrónica de la hipófisis y del ovario se emplearon seis animales divididos como los anteriores en testigos y experimentales, mitad y mitad.

### Resultados obtenidos

Al observar la hipófisis con las técnicas de la hematoxilina-eosina y del tricrómico de Goldener-Masson, se aprecian como efectos diferenciales tras la irradiación: células que han aumentado de tamaño, localizadas preferentemente junto a los sinusoides (ver fig. 1) con algún núcleo hipercromático y más pequeños que los de las células vecinas.

Estas células no las podemos relacionar con la especificidad celular de acidófila, basófila y cromófoba, pues aparecen indistintamente los tres tipos celulares. Aunque sí podemos afirmar que son más abundantes junto a los sinusoides, por lo que descarta en parte a las células cromofobas.

Con la técnica del P.A.S. vemos un aumento de la positividad al P.A.S. en zonas parasinusoidales. Con la técnica de hematoxilina-floxina de Gomori, observamos un aumento de la basofilia.

Con la técnica del A.T. P.A.S. se nos ratifica el mismo fenómeno, pero observamos que no siempre la coloración plasmática de estas células es la misma.

Contrastando al microscopio electrónico las células parasinusoidales de los animales testigos de 7 días con los experimentales de 7 días, nos encontramos con los siguientes hechos diferenciales:

- En los núcleos de las células de los animales experimentales hay un predominio de la eucromatina sobre la heterocromatina (ver fig. 2).

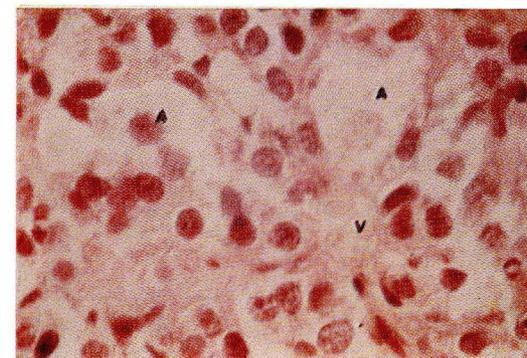


FIG. 1. — Detalle de un vaso rodeado de células vacuoladas hipofisarias de una experimental de 15 días, teñida con la técnica de hematoxilina-eosina. V: vaso; A: células dilatadas con protoplasma ligeramente basófilo. Objetivo: 20. Ocular: 10. Factor inter.: 1'25.

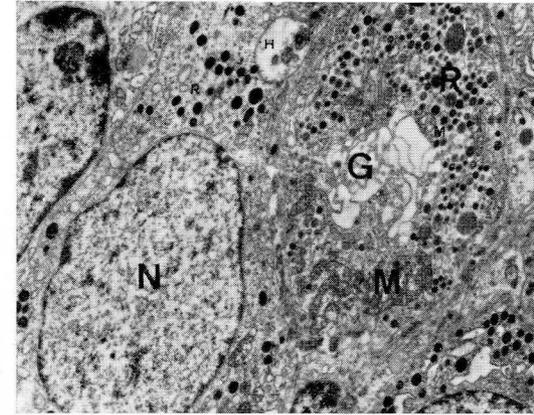


FIG. 2. — Detalle del aparato de Golgi en el interior del protoplasma de una célula F.S.H. de una experimental de 7 días. 6.000 aumentos. N: núcleo; R: granos de secreción; M: mitocondrias; G: cisternas; R: vacuolas de transferencia; H: vacuola.

- En los protoplasmas aparece mayor número de granos de secreción y un aumento en la cantidad de ribosomas.
- Gran cantidad de vacuolas de diferente tamaño y forma, algunas de ellas bajo la forma de cuerpo multivesicular, y otras que nos hacen suponer un aumento de los fenómenos autofágicos.

Al microscopio electrónico, en las células de los animales experimentales de 15 días (ver fig. 3), encontramos:

- Gran cantidad de granos de secreción distribuidos por el protoplasma.
- Abundancia de mitocondrias, algunas de las cuales carecen de crestas y se encuentran dilatadas.
- El retículo endoplásmico rugoso se halla ocupando grandes zonas del protoplasma celular.
- Se observa también que algunas células se encuentran en franco proceso de degeneración.

Al microscopio electrónico observamos que en las células de los animales experimentales de 21 días se aprecia que:

- Sigue existiendo un retículo endoplásmico rugoso que ocupa grandes espacios en el protoplasma.

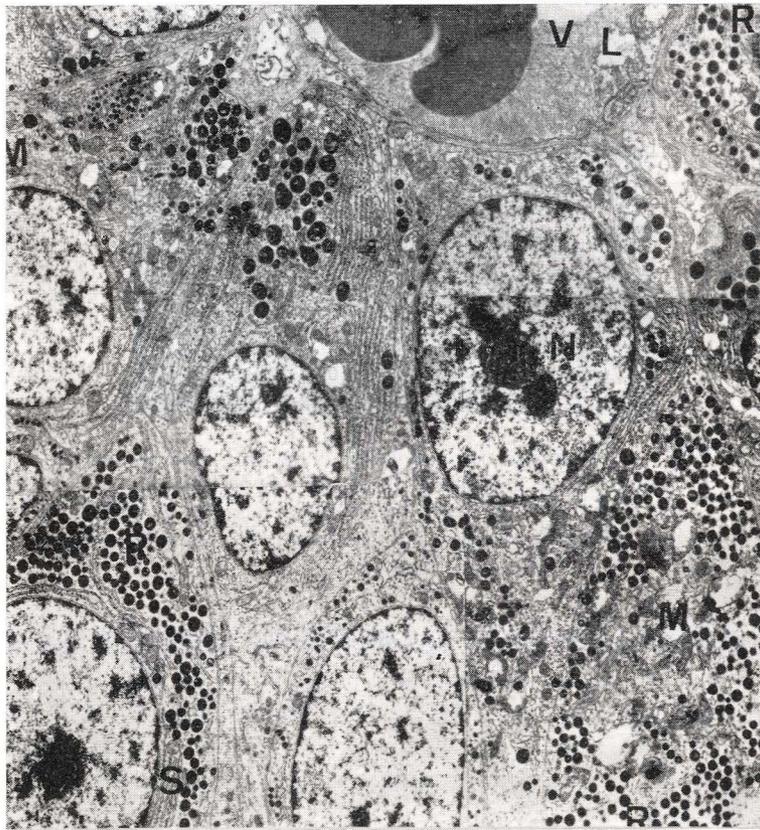


FIG. 3. — Vemos una panorámica de un vaso rodeado de células S.T.H., F.S.H. y L.H. de una experimental de 15 días. 6.000 aumentos en negativo. N: núcleos; M: mitocondrias; R: granos de secreción; V: vaso; L: elementos intravasculares; S: retículo endoplásmico rugoso.

- Persiste el aumento del número de las mitocondrias del protoplasma.
- Los aparatos de Golgi, aunque manifiestos, no están tan dilatados como en las experimentales de 7 y 15 días.
- Los granos de secreción han disminuido con respecto a las experimentales de 7 y 15 días.

Los resultados obtenidos en el radioinmunoanálisis para la hormona F.S.H. y L.H. tenemos que han sido hallados unos valores de hormona marcada radioactivamente iguales a cero en todas las pruebas; sin embargo, en la valoración de la S.T.H. tuvimos los

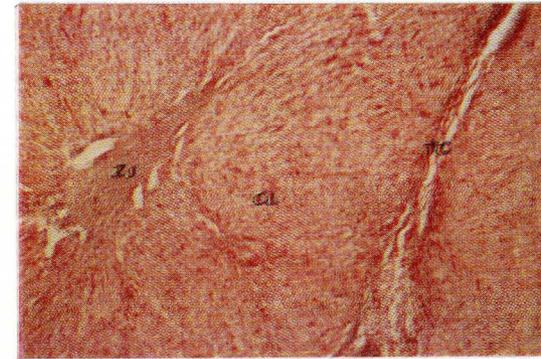


FIG. 4. — Preparación en la que se observa un cuerpo lúteo, teñida con la técnica de GALLEGO y DUALDE, de una experimental de 21 días. CL: cuerpo lúteo. Objetivo: 20. Ocular: 10. Factor inter.: 1'25.

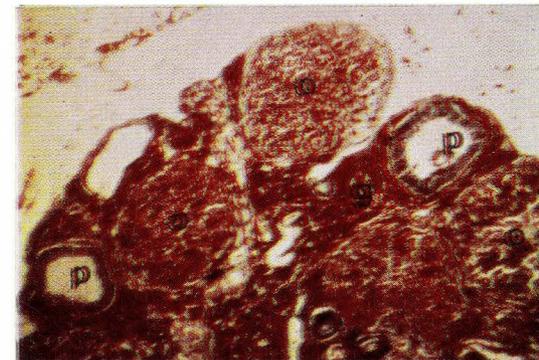


FIG. 5. — Preparación por medio de la técnica del Red-Oil, de una experimental de 15 días, en la que se aprecia: O: cuerpos lúteos; P: folículos desarrollados; T: folículos primordiales; G: lípidos. Objetivo: 6'3. Ocular: 10. Factor inter.: 1'25.

siguientes valores:  $T_1$ : 1'4-1'8;  $E_1$ : 5'2-4'2;  $T_2$ : 0'9-2;  $E_2$ : 1'9-3'3;  $T_3$ : 2'2-2'1;  $E_3$ : 4'2-2'3.

Hecho el recuento de folículos en los ovarios, hemos valorado aquellos en donde encontrábamos la presencia de antro folicular, con la intención de no incluir los folículos primordiales. En los cuerpos lúteos hemos incluido aquellos que presentaban algún signo de regresión, pero no los que podíamos considerar completamente involucionados.

Al contrastar los animales testigo de 7 días con los experimentales de 7 días nos encontrábamos con que el descenso del número de folículos de los experimentales con respecto a los testigos era del 38'4 %; sin embargo, los cuerpos lúteos presentaban un aumento del 22'4 %.

Al contrastar los testigos de 15 días con los experimentales de 15 días veíamos que el descenso de los cuerpos lúteos de los experimentales era del 9'4 % y el descenso de los folículos de las experimentales con respecto a las testigo era del 55'7 %.

En la comparación de los testigos de 21 días y los experimentales del mismo tiempo vimos que los experimentales de 21 días presentaban el 27'5 % de folículos menos y un aumento del 51'1 % de cuerpos lúteos.

En la interpretación morfológica del ovario, vimos que los experimentales de 7 días en comparación con los testigos de 7 días nos dan las siguientes diferencias: mayor cantidad de cuerpos lúteos activos; mayor cantidad de folículos en período terminal de maduración; mayor cantidad de pequeños folículos con antro y que han perdido la célula germinal (ver fig. 5).

Las diferencias aparecidas en las experimentales de 15 días con respecto a las testigo de 15 días son: mayor número de pequeños folículos con antro folicular; más cantidad de cuerpos lúteos sin involucionar, aunque en algunos hay una iniciación a la regresión; pocos folículos en un estadio intermedio de maduración.

Las diferencias entre las experimentales de 21 días con respecto a las testigo de 21 días son: menor número de folículos primordiales en las experimentales; pocos folículos en estado intermedio de maduración; muchos más cuerpos lúteos, pero con signos evidentes de involución (ver fig. 4).

Con respecto a la citometría, tenemos que, el índice citonuclear de las células de la granulosa de las ratas experimentales disminuye en las de 7 y 15 días, encontrándose en las de 21 días aumentado.

El mismo fenómeno observamos en las células de la teca interna y teca externa del folículo; en las células del cuerpo lúteo el índice citonuclear es mayor en las experimentales de 7, 15 y 21



días; en las células de la teca externa del cuerpo lúteo el índice es mayor en las testigo de 7 y 15 días, pero se invierte en las de 21 días.

En la valoración de las grasas tenemos que, por el método de birrefringencia, observamos mayor presencia de cristales en las experimentales, en las tecas y en los cuerpos lúteos. Con el método de Red-Oil vemos una mayor presencia de lípidos rodeando los folículos (ver fig. 5).

Con el método del azul de Nilo no encontramos diferencias valorables.

Al contrastar a microscopía electrónica el ovario, tenemos que en la teca interna se observa un gran aumento de las vacuolas grasas, mitocondrias grandes y dilatadas. En las células del folículo que están en contacto con la membrana basal se observa una abundancia de mitocondrias. El número de estas organelas aumenta conforme nos vamos acercando al antro folicular.

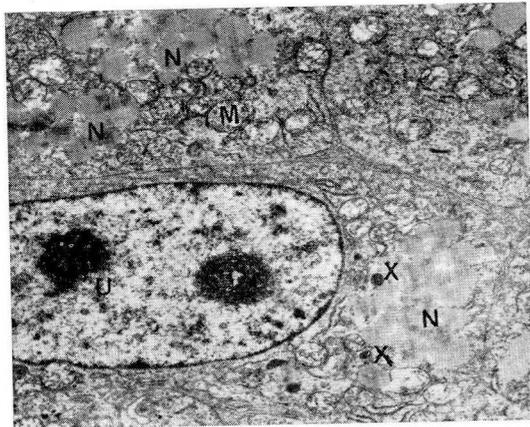


FIG. 6. — Detalle de vacuolas grasas en las células del cuerpo lúteo de una experimental de 15 días. 6.000 aumentos en negativo. U: nucleolo; N: vacuolas de grasa; X: acúmulos granulares intensamente osmófilos; M: mitocondrias.

En los cuerpos lúteos se aprecia cómo en las células luteínicas de los animales experimentales tienen sus protoplasmas totalmente invadidos de mitocondrias y las vacuolas de contenido graso están agrupadas por zonas, siendo menos numerosas que en los grupos testigo (ver fig. 6).

Observamos también como hechos constantes la presencia de unos gránulos intracelulares, intensamente osmófilos, que no tienen siempre la misma intensidad, aunque sí es constante el hecho

de que su mayor osmofilia sea periférica. Estas estructuras también están presentes en las células luteínicas de los animales testigos, aunque no son tan numerosos. Se da la circunstancia de que son más frecuentes en las células que contienen vacuolas de grasa.

El hecho de encontrarlos también en las células en proceso degenerativo nos hace suponer que son estructuras que llevan consigo la transformación del metabolismo celular o la hiperactividad celular; sin embargo, no deben ser todas ellas de la misma naturaleza, ya que han sido descritas estructuras similares o iguales por LAGUENS (1968) y DUMM (1968) como pigmentos, y RENNELS (1966) ya describió unas estructuras similares como de constitución proteica.

### Discusión

Al contrastar nuestras experiencias con los resultados obtenidos por otros autores, que han realizado la irradiación hipofisaria bajo las mismas condiciones, hemos encontrado unos hechos comunes y otros diferenciables. Así, la presencia de células aumentadas de tamaño cerca de los sinusoides es un hecho ya descrito por V. GARCÉS (1971), I. ESCRIVÁ (1974) y J. LLORET (1976); sin embargo, en la identificación que estos autores hacen de estas células encontramos la diferencia de que así como para GARCÉS eran células secretoras de S.T.H., nosotros encontramos bajo la misma técnica del A.T. P.A.S. que estas células no son necesariamente de un tipo determinado, sino que su constante es la proximidad a los sinusoides, hecho que sin descartar las afirmaciones de los autores citados nos amplía la posibilidad de que estas células afectadas sean aquellas que por su situación y diferenciación son más susceptibles de transformaciones, hecho que corroboramos con la microscopía electrónica, ya que el aumento de cromatina es para MARTIN (1974), DÍAZ FLORES (1970) y BRACHET (1975) la más activa del núcleo y la que dirige la síntesis de las proteínas celulares.

Este fenómeno de dispersión de la cromatina ya había sido observado por H. LACH (1969) y por ZAVIL (1964) tras aplicar la irradiación. Nosotros creemos que estas alteraciones son debidas a la irradiación, ya que en las células de los animales testigos no aparecen tales alteraciones.

Otra diferencia que apuntábamos en los resultados obtenidos era el aumento del RNA libre y el aumento del retículo endoplásmico rugoso, fenómeno que para BRACHET (1975) indica un aumento de la síntesis proteica.

El aumento de las vacuolas y la dilatación del aparato de Golgi se deberían, según DÍAZ FLORES (1974) a la hiperfunción secretora celular, en lo que coincide OLIVA ALDAMIZ (1974).

Si acompañamos estos datos con el aumento de los granos de secreción, obtenemos la seguridad de que hay una hiperactividad celular durante las dos primeras semanas después de realizado el experimento; nos encontramos, pues, con una hiperactividad celular hipofisaria más manifiesta en las células próximas a los sinusoides y que esta hiperactividad celular va acompañada de destrucción de algunas células hipofisarias.

Para discutir los resultados obtenidos en el ovario tendremos que relacionarlos en función de la dependencia de las transformaciones hipofisarias así: el aumento de los cuerpos lúteos ya había sido observado por ROOS (1972) tras inyectar todas las hormonas adenales a doble dosis de las normales.

El hecho del mantenimiento del cuerpo lúteo había sido comprobado por GRABER (1968) tras inyectar extractos crudos de glándula hipofisaria; tenemos que aceptar, pues, que la acción de las radiaciones ultravioleta sobre la hipófisis es transmitida al ovario, produciéndose un aumento de la secreción hormonal, hecho que con cierta reserva vemos en los resultados de radioinmunoanálisis, puesto que para FELBER (1968) la reacción que nosotros hemos obtenido sí que era positiva, puesto que el antisuero reacciona además de con la hormona específica, con otras similares, de forma que el inmuno precipitado sería la unión de S.T.H., L.H., F.S.H. y T.S.H.

El segundo punto más significativo que encontramos era el desarrollo de los folículos, que SUBTELNI (1969) vio que producían los extractos hipofisarios.

Si en los resultados obtenidos de 7 días nos llama la atención las manifestaciones expuestas, en los ovarios de animales de 15 y 21 días vemos cómo van sufriendo una transformación; así, en las experimentales de 15 días vemos una disminución de los folículos desarrollados, mayor cantidad de cuerpos lúteos, y en el interior de algunos de ellos la presencia de tejido conjuntivo.

En las experimentales de 21 días, ha ido en aumento el tejido conjuntivo del interior de los cuerpos lúteos y la disminución de los folículos.

Esta dinámica evolutiva creemos se debe, conjuntamente, a las variaciones hormonales hipofisarias y ováricas, de tal manera que en las experimentales de 15 días hay un aumento de estrógenos. Esto, según STORMSHAK (1965), RENNIE (1968), MOORE (1973), favorecen el mantenimiento del cuerpo lúteo, si previamente han sido administradas las gonadotropinas. Este aumento de los estrógenos queda ratificado por el hecho de que el aumento de las ovulaciones también es favorecido por los estrógenos, como aseguran LINE-

WAVER (1970), WYSS (1963), HARRINGTON (1974), CROOKE (1968) y THOMAS (1973).

En las experimentales de 21 días hay un aumento de la progesterona por la presencia de cuerpos lúteos abundantes, con la disminución de folículos; esto se debería a que la progesterona producida por los cuerpos lúteos impediría el desarrollo folicular, como nos dice HOFFMAN (1965), HARALD (1965), KOWAYASHI (1969) y BANIK (1973).

El hecho de que ha aumentado la hiperactividad ovárica nos queda ratificado por los hallazgos obtenidos con la microscopía electrónica, ya que el aumento de las mitocondrias en las células foliculares y las del cuerpo lúteo se debe a un aumento de las necesidades energéticas celulares, según OLIVA ALDAMIZ (1964), HAM (1965) y DÍAZ FLORES (1974), fenómeno que ya había sido observado por RENNIE (1966) en los cuerpos lúteos, tras la administración de gonadotropinas, al igual que HEGNER (1968), que había observado un aumento de las mitocondrias en las células intersticiales tras administrar gonadotropinas.

La segunda diferencia que encontramos en los ovarios experimentales era un aumento de las grasas en el tejido intersticial y tecas, fenómeno observado por HALL (1968) y STEGNER (1968) tras inyectar extractos hipofisarios a ratas.

La presencia de más cantidad de acúmulos intensamente osmófilos con predominio de forma esferoidal, que GUYLAS-BELA (1964) los denomina como inclusiones electropacas y que aparecen durante la función estereidogénica en las células luteínicas, según DÍAZ FLORES (1964); sin embargo, para MARTIN (1964) son lipocromos.

Nosotros creemos que si las células están sometidas a una acción hormonal superior a sus regulaciones cíclicas habituales, aumenta el metabolismo celular y por tanto sus lisosomas. Sin embargo, algunas de estas estructuras deben tener naturaleza lipocrómica, ya que aparecen en las células que tienen gran actividad en la síntesis de grasa, como son las células del cuerpo lúteo, hecho que podemos ratificar por el método de la birrefringencia, puesto que en los animales experimentales encontrábamos en las células luteínicas un aumento de cristales birrefringentes.

### Conclusiones

1.<sup>a</sup> Hemos estimulado el lóbulo anterior hipofisario de ratas hembras púberes durante 5 minutos a un metro de distancia y con una energía de  $450 \text{ ergios/cm}^{-2}/\text{seg.}$  emitido por una lámpara ultravioleta e interponiendo un filtro de wallamita con el fin de se-

leccionar para el experimento las longitudes de onda correspondientes a 2.537 Å y detectadas por el dosímetro de Latarjet.

2.<sup>a</sup> Hemos observado modificaciones en los substratos adenohipofisarios a los 7, 15 y 21 días después de la irradiación.

A) A los 7 días observamos la presencia de unas células al lado de los sinusoides, que han aumentado de tamaño y que bajo el microscopio electrónico presentaban: predominio de la eucromatina, aumento de los ribosomas libres y presencia de cisternas muy dilatadas.

B) A los 15 días después del experimento, persisten las células vacuoladas cerca de los sinusoides y que bajo la microscopía electrónica nos muestran: aumento de los granos de secreción, aumento del retículo endoplásmico rugoso.

C) A los 21 días después del experimento de la radiación, las células hipofisarias no manifiestan diferencia en relación con las células de los animales testigos, aunque aparecen algunas células con gran cantidad de granos de secreción.

3.<sup>a</sup> En los ovarios de los animales experimentales encontramos:

A) A los 7 días después del experimento:

- gran cantidad de folículos iniciando la maduración,
- aumento del número de folículos completamente diferenciados,
- aumento del número de los cuerpos lúteos.

B) A los 15 días:

- persistencia de los cuerpos lúteos, con ligeros indicios de involución.

C) A los 21 días:

- los cuerpos lúteos muestran signos más evidentes de regresión y creemos que empieza de nuevo la maduración folicular.

4.<sup>a</sup> Comprobando nuestros resultados con los obtenidos por otros autores, los interpretamos en el sentido de que existe una estimulación global hipofisaria que lleva consigo una activación ovárica que se manifiesta por la transformaciones de su substrato morfológico.

### Resumen

Tras la acción de la radiación ultravioleta sobre la hipófisis de la rata blanca impúber, hemos observado la aparición de transformaciones celulares en el lóbulo anterior hipofisario que indican un aumento de actividad celular.

La repercusión de este fenómeno sobre el ovario se manifiesta por un aumento de cuerpos lúteos, la persistencia de los mismos durante quince días, disminución

de número de folículos, modificaciones en el índice cariométrico, aumento de grasa en la estructura ovárica y alteraciones intracelulares de las células foliculares, de las células del cuerpo lúteo y de las células del tejido intersticial del ovario.

### Summary

Upon the action of ultraviolet radiation on the hypophysis of the immature white rat, we have noted the presence of cellular transformations on the anterior hypophyseal lobe showing an increase of the cellular activity.

The repercussion of this phenomenon on the ovarium appears as an increase in luteous bodies, their persistence for fifteen days, decrease in the number of follicles, modifications in the carometric index, increase of grease in the ovarian structure and intracellular modifications of follicular cells, of the luteous body cells and the cells of the ovarium interstitial tissue.

### Zusammenfassung

Nach der Behandlung der Hypophyse einer weissen Ratte im Stadium der Vorpubertät, mit ultravioletten Strahlen, haben wir das Auftauchen zellulärer Transformationen im Lappen der Vorhypophyse, die einen zellulären Aktivitätszuwachs anzeigen, festgestellt.

Die Rückwirkung dieses Phänomens auf das Ovarium drückt sich aus durch:

Zuwachs der Luteinkörper, die während 15 Tagen widerstanden, Disminution der Follikularzahl, Modifikation im Index der Zellteilung, Fettanstieg in der Ovarstruktur, sowie intrazelluläre Alterationen der Follikularzellen, der Zellen der Luteinkörpers und der Zellen des Füllgewebes des Ovarium.

Statt lappen der Vorhypophyse muss stehen Vorlappen der Hypophyse.

### Résumé

Après l'action de la radiation ultra-violette sur l'hypophyse de la ratte blanche impubère, nous avons observé l'apparition de transformations cellulaires dans le lobe antérieur de l'hypophyse qui indiquent une augmentation de l'activité cellulaire.

La répercussion de ce phénomène sur l'ovaire se manifeste par une augmentation de corps jaunes et par la persistance de ceux-ci pendant quinze jours, la diminution du nombre de follicules, des modifications dans l'indice caryométrique, augmentation de la graisse dans la structure ovarienne et par des altérations intracellulaires des cellules folliculeuses, des cellules du corps jaune et des cellules du tissu interstitiel de l'ovaire.

### BIBLIOGRAFÍA

- BANIN, U. K. (1970): Induction of ovulation of rats. Avest. Lab. Montreal. Canadá.
- BORDYUSHKOV, Yu N. (1973): Changes in the activity of the hypophysis, structure and function of the ovaries resulting from electric stimulation of the hypothalamus. "Byul. Eksptl. Biol. Med.", **56**: 102-107.
- BRACHET, J. (1975): Introducción a la embriología molecular. H. Blume.
- COHEN, J. (1973): Fisiología, Ginecología. Facultad de Medicina. París. Ed. Toray Masson.

- CROOKE, A. C. (1968): Joint action of human follicle-stimulating-hormone (FSH) and chorionic gonadotrophin (HCG) in women with failure of ovulation. "Lancet", **7561**: 180-184.
- DÍAZ FLORES (1974): Bases ultraestructurales en Citología e Histología y Anatomía patológica. Santiago de Compostela.
- DÍAZ MAYO, M. (1967): Aportaciones al conocimiento de las transformaciones experimentales del substrato anatómico del tiroides tras irradiación ultravioleta en la rata albina. Tesis. Valencia.
- DUMM (1968): Bioassay of hypothalamic gonadotrophin stimulating factor. "Experientia", **23**: 304-306.
- ESCRIBÁ, I. (1974): Aportaciones a las transformaciones experimentales del substrato anterohipofisario tras la estimulación adrenal en la rata blanca adulta y su repercusión en el callo de fractura diafisario femoral. Tesis. Valencia.
- FELBER, A. (1968): Citado por COHEN.
- GARCÉS, V. (1971): Aportaciones al conocimiento de las transformaciones experimentales del substrato endocrino suprarrenal tras radiaciones ultravioletas hipofisarias. "An. Anat.", **22**: 247-266.
- GOLDENER, J. (1938): Modification of massontrichrome technique for routine laboratory. "Am. J. Path.", **14**: 237-243.
- GOMORI, G. (1950): Aldehyde-fuchsin a new stain for elastic tissue. "Am. J. Clin. Path.", **20**: 665-666.
- GUYLAS BELA, J. (1964): El cuerpo lúteo del mono rhesus durante la preñez avanzada. Estudio al microscopio electrónico. Inst. Chil. Health and Hum. Dev. Bethesda. USA.
- GRABER, E. A. (1968): Citado por COHEN en "Fisiología ginecológica", 1973.
- HALL, Peter F. (1968): Site of action of trophic hormones upon the biosynthetic pathways to steroid hormones. "Endocrinology", **82**: 559-568.
- HAM, A. W. (1975): Histología. 5.<sup>a</sup> edición. México. Interamericana.
- HARALD, Bratt (1965): Dehydrogenases in the rat ovary: II. A histochemical study of steroid and carbohydrate metabolizing enzymes in microplastic ovaries induced by continuous illumination. "Endocrinology", **83**: 329-335.
- HARRINGTON, F. E. (1964): Effect of stradiol benzoate on ovary transport in superovulated inmautre mice. "Endocrinology", **75**: 461-463.
- HEGNER (1968): Hormone action in relation to the generalized problem of intercellular communication. Academic Press: London and New York, 291-346.
- HOFFMAN, Johan C. (1965): Timing of ovulation following progesterone withdrawel in the rat. "Endocrinology", **76**: 626-631.
- KOWAYASI, Yasuo (1969): Functional morphology of the pars intermedia of the rat hypophysis as revealed with the electron microscope. III. Effects of dexamethasone on the pars intermedia of rats under various experimental conditions. "Arch. Histol. Jap.", **29**: 105-136.
- LACH, Henryk (1965): The course of the cycle in the white mouse (mus musculus L) irradiated with ultraviolet rays of different ranges. "Acta Biol. Cracov. Ser. Zool.", **8**: 75-85.
- LACH, Henryk (1969): Neurosecretory activity of the hypothalamus-hypophyseal axis in conditions of total shock and chronic irradiation with X-rays and UV: II. Quantitative changes of the neurosecretion in the hypothalamus and the nervous part of the hypophysis under the influence of large single and chronic X-rays doses in the course of radiation sickness. "Acta Biol. Cracov. Ser. Zool.", **13**: 117-130.
- LAGUENS (1968): Citado por OLIVA ALDÁMIZ en su obra "Ultraestructura celular". Edit. Paz Montalvo. Madrid, 1964.
- LATARGET, P. (1953): Un appareil simple pour la dosification des radiations UV émises pour les lampes germicides. "Ann. Institute Pasteur", **1**: 174-85.

