

ANAIRES DE ANATOMIA



ANALES DE ANATOMIA

Fundador:
J. ESCOLAR

Director:
R. SARRAT

Secretario de Redacción:
J.L. NIETO AMADA

Consejo de Redacción:

E. Agüera (Córdoba)
P. Amat (Salamanca)
J. Astruc (Richmond, U.S.A.)
G. Bernal (Córdoba)
A. Carrato (Madrid)
F. Doñate (Bilbao)
E. Ferres Torres (Valencia)
R. Ferres Torres (La Laguna)
L.M. Gonzalo Sanz (Pamplona)
M. Guirao (Granada)
J. Jiménez Castellanos (Sevilla)
R. Krstic (Lausana)
M. Lafarga (Santander)
J.L. Lancho (Córdoba)
I. Lawzewitsch (Argentina)
A. Llamas (Madrid