- LINEMAYER, J. A. (1970): Ovarian responses in gonadotropintreated calves. "Amer. J. Vet. Res.", **31**: 2157-2166.
- LLORET, J. (1976): Aportaciones al conocimiento del timo tras estimulación hipofisaria. Tesis. Valencia.
- MARTÍN y MATTEWS (1974): Atlas de Histología y Ultraestructura humana. Salvat, S. A.
- MILLS, T. M. (1971): In vitro steroid synthesis by follicles isolated from the rabbit ovary. "Steroids", **20**: 247-262.
- MOORE, Pamela (1973): Effect of hypophysectomy and gonadotropin treatment on follicular development and ovulation in the hamster. "A. M. J. Anat.", **139**: 37-48.
- OLIVA ALDÁMIZ, H. (1964): Ultraestructura celular. Su estudio con microscopio electrónico. Introducción a una nueva patología. Edit. Paz Montalvo. Madrid, 1964.
- REMMELS, E. G. (1966): Gonadotrophic cells of rat hypophysis. "Colloques Internat. Ctr. Rech.", **128**: 201-213.
- RENNIE, P. (1968): Lutealhypophyseal interrelationship in the rabbit. "Endocrinology", **83**: 323-328.
- ROOS, M. (1972): Study of the specificity of the method of dosage of follicle stimulating hormone based on the enumeration of the luteal formations in the ovary of the immature rat. "Cr. Seances Soc. Biol. Fil.", **165**: 1139-1144.
- SAKUN, O. F. (1966): Transition to meiotic division of oocytes with incompleting vitellogenesis under the effect of hormonal stimulation in the salmon salmo salar L. "Dokl. Akad. Nauk. SSSR", **169**: 241-244.
- STORMSHAK, F. (1965): Effects of LH and ovarian hormones in corpora lutea of pseudopregnant and pregnant rabbits. "Endocrinology", **77**: 337-342.
- SMITH, P. E. (1930): Hypophysectomy in the rat. "Amer. J. Anat.", **45**: 205-273.
- STEGNER, H. E. (1968): Citado por J. COHEN en "Fisiología ginecológica", 1968.
- SUBTELNY, S. (1969): Maturation of ovarian from eggs without ovulation. "J. Exp. Zool.", **168**: 39-47.
- THOMAS, K. (1973): Changes in hypophyseal responsiveness to synthetic LH + RH during the normal menstrual cycle in women. "Contraception", **7**: 289-297.
- WYSS, Hans I. (1963): Effect of gonadotropin, estradiol and PMS. Univ. Franklyn, Zurich, Suiza.
- ZAVIL'GEL'SKII, G. B. (1964): Reaction between acridine orange and UV irradiated DNA. "Biokhimiya", **29**: 508-517.

A. RENOVELL MARTÍNEZ  
Departamento Anatómico  
Facultad de Medicina  
Valencia (España)

EL APARATO YUXTAGLOMERULAR DEL RIÑÓN  
(Su relación con ciertos iones y con la tensión arterial)

POR

S. RODRÍGUEZ<sup>(1)</sup> y J. L. ESCOLAR-CASTELLÓN<sup>(2)</sup>

Es clásico decir que la función básica del riñón es limpiar, aclarar el plasma sanguíneo de sustancias no necesarias para el organismo y, en consecuencia, que puedan ser perjudiciales. Para llevar a cabo esta función la nefrona, o unidad funcionante del riñón, filtra plasma para después reabsorber las sustancias no desechables y eliminar las sustancias indeseables.

Pero aparte de esa función filtrante, que se modifica, entre otras cosas, por los cambios de presión a nivel de los capilares del glomérulo, el riñón sufre cambios funcionantes ocasionados por otros mecanismos relacionados bien con la composición del plasma, bien con acciones de tipo hormonal, etc., Los mecanismos de tipo hormonal se refieren a sustancias que se forman fuera del riñón, como es el caso de la hormona antidiurética, o bien sustancias que se forman en el mismo riñón, como la renina. Pues bien, tanto la acción filtrante como la acción de tipo hormonal renínico se relaciona además de con los elementos clásicos de la nefrona: glomérulo, cápsula, tubos contorneados, asa de Henle, con esa otra unidad histofuncional que es el aparato yuxtaglomerular del riñón (AY) (fig. 1), que consta de células epitelioides, mácula densa y células de Goormaghtigh.

En relación con la *morfología* de estas formaciones recordemos que las células epitelioides, que se encuentran situadas en la capa media de la arteriola aferente al glomérulo, se caracterizan por que en su citoplasma se observan unas granulaciones de diverso aspecto. GOORMAGHTIGH (1940) fue el primero que llamó la atención sobre la posibilidad de un ciclo secretorio en este substrato renal.

(1) Profesor jefe del Departamento de Ciencias Morfológicas del Colegio Universitario de Soria.

(2) Profesor jefe del Departamento de Patología General del Colegio Universitario de Soria. Jefe del Departamento de Medicina Interna del Hospital General de Soria.

En estrecha relación con las células epitelioides está la mácula densa descrita por ZIMMERMAN (1933), constituida por un grupo de células situado en los comienzos de túbulo contorneado distal y que se adaptan íntimamente al polo vascular del glomérulo renal. Dicho grupo de células maculares se caracterizan, entre otras cosas, por: son más altas que las otras células tubulares; según McMANUS (1943) su aparato de Golgi se sitúa entre el núcleo y el polo basal de la célula; tiene menor dotación de mitocondrias que las otras células tubulares y están situados dichos organitos, entre el núcleo y el polo apical en lugar de entre el núcleo y el polo basal. Todo lo reseñado nos lleva a pensar (OKKELS, 1950) que la actividad funcional de la mácula densa está polarizada hacia el polo vascular del riñón.

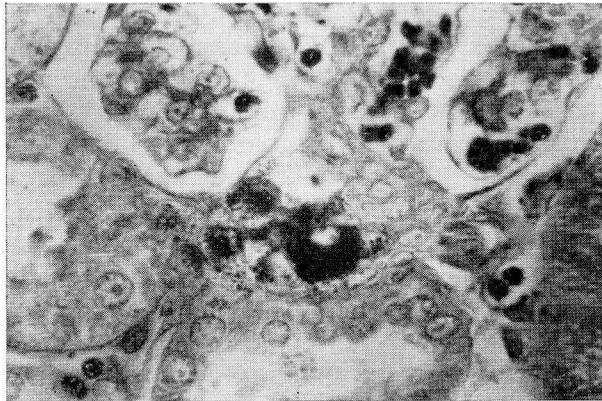


FIG. 1. — Se observa en mitad de la figura las células epitelioides cargadas con granos de renina. Una de estas células está tan densamente cargada de dichos granos secretorios que la única estructura que se nota es el núcleo. Debajo de estas células epitelioides se encuentra la mácula densa y arriba, a la derecha de las mismas, las células de GOORMAGHTIGH, ya en íntimo contacto con el glomérulo. Tinción de Bowie según la modificación de SMITH (1966).

Las células de Goormaghtigh se encuentran localizadas entre las arteriolas aferente y eferente del glomérulo, de tal manera que se encuentran intercaladas entre las células epitelioides y la mácula densa. Esta localización, junto a que están envueltas en una espesa red de membranas basales, hacen pensar que fuese un puente de unión para llevar los informes en uno y en otro sentido (KROON, 1960; BUCHER y REALE, 1961, 1962; OBERLING y HATT, 1960; RODRÍGUEZ, 1971), pues se ha visto que dichas membranas basales pasan de una formación a otra sin solución de continuidad.

De las diversas funciones del AY vamos a ceñirnos en esta revisión a dos aspectos fundamentales: 1.º El AY y su relación con ciertos iones del organismo. 2.º El AY y su intervención sobre la tensión sanguínea.

### *El AY del riñón y su relación con ciertos iones*

El AY y, en consecuencia, la renina, como sustancia formada en las células epitelioides de la arteriola aferente al glomérulo (GOORMAGHTIGH, 1944; DUNIHUE y CANDON, 1940; COOK y PICKERING, 1958; HARTROFT y EDELMAN, 1960) va a tener una relación funcional preponderante con el metabolismo hidroelectrolítico, y todo ello en relación con el papel que juegan el sodio, potasio y otros iones plasmáticos sobre la secreción de la renina.

Se ha visto, por ejemplo, que cuando determinados animales se someten experimentalmente a una dieta pobre en sodio (HARTROFT y HARTROFT, 1953, 1955, 1957) sufren una elevación del índice de granulación yuxtaglomerular. Asimismo se ha visto que lo contrario produce una disminución de dicho índice. RODRÍGUEZ (1969) observa que con dieta hiposódica las células de la mácula densa y las células de Goormaghtigh sufren un aumento de su actividad fosfatasa-alcalina. En ratas adrenalectomizadas (DUNIHUE, 1946, 1949) se observa un aumento considerable de la granulación de las células epitelioides del aparato yuxtaglomerular. En otro orden de cosas, diversos autores (HARTROFT y HARTROFT, 1955; RODRÍGUEZ, 1970; DUNIHUE, 1965) han visto que en trabajos experimentales donde han aumentado los granos secretorios en el citoplasma de las células yuxtaglomerulares se produce también un aumento del espesor de la capa glomerulosa de la corteza adrenal.

La relación entre el sodio plasmático y la actividad renínica ha sido estudiada, entre otros, por YAMAMOTO y col. (1969), HAYDUK y col. (1971), que han observado cómo una baja del sodio plasmático por diálisis peritoneal va unida a un incremento de la secreción de renina. Sobre todo lo antedicho, se han realizado muchas experiencias e incluso algunas han resultado contradictorias. No obstante, una experiencia muy determinante fue la de YAMAMOTO y col. (1968), que observa que perfundiendo un riñón aislado de perro con una infusión carente de sodio se produce un incremento de la secreción de renina. En sentido inverso, NASH y col. (1968) comprueban que el incremento de la secreción de renina mediante diversos procedimientos puede ser anulado por una infusión renal rica en cloruro sódico. SHADE y col. (1972) llegan a la misma conclusión mediante perfusión directa en arterial renal en animales con constricción de la vena cava inferior.

En relación con el ion potasio, VEYRAT y col. (1967) observan que si disminuye el potasio plasmático se incrementan la actividad renínica plasmática. VANDER (1970) estudia la acción del potasio sobre la secreción de renina mediante perfusión directa en la arteria renal; observa asimismo cómo decrece la actividad renínica en la correspondiente vena renal.

Si nos referimos al calcio se han realizado diversos trabajos experimentales (KOTCHEN y col., 1974) en donde se observa la interrelación funcional de los iones calcio y sodio a nivel de la nefrona, con lo que, por el momento, se hace difícil decir cuál es la influencia del calcio sobre el aparato yuxtaglomerular del riñón y, en consecuencia, sobre la secreción de renina.

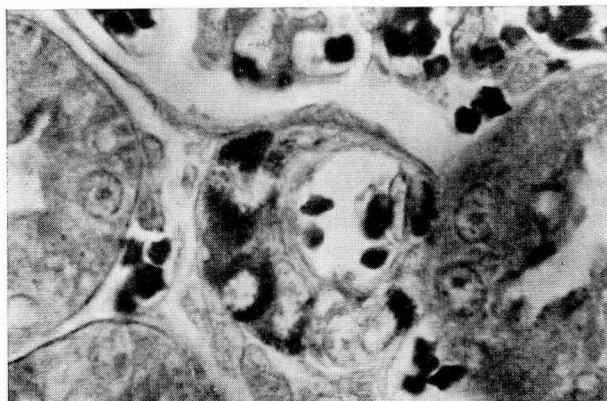


FIG. 2. — En mitad de la microfotografía se observa una sección transversal de la arteriola aferente al glomérulo. Nótese que en la pared de dicho vaso hay varias células epitelioides cargadas de grumos de renina. Tinción como en la figura 1.

En íntima relación con todo lo dicho hasta ahora está el hecho de que la renina, mediante su acción sobre el angiotensinógeno, transformándolo primero en angiotensina I y después en angiotensina II, tiene un control sobre la secreción de aldosterona que, como es sabido, una de sus funciones fundamentales es la de evitar pérdidas inadecuadas de sodio. Ya anotábamos al principio que fue DUNHUE (1946, 1949) el primero que desde un punto de vista morfológico, llegó a esta conclusión al ver que en ratas adrenalectomizadas se producían un gran aumento de la granulación de las células yuxtaglomerulares, o lo que es lo mismo, una elevada secreción de renina. Podemos ver en este caso cómo una pérdida de sodio debida a la carencia de suprarrenales llevarían por diferentes caminos (alteración del volumen sanguíneo, alteración de la

presión sanguínea) a una mayor estimulación de las células yuxtaglomerulares, con el consiguiente aumento de la secreción de renina, que a su vez, estimularían la secreción de aldosterona para evitar la continua pérdida de sodio (BLAINE y col., 1972; DAVIS y colaboradores, 1976).



FIG. 3. — Se observa en mitad de la figura un aparato yuxtaglomerular hipertrófico, hiperplásico y con intensa hipergranulación. Pertenece a un animal hipertenso. Tinción como en la figura 1.

### *El AY del riñón y la hipertensión arterial*

Algunos detalles sobre la acción hipertensora renal hoy vigentes ya fueron preconizados por VOLHARD en su comunicación al Congreso de Medicina Interna de Viena, celebrado en 1923, cuando mencionó la división de hipertensión en roja y blanca. Desde entonces, y de forma creciente, la bibliografía se ha visto incrementada en comunicaciones al respecto, pudiendo de su mano concretar en muchos puntos las ideas que el iniciador de la nefrología moderna hiciera en su día.

Como esquema conductor de nuestro estudio se mencionarán, en primer lugar, las causas de la hipertensión nefrótica; después, los datos existentes sobre mecanismos iniciadores de la misma, y



por último, se repasarán los mecanismos mantenedores de dicha hipertensión.

#### Causas

Al mencionar VOLHARD (1931) la existencia de una hipertensión blanca, ya la relacionó con disminuciones de la perfusión sanguínea en algunos órganos, como el riñón, piel y retina, entre otros. En 1930, HARTWICH logró desencadenar hipertensiones experimentales al ligar la arteria renal. Unos años más tarde, GOLDBLART (1934) mejoró la técnica mediante ligaduras reguladas. A la vista de estas experiencias, VOLHARD pudo concluir diciendo que disminuciones en la perfusión sanguínea renal, bien por estenosis extrarrenales de la arteria nutricia o bien por estenosis intrarrenales debidas a cambios vasculares secundarios a enfermedades renales y/o sistémicas, podrían producir hipertensión arterial.

#### Mecanismos iniciadores

La respuesta hipertensiva a la disminución de perfusión renal se desencadena en el riñón como resultado de un mecanismo regulador (GRANGER y col. 1972). Experiencias con riñones denervados excluyeron la participación del sistema vegetativo simpático en dicho mecanismo (HEYMANS, 1954).

El riñón, sin embargo, necesita la ayuda "permissiva" de las glándulas suprarrenales o, en su defecto, la presencia de hormonas corticosuprarrenales administradas sustitutivamente. Sin la ayuda de estas hormonas, los cambios tensionales producidos no son constantes. Otras glándulas endocrinas no parecen jugar ningún papel decisivo a este respecto (ENGER y col., 1938 a).

El papel de la hipoxia quedó desechado al comprobarse que riñones perfundidos con sangre venosa no producían hipertensión (FRIEDMANN y col., 1959). El factor decisivo es, pues, el flujo sanguíneo y su disminución debe ser de un 15 a un 50 % de los valores normales. La perfusión sanguínea, sin embargo, debe ser suficiente para garantizar un mantenimiento normal de las diversas estructuras renales, ya que si se reduce por debajo de unos límites extremos acarreará la aparición de isquemia renal, sobre todo de las zonas más necesitadas de oxígeno, como son los túbulos renales, desencadenándose así un síndrome de fallo renal agudo, situación que sobrepasa el marco de esta revisión (GESSEER y colaboradores, 1965).

Parece ser que el mecanismo iniciador de la hipertensión arterial al disminuir el flujo renal sanguíneo es un proceso de autorregulación renal, encontrándose imbricado de una forma funda-

mental al aparato yuxtaglomerular (SKIMMER y col., 1963). Como ahora expondremos, una disminución de la perfusión glomerular renal lleva a una menor presión de filtración y por lo tanto a una menor filtración glomerular, por lo que a igualdad de reabsorción tubular, ya que los túbulos están intactos, la cantidad de filtrado restante, es decir, el que llega al túbulo distal, será menor, situación que es captada por la mácula densa de dicho túbulo contorneado distal, que bien de una forma directa o transmitiendo el estímulo a las células epitelioides de la capa media del vaso aferente glomerular, llevan al aumento de la producción, almacenamiento y secreción renínica, hecho comprobable por los niveles plasmáticos y por los cambios morfológicos del aparato yuxtaglomerular objetivables en la aparición de grumos específicos en dicha zona (TOBIAN, 1960; HARTROFT, 1963).

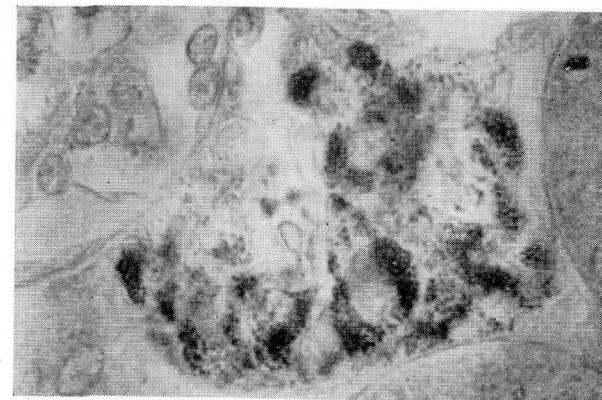


FIG. 4. — Es un aumento de la figura anterior con objeto de ver detalle de grumos de renina formados en el citoplasma de las células epitelioides del aparato yuxtaglomerular. Tinción como en la figura 1.

Diversas experiencias han demostrado que de todos los constituyentes del líquido intratubular de los túbulos distales es el Na el que estimula la secreción renínica cuando está disminuido (GRANGER y col., 1972).

El aumento de secreción del enzima renina no tiene otra función fisiológica o patológica que la de actuar sobre una alfa-2-globulina que tras una activación posterior pasará a angiotensina II, un octapéptido con una acción vasoconstrictora directa sobre la pared vascular mediante receptores específicos, también tiene una acción vasoactiva indirecta por actuar sobre el sistema simpático estimulándolo en su acción tanto a nivel central bulbar como a nivel ganglionar periférico. A mucha menor dosis ya actúa la an-

giotensina II sobre la zona glomerular de la corteza suprarrenal, estimulándola a una mayor producción de aldosterona (BICKERTON y col., 1961).

Los efectos de la aldosterona son los de retener el Na, lo que lleva a una expansión del volumen extracelular y a una hiperreactividad de la pared vascular frente a los estímulos vasoconstrictores de cualquier origen (LOSSE y col., 1962).

Es de resaltar que la retención de Na se produce por un aumento de la reabsorción tubular del mismo en las nefronas hipoperfundidas; parece ser que el riñón sano (en el caso de ligadura de una arteria renal) muestra una refractancia relativa a la acción aldosterónica, hecho que en la bibliografía se ha comentado como un fenómeno de "escape" (SCHEITLIN, 1967).

Así pues, la acción de la angiotensina II y de la aldosterona llevarán a una situación de vasoconstricción, hipersensibilidad de la pared vascular y aumento del volumen extracelular, todo ello son factores que desencadenarán la hipertensión arterial.

#### *Mecanismos mantenedores*

Una vez establecida la secuencia antes descrita, esta hipertensión arterial ejerce si es posible (dependiendo del grado de obstrucción existente) una regulación de la producción y secreción de renina, según se pueda o no vencer la obstrucción y normalizar el flujo sanguíneo renal. Por ello queda reflejado bien patente en la bibliografía que la angiotensina II y la aldosterona son inhibidores de la producción de renina, pero no directamente, sino a través de los efectos que estas hormonas producen en el organismo (OPARAIL y col., 1975).

Durante la primera semana de evolución, tras una obstrucción parcial de la arteria renal, ya se produce hipertensión, observándose siempre en estos casos un aumento de los niveles plasmáticos de renina-angiotensina, así como la presencia de los grumos característicos en el aparato yuxtglomerular.

Si se administran en este período de tiempo sustancias inhibitoras (sarcalasina o anticuerpos antirrenina o antiangiotensina) se observa cómo esta hipertensión se normaliza. A partir de la segunda semana, sin embargo, los datos bibliográficos varían. Hay hipertensión arterial pero muchas veces las tasas de renina-angiotensina muestran valores normales y en el aparato yuxtglomerular no se observa aumento de las granulaciones. Las sustancias antirrenina y angiotensina no producen el efecto hipotensor en esta fase (SKIMMER y col., 1963; OPARAIL y col., 1975). ¿A qué se debe pues esta diferencia en los resultados? Posiblemente sea debida a

que el sistema renina angiotensina ha sido frenado por los efectos de otros mecanismos que, habiendo entrado en juego, participan activamente en el mantenimiento de la hipertensión, pudiendo incluso con el tiempo "fijar" la hipertensión de una forma irreversible, aunque se suprima la causa inicial. Esto último generalmente en los animales de experimentación, cuando tras dos meses de obstrucción de la arteria renal se libera la estenosis o se quita el riñón hipoperfundido (DANIEL y col., 1954). Este fenómeno de fijación y mantenimiento de la hipertensión se ha achacado a muchos factores, que en casos particulares están presentes; sin embargo, una generalización no es posible, ya que no en todos los casos pueden demostrarse. Entre ellos cabe destacar: La presencia de arterioesclerosis en los vasos no protegidos (estos cambios degenerativos no aparecen, sin embargo, en todos los casos). Igual podríamos citar el aumento del dintel de excitación de los presorreceptores carotídeos por acostumbamiento a la hipertensión crónica (McCUBIN y col., 1956). Por último, únicamente citar la existencia de un mayor tono simpático y su acción no sólo vasoactiva, sino también directamente sobre el aparato yuxtglomerular estimulando a la producción de renina (teorías actuales de la terapéutica de la hipertensión con betabloqueadores adrenérgicos). Una producción permanentemente elevada de aldosterona o algún subproducto de su cadena metabólica ha sido también comentado en la bibliografía a este respecto (STANLEY, 1975).

#### *Resumen*

Los autores realizan una revisión de diferentes aspectos fisiopatológicos del aparato yuxtglomerular del riñón. Se estudia preferentemente su interdependencia con el metabolismo de ciertos iones y con la tensión arterial.

#### *Summary*

The authors achieve a revision of several pathophysiological aspects of the juxtglomerular apparatus of the Kidney. Its interdependence on the metabolism of certain ion and on the arterial tension is preferably studied.

#### *Zusammenfassung*

Es wird ein bibliografischen Übersicht über verschiedene pathophysiologische Data des juxtglomerulären Apparates der Nieren gemacht. Mit Betonung über die Abhängigkeit mit Blutdruck und elektroliten Stoffwechsel.

#### *Résumé*

Les auteurs réalisent une révision des différents aspects physiopathologiques de l'appareil juxtglomérulaire du rein. On étudie préférentiellement son interdependance avec le métabolisme hydro-électrolytique et avec la tension artérielle.

## BIBLIOGRAFÍA

- BLAINE, E. H., J. O. DAVIS and P. D. HARRIS (1972): A steady-state control analysis of the renin-angiotensinaldosterone system. "Circulation Res.", **30**: 713-730.
- BICKERTON, R. K., and BUCKLEY, J. P. (1961): Evidence for a central mechanism in angiotensin induced hypertension. "Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", **106**: 834.
- BUCHER, O., und E. REALE (1961): Zur elektronenmikroskopischen Untersuchung der juxtaglomerulären Spezialinrichtungen der Niere. II. Mitteilung. Über die macula densa des mittelstückes. "Z. mikr. anat. Forsch.", **67**: 514.
- BUCHER, O., und E. REALE (1962): Zur elektronenmikroskopischen Untersuchung der juxtaglomerulären Spezialinrichtungen der Niere. III. Mitteilung. Die Goormaghtighschen Zellen. "Z. Anat. Entw. Gesch.", **123**: 206.
- COOK, W. F., and G. PICKERING (1958): The location of renin within the kidney. "J. Physiol.", **143**: 78.
- DANIEL, P. M., M. PRICHARD, J. WARD-McQUAID (1954): Removal of the clip on the renal artery in rabbits with exp. chronic hypertension. "J. exp. physiol. Lond.", **39**: 101.
- DAVIS, J. O., and R. H. FREEMAN (1976): Mechanisms Regulatnig renin Release. "Physiol. Rev.", **56**: 1.
- DUNIhue, F. W., and B. H. CANDON (1940): Histologic changes in the renal arterioles of hipertensive rabbits. "Arch. Path.", **29**: 777.
- DUNIhue, F. W. (1941): Effect of cellophane perinephritis on the granular cells of the juxtaglomerular apparatus. "Arch. Path.", **32**: 211.
- DUNIhue, F. W. (1946): The effect of bilateral adrenalectomy on the juxtaglomerular apparatus. "Anat. Rec.", **96**: 536.
- DUNIhue, F. W. (1949): The effect of adrenal insufficiency and of desoxicorticosterone acetate on the juxtaglomerular apparatus. "Anat. Rec.", **103**: 442.
- DUNIhue, F. W. (1965): Reduced juxtaglomerular cells granularity, pituitary neurosecretory material and with the zona glomerulosa in aging rats. "Endocrinology", **77**: 940.
- ENGER, R., F. LINDER und H. SARRE (1938a): Wirkung quantitativ abgestufter Drosselung der Nierendurchblutung auf den Blutdruck. "Z. ges. exp. Med.", **104**: 1.
- FRIEDMANN, S. M., J. D. JANIESON and C. L. FRIEDMANN (1959): Sodium gradient, smooth muscle tone and blood pressure regulation. "Circulat. Res.", **7**: 44.
- GENEST, J. (1966): The activity of renin-angiotensin-system in hypertensive and hydroptic disease. 4. Symposium d. Ges. Nephrologie. Springer Verlag, p. 152.
- GESSLER, U., D. ANDERS und M. HÜLLMANN (1965): Experimentelle Untersuchungen zur Entstehung der akuten Anurie beim hämorrhagischen Kollaps. "Klin. Wsch.", **43**: 765.
- GOLDBLATT, H., H. J. LYNCH, R. F. HANZAL et all. (1934): Studies on experimental hypertension. "J. exp. Med.", **59**: 347.
- GOORMAGHTIGH, N. (1940): Le cycle glandulaire de la cellule endocrine de l'arteriola rénale du lapin. "Arch. Biol.", **51**: 293.
- GRANGER, P., H. DAHLHEIM and K. THURAU (1972): Enzyme activities of the single juxtaglomerular apparatus in rat kidney. "Kidney Int.", **1**: 78.
- HARTROFT, P. M., and W. S. HARTROFT (1953): Studies on renal juxtaglomerular cells. I. Variations produced by sodium chloride and desoxycorticosterone acetate. "J. exp. Med.", **97**: 415.
- HARTROFT, P. M., and W. S. HARTROFT (1955): Studies on renal juxtaglomerular cells. II. Correlation of the degree of granulation of juxtaglomerular cells with width of the zona glomerulosa of the adrenal cortex. "J. exp. Med.", **102**: 205.

- HARTROFT, P. M. (1957): Studies on renal juxtaglomerular cells. III. The effects of experimental renal disease and hypertension in the rat. "J. exp. Med.", **105**: 501.
- HARTROFT, P. M., and R. EDELMAN (1961): Localisation of renin in juxtaglomerular cells of rabbit and dog through the use fluorescent antibody technique. "Circul. Res.", **9**: 1069.
- HARTROFT, P. M. (1963): Juxtaglomerular cells. "Circul. Res.", **12**: 525.
- HARTWICH, A. (1930): Der Blutdruck bei experimenteller Urämie und partieller Nierenausaltung. "Z. ges. exp. Med.", **69**: 462.
- HAYDUK, K., R. BOUCHER and J. GENEST (1971): Renin activity in urine, plasma, and renal cortex of dogs dunring changes in sodium balance. "Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.", **136**: 399-402.
- HEYMANS, C. (1954): Some new aspects of reflex blood pressure regulation and hypertension Ciba Found. Symposium on Hypertension. Humoral and neurogenic factors. London, p. 31.
- KOON, D. B. (1960): Orogen of the PAS-positive granulated E-cells of the juxtaglomerular apparatus. "Acta Anat.", **41**: 138.
- KOTCHEN, T. A., K. I. MAULL, R. LUKE, D. REES and W. FLAMENBAUM (1974): Effect of acute and chronic calcium administration on plasma renin. "J. Clin. Invest.", **54**: 1279-1286.
- LOSSE, H., und H. WEHMEYER (1962): Die Bedeutung des Matrium Chlorid in der Pathogenese des Hochdrucks aus: Hypertonis-Symposium: Herausgeber Hauss und Losse Thieme, Stuttgart, p. 112.
- MCCUBBIN, J. H. GREEN and I. H. PAGE (1956): Baroreceptor function in chronic renal hypertension. "Circulation Res.", **4**: 205.
- MCMANUS, J. F. A. (1943): Apparent reversal of the golgi element in the renal tubule. "Nature", **152**: 417.
- NASH, F. D., H. H. ROSTORFER, M. D. BAILIE, R. L. WATHEN and E. G. SCHNEIDER (1968): Renin release. Relation to renal sodium load and dissociation from hemodynamic changes. "Circulation Res.", **22**: 473-487.
- OBERLING, C., et P. Y. HATT (1960a): Ultrastructure de l'appareil juxtaglomérulaire du rat. "C. R. Acad. Sci.", **250**: 929.
- OBERLING, C., et P. Y. HATT (1960b): Étude de l'appareil juxtaglomérulaire du rat au microscope électronique. "An. Anat. Path.", **5**: 441.
- OKKELS, H. (1950): La zone angiotrope du segment III du tube urinaire des mammifères. Observations cytologiques de la région dénommée macula densa de l'appareil urinaire. "Bull. Histol. Physiol. Path.", **27**: 145.
- OPARIL, S., and E. HABEN (1975): The renin-angiotensin system. "New Engl. Journ. of Med.", **291**: 389.
- RODRÍGUEZ, S. (1969a): Actividad fosfatasa-alcalina del aparato yuxtaglomerular del riñón en animales tratados con dieta hiposódica y acetato de desoxicorticosterona. "An. Anat.", **18**: 19.
- RODRÍGUEZ, S. (1970): Sobre las relaciones morfofuncionales entre el aparato yuxtaglomerular del riñón y la corteza suprarrenal. "An. Anat.", **19**: 173.
- RODRÍGUEZ, S. (1971): Aspectos de la mácula densa en la hipergranulación yuxtaglomerular tras isquemia renal. "An. Anat.", **20**: 163.
- SCHWEITLIN, W. A. (1967): Die renal-vaskuläre Hypertonie. "Ergebn. zum Med. Kinderheilk", **26**: 45.
- SHADE, R. E., J. O. DAVIS, J. A. JOHNSON and R. T. WITTY (1972): Effects of renal arterial infusion of sodium and potasium on renin secretion in the dog. "Circulation Res.", **31**: 719-727.
- SKIMMER, S. L., J. W. MCCUBBIN and O. H. PAGE (1963): Angiotensin in Blood and lymph following reduction in renal arterial perfusion pressure in dogs. "Circulation Res.", **13**: 338.

- STANLEY, P. (1975): Renin-Angiotensin system. "New Engl. Journ. of Med.", **202**: 303.
- TOBIAN, L. (1960): Interrelationship of electrolytes on juxtaglomerular cells and hypertension. "Physiol. Rev.", **40**: 280.
- VANDER, A. J. (1970): Direct effects of potassium on renin secretion and renal function. "Am. J. Physiol.", **219**: 455-459.
- VEYRAT, R., H. R. BRUNNER, E. L. MANNING and A. F. MULLER (1967): Inhibition de l'activité de la renine plasmatique par le potassium. "J. Urol. Nephrol.", **73**: 271-275.
- VOLHARD, F. (1931): Die doppelseitigen hämatogenen Nierenerkrankungen. Handb. Inn. Med. von Bergmann und Stechelín. 2. Auflage. Bd. 6. Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg.
- YAMAMOTO, K., T. HASEGAWA and J. UEDA (1968): Renin secretion in the perfused dog kidney. "Japan J. Pharmacol.", **18**: 1-8.
- YAMAMOTO, K., T. HASEGAWA, M. MIYAZAKI and J. UEDA (1969): Control of renin secretion in the anesthetized dog. II. Relationship between renin secretion, plasma sodium concentration and GFR in the perfused Kidney. "Japan Circulation J.", **33**: 593-600.
- ZIMMERMANN, K. W. (1933): Über den Bau des Glomerulus der Säugerniere. "Z. mikr. anat. Forsch.", **32**: 176.

S. RODRÍGUEZ  
Colegio Universitario de Soria  
Soria (España)

## TRANSFORMACIONES ULTRAESTRUCTURALES TIROIDEAS TRAS LA ESTIMULACIÓN HIPOFISARIA CON LUZ ULTRAVIOLETA

POR

F. SÁNCHEZ DEL CAMPO<sup>(1)</sup>

*Al Prof. Escolar, con nuestra admiración*

**S**ON innumerables los trabajos dirigidos hacia el estudio de las interrelaciones del eje hipotálamo y glándula tiroidea, bien actuando sobre la glándula tiroidea y observando la respuesta hipofisaria (SCHRIEBER, 1964; AKKO, 1963; AMAT, 1967), etc., bien actuando sobre hipófisis mediante neurohipofisectomía (ZIZNE, 1963, 1965); o hipofisectomías totales (SAIMODA, 1964), etc., o bien tratando de actuar indirectamente sobre los mecanismos de regulación. Con variaciones térmicas (TALMAGE, 1962), etc., lesiones estereotáxicas (FAURE, 1963), pinealectomía (MILLINI, 1963; BUGNON, 1963; SORIANO, 1971). STRESS, FALCONER (1964) ENZI (1968), AMAT 1968), mediante toxina diftérica y estafilocócica. LUNGU (1969) mediante virus de la influenza, etc.

Nosotros, en el presente trabajo, pretendemos estudiar la respuesta ultraestructural de la glándula tiroidea tras la estimulación directa de la hipófisis mediante la irradiación con luz ultravioleta.

Se han utilizado ratas blancas machos de 300 gr de peso, utilizando como vía de abordaje a la hipófisis la modificación de GARCÉS (1971) a la técnica de SMITH (1930). Expuesta la hipófisis, se procede a la irradiación durante cinco minutos con la luz ultravioleta de una lámpara de cuarzo tipo "Quarzlamper Hanan" S.V. 500 situada a la distancia de un metro y diafragmando el haz para que incida sólo sobre el área hipofisaria expuesta. Procediéndose posteriormente al cierre por planos de la vía de abordaje.

(1) Prof. adjunto. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Valencia.

Después de tres días de supervivencia se procede, previa anestesia y rápida exposición de la glándula tiroides, a su extracción e inmersión en glutaraldehído tampón fosfato y fraccionamiento, fijación en tetraóxido de osmio, deshidratación en acetonas, intercalando un contraste con acetato de uranilo, procediéndose a la inclusión en durcupan. El ultracorte se ha realizado en el Ultramicrotome III de LKB y se ha realizado el contraste con citrato de plomo. La observación y ultramicrofotografías se han efectuado con el aparato Zeiss EM 9 del servicio de microscopía electrónica del Departamento Anatómico de Valencia.



FIG. 1

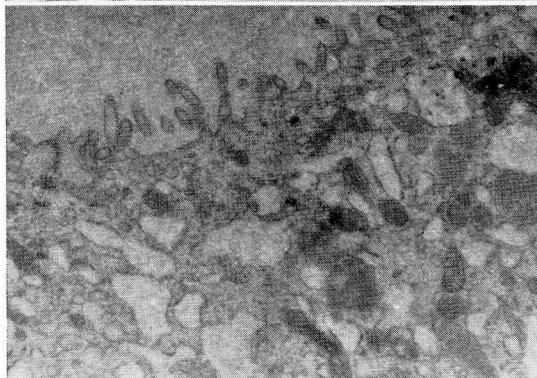


FIG. 2

FIG. 1. — Tiroides experimental. Aspecto típico de un tireocito tras la irradiación hipofisaria: figuras de pinocitosis en el borde apical, numerosas vacuolas, mitocondrias, lisosomas, un enorme cuerpo multivesicular, gran desarrollo del complejo de Golgi, así como del retículo endoplásmico. Electronomicrografía, 600× en negativo.

FIG. 2. — Tiroides experimental. En la unión lateral se distinguen tres desmosomas y la zona ocludens. Numerosas vacuolas, mitocondrias, ribosomas y sacos ergastoplásmicos dilatados. Electronomicrografía, 19.000× en negativo.

### Resultados obtenidos

En bajas ampliaciones y examinando distintos campos de la rejilla observamos que el epitelio folicular se hace cilíndrico en la rata irradiada, con núcleos muy basales y gran riqueza de organelas con respecto a las observadas en nuestras series controles. A mayores ampliaciones, el borde apical, a nivel de la membrana, muestra un aumento de su anfractuosidad con gran número de microvilli con claras imágenes de pinocitosis (figs. 1 y 2). Los bordes laterales a nivel del tercio superior muestran un aumento de las uniones desmosómicas (fig. 2). El borde basal es igualmente más anfractuoso que en los controles con gran número de iden-

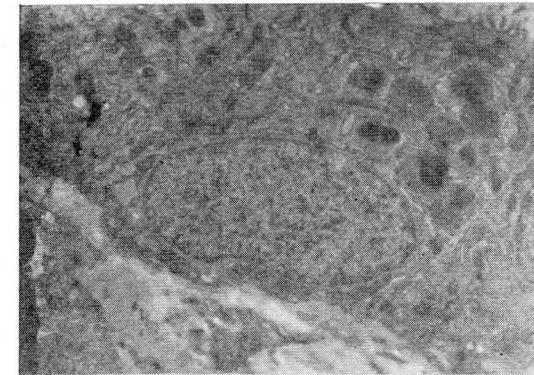


FIG. 3

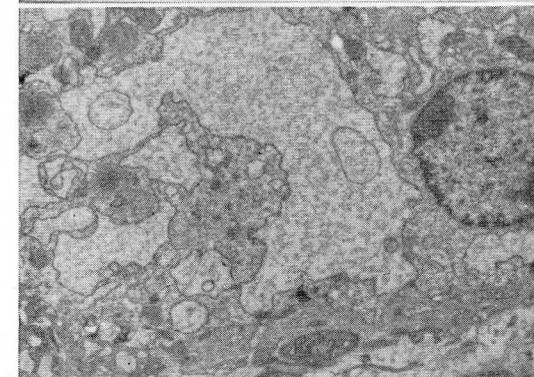


FIG. 4

FIG. 3. — Tiroides experimental. Se observan gran cantidad de mitocondrias y lisosomas. Nótese la basalización del núcleo. Electronomicrografía, 6.000× en negativo.

FIG. 4. — Tiroides experimental. Enorme dilatación del ergastoplasma. En el núcleo se distinguen dos nucleolos. Electronomicrografía, 6.000× en negativo.

ciones; algunas de estas invaginaciones parecen contactar con la membrana nuclear (fig. 3).

El citoplasma, muy rico en organelas, presenta un muy abundante ergastoplasma con formaciones vesiculares extraordinariamente dilatadas con relación a las controles ocupadas por una substancia de análoga densidad al paso de los electrones que el coloide (fig. 4).

Este retículo endoplásmico es del tipo rugoso, con gran cantidad de ribosomas pegados a las paredes de las vesículas ergastoplásmicas (fig. 5) y frecuentemente forman lagunas perinucleares (fig. 4). Por otra parte, los ribosomas parecen más numerosos, estando en ocasiones formando rosetas.

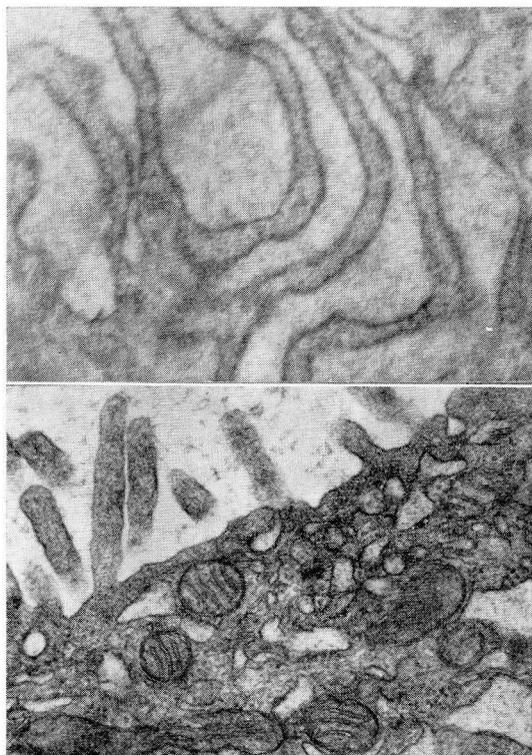


FIG. 5

FIG. 6

FIG. 5. — Tiroides experimental. Detalle del RER formando grandes cisternas dilatadas, con ribosomas pegados a las membranas externas. Electronmicrografía, 30.000× en negativo.

FIG. 6. — Tiroides experimental. Fenómenos de pinocitosis y abundantes mitocondrias, vacuolas y ribosomas libres formando rosetas. Electronmicrografía, 30.000× en negativo.

Mitocondrias: Estas organelas son más numerosas en los animales cuyas hipófisis han sido irradiadas, llamándonos la atención que incluso invaden el polo apical, el cual se suele encontrar libre en los animales controles (fig. 6).

El complejo de Golgi, más desarrollado que en los controles y que suele ser yuxtannuclear en éstos, aparece en situación apical en los animales irradiados (fig. 7).

Las vacuolas presentan distinto tamaño, viéndolas en clara relación con fenómenos de pinocitosis, así como siendo muy frecuente en los animales experimentales verlas en contacto con los lisosomas, en distintos estadios de la formación de fagolisosomas (figs. 1, 7, 8). Estos últimos, los lisosomas primarios, cuerpos densos y residuales.

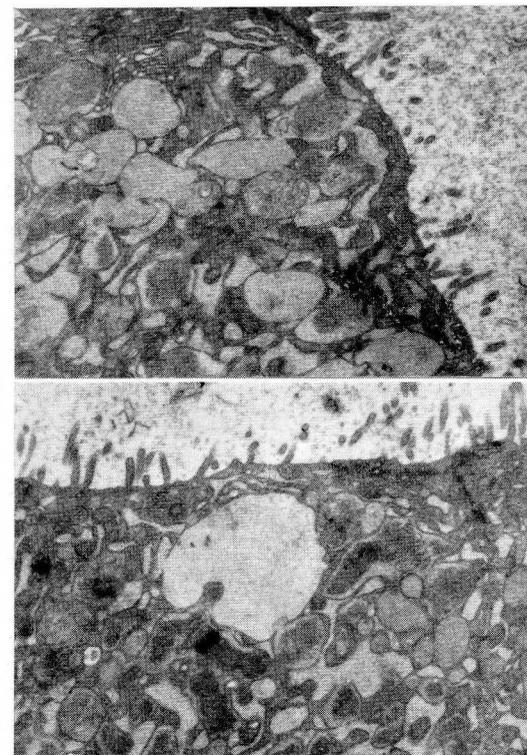


FIG. 7

FIG. 8

FIG. 7. — Tiroides experimental. Complejo de Golgi muy visible y bien desarrollado en el polo apical, numerosos lisosomas y vacuolas formando "fagolisosomas". Electronmicrografía, 19.000× en negativo.

FIG. 8. — Tiroides experimental. Numerosas vacuolas, mitocondrias y lisosomas formando "fagolisosomas". Electronmicrografía, 19.000× en negativo.



El núcleo de situación, constantemente basal, aparece aumentado de tamaño, presentando la cromatina más densa, así como sus nucleolos (fig. 4).

La observación de las células parafoliculares en nuestras series experimentales no muestran transformaciones ultraestructurales en relación con las series controles.

### *Consideraciones y discusión*

Creemos que la estimulación de la hipófisis por medio de radiaciones ultravioleta supone un método de excitación de esta glándula por el cual introducimos las mínimas variaciones en el medio interno del animal, al tiempo que, por la escasa penetrabilidad de las radiaciones utilizadas, no influimos sobre hipotálamo, cortex y, por supuesto, sobre la glándula tiroidea.

Podríamos pensar en la interferencia del stress quirúrgico, por lo que realizamos simulacros de intervención (sin exposición a la luz ultravioleta), con resultados totalmente superponibles a los controles. Por otra parte, los autores que han investigado la respuesta tiroidea al stress (MULVEY, 1969; DICKSTEIN, 1970; AMAT, 1968; LUNG, 1969) no han encontrado variaciones ante el stress agudo y ante el mantenido llegan a la obtención de imágenes de tipo regresivo (LANGER, 1969; SARRAT, 1966).

En cuanto a los resultados obtenidos en nuestras series, las transformaciones de la membrana a nivel apical, aumento de los villi, aumento de los fenómenos de pinocitosis o endocitosis, son interpretados como la expresión morfológica de un aumento de la actividad de la membrana apical (BAUER, 1965; WETZEL, 1965; DEISS, 1968; BURKE, 1971; STRUM, 1971). El aumento de las uniones desmosómicas en el tercio apical de los bordes laterales entre los tirocitos, que encontramos en los animales irradiados, son asimismo interpretadas como signo de actividad (STRUM, 1971). El aumento de las anfractuosidades del borde basal de la membrana con invaginaciones profundas que se aproximan al núcleo, y la presencia de gran número de dilatadas vacuolas (vacuolas de Bensley), las cuales llegan a desplazar al núcleo hacia arriba (NADLER, 1964; PONSE, 1931; BENSLEY, 1912), son expresión de la excreción de las tiroxinas, desde el polo basal a los vasos hemáticos.

El enorme tamaño de las vesículas ergastoplasmáticas con el aumento de los ribosomas, supondría la elaboración y almacenamiento de tironinas iodadas (STRUM, 1971; GARCÍA BUÑUEL, 1972); igualmente, el aumento de las mitocondrias, situándose en el polo apical, son encontradas por los distintos autores (WISSING, 1960;

STRUM, 1971; BUÑÓN, 1972) en tiroides hiperfuncionantes, y son expresión de un aumento de los procesos exudativos-energéticos. En cuanto al complejo de Golgi, se observa que en reposo está contraído en el tirocito, aumentando en estadios de actividad (WACHGSAL, 1931), situándose durante la hiperfunción experimental hacia el polo apical, actuando tanto en la excreción como en la secreción del coloide (MINCHEAU, 1969; GARCÍA BUÑUEL, 1972). Cuando se producen estos procesos de excreción hay paralelamente aumento del número de lisosomas y de imágenes del tipo de cuerpos residuales y densos como los observados en nuestras series experimentales (STRUM, 1971; BUÑÓN, 1972; GARCÍA BUÑUEL, 1972). Igualmente, las transformaciones nucleares con mayor densidad de la cromatina y de los nucleolos son interpretadas como aumento de la actividad celular del tirocito (STRUM, 1971).

Resumiendo, pues, a los tres días de la irradiación hipofisaria con luz ultravioleta, se producen transformaciones ultraestructurales de la glándula tiroidea, expresivas de un aumento en su actividad funcional.

### *Resumen*

Después de 3 días de irradiación hipofisaria del ratón blanco con luz ultravioleta se observan signos ultraestructurales de hiperactividad tiroidea.

### *Summary*

After three days of irradiating the white rat hypophysis with ultraviolet light, it can be observed ultrastructures signs of tiroideal hyperactivity.

### *Zusammenfassung*

3 Tage nach Bestrahlung der Hypophyse der weissen Ratte mit ultraviolettem Licht, wurden ultrastrukturelle Anzeichen von tiroider Hyperaktivität.

### *Résumé*

Après trois jours de la irradiation hypophysaire de la souris blanche avec lumière ultraviolette on observe signes ultrastructuraux de hyperactivite tiroidea.

### BIBLIOGRAFÍA

- AMAT, P. (1967): Evolución del residuo tiroideo en cobayas parcialmente tiroidectomizadas. "An. Anat.", **16**: 189-206.
- AMAT, P. (1968): Tiroides y stress: lesiones y transformaciones de la glándula tiroidea tras intoxicaciones diftérica y estafilocócica. "An. Anat.", **17**: 233-249.

- ARCO, H. (1963): Hypothalamo-neurohypophysial neurosecretion after the extirpation of various endocrine glands. "Acta Endocr.", **42**: 293-299.
- BAUER, W. C. (1965): Origin and fate of colloid droplets of the thyroid gland: study using iodine 125 electron microscopy autoradiography. "Lab. Invest.", **14**: 1795-1808.
- BENSLEY, R. R. (1912): "Proced. Am. Ass. Anat." (citado por SÁNCHEZ CALVO en "Histofisiología endocrina", 1940).
- BULLÓN, A. (1972): Microscopía electrónica del bocio. "Actas de la Soc. de Endocr.", Madrid, supl. IV, núm. 1.
- BURKE, G. (1971): Thyroid stimulators and thyroid stimulation. "Acta Endocr.", **66**: 558-576.
- DEISS, W. P., Jr. (1968): The mechanism of thyroid hormone secretion. "Ann. Intern. Med.", **69**: 881-890.
- DIKSTEIN, S. (1970): The effect of stress on body development in rats. "Life Sci.", **9**: 1191-2200.
- ENZI, G. (1968): Modificazioni indotte dall'inibizione ipofisaria con ultrasuone sulle alterazioni metaboliche dell'acromegalia. "Acta Med. Patav.", **28**: 25-50.
- FALCONER, I. R. (1964): Effect of emotional stress and TSH levels on thyroid in sheep with exteriorized thyroids. "Endocrinology", **75**: 42-48.
- FAURE, J. (1963): A propos des lesions stereotaxiques de l'Hypothalamus anterieur et de leur incidence sur le metabolisme thyroïdien. "C. R. Soc. Biol.", **6**: 235-238.
- GARCÉS, V. (1973): Aportaciones al conocimiento de las transformaciones del substrato endocrino suprarenal tras radiaciones ultravioleta hipofisarias. "An. Anat.", **22**: 247-266.
- GARCÍA-BUÑUEL, R. (1972): The development of lysosomes in the human fetal thyroid in correlation with the onset of functional maturity. "Endocrinology", **91**: 438-449.
- LANGER, P. (1969): Thyroid function and its fluctuations during and after short term stress and dexamethasone administration in rats. "Neuroendocrinology", **4**: 112-121.
- LUNGU, M. (1969): Modificari histologice de glandei tiroide la sobolani albi inoculati en virus gripal. "Std. Cert. Endocr.", **20**: 43-45.
- MARTÍNEZ-SORIANO, F. (1972): Aportaciones al conocimiento del substrato morfológico del tiroides tras la pinealectomía en la rata blanca. "An. Anat.", **21**: 527-557.
- MICHEAU, Ch. (1969): La thyroïde. I. l'Expansion de Paris.
- MULVEY, P. F., Jr. (1969): Thyroidal dysfunction during simulated altitude conditions. "Fed. Proc.", **28**: 1243-1246.
- NADLER, M. J. (1964): Elaboration of TG in the thyroid follicle. "Endocr.", **74**: 333-339.
- PONSE, K. (1951): L'histophysiologie thyroïdienne. "Ann. Endocr.", **12**: 266-316.
- SARRAT, R. (1966): Variaciones del substrato anatómico tiroideo bajo el influjo del hambre y la sed. "An. Anat.", **15**: 23-28.
- SCHREIBER, W. (1964): L'hipertrophie de l'hypophyse du rat après surrenalectomie, castration, thyroïdectomie et leurs combinaisons. "C. R. Acad. Sci.", **258**: 4151-4153.
- SHIMODA, S. (1964): Effect of graded of PTU on thyroidal hormone synthesis in the hypophysectomized and in the thyroxine-treated rat. "Acta Endocr.", **46**: 653-664.
- SMITH, P. E. (1930): Hypophysectomy and replacement therapy in the rat. "Amer. J. Anat.", **45**: 205.
- STRUM, J. M. (1971): Aminotriazole Goiter: fine structure and localisation of thyroid peroxidase activity. "Lab. Invest.", **24**: 1-12.
- TALMAGE, R. N. (1962): The effect of temperature on the uptake of radiiodine by the thyroid gland of the frog, *Rana pipiens*. "Gen. Comp. Endocr.",
- WACHGSAAL (1931): "C. R. Soc. Biol.", **10**: 1015 (citado por SÁNCHEZ CALVO).

- WETZEL, B. K. (1965): "J. Cell. Biol.", **25**: 593 (citado por BURKE).
- WISSING, S. L. (1960): The anatomy of secretion in the follicular cells of the thyroid gland I. the fine structure of the gland in the normal rat. "J. Biophys. Biochem. Citol.", **7**: 419-426.
- ZIZINE, L. (1963): Relations ships between the neurohypophysis and the thyroid. "C. R. Acad. Sci.", **256**: 1846-1849.
- ZIZINE, L. (1965): Étude du contenu de l'antehypophyse en TSH après ablation de la posthypophyse. "C. R. Acad. Sci.", **261**: 1572-1574.

F. SÁNCHEZ DEL CAMPO  
Departamento de Anatomía  
Facultad de Medicina  
Valencia (España)

## ESTUDIO DE LAS MODIFICACIONES ESTRUCTURALES DEL PULMÓN EN ANIMALES CON VAGOTOMÍA CER- VICAL BILATERAL

POR

V. SMITH AGREDA<sup>(1)</sup>

### *Introducción*

LA existencia de una resistencia elástica pulmonar independiente de la producida por las mismas fibras elásticas pulmonares y debida a la presencia de una sustancia o material tensioactivo que tapiza las paredes alveolares, se sospecha desde los trabajos de VON NEERGAARD (1929).

Pero sólo después del empleo del microscopio electrónico se pudo identificarla, constituyendo el sistema surfactante (KIKKAWA y SPITZER, 1969).

Sin embargo, BROOCKS (1969) opina que quizá esta película que tapiza los alveolos y que se ve a microscopía electrónica pueda ser un artefacto producido a consecuencia de la entrada de líquido en el interior del alveolo. Con el fin de evitar esta posibilidad, DERMER (1968), utilizando las modernas técnicas de fijación de los fosfolípidos a base de nitrato de plomo y ferrocianuro potásico para fijar los pulmones, obtuvo la plena confirmación de la estructura fosfolipídica de la película surfactante que tapiza completamente los alveolos pulmonares.

En nuestro grupo pensamos que esto es así, y con las técnicas habituales para la fijación de microscopía electrónica que utilizamos en nuestro departamento, se ve la capa de material tensioactivo de manera prácticamente continua y como constituyente de la estructura alveolar funcionante.

Demostrada la importancia del sistema surfactante pulmonar después de los trabajos de RADFORD (1954), PATTLE (1955), CLEMENTS

(1) Catedrático de Anatomía. Departamento Anatómico. Facultad de Medicina. Valencia.

(1956), AVERY (1959), MEAD (1961) y los últimos estudios de SCARPELLI (1968, 1971), creemos que (dado que el aparato respiratorio es una dependencia embriológica del tubo digestivo), debe existir una auténtica relación con respecto a la inervación entre el tubo digestivo proximal y el aparato respiratorio, como viene corroborado por la presencia del reflejo de Hering-Breuer, debiéndose demostrar igualmente una dependencia entre el funcionalismo del sistema surfactante pulmonar respecto del dispositivo parasimpático cefálico o vago, idea que encontramos también en los trabajos de BUCKINGHAM (1960), CLEMENTS (1971), ROQUES (1971).

Además, desde los trabajos de LEGLOIS (1812), TRUBE (1847) y HERMANN y CIER (1967) conocemos el papel que desempeñan los nervios neumogástricos en el control de la respiración y su modificación después de la sección de los mismos en la región cervical, apareciendo un tipo de respiración denominada "respiración del doble vagotomizado" y debida a la interrupción del reflejo de Hering-Breuer.

Con el fin de completar el estudio, intentamos probar si esta repercusión es cierta, estudiando las variaciones ultraestructurales a microscopía de transmisión y scanning y a microscopía óptica del substrato morfológico pulmonar tras la vagotomía cervical bilateral.

### *Material y métodos*

Se utilizó para este estudio como animal de experimentación el cobaya adulto con un peso de 400-500 gramos. Previa anestesia intraperitoneal con nembutal a la dosis de 25 mgr/kg, se procedió a la sección quirúrgica de ambos vagos a nivel cervical.

Se utilizaron un total de 50 animales, de los que 20 se estudiaron a microscopía óptica, 20 a microscopía electrónica de transmisión y 10 a microscopía de Scanning.

Los tiempos de supervivencia fueron de 2, 4, 6, 8 y 12 horas, con un máximo de 14 horas.

Las piezas para microscopía óptica, previa fijación con el fijador adecuado e inclusión en parafina, fueron estudiados por los métodos PAS-galocianina, Gomori, policromo de Cabanes, hematoxilina eosina y azul alcian orange G.

Las piezas para microscopía electrónica de transmisión, fijadas en glutaraldehído tamponado por sucrosa a pH 7.4, incluidas en durcopan, contrastadas con el método de Reynolds, se ultragrafiaron en un ultramicroscopio Zeiss mod. EM-9D. Las piezas para microscopía de scanning, fijadas de la misma manera que para mi-

croscopía electrónica, se prepararon por la técnica del "critical point" y se sombrearon de la manera habitual, utilizando para su estudio el modelo JEOL.

### *Resultados obtenidos*

Todos los animales presentaban al recuperarse de la intervención la clásica respiración del doble vagotomizado, con disminución de la frecuencia respiratoria, aumento de la amplitud y espiración brusca y activa con largas pausas de apnea entre final y comienzo de dos respiraciones consecutivas.

El estudio morfológico a microscopía óptica de estos pulmones nos permitió apreciar la existencia de un edema intraalveolar manifiesto a las dos horas de la intervención y que a las seis horas invade prácticamente todo el campo pulmonar. En el interior de los alveolos se aprecian gran cantidad de células descamadas, redondeadas. En los campos pulmonares periféricos se aprecian preferentemente zonas enfisematosas y en el interior de los alveolos se observa el edema indicado PAS positivo. Hay una hiperemia muy marcada en las zonas edematosas.

Hacia las seis horas de supervivencia, el edema se transforma en zonas de condensación que adquieren el aspecto de una película PAS positiva, más o menos hialina, que tapiza los alveolos. A las diez a doce horas se encuentran grandes zonas en las que todo el edema ha sufrido esta transformación, apareciendo los alveolos recubiertos de esta película acelular y con importantes restos acidófilos que interpretamos como restos celulares.

Entre las zonas edematosas se encuentran otras atelectásicas con los alveolos colapsados, encontrándose sus paredes prácticamente en contacto unas con otras.

A microscopía electrónica se aprecian tres zonas bien definidas: unas con apariencia prácticamente normal, otras con extraordinaria hiperemia y otras con enormes dilataciones que llegan a la rotura de los septos alveolares.

Los neumocitos tipo I (figs. 1 y 2) van a adquirir un aspecto extraordinariamente laminado, con pocas organelas en su interior, mientras que en otras zonas se les observa como edematizados. Los acúmulos de formaciones pinocitósicas que presentaban estas células se hallan en fase de regresión, observándose sólo en tal cual zona funcionante, zonas que presentan un mayor desarrollo de la basal que las no funcionantes.

Estas preparaciones se caracterizan porque la luz alveolar se encuentra ocupada por un conglomerado homogéneo equivalente

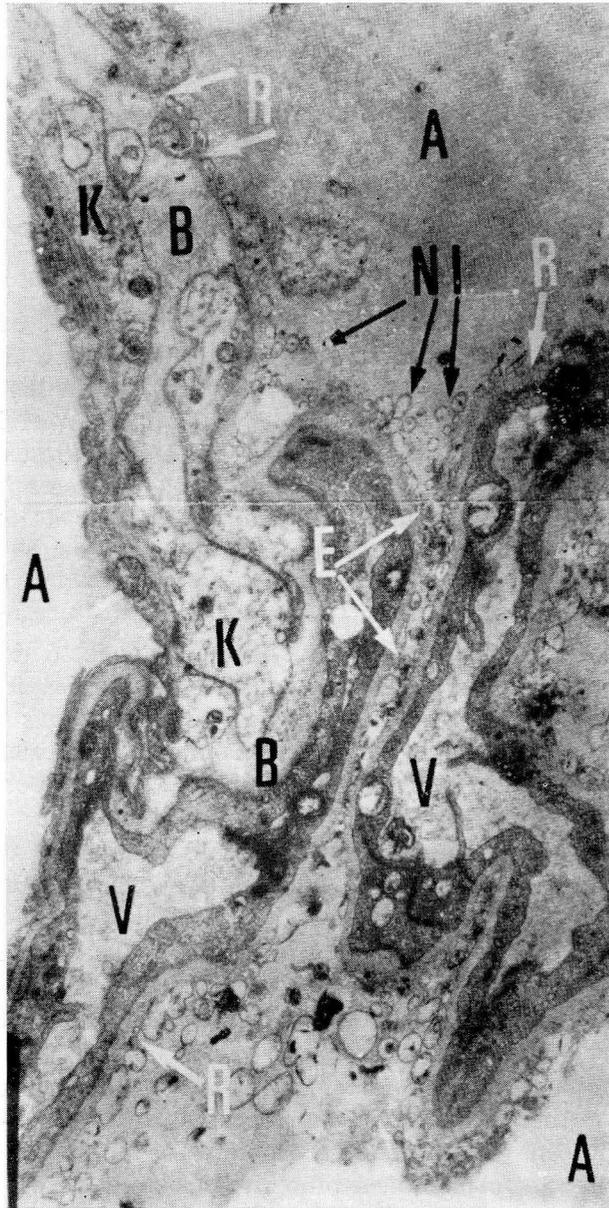


FIG. 1. — Visión de un septo alveolar en la que podemos apreciar: A) Luz alveolar con exudado de aspecto pulverulento. NI) Neumocito tipo I. R) Roturas del neumocito tipo I. E) Atelectasias. V) Vasos. B) Membrana basal. K) Célula clara. Electronmicrofotografía a 19.000× en el negativo.

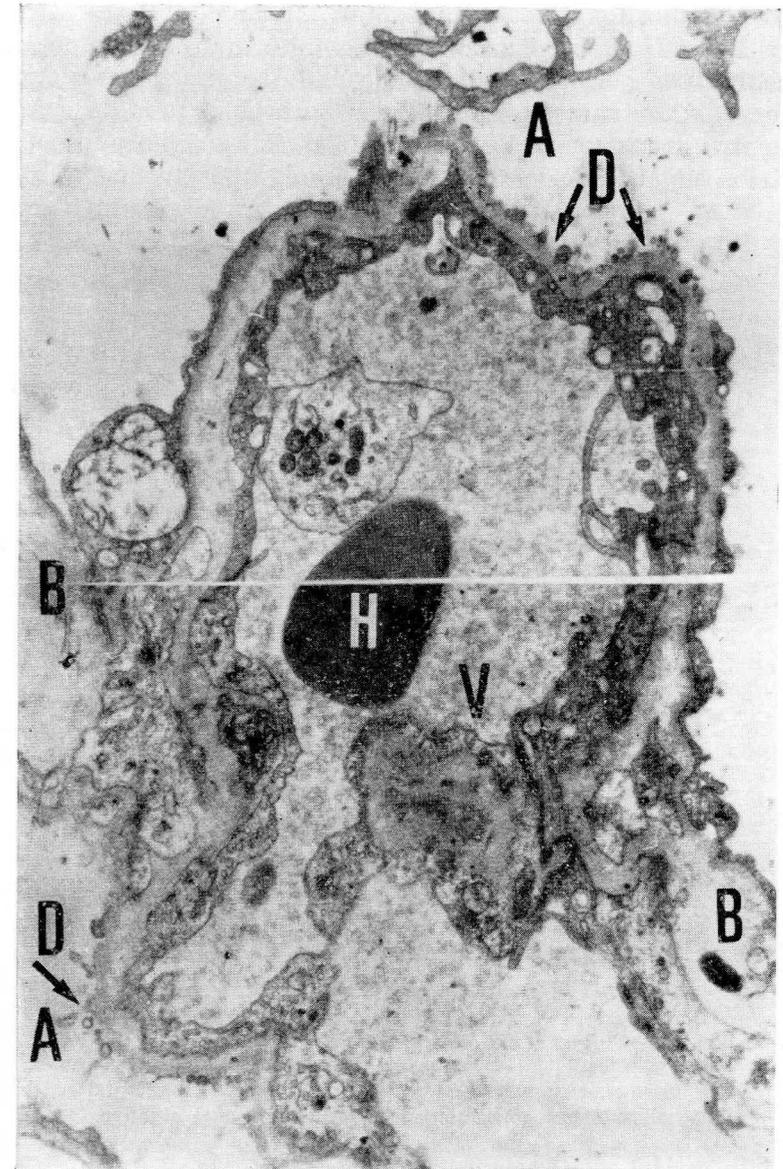


FIG. 2. — Detalle de otro septo alveolar. A) Luces alveolares anfractuosas. D) Neumocitos tipo I destrozados. B) Membrana basal. V) Vaso. H) Hematíe. Electronmicrofotografía a 19.000× en el negativo.

al exudado observado a microscopía óptica y restos de organelas de neumocitos tipo I en fase de destrucción.

Los neumocitos tipo II presentan en su citoplasma distintos grados de desorganización, aunque las mitocondrias aún presentan una estructura normal. Es de destacar la disminución paulatina de los cuerpos laminares, que a las dos horas han perdido sus franjeamientos, transformándose en vacuolas claras y no pudiendo objetivarlos a partir de las cuatro horas de supervivencia.

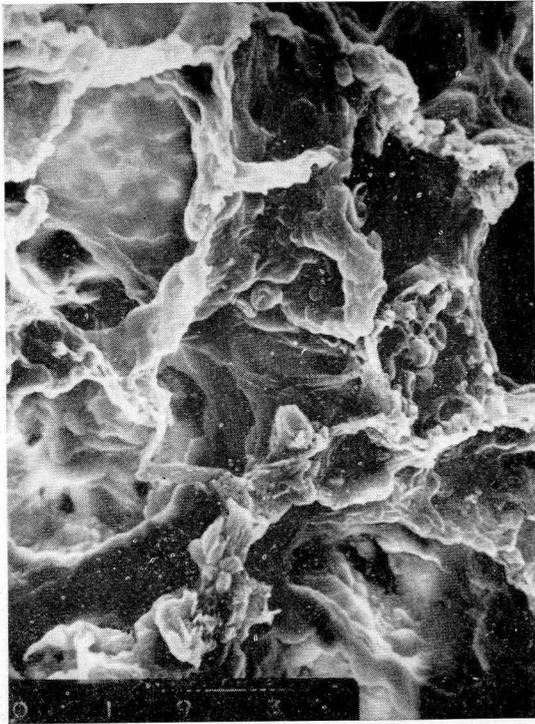


FIG. 3. — Electronmicrofotografía a scanning de pulmón de animal vagotomizado bilateral, 2 horas postvagotomía. Se aprecian la irregularidad de los septos, la ingurgitación de los capilares que hacen relieve en los septos (S). P) Poros. H) Hematíes extravasados. Electronmicrofotografía a 3.000× en el negativo.

Se aprecian igualmente en algunas células características que las hacen similares a las células claras descritas por nosotros en el recién nacido y que no se encuentran en el adulto normal. Estas células aparecen en algunas zonas.

Los aparatos de Golgi, así como los ergastoplasmas, con sus cisternas más o menos irregulares, conservan su estructura nor-

mal hasta los momentos terminales, apreciándose también en estos últimos estadios las mitocondrias vacuolizadas y con sus crestas rotas en el interior de los neumocitos tipo I.

En el estudio a microscopía de Scanning podemos apreciar cómo a la hora (fig. 3) en la panorámica aparecen los septos anfractuosos, más que en la normal, observándose irregularidades en sus contornos, así como, a mayor aumento, la presencia de una mayor cantidad de células extravasadas a los alveolos, ingurgitando los capilares de los septos alveolares.

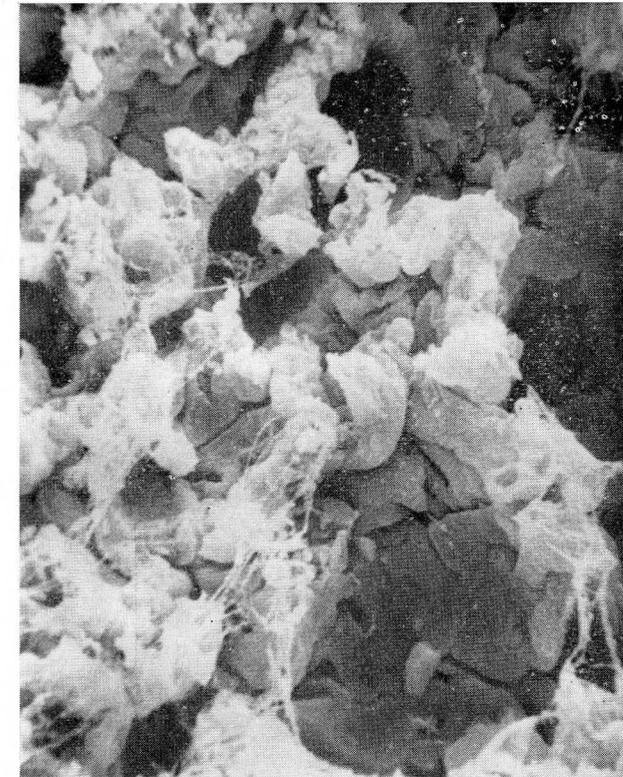


FIG. 4. — Visión a scanning de un pulmón a las 6 horas postvagotomía bilateral. Obsérvese las rendijas de la atelectasia, así como las trabéculas fibrosas del trasudado. Electronmicrofotografía a 1.000× en el negativo.

A las cinco horas, la ingurgitación se ha hecho mayor y comienzan a aparecer unos puentes filiformes de conexión entre los accidentes septales correspondientes al trasudado septal, observándose zonas de atelectasia (fig. 4).

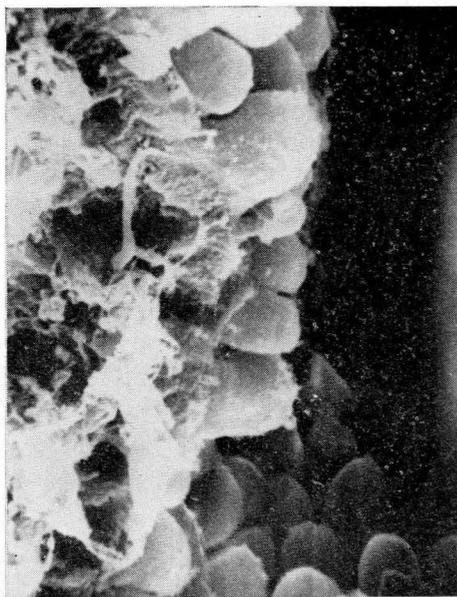


FIG. 5. — Visión a scanning de pulmón a las 12 horas postvagotomía bilateral. Obsérvese la edematización y prociencia de las células de los septos. Obsérvese ya a estos aumentos las trabéculas y las membranas del trasudado. Electronmicrofotografía a  $1.000\times$  en el negativo.

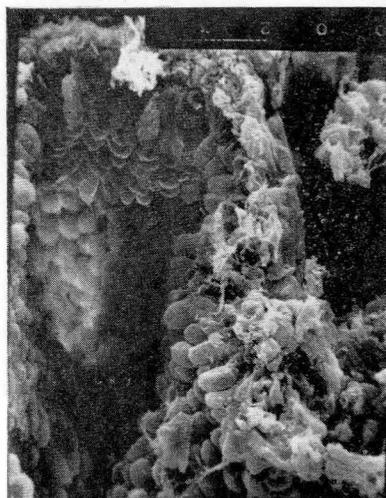


FIG. 6. — Detalle de la anterior. Electronmicrofotografía a  $3.000\times$  en el negativo.

El estudio a las diez horas (fig. 5) arroja una agudización de los caracteres indicados anteriormente, con una gran ingurgitación de las paredes septales, viéndose perfectamente los filamentos de trasudado, algunos mucho más gruesos y formando una verdadera maraña (fig. 6).

### Discusión

Las atelectasias y zonas enfisematosas que aparecen en estos animales creemos que están relacionadas con la disminución del material tensioactivo que se produce en ellos, como demuestran también los trabajos de SEKABUNDA (1969), FINDLEY (1960), CHERNICK (1966), GREENFIELD (1967), SUTNICK (1967) y WOOLFE (1968).

Las alteraciones de la basal y del neumocito tipo I en las zonas atelectásicas nos inclinan a pensar, de acuerdo con NIDDE (1967) y FERRES TORRES y col. (1975), que ambas formaciones se hallan relacionadas con el proceso de formación de la sustancia surfactante pulmonar, mientras que los cuerpos laminares de los neumocitos tipo II, que también se alteran en los animales doblemente vagotomizados, llegando a desaparecer, estarían en relación con la reabsorción de los restos caducos de esta surfactante por un mecanismo análogo al demostrado por NIDDE (1967), al introducir partículas de carbón radioactivo mediante aerosoles en el pulmón y detectarlas en el interior de los cuerpos laminares de los neumocitos tipo II, que no intervendrían en su síntesis como creen MACKLING (1954), SCARPELLI (1968) y HARLAND y SAID (1969).

Como hemos indicado antes, en estos animales doblemente vagotomizados, se observa cómo los cuerpos laminares, al aumentar la supervivencia, pierden su fina estructuración que presentan en los animales normales, produciéndose una condensación y retracción de estos cuerpos laminares, por lo que pensamos que los procesos de reabsorción debidos a la actividad de estos neumocitos tipo II van a estar íntimamente relacionados con la integridad del sistema nervioso parasimpático cefálico o vago.

Por otro lado, la existencia en bastantes zonas, de roturas y quebraduras en este neumocito tipo I, llegándose a poner en contacto la basal con la cavidad alveolar, nos lleva a pensar que existe una íntima relación entre los procesos de síntesis de la sustancia surfactante y el complejo basal engrosado y neumocito tipo I. Por lo que el exudado alveolar que se forma entonces, será un paso de material plasmático desde el capilar a la membrana basal y de aquí al interior del alveolo. Paso que no se hubiese producido caso de que el neumocito tipo I hubiese conservado su integridad estructural, con lo que hubiese impedido el paso de este material destinado a la síntesis del material surfactante.

El hecho de que la supervivencia de estos animales no sobrepase las 14 horas, en relación con la vida media del surfactante pulmonar, que también es de 14 horas, nos parece indicar que existe una clara relación entre la muerte de estos animales y la caída en la producción del material surfactante.

### Resumen

Se ha realizado un estudio experimental en el cobaya y rata adultas, deteniéndolos en la observación de las alteraciones estructurales del substrato pulmonar tras la sección vagal bilateral, a microscopía electrónica y de scanning.

Se han apreciado alteraciones estructurales que afectan a todos los componentes del pulmón, tanto en el neumocito tipo I como en el neumocito tipo II, membrana basal, etc.

Con respecto al neumocito tipo I, se aprecian alteraciones estructurales que afectan a la integridad del mismo, observándose zonas de resquebrajamiento, llegándose a poner en contacto la basal con la cavidad alveolar.

En el neumocito tipo II llama la atención la pérdida al principio de los clásicos frangeamientos de los cuerpos laminares, llegando éstos a desaparecer por completo a las 6 horas postvagotomía.

En el interior de la cavidad alveolar se observa la presencia de un exudado PAS positivo que experimenta un proceso de condensación conforme aumenta la supervivencia del animal, supervivencia que en ninguno de nuestros casos sobrepasa las 14 horas.

### Summary

An experimental survey has been performed on adult guinea pigs and rats, paying attention to note the structural modifications of the pulmonary substratum after bilateral vagal section, through electronic and scanning microscopy.

Some structural modifications have been noted, affecting all components of the lung, either in type I Neumocite or in type II Neumocite, basal membrane, etc.

With regards to type I Neumocite, we found structural modifications affecting to its integrity, observing shattering areas, the basal membrane coming in contact with the alveolar cavity.

In type II Neumocite it should be emphasized the loss, at the beginning of the typical formation of bands in the laminae bodies, these even fully disappearing upon 6 hours through vagotomy.

Inside the alveolar cavity it may be noted the presence of a PAS positive exudate that experiences a condensation process as the survival of the animal increases, survival that in no one of our cases exceeds 14 hours.

### Zusammenfassung

Es wurde ein experimentelles Studium an einem Neerschweinchen und einer erwachsenen Ratte durchgeführt.

Unter grosser Sorgfalt wurden die strukturellen Alterationen des Lungensubstrates nach der doppelseitigen Vagussektion mit elektronischem Mikroskop und Scanning beobachtet.

Dabei wurden strukturelle Alterationen festgestellt, die alle Lungenkomponenten, ebenso den Pneumozyt I wie den Pneumozyt II, die Basalmembrane usw., ergreifen.

Vas den Pneumozyt I betrifft, so wurden strukturelle Alterationen, die die Integrität desselben angreifen, beobachtet und aufreissende Zonen festgestellt, die bis zum Kontakt der Basale mit dem Alveolar-Hohlraum reichen.

Beim Pneumozyt II zieht zu Beginn ein Verlust der klassischen Laminarkörperstreifen die Aufmerksamkeit an, der bis zu deren völligem Verschwinden, 6 Stunden nach vollzogener Vagotomie reicht.

Im Inneren der Alveolar-Höhle wurde die Ausschüttung PAS positiv beobachtet, welche einen Kondensationsprozess erfährt. Diese steigt übereinstimmend mit dem Überleben des Tieres, ein Überleben, das in keinem unserer Fälle 14 Stunden überstieg.

### Résumé

On a réalisé une étude expérimentale sur le cobaye et sur le rat adultes, retenant dans l'observation les altérations structurales du substratum pulmonaire après section vagale bilatérale en microscopie électronique et de scanning.

On a apprécié les altérations structurales affectant à tous les composants du poumon, tant le pneumocyte type I que le pneumocyte type II, la membrane basale, etc.

En ce qui concerne le pneumocyte type I, on apprécie des altérations structurales qui affectent l'intégrité de celui-ci, observant des zones de déchirement, qui arrivent à mettre en contact la basale avec la cavité alvéolaire.

Chez le pneumocyte de type II, ce qui frappe l'attention, c'est la perte, au début, des classiques frangements des corps laminares, qui arrivent à disparaître complètement six heures après la vagotomie.

A l'intérieur de la cavité alvéolaire, on observe la présence d'un exsudat PAS positif qui subit un processus de condensation et conformément augmente la survie de l'animal, survie qui ne dépasse pas les 14 heures, dans aucun de nos cas.

### BIBLIOGRAFÍA

- AVERY, M. E., y J. MEAD (1959): Surface properties in relation to atelectasis and hyaline membrane disease. "Amer. J. Dis. Child.", **97**: 517.
- BROOKS, R. E. (1969): Ruthenium red stainable surface layer of the lung alveolar cells; electron microscopic interpretation. "Stain. Tech.", **44**: 173-177.
- BUCKINGHAM, S., y S. C. SOMMERS (1960): Pulmonary hyaline membranes induced pharmacologically. "Amer. J. Child.", **99**: 216.
- CLEMENTS, J. A. (1956): Dependence of pressure-volume characteristics of lung on intrinsic surface active material. "Am. J. Physiol.", **187**: 592.
- CLEMENTS, J. A. (1961): Pulmonary edema and permeability of alveolar membranes. "Arc. Environ. Health.", **2**: 280-283.
- CHEERNICK, V., W. A. HODSON and L. J. GREENFIELD (1966): Effect of chronic pulmonary artery ligation on pulmonary mechanics and surfactant. "J. Appl. Physiol.", **21**: 1314.
- DERMER, G. B. (1968): The fixation of pulmonary surfactant for electron microscopy. "J. Ultrastruc. Res.", **27**: 88-104.
- FINLEY, T. N., y Col. (1960): Changes in mechanical properties, appearance and surface activity of extracts of one lung following occlusion of pulmonary artery in the dog. "Physiologist.", **3**: 56.

- FERRES TORRES, E., y Col. (1975a): Paso del pulmón fetal al pulmón que respira aire, especialmente en relación al surfactante. "Med. Españ.", **74**: 97-102.
- GREENFIELD, L. J. (1967): Alterations in pulmonary surfactant following compression atelectasis, pulmonary artery ligation and reimplantation of the lung. "Ann. Surg.", **166**: 109.
- HERMANN, H., y J. F. CIER (1967): Tratado de Fisiología. Ed. Toray-Mason, 1.<sup>a</sup> ed., 1, 1, 442.
- HARLAND, W. R., and S. I. SAID (1969): Selected aspects of lung metabolism. In: The biological basis of Medicine. Vol. 6. EE Bitter eds. Academic Press. New-York, pp. 357-384.
- KIKKAWA, Y., and R. SPITZER (1969): Inclusion bodies of type II alveolar cells: species differences and morphogenesis. "Anat. Rec.", **163**: 525-542.
- MEAD, J. (1961): Mechanical properties of lungs. "Physiol. Rev.", **41**: 281-330.
- MACKLING, C. C. (1954): The pulmonary alveolar mucoid and the pneumocytes. "Lancet", **226**: 1099-1104.
- NIDDEN, A. H. (1967): Bronchiolar and large alveolar cells in pulmonary phospholipid metabolism. "Science", **158**: 1323.
- PATTLE, R. E. (1955): Properties, function and origin of the alveolar lining layer. "Nature", **175**: 1125-1126.
- RADFORD, A. P., Jr. (1964): Method for estimating respiratory surface area of mammalian lung from their physical characteristics. "Proc. Soc. Exp. Biol. Med.", **87**: 58-61.
- ROQUES, V., y M. P. ESCOLAR (1971): Pulmón de rata y diestress experimental por vaguectomía. "An. Anat.", **20**: 169.
- SCARPELLI, E. M. (1968): The surfactant system of the lung. Ed. Lea and Febiger. Philadelphia. Penn.
- SCARPELLI, E. M., E. M. COLACCIO and S. J. CHANG (1971): Significance of methods for isolation and characterization of pulmonary surfactant. "Respir. Physiol.", **10**: 179-198.
- SEKABUNGA, J. C., y Col. (1969): Measurement of pulmonary surfactant by Nuoy tensiometer in various physiopatological conditions. "J. Surg. Research.", **9**: 505.
- SUTNICK, A. I., and L. A. SOLOFF (1967): Pulmonary artery occlusion and surfactant production in humans. "Ann. Inst. Med.", **67**: 549.
- VON NEERGAARD, K. (1929): Neue Auffassungen über einen Grundbegriff der Atemmechanik. "Z. ges. Exp. Med.", **66**: 373-384.
- VON NEERGAARD, K. (1929): Neue Auffassungen über einen Grundbegriff der Atemmechanik die Retraktionkrank der Lunge, abhagie von der Oberflächenspannung in Alveolen. "Gesante esp. Med.", **66**: 373.
- WOLFE, W. C., and D. C. SABISTON (1968): The effect of pulmonary embolism on pulmonary surfactant. "Surgery", **62**: 312.

V. SMITH AGREDA  
Departamento Anatómico  
Facultad de Medicina  
Valencia (España)

## VÍAS CORTICOESPINALES VEGETATIVAS

POR

J. ULLÁN<sup>(1)</sup>

### Introducción

LA participación de la corteza cerebral en la regulación vegetativa comenzó a afirmarse hace aproximadamente un siglo (JACKSON, 1873, y FERRIER, 1875). Desde esa fecha, diversos autores (PENFIELD y JASPER, 1954, y KELTS y col., 1973) han conseguido respuestas vegetativas mediante el estímulo de la corteza. Sin embargo, la demostración neuroanatómica de una vía directa responsable de tales respuestas no se ha conseguido hasta ahora de forma convincente. En parte, porque no se le ha prestado gran atención, y en parte, también, porque los métodos que se han empleado no han sido los adecuados. Tal ha sucedido, por ejemplo, con el método de MARCHI (METTLER, 1935), que sólo impregna la mielina, o el de NAUTA, que sólo impregna las fibras y no los botones sinápticos (WALBERG, 1957; KUYPERS y col., 1970).

En una publicación reciente (ULLÁN, 1975) abordamos este tema y ahora, basados en una casuística más amplia, estudiamos con mayor detenimiento la existencia de fibras corticospinales vegetativas.

### Material y métodos

Se han practicado lesiones corticales en dieciocho gatos, bajo anestesia con Pentobarbital sódico (35 mg/kg), a lo largo de la circunvolución suprasilviana y en las circunvoluciones postsigmoidea y coronal (fig. 1), utilizando el atlas de REINOSO-SUÁREZ (1961).

Cuando se trataba de efectuar pequeñas destrucciones, se empleó la electrocoagulación; para lesiones más amplias, la ablación

(1) Prof. adjunto. Departamento Anatomía. Universidad de Navarra. Pamplona.

mecánica o la aspiración. La profundidad de las lesiones interesaba a todas las capas corticales. Las operaciones se realizaron con una rigurosa asepsia con el fin de evitar cualquier tipo de lesión que no fuera la ablación. Tras una supervivencia postoperatoria de ocho días, los gatos fueron perfundidos por canulación transventricular de la aorta con suero salino al 9 % y a continuación con formol al 10 %.

Después de un período de fijación en formol, las médulas son extraídas de la duramadre y bloqueadas contando las raíces a partir de C<sub>1</sub>. Por lo general, los bloques comprendían de C<sub>6</sub> a C<sub>10</sub>, de L<sub>7</sub> a S<sub>3</sub> y, ocasionalmente, se recogieron también unos segmentos caudales. Las secciones fueron hechas por congelación, según los planos transversal y frontal del animal. De esta forma se pueden observar, en un mismo corte, las estructuras medulares simétricas. Los cortes frontales son de gran ayuda para el estudio de la disposición de las fibras a lo largo de la médula en relación con los centros espinales.

Hemos empleado el método de NISSL para la determinación de la morfología neuronal. La impregnación de las fibras degeneradas de paso y preterminales, se ha realizado por el método de NAUTA y sus variantes (1957), y el de VELAYOS-ULLÁN (1974) para el estudio de fibras de paso finas y terminales degeneradas.

### Resultados

Desde la corteza cerebral la degeneración se sitúa, fundamentalmente, en cápsula interna y núcleo reticular talámico, ipsilaterales. En la porción inferior del troncoencéfalo, encontramos tractos degenerados en la vía piramidal, en las proximidades del haz rubroespinal y otros fascículos de situación centrotegmental y dorsolateral.

1. *Médula dorsal:* A este nivel encontramos fibras degeneradas que, en su mayor parte, acompañan al haz piramidal cruzado en el cordón lateral (CL). Un porcentaje menor de fibras de paso se sitúan en la zona intermedia, con predominio contralateral (lámina VII de REXED, 1954). Encontramos un pequeño número de fibras en la parte colindante del cordón posterior con la lámina I del asta posterior. También se observan fibras degeneradas de paso en el límite externo del CL, en las secciones horizontales que son posteriores a la lámina VII; es decir, en el tercio o mitad posterior del CL, superficialmente. En el lado de la lesión se encuentran escasos tractos degenerados, tanto en la zona intermedia como en el cordón lateral.

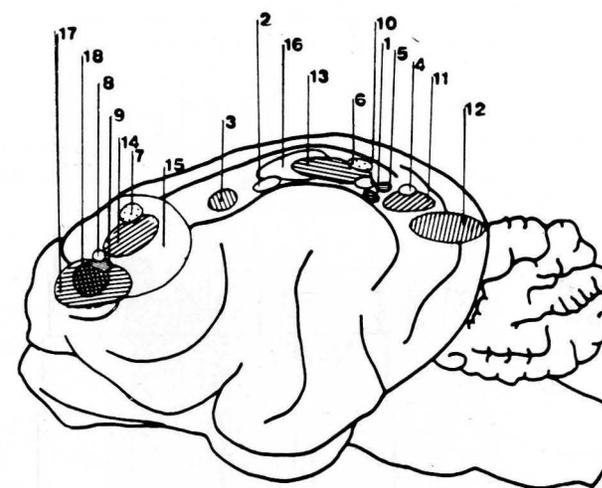


FIG. 1. — Esquema de las lesiones efectuadas en las circunvoluciones suprasilviana (parte anterior, media y posterior), postsigmoidea y coronal, del hemisferio izquierdo.

Cuando las lesiones afectan áreas motoras, la contralateralidad es más marcada y se observan menos fibras de paso siguiendo el eje mayor de la médula, en la propia sustancia gris medular (figura 2).

Tanto en los cortes transversales como frontales, se pueden observar fibras de paso que cruzan por la comisura gris posterior a la región homolateral. También se encuentran fibras degeneradas que recorren longitudinalmente la región periependimaria (PE).

En todas las destrucciones corticales practicadas, aparece degeneración terminal en el núcleo intermediolateral (IL) simpático, aunque en cantidad variable según el tipo y lugar de la lesión. Las lesiones más posteriores dan lugar a fibras bilaterales degeneradas en dicho núcleo IL. Cuando las lesiones afectan áreas motoras o zonas próximas, se acentúa la contralateralidad. Al contrario ocurre con las destrucciones más alejadas, que pueden llegar a presentar en algunos casos predominio homolateral de fibras terminales (fig. 3). Encontramos más degeneración terminal en el núcleo IL homolateral en los animales 8, 9 y 13.

En ocasiones, se observa la presencia de fibras degeneradas de modo uniforme a lo largo de la columna IL del lado contrario a la lesión, mientras que en los acúmulos de neuronas IL homolaterales, la degeneración está distribuida irregularmente, de modo que pueden encontrarse varios de estos acúmulos consecutivos sin



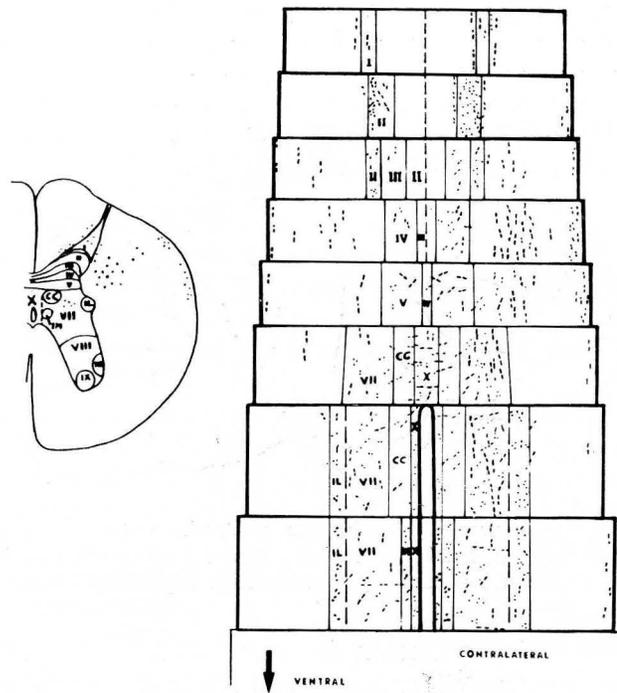


FIG. 2. — Serie de cortes frontales mostrando fibras de paso (líneas gruesas entrecortadas), preterminales (líneas entrecortadas finas) y terminales (puntos finos). No se han representado los cortes correspondientes al asta anterior.

degeneración alternando con otros que presentan fibras terminales en abundancia.

Los grupos neuronales de la columna IL se continúan de trecho en trecho con los de la columna intermediomedial (IM), mediante los tractus intermedii laterales (TIL). Estos tractus tienen, en las impregnaciones argénticas, el mismo aspecto traslúcido y pobre en fibras que muestran los demás centros vegetativos. Los cuerpos fusiformes de las neuronas isodendríticas (RAMÓN-MOLINER, 1968) del núcleo IL, pueden estar orientados según el eje del TIL.

Al núcleo IM y a la zona periependimaria (PE) llegan fibras degeneradas a través del TIL. A este tracto la degeneración se incorpora desde el cordón lateral y desde la lámina VII, que tiene fibras degeneradas que la recorren longitudinalmente. También desde la zona PE algunas fibras alcanzan al núcleo IM (fig. 4).

La mayor cantidad de aferencias al núcleo IM proceden de la zona media de la circunvolución suprasilviana (gato 2). Las lesiones más posteriores de esta circunvolución (caso 12) son las que

menos conexiones directas establecen con este núcleo IM. La degeneración está presente bilateralmente en casi todos los casos. Hay predominio contralateral en los animales 2, 17 y 18. Por el contrario, notamos tendencia a la homolateralidad cuando las fibras degeneradas son escasas y, más aún, si dichos animales tienen la lesión en la parte posterior de la circunvolución suprasilviana (gato 11).

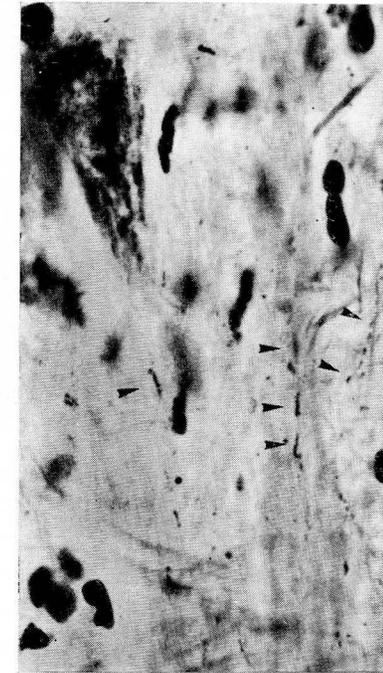


FIG. 3. — Degeneración terminal en el núcleo intermediolateral homolateral del gato 9, con lesión en área motora. Corte sagital a nivel T<sub>10</sub>. Método de VELAYOS-ULLÁN. 868X.

Las fibras degeneradas en la zona PE, siempre muy finas, siguen un trayecto longitudinal, satélites al canalis centralis. Esta observación también fue hecha en los cortes transversales, que muestran más fácilmente la presencia de fibras de paso en la comisura gris posterior. Hay numerosos botones terminales degenerados en ambos lados del canalis centralis y en todos los casos, excepto el grupo de lesiones que afectan al gyrus postsigmoideus y coronalis. Los animales con lesión en estas circunvoluciones (casos 8, 9, 17 y 18), apenas muestran degeneración en el núcleo PE, y en todo caso, es contralateral preferentemente.

La sustancia gelatinosa de ROLANDO (lámina II), presenta bilateralmente gran cantidad de fibras de paso y botones degenerados. Son más abundantes cuando las destrucciones afectan la circunvolución suprasilviana en la parte media o posterior. Más escasas en las lesiones de la parte anterior de dicha circunvolución y en la coronal.

2. *Médula lumbosacra*: Tiene menor cantidad de fibras degeneradas. Las vías seguidas son prácticamente las mismas que las descritas para la médula dorsal. A partir del nivel L<sub>7</sub>, aumentan las fibras de paso que siguen el eje longitudinal por la comisura blanca anterior de la médula.

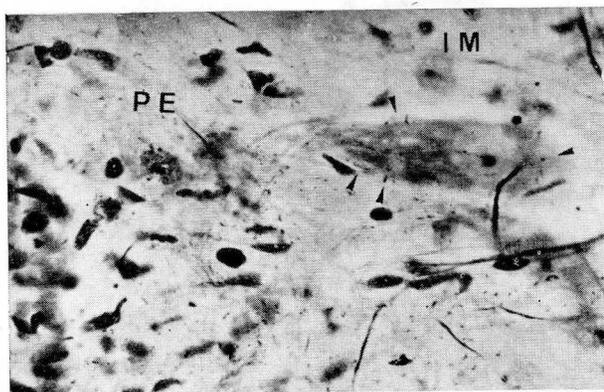


FIG. 4. — Neurona del núcleo IM y zona PE con abundantes fibras terminales degeneradas contralaterales. Caso 10. Método de VELAYOS-ULLÁN. 868X.

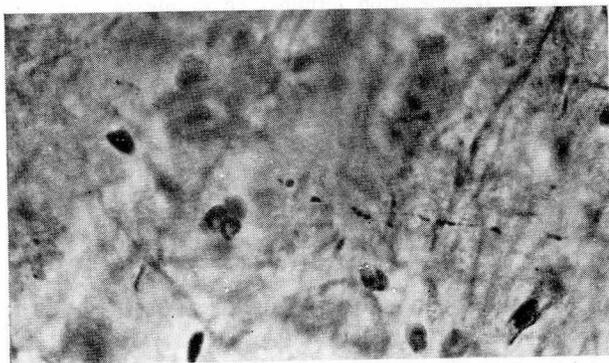


FIG. 5. — Núcleo intermediolateral sacro contralateral del gato 15. Sección transversal. Método de VELAYOS-ULLÁN. 600X.

El núcleo intermediolateral a nivel S<sub>2</sub>-S<sub>3</sub> (ILS), presenta escasos botones degenerados (fig. 5), siendo difícil precisar las diferencias entre uno y otro lado. En ocasiones es clara la existencia de fibras degeneradas bilateralmente en el núcleo ILS parasimpático. Tal es el caso del gato 3, con lesión en la parte media de la circunvolución suprasilviana.

Los casos con lesiones situadas en la circunvolución suprasilviana anterior y coronal presentan botones degenerados, con tendencia a la distribución contralateral, en el núcleo ILS y en el núcleo intermedial (IMS). Desde la circunvolución suprasilviana, zona media, parten fibras que alcanzan al IMS preferentemente en el mismo lado de la lesión.

En el presente esquema resumimos los resultados:

	CO y PSG		SSA		SSM		SSP	
	h.	c.	h.	c.	h.	c.	h.	c.
PE	+	+	+	++	++±	+++	+	+
IM	+±	+	±	+	+±	++	±	±
IL	+±	++	++	+±	+±	±+	++	+
PES	+	+	++	+±	+	+±	±	±
IMS		+	±	+	±			±
ILS	±	+	±	+		+		±
CL	+±	+++	+	+++	++	+++	±	+

### Discusión

Las vías corticospinales han sido estudiadas desde hace tiempo, tanto por el método de MARCHI —POLYAK (1927), LE GROS CLARK (1948), METTLER (1935) y GOBBEL y LILES (1945), entre otros—, como por el de NAUTA —AUER (1956), KUSAMA y col. (1960)—, mediante lesiones en cortex motor y sensitivo. Por este último método se vienen estudiando las eferencias desde las circunvoluciones coronal y sigmoidea —BRODAL y col. (1956), CHAMBERS y LIU (1957), KUYPERS y col. (1970) y MIZUNO y col. (1973). Las descripciones de estos autores, en algunos puntos, coinciden con nuestros resultados (ULLÁN (1975), pero no mencionan conexiones con los centros vegetativos medulares, al menos de modo evidente.

La localización de los centros efectores medulares del gato está sobradamente descrita por diferentes métodos: morfológicos (REXED, 1954), electrofisiológicos (SOHNITZLEIN y col., 1963; DE GROAT y RYALL, 1968; RYALL y PIERCEY, 1970), por degeneración retrógrada (OLIVER y col., 1969; SANTINI, 1970, y PETRAS, 1972), por técni-

cas histológicas selectivas para células vegetativas (KONISHI, 1968) y últimamente inyectando en determinados órganos la horseradish peroxidasa (ELLISON y col., 1975).

De otra parte, la visualización de fibras vegetativas en la médula por métodos histoquímicos ha permitido a PIN y col. (1968) la descripción de un haz descendente, rico en 5-hidroxitriptamina, situado en la porción más superficial del CL. Este hallazgo es semejante a lo descrito por DAHLSTRÖM y col. (1965) en la rata, que, además, advierte la existencia de una vía noradrenérgica en ese mismo lugar.

Estos resultados, que no determinan el lugar de procedencia de tales fibras, pueden ser complementados con los nuestros. Efectivamente, casi todos los animales presentan finas fibras de paso degeneradas en el estrato superficial de la mitad posterior del CL. Por tanto, es posible admitir que algunas fibras vegetativas se originan en las áreas neocorticales estudiadas en este trabajo. Ese grupo de fibras es probable que acabe en los núcleos IL e IM, donde vemos botones degenerados; pues al ser estimulada eléctricamente esa región del CL, KERR y col. (1964) obtienen respuestas vesicomotoras, vasoconstrictoras y pilomotoras.

En cuanto a las fibras que caminan dorsalmente a la lámina I, una parte de ellas no cabe duda de su relación con la sustancia gelatinosa de ROLANDO (lámina II), donde vemos acabar dichas fibras. Algo parecido podemos decir de las que se sitúan a lo largo de la lámina X, cuya significación parece que es el aporte de estímulos corticales al núcleo PE. Ambas estructuras (láminas II y X) son consideradas como los centros integradores vegetativos a nivel medular.

Las pocas fibras descendentes homolaterales no explican la bilateralidad de la degeneración encontrada en el núcleo IL y otros centros medulares. Creemos que una parte de las fibras contralaterales vegetativas vuelven a cruzar, para acabar en centros del mismo lado en que se encuentra su cuerpo neuronal. En este mismo sentido habría que interpretar nuestras observaciones de fibras, de paso finas y preterminales, que cruzan por la comisura gris posterior, y los hallazgos de KONISHI (1968) y POIRIER (1970), según los cuales las neuronas del IL no sintetizan ni almacenan catecolaminas, y están innervadas bilateralmente por fibras monoaminérgicas que no hacen relevo en neuronas intercalares.

Además de las conexiones directas de la corteza con los centros vegetativos espinales, gran número de fibras que terminan en la lámina VII pueden alcanzar dendritas de las neuronas opositopolares, tanto del núcleo IL como del IM. Sin excluir por ello la posibilidad de que algunas células reticulares espinales funcionen

como neuronas intercalares de la vía vegetativa corticospinal (SZENTAGOTHAÏ, 1964).

La ausencia de conexiones directas entre las fibras que alcanzan la médula espinal por las raíces posteriores y el núcleo IL (PETRAS, 1972) y la evidencia de respuestas vegetativas por estímulos corticales (LINDGREN y col., 1956, KELTS y BIGNALL, 1973), hace probable la existencia de una vía vegetativa de origen supraespinal directa, que encuentra demostración anatómica en este trabajo. Ahora bien, queda sin resolver la duda sobre la verdadera misión de esta vía corticospinal directa, pues pudiera suceder que su función fuera inhibitoria, como hace sospechar el trabajo de IWAMURA y col. (1969). O bien, de acuerdo con las descripciones de ITO y col. (1970), que una misma zona cortical sea el lugar de origen de fibras que admitirían una ordenación en el CL; de tal forma, que las influencias inhibitorias ocupasen la porción dorsal, mientras que las facilitadoras se situarían en la zona dorsomedial del CL.

Las conexiones corticales con los centros efectores vegetativos sacros parecen proceder de las fibras situadas en el CL y algunas que hemos observado en el cordón anterior junto al epéndimo, corroborando parte de las sugerencias de POIRIER (1970) a raíz de sus experiencias histoquímicas.

### Resumen

Se han estudiado anatómicamente las conexiones de diversas áreas corticales (cortex polisensorial, somatosensitivo, motor y premotor), con centros vegetativos espinales.

Las fibras degeneradas con significación vegetativa, se encuentran: en el cordón lateral (mitad posterior y superficialmente), en la zona intermedia, junto a la lámina I del asta posterior y próximas al canalis centralis. Fundamentalmente son contralaterales.

Prácticamente todas las áreas destruidas proyectan a los núcleos vegetativos medulares, aunque no siempre de modo significativo. Las destrucciones medias y anteriores de la circunvolución suprasilviana, han mostrado más proyecciones medulares vegetativas. Una misma zona cortical puede presentar conexiones con centros vegetativos torácicos y sacros a la vez, si bien los sacros reciben muy escasas proyecciones de la circunvolución suprasilviana posterior.

### Summary

Corticospinal fibers projecting to the intermediolateral and intermediomedial cell column of the spinal cord, are demonstrated using the methods of Nauta and Velayos, in the cat.

The vegetative nature and the physiological significance of these fibers are discussed.

*Zusammenfassung*

Corticospinalfässern, die in der intermediolateralis und intermediomedialis spinalsäule enden, wurden durch die Methode von Nauta und Velayos dargestellt. Die vegetative Natur solcher Fässern ist discutiert in Hinsicht auf ihre funktionelle Bedeutung.

*Résumé*

L'auteur démontre, par les méthodes d'impregnation argentique de Nauta et Velayos, l'existence de fibres corticales qui finissent dans les colonnes cellulaires intermédiolatérale et intermédiomédiale de la moelle épinière. La nature végétative de ces fibres est discutée en vu de leur signification fonctionnelle.

## ABREVIATURAS Y SIGNIFICADOS

CC,	columna de Clark
CL,	cordón lateral
CO,	circunvolución coronal
IL,	núcleo intermediolateral dorsal
ILS,	" " sacro
IM,	" intermediomedial dorsal
IMS,	" " sacro
PE,	" periependimario dorsal
PES,	" " sacro
PSG,	circunvolución postsigmoidea
SSA,	" suprasilviana (parte anterior)
SSM,	" " (parte media)
SSP,	" " (parte posterior)

h. = homolateral

c. = contralateral

I, II, III, etc. = láminas de Rexed

±, +, +++, ++++ = cantidad relativa de fibras degeneradas de menos a más

## BIBLIOGRAFÍA

- AUER, J. (1956): Terminal degeneration in the diencephalon after ablation of frontal cortex in the cat. "J. Anat.", **90**: 30-41.
- BRODAL, A., T. SZABO & A. TORVIK (1956): Corticofugal fibers to sensory trigeminal nuclei and nucleus of solitary tract. An experimental study in the cat. "J. Comp. Neurol.", **106**: 527-555.
- CHAMBERS, W. W. & C. N. LIU (1957): Corticospinal tract of the cat: An attempt to correlate the pattern of degeneration with deficits in reflex activity following neocortical lesions. "J. Comp. Neurol.", **108**: 23-56.

- DAHLSTRÖM, A. & K. FUXE (1965): Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system. II. Experimentally induced changes in the intraneuronal amine levels of bulbospinal neuron system. "Acta physiol. scand.", **64**, Suppl. 247 (1-36).
- DE GROAT, W. D. & R. W. RYALL (1968): The identification and characteristics of sacral parasympathetic preganglionic neurons. "J. Physiol.", **196**: 563-577.
- ELLISON, J. P. & G. M. CLARK (1975): Retrograde axonal transport of horseradish peroxidase in peripheral autonomic nerves. "J. Comp. Neurol.", **161**: 103-114.
- GOBBEL, W. G. & G. W. LILES (1945): Efferent fibers of the parietal lobe of the cat. "J. Neurophysiol.", **8**: 257-266.
- ITO, M., M. UDO & N. MANO (1970): Long inhibitory and excitatory pathways converting onto cat reticular and Deiter's neurons and their relevance to reticulofugal axons. "J. Neurophysiol.", **33**: 210-226.
- IWAMURA, Y., Y. UCHINO, S. OZAWA & N. KUDO (1969): Excitatory and inhibitory components of somato-sympathetic reflex. "Brain Res.", **16**: 351-358.
- JACKSON, J. H. (1873): On anatomical and physiological localization of movements in the brain. "Lancet", **1**: 84-93.
- KELTS, K. A. & K. E. BIGNALL (1973): Spinal and cortical inhibition of intestinal motility in the squirrel monkey. "Exp. Neurol.", **41**: 387-394.
- KERR, F. W. L. & S. ALEXANDER (1964): Descending autonomic pathways in the spinal cord. "Arch. Neurol.", (Chic.), **10**: 249-261.
- KONISHI, M. (1968): Fluorescence microscopy of the spinal cord of the dog, with special reference to the autonomic lateral horn cells. "Arch. Histol. Jap.", **30**: 33-44.
- KUSAMA, T., K. OTANI, E. KAWANA & A. KODAIRA (1960): Projections from the sensory-motor cortex of cats. "Rec. Advanc. Res. Nerv. Syst.", **5**: 4-24.
- KUYPERS, H. G. J. M. & J. BRINKMANN (1970): Projections of the motor cortex to different parts of the spinal intermediate zone. "Acta Morph. Neerl. Scand.", **VII**, **3/4**: 366-383.
- LE GROS CLARK, W. E. (1948): The connexions of the frontal lobes of the brain. "Lancet", **1**: 353-356.
- LINDGREN, P., A. ROSEN, P. STRANDGER & G. UVNAS (1956): The sympathetic vasodilator outflows: A corticospinal autonomic pathway. "J. Comp. Neurol.", **105**: 95-109.
- MIZUNO, N., K. MOCHIZAKI, Ch. AKIMOTO, R. MATSUSHINA & K. SARAKI (1973): Projections from the parietal cortex to the brainstem nuclei in the cat, with special reference to the parietal cerebro-cerebellar system. "J. Comp. Neurol.", **147**: 511-522.
- NAUTA, W. J. H. (1957): Silver impregnation of degenerating axons. "New Res. Tech. of Neuroanat.", W. F. Windle, ed., Ch. C. Thomas, Springfield, Illinois: 17-26.
- OLIVER, J. E., W. E. BRADLEY & T. E. FLETCHNER (1969): Identification of the preganglionic parasympathetic neurons in the sacral spinal cord of the cat. "J. Comp. Neurol.", **137**: 321-328.
- PETRAS, J. M. & J. F. CUMMINGS (1972): Autonomic neurons in the spinal cord of the Rhesus monkey: A correlation of the findings of cytoarchitectonics and sympathectomy with fiber degeneration following dorsal rhizotomy. "J. Comp. Neurol.", **14**: 189-228.
- PIN, C., B. JONES et M. JOUVET (1968): Topographie des neurones monoaminergiques du tronc cérébral de chat: étude par histofluorescence. "C. R. Soc. Biol." (Paris), **162**: 2136-2141.
- POIRIER, J. (1970): Les fibres aminergiques de la moelle épinière. "Presse Méd.", **78/31**: 1408.

- POLYAK, S. (1927): An experimental study on the association, callosal and projection fibers of the cerebral cortex of the cat. "J. Comp. Neurol.", **44**: 197-258.
- RAMÓN-MOLINER, E. (1968): The morphology of dendrites. "The structure and function of nervous tissue". Vol. I: 205-267. Ed. G. H. Bourne Acad. Press. N. Y. & London.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1961): Topographischer Hirnatlas der Katze, Merck A. G. Darmstadt.
- REXED, B. (1954): A cytoarchitectonic atlas of the spinal cord in the cat. "J. Comp. Neurol.", **100**: 297-380.
- RYALL, R. W. & M. F. PIERCEY (1970): Visceral afferent and efferent fibers in sacral ventral roots in cats. "Brain Res.", **23**: 57-65.
- SANTINI, M. (1970): The transverse extent of the preganglionic sympathetic pool of the cat. "Brain Res.", **26**: 399-401.
- SCHNITZLEIN, H. N., H. H. HOFFMAN, D. M. HAMLETT & E. M. HOWELL (1963): A study of the sacral parasympathetic nucleus. "J. Comp. Neurol.", **120**: 477-485.
- SZENTAGOTHAJ, J. (1964): Propiospinal pathways and their synapses. Organization of the spinal cord. "Progr. Br. Res.", vol. **11**: 155-177. W. Bargmann and J. P. Schädé, eds. Elsevier Publ. Co., Amsterdam-London-N. Y.
- ULLÁN, J. (1975): Conexiones del neocortex con centros vegetativos troncoencefálicos y espinales. "An. Anat.", **24**: 149-178.
- VELAYOS, J. L., y J. ULLÁN (1974): Posteriores mejoras a un método simplificado de impregnación argéntica. "An. Anat.", **23**: 461-467.
- WALBERG, F. (1957): Do the motor nuclei of the cranial nerves receive corticofugal fibers? An experimental study in the cat. "Brain", **80**: 597-605.

J. ULLÁN  
Departamento de Anatomía  
Facultad de Medicina  
Pamplona (España)

## MODIFICACIONES DEL APARATO DE GOLGI DE LAS NEURONAS DEL NÚCLEO SUPRAÓPTICO DE LA RATA, DESPUÉS DE UN TRATAMIENTO CON COLCHICINA Y POSTERIOR EXPOSICIÓN A FRÍO<sup>(1)</sup>

POR

R. VÁZQUEZ<sup>(2)</sup>

### Introducción

EL aparato de Golgi en las células neurosecretoras (ENESTRÖM, 1967; KALIMO, 1971; FLAMENT-DURAND, 1971) se dispone perinuclearmente en varios apilamientos de citomembranas, alargadas y discretamente paralelas. Presentan estrangulaciones periódicas y a veces toman una disposición curvilínea, diferenciándose un lado cóncavo y otro convexo; junto a ellas se observan vesículas pequeñas (v), aparentemente vacías al microscopio electrónico, algunas de las cuales se caracterizan por poseer una superficie erizada, constituyendo las vesículas espinosas (cv) —*coated vesicles*.

En el interior de las cisternas, así como en sus extremos, se observa, a menudo, material denso y en torno a ellas se ven gránulos elementales de secreción, junto con cuerpos densos de aspecto lisosomal (CD) y cuerpos multivesiculares (MV).

ZAMBRANO y DE ROBERTIS (1966) consideran que el aumento de tamaño del aparato de Golgi debe ser considerado como un signo de actividad funcional. KLEIN y col. (1969), RECHARDT y PILGRIM (1969), entre otros, comprueban en ratas deshidratadas que el aparato de Golgi de las neuronas de los núcleos neurosecretorios está muy desarrollado y se distribuye en complejos sáculo-vesiculares compactos, de donde emergen vesículas y gránulos con centro denso.

(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 la Universidad de Salamanca.

Según PICARD y COTTE (1970), las diversas neuronas que forman el núcleo supraóptico (NSO) de ratas normales y deshidratadas, presentan un aparato de Golgi cuya morfología varía de unas a otras y admiten la existencia de un ciclo secretorio en dichas neuronas.

La administración de colchicina, según NORSTRÖM y col. (1971), provoca un agrandamiento del aparato de Golgi, lo que equivale a un aumento de su actividad funcional.

Por producirse profundos cambios morfológicos en el aparato de Golgi de las neuronas del NSO, en ratas tratadas con colchicina y posteriormente expuestas a frío, es el motivo por lo que realizamos este trabajo, en el que comentamos los hallazgos encontrados.

### Material y técnicas

Los aparatos de Golgi estudiados corresponden al NSO de ratas blancas, adultas, de ambos sexos (peso aproximado de 240 gramos).

Los animales recibieron por vía intracisternal 20  $\mu$ g de una solución de colchicina en agua destilada (1 mg/cc). Antes de su sacrificio, que en todos los casos se realizó a las 48 horas de la inyección, fueron expuestos a frío moderado (4 a 6° C) en cámara fría con luz diurna y oscuridad durante la noche, durante tiempos variables que oscilaron entre las 2 y las 20 horas.

Los animales fueron anestesiados en la propia cámara con pentobarbital y rápidamente fueron perfundidos con una solución de glutaraldehído al 5 % en tampón fosfato a pH 7.4. El NSO fue extraído y post fijado en osmio, teñido en bloque con acetato de uranilo en acetona al 2 % e incluido en araldita.

Fueron hechos cortes semifinos de control para localizar el núcleo. Los cortes ultrafinos, obtenidos con un ultramicrotomo LKB, fueron tratados según el método de Reynolds y estudiados con un microscopio electrónico Philips EM-201.

### Resultados y discusión

Se admite que el aparato de Golgi interviene en la formación del gránulo elemental de secreción, condensando el material y proporcionándole la membrana envolvente; este gránulo formado se caracterizado por poseer una membrana y material denso en su interior, que se sitúa en el centro de la vesícula sin ocuparla en su totalidad —gránulos de centro denso o inmaduros.

El material del gránulo contiene las hormonas vasopresina y occitocina, o bien, y parece lo más probable, un precursor hormonal, que daría paso a la hormona propiamente dicha (proceso de maduración); esta maduración se traduciría, desde el punto de vista morfológico, en una modificación del gránulo, en el sentido de que el material denso ocuparía toda la vesícula —gránulo maduro.

Esta función del aparato de Golgi es simple para los profundos cambios que en él tienen lugar en diversos estados experimentales.

En nuestros animales y, dentro de ellos, en la gran mayoría de las neuronas del NSO estudiadas, el aparato de Golgi muestra grandes cambios morfológicos; las citomembranas se encuentran asociadas a gran cantidad de microvesículas, vesículas espinosas, CD, MV y gránulos de secreción con centro denso; junto a ellas, las mitocondrias son muy abundantes y en conjunto puede observarse la existencia de una zona yuxtannuclear, como ya hemos expuesto en otro trabajo (VÁZQUEZ, 1976). Otras veces el aparato de Golgi se halla desplazado hacia zonas intermedias del pericardium neuronal, como también observaron NORSTRÖM y col. (1971), en ratas tratadas con colchicina.

Las cisternas del aparato de Golgi están dilatadas (figs. 1 y 2), siendo frecuente la presencia de material denso en su interior y de gránulos neurosecretorios de centro denso próximos a ellas (figura 1).

Se encuentran asociadas a abundantes microvesículas, vesículas espinosas, formaciones tubulares que corresponden a cortes tangenciales de retículo liso, CD y MV (fig. 2), pudiendo hablarse, en sentido amplio, de la presencia del *GERL complex* de NOVIKOFF (1967). Sobre esta relación llaman la atención PICARD y COTTE (1970) en el NSO de ratas deshidratadas.

A veces (fig. 3, y a más aumentos en la fig. 4), en el interior de las citomembranas pueden verse vesículas con una membrana nítida (flechas llenas) aparentemente vacías al microscopio electrónico, y semejantes a las que existen fuera de ellas.

En el centro (flecha grande), la citomembrana está dilatada y se observa material denso en su interior; pudiera ser que la misma se fragmentara y quedarán libres el gránulo neurosecretorio y las vesículas en ella encerradas, las cuales pasarían a ocupar las zonas vecinas.

En uno de los extremos (flechas vacías) se aprecia en dos citomembranas cómo emergen vesículas que presentan características de vesículas espinosas.

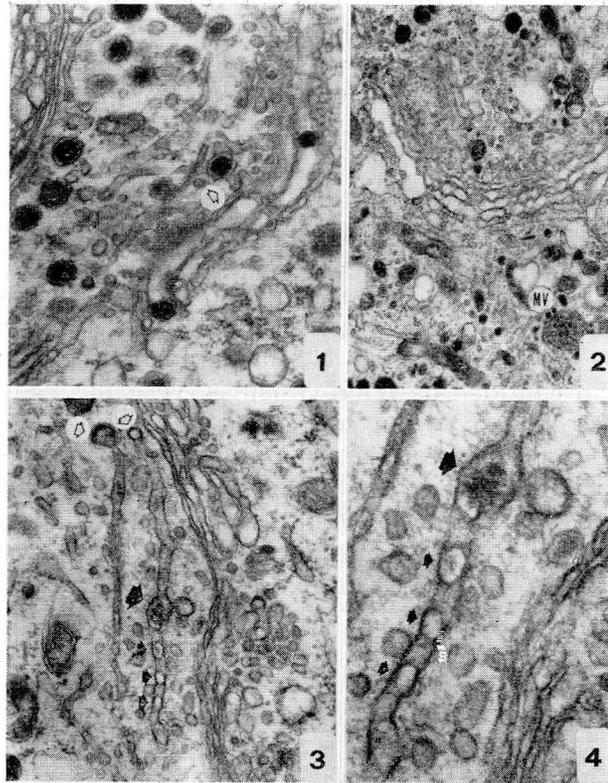


FIG. 1. — Aparato de Golgi con cisternas dilatadas presentando en su interior material denso. Próximos a ellas existen numerosos gránulos con centro denso. Aumentos del negativo: 9100 $\times$ .

FIG. 2. — Cisternas golgianas rodeadas por microvesículas, gránulos de secreción, cuerpos densos y cuerpos multivesiculares. Aumentos del negativo: 4380 $\times$ .

FIG. 3. — Aparato de Golgi que presenta en el interior de sus cisternas formaciones vesiculares (flechas pequeñas rellenas), material denso (flecha rellena grande) y vesículas espinosas en uno de sus extremos (flechas vacías). Aumentos del negativo: 9100 $\times$ .

FIG. 4. — Detalle de la figura anterior. Aumentos del negativo: 20600 $\times$ .

En otras ocasiones llama la atención la cantidad de microvesículas que, junto con gránulos inmaduros y cuerpos densos, rodean a las citomembranas golgianas (figs. 5, 6 y 7). Las citomembranas pueden ser alargadas, amplias (sobre todo las que ocupan el lado cóncavo) y están entrecortadas en numerosos puntos, dando la impresión, como bien se ve en la figura 7, de que están for-

mando vesículas. Esta imagen es muy semejante a la de las figuras 3 y 4.

NORSTRÖM y col. (1971) comprueban que el aparato de Golgi está agrandado y que raramente contiene gránulos osmiófilos después del tratamiento con colchicina; en nuestros casos, los cambios son

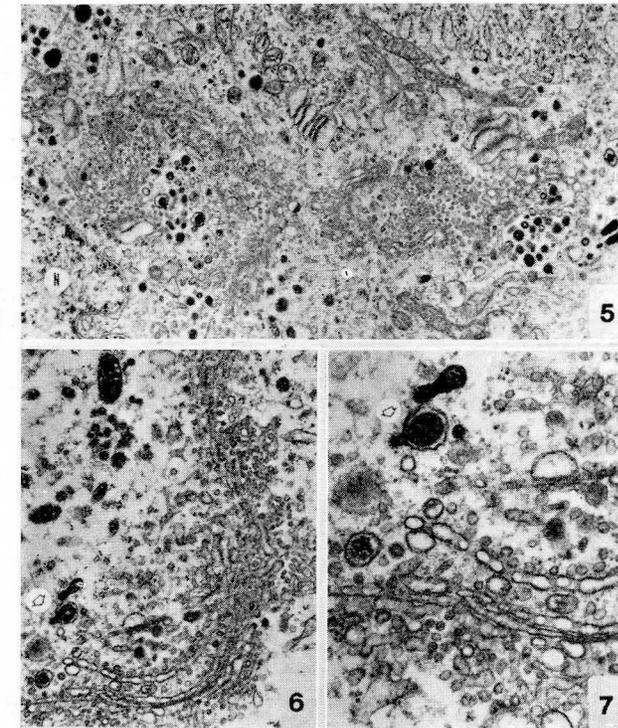


FIG. 5. — Aparato de Golgi con gran cantidad de microvesículas, cuerpos densos y gránulos neurosecretorios. Aumentos del negativo: 2240 $\times$ .

FIG. 6. — Aspecto de las cisternas golgianas y de la gran cantidad de microvesículas existentes. La flecha indica la relación existente entre un gránulo neurosecretorio, un cuerpo denso y una vesícula espinosa. Aumentos del negativo: 4380.

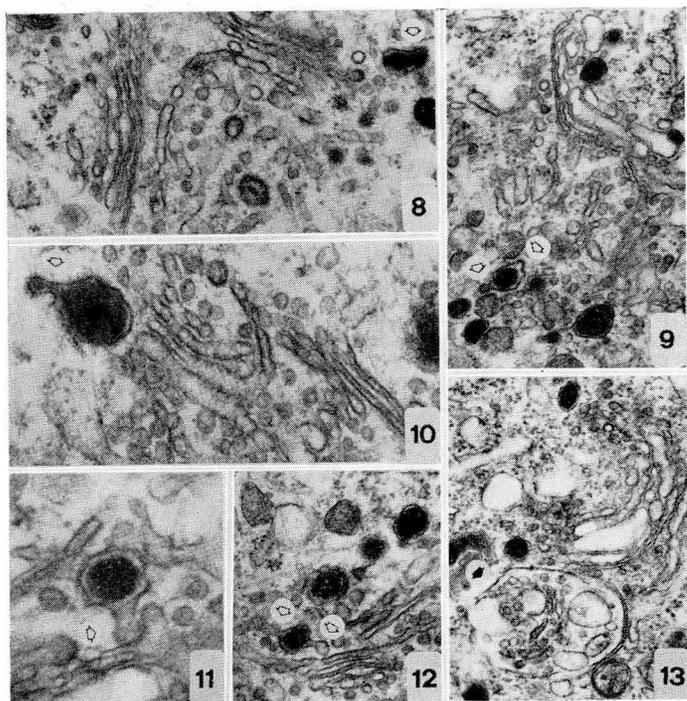
FIG. 7. — Detalle de la figura anterior. Aumentos del negativo: 9100 $\times$ .

mucho más amplios, lo que achacamos a la exposición al frío, ya que éste provoca una activación de las neuronas del NSO (VÁZQUEZ y PALOMERO, 1975), y si los comparamos con los resultados encontrados en los animales exclusivamente tratados con colchicina, las diferencias son manifiestas (VÁZQUEZ, 1976).

Los gránulos de secreción inmaduros son numerosos y es frecuente observar cómo contactan e incluso se comunican con vesículas espinosas (figs. 6, 7, 8, 9 y 10, señaladas con flechas).

En la figura 6 (observándose a mayores aumentos en la fig. 7) se ve cómo un gránulo inmaduro contacto con una vesícula espinosa e incluso con un cuerpo denso lisosomal. En la figura 8, las citomembranas golgianas presentan una morfología vesiculosa semejante a la antes expuesta, viéndose cómo un gránulo posee en una parte de su membrana una superficie erizada, lo que puede deberse a la unión con una vesícula espinosa.

Detalles semejantes se aprecian en las figuras 9 y 10. La membrana del gránulo de la figura 9 es irregular y está plegada, exis-



FIGS. 8, 9 y 10. — Representan gránulos neurosecretores próximos al aparato de Golgi, que están unidos a vesículas espinosas. Aumentos del negativo: fig. 8, 9100×; fig. 9, 9100×; fig. 10, 6075×.

FIGS. 11 y 12. — Gránulos neurosecretores en relación con formaciones de retículo liso. Aumentos del negativo: fig. 11, 20600×; fig. 12, 9100×.

FIG. 13. — Cuerpo autofágico vecino al aparato de Golgi. Aumentos del negativo: 9100×.

tiendo un amplio espacio de separación entre ella y el material denso; este dato es muy frecuente en estos animales y puede considerarse como el resultado de fusión con varias vesículas.

Formaciones tubulares de retículo liso también se encuentran en comunicación con los gránulos neurosecretores (figs. 1, 11 y 12).

Se sabe que las citomembranas, microvesículas y vesículas espinosas poseen gran cantidad de enzimas, sobre todo fosfatasa ácida (NOVIKOFF, 1967; SMITH y FARQUHAR, 1966). También KALIMO (1971), en el núcleo paraventricular, describe la existencia de una fuerte actividad fosfatásica ácida a nivel del aparato de Golgi. La unión de las vesículas con los gránulos podría estar en relación con el proceso de maduración progresiva del material secretor, lo que equivaldría a la formación de gránulos maduros y al posible aumento de tamaño que sufren los gránulos neurosecretores en su transporte hacia el lóbulo posterior (GERSCHENFELD y col., 1960; ZAMBRANO y DE ROBERTIS, 1966; PICKERING y col., 1971; CANNATA y MORRIS, 1973, etc.).

El aparato de Golgi, pues, no sólo concentraría el material secretor y le daría una membrana envolvente, sino que además elaboraría formaciones vesiculares, ricas en enzimas que entran en contacto con los gránulos secretores.

Hay que añadir, además, que estas vesículas pueden concentrarse y formar cuerpos multivesiculares y éstos, a su vez, transformarse en cuerpos densos (PALAY, 1957; GORDON y col., 1963), por lo que el aparato de Golgi jugaría en ello un importante papel; una activación del aparato de Golgi y un aumento del número de cuerpos densos son hechos que van siempre unidos, y si a esto añadimos que, junto a las citomembranas golgianas se pueden observar vesículas y restos de formaciones envueltas por una membrana, que corresponden a cuerpos autofágicos (fig. 13), pensamos, como PICARD y COTTE (1970), que observan también estos datos, que el complejo de Golgi juega un importante papel en los procesos de digestión intracelular.

### Resumen

Se hace una descripción de las profundas modificaciones que presenta el aparato de Golgi del núcleo supraóptico de rata, después de un tratamiento con colchicina y posterior exposición a frío.

El aparato de Golgi se desarrolla notablemente, sus cisternas se dilatan y contienen, con mucha frecuencia, material denso en su interior. Próximos a las citomembranas se observan gran cantidad de microvesículas, gránulos de secreción de centro denso, cuerpos densos y multivesiculares.

Es frecuente observar los gránulos de secreción en comunicación con vesículas espinosas y formaciones vesiculares o tubulares de retículo liso.

### Summary

A description is made of the profound modifications that the Golgi apparatus of the SON of the rat presents, after a treatment with colchicine and posterior exposure to cold.

The Golgi apparatus develops notably, its cisterns dilate and with great frequency, contain dense material in its interior. Next to the cytomembranes can be observed a great amount of microvesicles, secretory granules of dense core, dense bodies and multivesicular bodies.

Frequently secretory granules are observed in contact with coated vesicles and vesicular or tubular formations of smooth reticulum.

### Zusammenfassung

Man beschreibt die grosse Veränderungen des Golgiapparats im Bereich des Nucleus supraopticus der Ratte, nach einer Behandlung mit Colchicin und Kälte.

Der Golgiapparat ist bemerkenswert ausgedehnt, seine Zisterne erweitern sich und enthalten sehr oft elektronendichten Stoff. Man kann in der Nähe der Cytomembranen zahlreiche Mikrobälchen, Sekretgranula mit einem elektronendichten Zentrum, dichte und multivesikuläre Körperchen, finden.

Sehr oft, kann man die Sekretgranula in Verbindung mit "Stachelartige Bläschen" und andere Bläschen oder Tubuliförmige Gebilde mit Ribosomenfreiem ER beobachten.

### Résumé

On fait une étude des grandes modifications que présente l'appareil de Golgi du noyau supraoptique (NSO) de rat, après avoir été traité avec colchicine et soumise à une exposition à froid.

L'appareil de Golgi est notablement développé et leurs cisternes sont élargies et elles possèdent souvent un matériel dense aux électrons. Tout près des cytomembranes on voit un grand nombre de microvésicules, des granulations de sécrétion, des corps denses et des corps multivesiculaires.

On peut voir souvent de granulations de sécrétion qui possèdent une communication avec vésicules épineuses et formations vésiculaires ou tubulaires de réticulum lise.

### BIBLIOGRAFÍA

- CANNATA, M. A., y J. F. MORRIS (1973): Changes in the appearance of hypothalamo-neurohypophysial neurosecretory granules associate with their maturation. "J. Endocrinol.", **57**: 531-538.
- ENSTRÖM, S. (1967): Nucleus supraopticus. A morphological and experimental study in the rat. "Acta Path. microbiol. Scand.", Suppl., **186**: 1-99.
- FLAMENT-DURAND, J. (1971): Ultrastructural aspects of the Paraventricular Nuclei in the rat. "Z. Zellforsch.", **116**: 61-69.
- GERSCHENFELD, H. M., J. H. TRAMEZZANI y E. DE ROBERTIS (1960): Ultrastructure and function in neurohypophysis of the Toad. "Endocrinology", **66**: 741-763.

- GORDON, G. B., L. R. MILLER y K. G. BENSCH (1965): Studies on the intracellular digestive process in mammalian tissue culture cells. "J. Cell. Biol.", **25**: 45-55.
- KALIMO, H. (1971): Ultrastructural studies on the hypothalamic neurosecretory neurosecretory neurones of the rat. I. The Paraventricular neurones of the non-treated rat. "Z. Zellforsch.", **122**: 283-300.
- KLEIN, M. J., A. PORTE y F. STUTINSKY (1969): Comparaison ultrastructurale des noyaux neurosécrétoires hypothalamiques chez la rat norma ou en état de surcharge. "C. R. Ass. Anat.", **142**: 1066-1072.
- NORSTRÖM, A., H. A. HANSSON y J. SJÖSTRAND (1971): Effects of colchicine on axonal transport and ultrastructure of the hypothalamo-neurohypophysial system of the rat. "Z. Zellforsch.", **113**: 271-293.
- NOVIKOFF, A. B. (1967): Enzyme localization and ultrastructure of neurons. In: "The neuron". Edit. H. Hyden. Elsevier Publishing Company, pp. 225-318.
- PALAY, S. L. (1957): The fine structure of the neurohypophysis. In: "Ultrastructure and cellular Chemistry of neural Tissue". Progress in Neurology, vol. 2, H. Waelsch (Ed.), Hoeber, New York, pp. 31-49.
- PICARD, D., y G. COTTE (1970): Ultrastructure de l'appareil de Golgi dans la cellule neurosécrétoire du noyau supraoptique du rat. "C. R. Seances S. B." (Abstr.), **164**: 584-587.
- PICKERING, B. T., C. W. JONES y G. D. BURFORD (1971): Biosynthesis and intraneuronal transport of neurosecretory products in the hypothalamo-neurohypophysial system. "Ciba Found. study Grps.", **39**: 58-69.
- PILGRIM, C. (1969): Morphologische und funktionelle Untersuchungen zur Neurosekretbildung. "Ergebn. Anat. Entwickl.-Gesch.", **41**: 1-79.
- RECHARDT, L. (1969): Electron microscopic and histochemical observations on the supraoptic nucleus of normal and dehydrated rats. "Acta Physiol. Scand.", Suppl., **329**: 1-79.
- SMITH, R. E., y M. FARQUHAR (1966): Lysosome function in the regulation of the secretory process in cells of the anterior pituitary gland. "J. Cell. Biol.", **31**: 319-347.
- VÁZQUEZ, R. (1976): Cambios provocados por la administración de colchicina y posterior exposición a frío en las neuronas del núcleo supraóptico de rata. (En prensa.)
- VÁZQUEZ, R., y G. PALOMERO (1975): Respuesta neurosecretora ante el descenso de temperatura. "An. Anat.", **24**: 179-190.
- ZAMBRANO, D., y E. DE ROBERTIS (1966): The secretory roles of the supraoptic neurons in the rat. A structural-functional correlation. "Z. Zellforsch.", **73**: 414-431.

R. VÁZQUEZ  
Departamento de Anatomía  
Facultad de Medicina  
Salamanca (España)

## BASES NEUROANATÓMICAS DEL DOLOR

POR

J. L. VELAYOS<sup>(1)</sup>

1

**E**L dolor, con una expresión subjetiva variable, en relación al tono sentimental de cada individuo, lo definen algunos como contrario al estado de placer. Tal definición no es realmente aceptable, pues se precisa una definición positiva, en el sentido de que es algo fisiológico, importante para la supervivencia, que pone al organismo en situación de alerta, con un telelegismo concreto en muchos casos; no puede decirse radicalmente que el dolor no sirve para nada al organismo (LERICHE).

(A) 2

A nivel local hay una liberación de algógenos, cuya actuación parece estar en relación con fenómenos vasomotores. Probablemente los receptores del dolor sean las terminaciones libres, muy patentes en pulpa dentaria y córnea. Puede considerarse una primera sensación dolorosa, aguda, localizada, transmitida por fibras A, de conducción rápida, y un segundo dolor, conducido por fibras C, más lento. En el primero parece ser que estarían implicadas terminaciones libres y táctiles. La sensación dolorosa no sólo se origina a partir de elementos superficiales, sino también a partir de estructuras profundas.

Ambos tipos de fibras terminan en la lámina II. Según la teoría del "gate control" (MELZACK y WALL), existirían interneuronas en la sustancia gelatinosa que actuarían como "guardianes" en el tráfico del dolor; las fibras A tenderían a cerrar la barrera, excitando a las interneuronas, las cuales ejercen una influencia inhibitoria presináptica; y las fibras C inhibirían a tales interneuronas. Por otra parte, las células "guardianes" son reguladas por la vía cor-

(1) Prof. agregado de Anatomía. Facultad de Medicina de Cádiz.

ticoespinal, especialmente desde lóbulo parietal, y por la formación reticular, vía reticuloespinal.

## 3

Las neuronas que originan los haces espinotalámicos las encuentran DILLY y col. (1968) en monos en la lámina V de médula y en cierta medida en las láminas VI y I, dato este último también destacado por KUMAZAWA y col. (1975). ALBE-FESSARD y col. (1974), en monos, relacionan la lámina V con las fibras A, al igual que TREVINO y col. (1973), que incluyen también la lámina IV; y estos autores relacionan la lámina I y la zona de sustancia gris equivalente a las láminas VII y VIII, con la conducción lenta (en monos).

## 4

Desde tales neuronas, los impulsos intervienen en actos reflejos o bien informan a centros superiores. Pues bien: por lo que respecta a cualquier sensación, y en concreto a la dolorosa, la transmisión sináptica de la información conlleva determinadas transformaciones, unido a las posibilidades de divergencia y convergencia, que aumentan el grado de interacción, junto a las influencias descendentes ya referidas.

MEHLER (1957) observa que las fibras del dolor terminan en el n. ventral posterolateral de tálamo de una forma más abundante a medida que se asciende en la escala filogenética. MEHLER y col. (1956, 1960), practicando cordotomías enterolaterales en monos, concluyen que existe una vía paleoespinotalámica que se distribuye en los núcleos para e intralaminares, en contraposición a las fibras neoespinotalámicas, cuya terminación fundamental se hace en el n. ventral posterior del tálamo.

En cuanto al haz neoespinotalámico, sus neuronas, según dijimos, se sitúan en cuerno posterior de médula. Las fibras originadas se decusan enseguida o ascienden un tanto oblicuas a través de la comisura blanca anterior, para, contralateralmente, avanzar un mielómero. Las fibras ascienden en cordón lateral y terminan en n. ventral posterolateral de tálamo, porción magnocelular de n. geniculado medial, n. parafascicular y n. central lateral de tálamo. Algunas fibras llegan a tálamo posterior (que recibe numerosos tipos de impulsos sensoriales) y a núcleos intralaminares, sin cruzarse. De las 2.000 fibras que forman la vía, probablemente la tercera parte alcanzan tálamo, pues algunas colaterales terminan en la F.R. troncoencefálica (con lo cual, algunos de los impulsos son de carácter espinoreticular), la sustancia gris periventricular y colículo superior.

El haz neoespinotalámico lleva sensaciones bien localizadas, y además conduce impulsos térmicos, situándose estas fibras medialmente a las de la sensibilidad dolorosa; además, dentro del haz, las fibras procedentes de niveles más caudales se sitúan posterolateralmente a las que proceden de niveles más orales.

La otra vía, paleoespinotalámica, espinoreticulotalámica, cuya existencia fue sospechada por MORIN y col. (1951) como posible camino en la percepción del dolor, es multisináptica, a través de F.R. troncoencefálica, recibiendo impulsos adicionales desde pares craneales y desde colaterales del haz neoespinotalámico, y alcanza el n. parafascicular y otros núcleos intralaminares. Las fibras que lo componen nacen de asta posterior, directas y cruzadas, y se sitúan en cordón anterolateral, entremezclándose en parte con las del haz espinotalámico lateral. La vía está en relación con el aspecto desagradable, difuso y quemante del dolor, y probablemente vehicule también sensaciones viscerales. También conecta con hipotálamo y sistema límbico, por lo que probablemente tenga que ver con ciertas respuestas autonómicas. En las cordotomías medulares que lesionan los haces espinotalámico lateral y espinoreticulotalámico para la solución del dolor intratable, a veces, después de un tiempo, vuelve a aparecer la sensibilidad termoalgésica, lo que hace pensar en la persistencia de algunas fibras espinoreticulares o bien en el establecimiento de una nueva vía, quizás a través de la zona de Lissauer.

## 5

MAY (1906), en una revisión acerca de las vías sensitivas, describía los impulsos dolorosos en el hombre caminando fundamentalmente en cordón lateral de médula y en menor cuantía en cordón anterior, siendo casi todas las fibras cruzadas. LIPPMAN y KERR (1972), en monos, no observan fibras amielínicas en los sistemas ascendentes cruzados del cordón anterolateral, lo que indicaría que los impulsos que llegan a médula por vías no mielinizadas son mediatizados por fibras mielinizadas, y sospechan que existan fibras amielínicas discurriendo longitudinalmente en la sustancia gris medular, hecho también afirmado por otros.

Sea lo que sea, las fibras ascienden y alcanzan tronco del encéfalo. BUSCH (1964), en gatos, sitúa las fibras del dolor muy laterales, junto con otras vías ascendentes, a nivel de la conjunción bulboespinal. Las fibras presentan una forma laminada en tronco del encéfalo (MORIN, 1950, en macacos).

Tras cordotomías anterolaterales, MEHLER y col. (1960), en monos, observan conexiones con F.R. bulbar y pontina (también observada por VELAYOS, 1971). Algo parecido destacan SEGUNDO y col. (1967), HAZZLETT y col. (1972) en el opossum americano, etcé-

tera. Las conexiones espinoreticulares son también estudiadas por JOHNSON (1954) en gatos, y observa que casi toda la F.R. recibe conexiones espinales, excepto prácticamente su zona parvocelular. En este sentido, y en conexión con lo hasta aquí expuesto, se admite que a través de F.R. son conducidos impulsos de dolor poco localizados; la estimulación de la misma produce aumento de la sensibilidad dolorosa y, además, la F. R. es muy sensible a bajos niveles de anestesia. SCHEIBEL (1955) observa una rica malla de colaterales alrededor del n. reticular lateral de bulbo raquídeo, procedentes de la vía espinotalámica, e incluso de la vía lemniscal espinal. En cuanto al n. reticular ventral, BENJAMIN (1970, en ratas) encuentra unidades de respuesta a estímulos nociceptivos, con una localización concreta.

Las vías del dolor no sólo conectan con F.R. (fundamentalmente bulbar y pontina), sino con otras estructuras; la sustancia gris periacueductal en el gato recibe aferencias espinotalámicas y reticulares (NAUTA, 1958, y otros); en este sentido, MELZAK y col. (1958) sugieren que la vía espinotalámica y la sustancia gris central juegan un papel importante en la transmisión correspondiente, en el gato.

No hay que olvidar que el haz centrotegmental contiene numerosas fibras paleoespinotalámicas. La zona central de la F.R. mesencefálica recibe numerosas conexiones bilaterales de predominio homolateral, algunas de las cuales pasan a través de las comisuras posterior y del colículo superior (VELAYOS, 1973, rata blanca). Además, BELL y col. (1964) observan que dicha zona central presenta gran proporción de unidades reaccionantes a estímulos somáticos.

Las vías del dolor también conectan con colículos (MEHLER y col., 1960, y otros).

## 6

Las terminaciones espinotalámicas y de la vía difusa se entremezclan en diencéfalo (NAUTA y KUYPERS, 1958), dato también observado por VELAYOS (1971) en ratas. La terminación clásicamente admitida de las vías del dolor es en el n. ventroposterolateral de tálamo (CHANG y RUCH, 1947; MEHLER y col., 1960; WEBSTER y LUND, 1967; BEIVIE, 1971, etc.). Además, la vía llega a núcleos intralaminares, en concreto los núcleos central lateral y paracentral, con predominio homolateral (GETZ, 1952, en el gato), observado también por MEHLER y col. (1960), BOIVIE (1971), etc. WEBSTER y LUND (1967) observan en la rata conexiones con complejo postero-lateral de tálamo, con zona medial del n. geniculado medial y con pretegmentum anterior. Otras conexiones son observadas por BOIVIE (1971), por ejemplo en complejo centromediano-parafascicular y otras estructuras talámicas.

WHITLOCK y PERL (1961) estudian las proyecciones espinotalámicas en monos y observan una distribución somatotópica en complejo ventrobasal, distribución que es más difusa en los núcleos vecinos al complejo. También WEBSTER y LUND (1967) estudian la organización somatotópica en complejo ventrobasal en ratas.

Pero el estudio de las proyecciones dolorosas es complejo, pues la estimulación de la vía produce una activación de otras, como las del tacto y presión (MAHAN y ANDERSON, 1970, describen técnicas de estimulación de la pulpa dentaria para activar exclusiva y directamente la vía del dolor).

En cuanto a las vías dolorosas en el hombre, BOWSER (1957), en tractomías, observa degeneración terminal bilateral en los núcleos sensoriales específicos de tálamo, en n. centromediano ipsilateral y posiblemente en la zona anterior del n. reticular talámico; también en los cuatro colículos, así como en la F.R. lateral bulbar, aunque más masivamente en F.R. medial bulbar, y en menor cuantía en la de protuberancia y mesencéfalo. Afirma que las vías neo y paleoespinotalámicas caminan juntas caudalmente a la oliva inferior, y se encuentran nuevamente en el n. centromediano de tálamo, lo cual indicaría que las intervenciones en uno de los dos niveles serían efectivas para la abolición de ambos tipos de dolor y no en los niveles intermedios.

Probablemente el dolor sea concienciado en tálamo e incluso en colículos, por lo que algunos suponen que también el haz espinotectal conduce sensibilidad dolorosa. En cuanto a niveles corticales, no hay gran concordancia al respecto, aunque para muchos la concienciación no se realiza en cortex. Por otra parte, las vías ascendentes son interdependientes, siendo el tálamo una zona crucial en tal sentido; un caso típico es el n. dorsomedial (en que LUND y WEBSTER, 1967, encuentran terminaciones espinotalámicas), del que el 20'8 % de sus células responden a estimulaciones de la F.R. mesencefálica (ENCABO y BEKERMAN, 1971); además, el núcleo recibe conexiones de múltiple origen (VELAYOS, 1973, rata blanca).

## (B) 7

Pero también hay que considerar las vías dolorosas de origen troncoencefálico, o sea, trigeminales. El complejo espinal del V es un núcleo abierto (MANNEN, 1960, 1966), lo que explica la gran fidelidad del método de Golgi para el estudio de sus conexiones aferentes. Este dato quizá explique que NORD y ROSS (1973), en monos, anoten respuestas ante estímulos nociceptivos en F.R. lateral vecina al núcleo (zona caudal). El núcleo es en parte equivalente a la sustancia gelatinosa medular, de modo que a nivel C4, en gatos, KERR (1972) observa una superposición con las termina-

ciones trigeminales, también observado por KARAMANLIDIS (1973) en caballos. SMYTH (1939), y otros, opinaba que la terminación de los impulsos dolorosos de la cara se hace de una forma localizada en las tres porciones identificadas más tarde en el núcleo por OLZEWSKI. Al igual que en la zona gelatinosa de médula, también han sido observadas fibras de origen cortical, sobre todo cruzadas, que influyen fundamentalmente sobre la zona caudal del núcleo (BRODAL y col., 1956). (TORVIK, 1956, estudia conjuntamente las conexiones aferentes a los núcleos sensoriales del trigémino, del tracto solitario y zonas vecinas.)

En el complejo espinal del trigémino se distinguen las porciones oral, interpolar y caudal (OLZEWSKI, 1950), en las que se distribuyen más o menos organizadamente las terminaciones de las tres porciones del trigémino. Para OLZEWSKI, la sensibilidad termoálgica facial solamente se localiza en la zona caudal del núcleo. Más aún: WALL y TAUB (1962), paradójicamente, no observan neuronas específicas receptoras del dolor en el núcleo, y piensan que el fenómeno doloroso es efecto de una sumación espaciotemporal masiva dirigida hacia células más profundas. De todas formas, hay una distribución topográfica funcional en el gato (KRUGER y MICHEL, 1962). No sólo el territorio facial envía impulsos hacia el núcleo, sino también la zona auricular, a través de los pares craneales VII, IX y X (TAREN, 1964).

CARPENTER y HANNA (1961), en gatos, ven fibras trigeminotalámicas, procedentes de las porciones interpolar y oral, se decusan en bulbo, para llegar al n. ventral posteromedial de tálamo; además, fibras trigeminocerebelosas, trigeminoreticulares, hacia el n. del VII par craneal y al n. motor del V. NAUTA y KUYPERS (1958) afirman que las fibras procedentes del complejo espinal terminan bilateralmente en tálamo; se trata del haz trigeminotalámico ventral.

Pero, por lo que decíamos antes, nos interesa destacar las conexiones del subnucleus caudalis del complejo espinal del V. DUNN y MATZKE (1968), en la marmota, observan conexión bilateral con F.R. medial y el n. cuneatus; degeneración ipsilateral en los núcleos del XII, retroambiguo, supraespinal, del VII y masticador. También describen una vía intranuclear que enlaza con los núcleos interpolar, oral y núcleo principal. En ovejas, ROBERTS y MATZKE (1971) encuentran conexiones ipsilaterales con los núcleos motores del V, VII, XI y XII y con los subnúcleos más craneales del complejo espinal; también ven conexiones trigeminoreticulares bilaterales. STEWART y KING (1963), en gatos, observan tales interconexiones dentro de las distintas porciones del complejo, y conexiones con los núcleos del VII, IX, X, XI y masticador; con-

sideran una vía filogenéticamente antigua (similar al haz paleoespinotalámico) que parte del subnúcleo caudal, asciende a través de F.R. y llega a tálamo; y una vía más moderna, bilateral, que junto con las vías lemniscales, llega a tálamo (al n. ventral posteromedial, y a la porción medial del n. geniculado medial); también sugieren la existencia de una vía trigeminoolivar. KAWAMURA (1971), también en gatos, observa las mismas conexiones, y destaca proyecciones hacia núcleos vestibulares, colículos y complejo centromediano-parafascicular. Algunas de las conexiones mencionadas hasta aquí son negadas por algunos, por lo que podemos concluir que se precisa un estudio más profundo de las vías trigeminales.

La llegada a tálamo de las fibras trigeminales es estudiada en gatos por MAGOUN y MCKINLEY (1942), junto con fibras ascendentes espinales; y también por WEBSTER y LUND (1967), en cuanto al complejo ventrobasal de la rata; MICHAEL y KARAMANLIDIS (1970) estudian la proyección a tálamo de todas las vías trigeminales en el perro y el cerdo.

En cuanto a la concienciación, al igual que para las vías espinotalámicas, puede decirse que quizá el cortex tenga poca importancia en la integración nociceptiva y sí en cambio el tálamo (DELGADO, 1955).

(C) 8

Hemos visto la gran complejidad de distribución de las vías nociceptivas espinales y trigeminales, y que la gran difusión de impulsos en el sistema nervioso central implica numerosas estructuras, pudiendo decir de una forma simplificada que el fenómeno doloroso participará ampliamente en el fisiologismo del neuroeje. Así, en cuanto a las proyecciones a F.R., los impulsos termoalérgicos son activadores del sistema reticular ascendente activador, el cual juega un importante papel en la regulación del "background" de la actividad del S.N.C. (MAGOUN, 1950). Vimos también que el tálamo es un importante eslabón en las vías dolorosas y, de hecho, la lesión y estimulación y lesión del tálamo produce un dolor no bien localizado e intenso; y concretamente, respecto al n. dorso-medial, al cual llegan proyecciones de la vía, se considera como parte integrada dentro del sistema límbico, del que forman parte variadas estructuras. Las vías dolorosas influyen sobre el cortex, el cual, aunque su lesión no da síntomas especialmente dolorosos, para algunos interviene en la percepción del dolor, sobre todo en el aspecto emocional. Podríamos hablar de las implicaciones hipotalámicas (precisamente en el área preóptica se han localizado zonas receptoras térmicas) y a nivel de numerosas estructuras a las que la vía va lanzando colaterales y terminaciones.

Para no extendernos más, ya que nos saldríamos de los aspectos más concretos que ya hemos detallado, mencionaremos sucintamente la relación del fenómeno doloroso con la mecánica emocional. BARD (1928), CANNON (1929), RANSON y MAGOUN (1939), HESS (1948) y otros, estudiaron los fenómenos que a nivel orgánico acompañan a la emoción, tras diferentes estimulaciones o destrucciones en el S.N.C., y algunos de los autores citados, en relación a determinados estímulos sensoriales (entre ellos, el dolor); y es SELYE (1953) quien inicia la explicación de la mecánica del stress. La actividad emotiva (ROF CARBALLO) serviría para establecer un "fondo" unitario y armónico de los actos del individuo; y en nuestra opinión, es ya quizá salirse del tema afirmar que en el "cerebro interno" se realizaría la confluencia neurofisiológica entre el mundo "externo" y el mundo "interno" (KLEIST). La intensidad de la sensación subjetiva no es proporcional al estímulo, ya que el grado de dolor es influenciado por el grado de ansiedad, pues la experiencia dolorosa está en función de la individualidad total del sujeto; por otra parte, no se puede pretender una interpretación localicista de los fenómenos emocionales (BARRAQUER-BORDÁS, 1954), de la misma forma que tampoco para los fenómenos dolorosos, según hemos visto.

#### Resumen

Revisión bibliográfica acerca de las bases neuroanatómicas del dolor. En primer lugar se intenta definir el fenómeno doloroso, para continuar con un estudio rápido acerca de su mecánica a nivel local y en su llegada de impulsos al sistema nervioso central. A continuación se estudian las vías medulares correspondientes, distinguiendo los haces neo y paleoespinothalámicos, la implicación reticular consiguiente y sus colaterales y terminaciones en distintos niveles del neuroeje. Finalmente se hacen consideraciones análogas para las vías nociceptivas trigeminales. Una de las conclusiones a que se llega es que no se puede pretender una interpretación localicista de los fenómenos dolorosos, ya que la difusión de los impulsos es muy amplia, según se detalla en el texto.

#### Summary

A bibliographical reviewing is made. Local and central mechanisms of the pain are briefly studied. The nociceptive pathways of the spinal cord (neo and paleospinothalamic tracts), their reticular implications, their collaterals and terminals along the central nervous system are studied. Similar considerations on the nociceptive trigeminal paths are made. It is difficult to make an interpretation of the pain because the stimuli are greatly diffused in the central nervous system.

#### Zusammenfassung

Es wird eine bibliografische Revision der neuro-anatomischen Fundamente bei der Verursachung von Schmerzen durchgeführt. Es werden die nervösen Fibern der Schmerzverursachung im Rückenmark studiert (neo-Fibern und paleospinothalamicae)

sowie ihre verschiedenen Endungen längseits des totalen zentralen Nervensystems. Ähnliche Erwägungen werden im Bezug auf die trigeminalen Wege gezogen. Eine der Folgerungen zu denen man gekommen ist, dass man nicht von einem lokalen Schmerzprozess ausgehen kann, da die Difussion der Impulse im zentralen Nervensystem sehr verbreitet ist, wie im Text auch detailliert wird.

#### Résumé

On fait une revision bibliographique à propos des bases neuroanatomiques de la douleur. On étudie rapidement le mécanisme local et au niveau du système nerveux central. On étudie également les voies nociceptives de la moelle, c'est à dire, les faisceaux neo et paleospinothalámiques, ses implications avec la formation réticulée et ses terminaisons dans le neuroaxis. Finalement, on fait des considerations analogues pour les voies nociceptives trigéminales. On ne peut faire une interprétation localiciste du phénomène douloureux parce que la diffusion des projections est très ample.

#### BIBLIOGRAFÍA

- ALBE-FESSARD, D., A. LEVANTE and Y. LAMOUR (1974): Origin of spino-thalamic tract in monkeys. "Brain Research", **65**: 503-509.
- BARD, P. (1928): A diencephalic mechanism for the expression of rage with special reference to the sympathetic nervous system. "Amer. J. Physiol.", **84**: 490-515.
- BARRAQUER-BORDÁS, L. (1954): "Fisiología y clínica del sistema límbico". Ed. Paz Montalvo, Madrid.
- BELL, C., G. SIERRA, N. BUENDÍA and J. P. SEGUNDO (1964): Sensory properties of neurons in the mesencephalic reticular formation. "J. Neurophys.", **27**: 961-987.
- BENJAMIN, R. (1970): Single neurons in the rat medulla responsive to nociceptive stimulation. "Brain Research", **24**: 525-529.
- BOIVIE, J. (1971): The termination of the spinothalamic tract in the cat. "Exp. Brain Res", **12**: 331-365.
- BOWSHER, D. (1957): Termination of the central pain pathway in man: the conscious appreciation of pain. "Brain", **80**: 606-621.
- BRODAL, A., T. SZABA and A. TORVIK (1956): Corticofugal fibres to sensory trigeminal nuclei and nucleus of solitary tract. "J. Comp. Neurol.", **106**: 527-549.
- BUSCH, H. F. (1964): Anatomical aspects of the anterior and lateral funiculi at the spinobulbar junction. "Progress in Brain Res.", **11**: 223-237.
- CANNON, W. B. (1929): Bodily changes in pain, hunger, fear and rage; an account of recent researches into the functions of emotional excitement. New York. D. Appleton.
- CARPENTER, M. B., and G. R. HANNA (1961): Fiber projections from the spinal trigeminal nucleus in the cat. "J. Comp. Neurol.", **117**: 117-131.
- CHANG, H. T., and T. C. RUCH (1947): Topographical distribution of spinothalamic fibres in the thalamus of the spider monkey. "J. Anatomy", **81**: 150-164.
- DELGADO, M. R. J. (1955): Cerebral structures involved in transmission and elaboration of noxious stimulation. "J. Neurophysiol.", **18**: 261-279.
- DILLY, P. N., P. D. WALL and K. E. WEBSTER (1968): Cells of origin of the spinothalamic tract in the cat and rat. "Exper. Neurol.", **21**: 550-562.
- DUNN, J. D., and H. A. MATZKE (1968): Efferent fiber connections of the marmoset trigeminal nucleus caudalis. "J. Comp. Neurol.", **133**: 429-446.

- ENCABO, H., and A. J. BEKERMAN (1971): Responses evoked nucleus medialis dorsalis of the thalamus by subcortical stimulation. "Brain Research", **28**: 35-46.
- GETZ, B. (1952): The termination of spinothalamic fibres in the cat as studied by the method of terminal degeneration. "Acta Anat.", **16**: 271-295.
- HAZZLETT, J. C., R. DOM and G. F. MARTIN (1972): Spino-bulbar, spino-thalamic and medial lemniscal connections in the American Opossum. "J. Comp. Neurol.", **146**: 95-118.
- HESS, W. R. (1948): Die funktionelle Organisation des vegetativen Nervensystems. Basel. Suiza.
- KARAMANLIDIS, A. N. (1973): Fibres spinales ascendentes dans le tronc cérébral du cheval. "Anat., Histol., Embriol.", **2**: 209-220.
- KAWAMURA, S. (1971): Efferent projections of the nucleus caudalis of the spinal trigeminal complex in the cat. "Okajimas Fol. Anat. Jap.", **47**: 377-396.
- KRUGER, L., and F. MICHEL (1962): A morphological and somatotopic analysis of single unit activity in the trigeminal sensory complex of the cat. "Exper. Neurol.", **5**: 139-157.
- KRUGER, L., and F. MICHEL (1962): Reinterpretation of the representation of pain based on physiological excitation of single neurons in the trigeminal sensory complex. "Exper. Neurol.", **5**: 157-173.
- KUMAZAWA, T., E. R. PERL, P. R. BURGESS and D. WHITEHORN (1975): Ascending projections from marginal zone (lamina I) neurons of the spinal dorsal horn. "J. Comp. Neurol.", **162**: 1-12.
- KERR, F. W. L. (1972): Central relationships of trigeminal and cervical primary afferents in the spinal cord and medulla. "Brain Research", **43**: 561-572.
- LIPPMAN, H. H., and F. W. L. KERR (1972): Light and electron microscopic study of crossed ascending pathways in the anterolateral funiculus in monkey. "Brain Research", **40**: 496-499.
- LUND, R. D., and K. E. WEBSTER (1967): Thalamic afferents from the spinal cord and trigeminal nuclei. "J. Comp. Neurol.", **130**: 313-328.
- MAGOUN, H. W. (1950): Caudal and cephalic influences of the brain stem reticular formation. "Physiol. Reviews", **30**: 459-474.
- MAGOUN, H. W., and W. A. MCKINLEY (1942): The termination of ascending trigeminal and spinal tracts in the thalamus of the cat. "Amer. J. Physiol.", **137**: 409-436.
- MAHAN, P. E., and K. V. ANDERSON (1970): Activation of pain pathways in animals. "Amer. J. Anat.", **128**: 235-238.
- MANNEN, H. (1960): "Noyau fermé" et "noyau ouvert". Contribution à l'étude cyto-architectonique du tronc cérébral envisagée du point de vue du mode d'arborization dendritique. "Arc. Ital. Biol.", **98**: 333-350.
- MANNE, H. (1966): Contribution to the morphological study of dendritic arborization in the brainstem. "Progress in Brain Research", **21 A**: 131-162.
- MAY, W. P. (1906): The afferent path. "Brain", **29**: 742-780.
- MEHLER, W. R. (1957): The mammalian "pain tract" in phylogeny. "Anat. Rec.", **127**: 332-334.
- MEHLER, W. R., M. E. FEFERMAN and W. J. H. NAUTA (1956): Ascending axon degeneration following anterolateral chordotomy in the monkey. "Anat. Rec.", **124**: 332-336.
- MEHLER, W. R., M. E. FEFERMAN and W. J. H. NAUTA (1960): Ascending axon degeneration following anterolateral chordotomy. An experimental study in the monkey. "Brain", **83**: 718-750.
- MELZAK, R., W. A. STOTLER and W. K. LIVINGSTON (1958): Effects of discrete brain stem lesions in cats on perception of noxious stimulation. "J. Neurophysiol.", **21**: 353-367.

- MICHAEL, S., and A. N. KARAMANLIDIS (1970): Trigeminothalamic fibre connexions in the dog and the pig. "J. Anat.", **107**: 557-566.
- MORIN, F. (1950): Ascending tracts of the anterolateral column in Macaca mulatta. "Anat. Rec.", **106**: 226-237.
- MORIN, F., H. G. SCHWARTZ and J. L. O'LEARY (1951): Experimental study of the spinothalamic and related tracts. "Acta Psychiat. et Neurol.", **26**: 371-397.
- NAUTA, W. J. H. (1958): Hippocampal projections and related neural pathways to the midbrain in the cat. "Brain", **81**: 319-340.
- NAUTA, W. J. H., and H. G. J. KUYPERS (1958): Some ascending pathways in the brain stem reticular formation. "Henry Ford Hosp. Internat. Sympos.", pp. 3-30.
- NORD, S. G., and G. S. ROSS (1973): Responses of trigeminal units in the monkey bulbar lateral reticular formation to noxious and non-noxious stimulation of the face: experimental and theoretical considerations. "Brain Research", **58**: 385-399.
- OLZEWSKI, J. (1950): On the anatomical and functional organization of the spinal trigeminal nucleus. "J. Comp. Neurol.", **92**: 401-413.
- PERL, E. R., and D. G. WHITLOCK (1961): Somatic stimuli exciting spinothalamic projections to thalamic neurons in cat and monkey. "Exper. Neurol.", **3**: 256-275.
- RANSON, S. W., and H. W. MAGOUN (1939): The Hypothalamus. "Eigebn. Physiol.", **41**: 56-163.
- ROBERTS, P. A., and H. A. MATZKE (1971): Projections of the subnucleus caudalis of the trigeminal nucleus in the sheep. "J. Comp. Neurol.", **141**: 273-297.
- SCHIEBEL, A. B. (1955): Axonal afferents patterns in the bulbar reticular formation. "Anat. Rec.", **121**: 361-397.
- SEGUNDO, J. P., T. TANAKA and H. ENCABO (1967): Somatic sensory properties of bulbar reticular neurons. "J. Neurophysiol.", **30**: 1221-1238.
- SELYE, H. (1953): Einführung in die Lehre vom Adaptationssyndrom. Stuttgart. Thieme.
- SMYTH, G. E. (1939): The systemization and central connections of the spinal tract and nucleus of the trigeminal nerve. "Brain", **62**: 41-57.
- STEWART, W. A., and R. B. KING (1963): Fiber projections from the nucleus caudalis of the spinal trigeminal nucleus. "J. Comp. Neurol.", **121**: 271-286.
- TAREN, J. A. (1964): The positions of the cutaneous components of the facial glossopharyngeal and vagal nerves in the spinal tract of V. "J. Comp. Neurol.", **122**: 389-398.
- TORVIK, A. (1956): Afferent connections to the sensory trigeminal nuclei, the nucleus of the solitary tract and adjacent structures. "J. Comp. Neurol.", **106**: 51-141.
- TREVINO, D. L., J. COULTER and W. WILLIS (1973): Location of cells of origin of spinothalamic tract in lumbar enlargement of the monkey. "J. Comp. Neurol.", **36**: 750-761.
- VELAYOS, J. L. (1971): Conexiones ascendentes del bulbo raquídeo. "An. Anat.", **20**: 587-627.
- VELAYOS, J. L. (1973): Algunas conexiones ascendentes del tronco del encéfalo en la rata blanca. "Rev. Med. Un. Navarra", **17**: 193-204.
- WALL, P. D., and A. TAUB (1962): Four aspects of trigeminal nucleus and a paradox. "J. Neurophysiol.", **25**: 110-137.
- WEBSTER, K. E., and R. D. LUND (1967): Organization of somatic afferents to the diencephalon. "Nature", **215**: 428-429.
- WHITLOCK, D. G., and E. R. PERL (1961): Thalamic projections of spinothalamic pathways in monkey. "Exper. Neurol.", **3**: 240-260.

J. L. VELAYOS  
Cátedra de Anatomía  
Facultad de Medicina  
Cádiz (España)

# RESPUESTA DEL Zn ESTABLE Y RADIATIVO ANTE SITUACIONES DE STRESS EN EL PARÉNQUIMA EXOCRINO PANCREÁTICO<sup>(1)</sup>

Por

A. VERA GIL<sup>(2)</sup> y F. ESCOLAR-CASTELLÓN<sup>(3)</sup>

## *Introducción*

EL contenido de Zn en el páncreas ha sido ya eficientemente estudiado mediante el método histoquímico de Timm por diversos autores, como VOIGT (1959), PETKOV y GALABOVA (1969). Sobre todo en lo que se refiere a su localización en los islotes de Langerhans.

SARRAT (1972) estudia también las variaciones de la respuesta de positividad del islote a la reacción Timm para metales pesados en situaciones de hambre y sed. FACI (1972), igualmente, hace referencia a dichas variaciones en su trabajo de tesis doctoral dirigido por SARRAT.

Dentro del terreno de la autorradiografía con <sup>65</sup>Zn, McISAAC (1955) primero, y DURBIN y col. (1957) después, plantean la distribución de dicho isótopo en el islote pancreático a nivel de microscopía de luz.

VERA GIL (1974, 1975) estudia comparativamente la distribución del Zn estable y del <sup>65</sup>Zn, mediante el uso de la técnica de Timm para metales pesados y de la autorradiografía a niveles de histología convencional, secciones semifinas y microscopía electrónica, respectivamente.

En este último trabajo se observó una discreta positividad autorradiográfica, que no resultó llamativa a la técnica de Timm para el Zn estable, dentro del parénquima exocrino pancreático. Esto

(1) Trabajo realizado en el Departamento Anatómico de Zaragoza. (Director: Profesor J. Escolar.)

(2) Prof. agregado de la Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza.

(3) Becario F.P.I. del Departamento Anatómico de Zaragoza.

puede ser relacionado con la carboxipeptidasa pancreática, basándonos de una manera hipotética en el trabajo de VALLEE y NEURATH (1955).

Los datos que se obtuvieron en el estudio de animales en condiciones normales no ofrecían aclaración sobre este último punto; por este motivo, en este trabajo que ahora nos ocupa, hemos realizado un estudio detallado, mediante la técnica de Timm y autorradiografía con  $^{65}\text{Zn}$ , de las positividads advertidas en el parénquima pancreático exocrino de animales sometidos a stress hídrico y alimenticio.

### *Material y métodos*

Hemos utilizado 15 ratas Wister, adultas, de 250 g de peso medio, a las cuales las hemos distribuido en los siguientes lotes:

- 3 animales testigos.
- 4 animales que fueron sometidos a dieta de hambre, pudiendo beber libremente agua, siendo sacrificados a los 8 días de iniciada la dieta.
- 4 animales que fueron sometidos a sed, pudiendo comer libremente pienso compuesto deshidratado, siendo sacrificados a los 8 días de iniciada la dieta.
- 4 animales que fueron sometidos a dieta de hambre y sed absoluta, siendo sacrificados a los 8 días de comenzada la dieta.

De cada uno de estos lotes seleccionamos: un animal testigo que fue inyectado intraperitonealmente con 1 cc de solución salina de  $^{65}\text{ZnCl}_2$  en actividad de 360  $\mu\text{Ci}$ ; dos animales sometidos a hambre exclusivamente, dos animales sometidos a sed exclusivamente y dos animales sometidos a hambre y sed, los cuales fueron inyectados, igualmente, con la misma dosis de solución salina de  $^{65}\text{ZnCl}_2$  y por la misma vía que el animal testigo, a los dos días de iniciada la dieta, con el fin de que su sacrificio se aproximase al criterio de КHRISTOV (1965) sobre el semiperíodo del  $^{65}\text{Zn}$ . Dicho sacrificio fue a los 6 días después de la inyección.

A todos nuestros animales se les extrajo el páncreas inmediatamente después de ser sacrificados, parte del cual era fijado en alcohol sulfídrico, específico para la técnica de Timm, y parte en Carnoy, para autorradiografía. Con las piezas fijadas en alcohol sulfídrico se realizó la reacción histoquímica de Timm para metales pesados. Con las piezas fijadas en Carnoy se procedió, tras inclusión en paraplast y sección a 6 micras, a realizar la técnica autorradiográfica para microscopía de luz, mediante "Diping" en

I1-K5, exposición 15 días, revelado en Kodak D-19, fijadas en Jhonson Fix-Sol y, posteriormente, teñidas en hematosilina-eosina.

Fueron realizados, también, controles autorradiográficos de ennegrecimiento y de piezas que no contenían isótopo, procedentes de animales testigo.

En los procesos de laboratorio colaboraron las ayudantes de investigación C.S.I.C. L. Bernad, M. C. de Francisco y P. Zanuy.

### *Resultados y discusión*

En los animales sometidos a sed exclusivamente hemos podido observar, a la técnica de Timm, una concreta positividad en el islote de Langerhans; por otra parte, intensas positividads son evidentes, también, en diversos puntos del parénquima exocrino pancreático, muy evidentes en todos nuestros casos (fig. 1-a).

El estudio autorradiográfico de la captación de  $^{65}\text{Zn}$  por parte del páncreas en animales sometidos a sed, arroja una considerable cantidad de impactos, tanto en el islote como en el parénquima exocrino circundante (fig. 1-b), lo que discrepa con la escasa captación que se observa en los animales normales (VERA GIL, 1974).

En los animales sometidos a hambre y sed conjuntamente, la reacción Timm dio una imagen similar a la que hemos descrito en los casos sometidos a sed exclusivamente (como se puede apreciar comparando la fig. 2-a con la fig. 1-a).

La captación autorradiográfica al  $^{65}\text{Zn}$  en estos casos sometidos a hambre y sed ofrece, también, positividad en el parénquima exocrino pancreático discretamente menor que la que se observa en el islote de Langerhans (fig. 2-b), la cual resulta algo diferente de los casos sometidos a sed exclusivamente, en los que la relación de captación islote/parénquima exocrino era aparentemente uniforme.

El estudio autorradiográfico a mayor resolución del parénquima exocrino en los casos sometidos a sed, nos permite relacionar los impactos obtenidos con los granos de zimógeno de estas células (fig. 3).

Un estudio comparativo de las respuestas a la técnica de Timm para metales pesados, entre los casos experimentales sometidos a sed y hambre y sed y los casos normales (como viene expresado en la figura 4-a), nos permite advertir una evidente diferencia entre la positividad del parénquima exocrino pancreático. Por eso referimos al lector a la comparación de las figuras 1-a, 2-a y 3-a. Por otra parte, la técnica de Timm en los animales sometidos exclusivamente a hambre ofrece una gran depleción, manifestada por

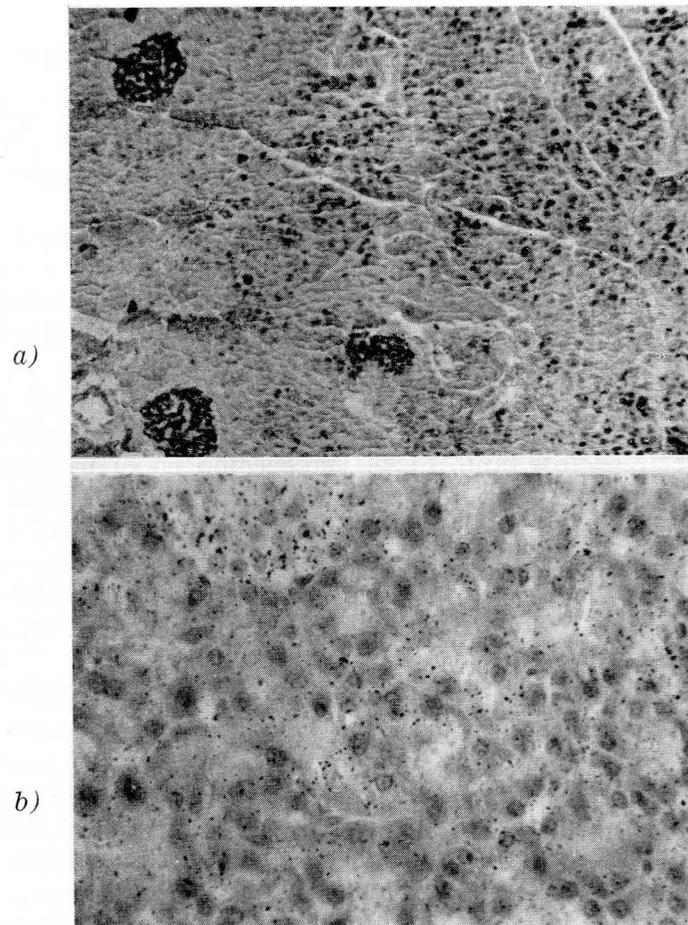


FIG. 1. — Páncreas de animal sometido a sed.

- a) Técnica de Timm. Obsérvese la intensa positividad del islote pancreático, así como grumos de intensa positividad en el parénquima exocrino (250×).
- b) Autorradiografía con  $^{65}\text{Zn}$ , histología convencional. Obsérvese la intensa captación al isótopo que presentan tanto el islote como el parénquima exocrino (600×).

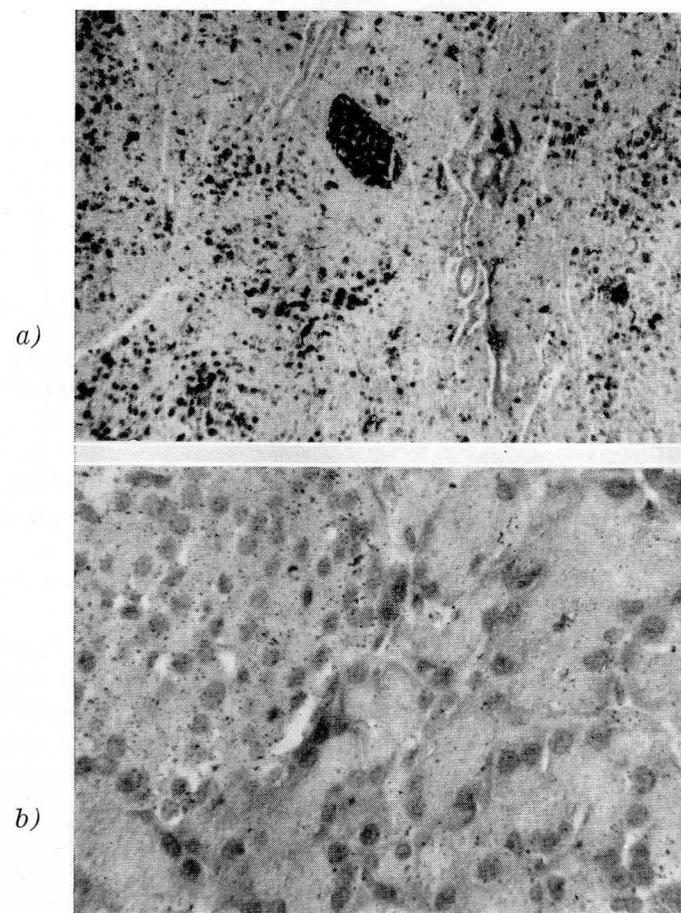


FIG. 2. — Páncreas de animal sometido a hambre y sed.

- a) Técnica de Timm. Al igual que la anterior, obsérvese la intensa positividad del islote pancreático y del parénquima exocrino (250×).
- b) Autorradiografía con  $^{65}\text{Zn}$ , histología convencional. Se observa intensa captación del isótopo en el islote pancreático y algo menor en el parénquima exocrino (600×).

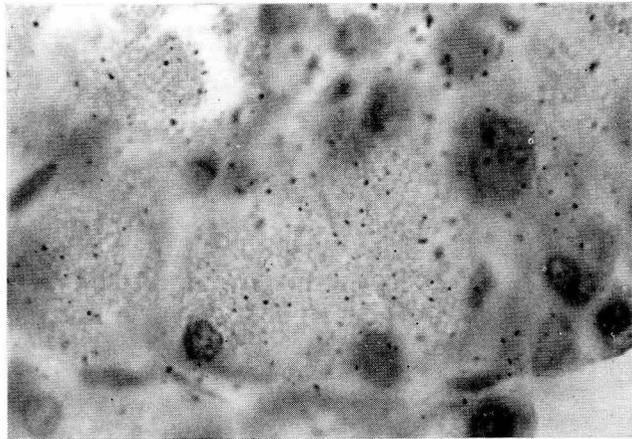


FIG. 3. — Autorradiografía con  $^{65}\text{Zn}$ , histología convencional. Detalle a mayor aumento de la captación por parte del parénquima exocrino pancreático en un caso de sed (1200X).

una ausencia de positividad, tanto en el parénquima exocrino pancreático como en el islote de Langerhans, en el que sólo se observa una discreta positividad referida a la corona de células alfa, lo que coincide con las observaciones de SARRAT (1972) en los casos sometidos a hambre (fig. 4-c).

Al discrepar nuestras imágenes autorradiográficas de captación de  $^{65}\text{Zn}$  en el páncreas, entre los animales sometidos a sed y a hambre y sed, y los animales en condiciones normales estudiados por VERA GIL (1975), consideramos necesario adjuntar un caso testigo en el que se realizó la técnica autorradiográfica simultáneamente a los casos experimentales, pero que no fue inyectado con  $^{65}\text{ZnCl}_2$ , siendo evidente que la respuesta autorradiográfica es correcta, por la ausencia total de impactos en este último (fig. 4-b).

A la vista de todo esto, tres puntos interesantes se nos ofrecen a discusión:

1.º Hemos encontrado una intensa positividad mediante la técnica de Timm, por parte del islote de Langerhans, tanto en los

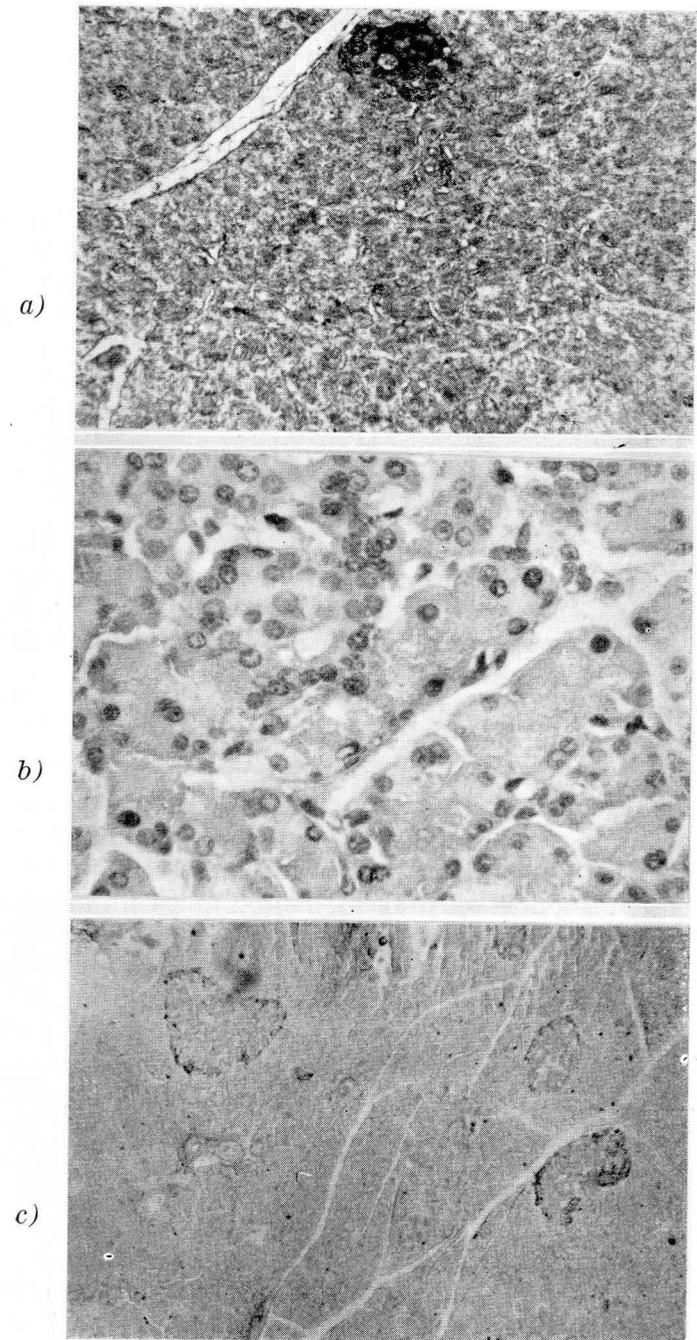


FIG. 4. — Diversos controles.

- a) Técnica de Timm en páncreas de animal control (250X).
- b) Autorradiografía de páncreas sin inyección previa de  $^{65}\text{Zn}$ . Nótese la ausencia de impactos (600X).
- c) Técnica de Timm en páncreas de animal sometido a hambre exclusivamente. Obsérvese la depleción de las células beta del islote pancreático, la ligera positividad de las células alfa y la negatividad del parénquima exocrino (250X).

FIG. 4

casos sometidos a hambre y sed como a sed exclusivamente. Esta positividad es perfectamente similar a la que se observa en los casos normales y que contrasta con la depleción evidente en las células beta del islote de Langerhans, como hemos podido observar mediante la técnica de Timm, en los casos sometidos a hambre exclusivamente. Nuestros casos sometidos a hambre y sed discrepan con los casos de SARRAT (1972) en lo que se refiere a la positividad del islote de Langerhans, coincidiendo, sin embargo, nuestros casos sometidos a hambre exclusivamente. Descartamos la posibilidad de un error técnico, en primer lugar porque los casos sometidos a hambre exclusivamente, los casos sometidos a sed exclusivamente y los casos sometidos a hambre y sed se procesaron simultáneamente; y en segundo lugar, porque las variaciones observadas por nosotros mediante la técnica de Timm en estos casos, han sido corroboradas por la captación autorradiográfica, si bien a esta última se pueda objetar nuestra administración intraperitoneal del  $^{65}\text{ZnCl}_2$ .

Por otra parte, nuestra seguridad en la corrección de la técnica empleada por SARRAT hace que nos inclinemos a pensar que la clave de esta discrepancia esté en algún factor que pudiese alterar la situación de sed en los animales estudiados por SARRAT, pues a la vista de nuestros resultados, entendemos que la respuesta diferente del islote de Langerhans depende del hecho de existir situación de deshidratación por sed, o no.

2.º La positividad a la técnica de Timm del parénquima exocrino pancreático nos ha resultado correlativa con un incremento de la captación de  $^{65}\text{Zn}$  en dicho parénquima, lo que podemos referir evidentemente a los granos de zimógeno, como se aprecia en nuestras imágenes autorradiográficas. Esto implica un acuerdo absoluto entre la respuesta a la detección de  $^{65}\text{Zn}$  y el posible significado de la técnica de Timm referida al Zn estable contenido en el páncreas. Lo que nos hace pensar en un aumento del contenido de Zn en las células exocrinas pancreáticas. Su aparente ligazón al zimógeno de las mismas nos hace pensar, igualmente, que este Zn está relacionado con la carboxipeptidasa, como describieron VALLEE y NEURATH (1955) en condiciones normales. El incremento de Zn estable y radiactivo observado, parece lógico que responda a un incremento de la presencia de dicho enzima en el parénquima exocrino, no pudiendo responder nosotros a si se trata de un aumento de producción o de almacenamiento.

3.º Nos ha llamado también la atención la diferencia de captación de  $^{65}\text{Zn}$  en el parénquima exocrino en los casos sometidos a sed y en los casos sometidos a hambre y sed. Al ser menor dicha captación en los casos sometidos a hambre y sed y nula

prácticamente en los casos sometidos a hambre exclusivamente, pensamos que la sed sea un factor determinante del incremento del contenido de Zn en el parénquima exocrino y, en su caso, del aumento de carboxipeptidasa en el mismo.

### Conclusiones

A la vista de todo esto, concluimos que:

- 1.º Los animales sometidos a stress dietético en los que se realice una absoluta privación hídrica, aumenta su cantidad de Zn, tanto estable como radiactivo, contenido en el parénquima exocrino.
- 2.º Este aumento de Zn puede referirse a un incremento del contenido de carboxipeptidasa en el parénquima exocrino pancreático.

### Resumen

Se estudia la positividad Timm y captación autorradiográfica del  $^{65}\text{Zn}$  en el parénquima exocrino pancreático, en animales sometidos a stress dietético de hambre, sed y hambre y sed.

Se observa un aumento de la cantidad de Zn, tanto estable como radiactivo, en todos nuestros casos de privación hídrica; dicho aumento se cree puede referirse a un incremento de carboxipeptidasa en dicho parénquima exocrino.

### Summary

We have studied the Timm's positivity and Autoradiographic  $^{65}\text{Zn}$  uptake in the exocrine pancreatic tissue, using animals in which we have made a starvation and thirst.

We have seen, an increasing of Zn contained in all our cases of thirst, we believe that is because of an increasing of the carboxypeptidase in the exocrine pancreatic tissue.

### Zusammenfassung

Es wird die positividad der Timm Reaktion und autoradiografische Aufnahme der  $^{65}\text{Zn}$  in der exokrinen pankreatischen Gewebe unter diätetischen Belastung untersucht.

Wir konnten eine Vermehrung der Zn-menge, sowohl stabile als auch mit Radiaktivität-beladenen in allen unserer Fällen mit Durst-Belastung beobachten. Diese Vermehrung könnte auf eine Carboxypeptidase-akumulierung in der exocrinen Pankreas-Gewebe zurückgeführt werden.

### Résumé

On a étudié la positivité de la réaction Timm et captation autoradiographique du  $^{65}\text{Zn}$ , par le parenchyme exocrine pancréatique, dans les animaux en situation du stress diététique.

On a observé en tous les cas de privation de l'eau un augmentation de la quantité du Zn stable, autant que le radioactif. On croie que ce fait soie cousé par l'augmentation de la carboxypeptidase dans le parenchyme pancréatique.

## BIBLIOGRAFÍA

- DURBIN, P. W., K. G. SCOTT y J. G. HAMILTON (1957): The distribution of radioisotopes of some heavy metals in the rat. Univ. California. Publ. "Pharmacol.", **3**: 1-11.
- FACI, A. (1972): Aportación a las relaciones recíprocas entre las transformaciones del allocortex, hipotálamo y órganos circunventriculares producidas por trastornos metabólicos experimentales. "An. Anat.", **21**: 245-281.
- KHRISTOV, Kh. D. (1965): Behaviour of  $^{65}\text{Zn}$  in the rat body. "Mater. Toks. Rad. Vesh.", **5**: 12-34.
- MCISAAC, R. I. (1955): The distribution of  $^{65}\text{Zn}$  in the rat pancreas. "Endocrinology", **57**: 571-575.
- PETKOV, P., y R. GALABOVA (1969): Zinkverteilung in Pankreas einiger Säuger. "Act. Histochem.", **32**: 93-109.
- SARRAT, R. (1972): Posibilidades de la técnica de Timm para metales pesados en el análisis de las transformaciones del substrato neuroendocrino. "An. Anat.", **21**: 367-375.
- VALLEE, B. L., y H. NEURATH (1955): Carboxypeptidase, a Zinc metalloenzyme. "J. Biol. Chem.", **217**: 253-261.
- VERA GIL, A. (1974): La autorradiografía con  $^{65}\text{Zn}$  como complemento de la técnica de Timm para el estudio del Zn en el substrato neuroendocrino. "An. Anat.", **23**: 141-147.
- VERA GIL, A. (1975): Estudio autorradiográfico de la captación de  $^{65}\text{Zn}$  en el páncreas. "An. Anat.", **24**: 191-197.
- VOIGT, G. E. (1959): Das Histologische Bild des Pankreas einiger Tiere nach Anwendung der Sulfidsilbermethode. "Act. Histochem.", **8**: 84-96.

A. VERA GIL  
Departamento Anatómico  
Facultad de Medicina  
Zaragoza (España)



## INDEX

	Page
Contributions to the experimental study of the surfactant pulmonary system by <i>J. Aguilar Jiménez</i> ... ..	11
Contributions to the knowledge of the connections of the optic pathway by wallerian degeneration after experimental ocular enucleation by <i>M.<sup>a</sup> D. Alonso Salvador</i> ... ..	37
Collagen of stomach during cancer by <i>J. Alvarez-Morujo Suárez, F. Cuadrado Idoyaga and A. Alvarez Morujo</i> ... ..	53
Pars tuberalis of the cats's adenohypophyse (An electron microscopic study of its histology and cytology), by <i>P. Amat</i> ... ..	63
Stereotactic study of the nuclear complex of the solitary tract and neighbouring structures in the cat, by <i>C. Avendaño and F. Delgado</i> ... ..	79
Celulary death in the basal placode of the chicken embryo, by <i>E. Barbosa Ayucar, E. Campelo Barcia, J. G. Valdecasas Huelin and L. Barbosa Ayucar</i> ... ..	93
A new two times polichromic method (F-1), by <i>J. Cabanes Vila, C. J. Iranzo Lobera, M. J. Pérez Bacete and J. A. Tecles Tomás</i> ... ..	99
Rachimedulary lipomes in childhood, by <i>V. Calatayud Maldonado</i> ... ..	109
Study of the ultrastructural variations of the adenohiphophysary cells after stimulation with ultraviolet rays, by <i>I. Escriba Roca and A. Martínez Soriano</i> ... ..	115
The brain localisation, by <i>K. Feremutsch</i> ... ..	129
A scanning electron microscope study of the structure of the normal lung, by <i>E. Ferres Torres</i> ... ..	135
Experience about the possibilities of the radiological methods in morphological investigation and teaching, by <i>J. Jiménez Castellanos and Calvo Rubio</i> ... ..	147
Tubular structures microtubuli and synaptic ribbon in monkey's, by <i>P. Glees and P. E. Spoerri</i> ... ..	159
Suprarenal vascularisation and neurogenic stress, by <i>L. M.<sup>a</sup> Gonzalo Sanz</i> ... ..	169
Influence of the surrounding conditions upon the sleep-wakefulness cicle of the normal cat, by <i>J. Gómez-Montoya and I. de Andrés</i> ... ..	179
Psychological anatomy, by <i>M. Guirao Pérez</i> ... ..	191
Cerebelopontic fibers. An experimental anatomical study in the cat, by <i>J. F. Lago</i> ... ..	201

	<u>Page</u>
A quantitative citochemical analyse of ADN of fibroblasts of chicken embryo in vitro cultivated and submitted to the action of adriamycin, by <i>J. L. Lancho Alonso</i> ... ..	211
Pinealectomy and male gonade, by <i>J. Losada and R. Sarrat</i> ... ..	225
Nigrostriatal connections in the cat by silver impregnation methods, by <i>A. LLamas</i> ... ..	229
Experimental transformations of the adenohiphophysary substrat after adenal stimulation in the jung white rat and its consequence upon the thymus, by <i>J. Loret García</i> ... ..	239
Horizontal connetions of cerebral isocortex (An horseradish peroxidase study), by <i>L. Martínez Millán</i> ... ..	257
Projections to the prefrontal cortex from the submedial nucleus of cat's thalamus, by <i>E. Martínez Moreno</i> ... ..	267
Ultraestructural study of the morphology of human tubaric epithliun in different phases of woman's genital life, by <i>M. Montesinos Castro-Girona</i> ... ..	275
About functional integration of the cells of the Langerhans's ilands, by <i>L. Muñoz Barragán</i> ... ..	293
Paraganglion of human epididimus, by <i>M. Nistal</i> ... ..	307
Contribution to the electrolitic study of the normal cerebrospiral liquor, by <i>J. Núñez Fuster and F. Castellanos Mateos</i> ... ..	317
Ultraestructure of the thyroid gland of partially thyroidectomized cats, by <i>G. Palomero</i> ... ..	331
Angioarchitecture of human bile gland, by <i>J. L. Puente Domínguez and J. Potell Lesquereux</i> ... ..	343
Contributions to the experimental transformations of the anterior hypophysary substract after adenal stimulation in the white rat and its effect upon ovary, by <i>A. Renovell Martínez</i> ... ..	355
Yuxtglomerular apparatus of kidney (Its relation with some ions and with the arterial pressure), by <i>S. Rodríguez and J. L. Escolar Castellón</i> ... ..	371
Thyroid ultraestructural transformations after hypophysary stimulation with ultraviolet rays, by <i>F. Sánchez del Campo</i> ... ..	383
Study of lungs's structural modifications in animals submitted to bilateral cervical vagotomy, by <i>V. Smith Agreda</i> ... ..	393
Vegetative corticospinal pathways, by <i>J. Ullán</i> ... ..	405
Modifications of the Golgi apparatus in neurous of rat's supraoptic nucleus, after a treatment with colchicine and posterior exposition to cold, by <i>R. Vázquez</i> ... ..	417
Neuroanatomical bases of pain, by <i>J. L. Velayos</i> ... ..	427
Response of the stable and radioactive Zn to the stress of situations in the panchreatic ixocrine perinchym, by <i>A. Vera Gil and F. Escolar Castellón</i> ... ..	439

	<u>Págs.</u>
ULTRAESTRUCTURA DE LA GLÁNDULA TIROIDES EN GATOS PARCIALMENTE TIROIDECTOMIZADOS, por <i>G. Palomero</i> ... ..	331
ANGIOARQUITECTURA DE LA VESÍCULA BILIAR HUMANA, por <i>J. L. Puente Domínguez y J. Potell Lesquereux</i> ... ..	343
APORTACIONES A LAS TRANSFORMACIONES EXPERIMENTALES DEL SUBSTRATO ANTEROHIPOFISARIO TRAS LA ESTIMULACIÓN ADENAL EN LA RATA BLANCA COMÚN Y SU REPERCUSIÓN EN EL OVARIO, por <i>A. Renovell Martínez</i> ... ..	355
EL APARATO YUXTAGLOMERULAR DEL RIÑÓN (SU RELACIÓN CON CIERTOS IONES Y CON LA TENSION ARTERIAL), por <i>S. Rodríguez y J. L. Escolar Castellón</i> ... ..	371
TRANSFORMACIONES ULTRAESTRUCTURALES TIROIDEAS TRAS LA ESTIMULACIÓN HIPOFISARIA CON LUZ ULTRAVIOLETA, por <i>F Sánchez del Campo</i> ... ..	383
ESTUDIO DE LAS MODIFICACIONES ESTRUCTURALES DEL PULMÓN EN ANIMALES CON VAGOTOMÍA CERVICAL BILATERAL, por <i>V. Smith Agreda</i> ... ..	393
VÍAS CORTICOESPINALES VEGETATIVAS, por <i>J. Ullán</i> ... ..	405
MODIFICACIONES DEL APARATO DE GOLGI DE LAS NEURONAS DEL NÚCLEO SUPRAÓPTICO DE LA RATA, DESPUÉS DE UN TRATAMIENTO CON COLCHICINA Y POSTERIOR EXPOSICIÓN A FRÍO, por <i>R. Vázquez</i> ... ..	417
BASES NEUROANATÓMICAS DEL DOLOR, por <i>J. L. Velayos</i> ... ..	427
RESPUESTA DEL ZN ESTABLE Y RADIOACTIVO ANTE SITUACIONES DE STRESS EN EL PARÉNQUIMA EXOCRINO PANCREÁTICO, por <i>A. Vera Gil y F. Escolar Castellón</i> ... ..	439

## 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). - J. Soler (Granada). - D. Stark (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.

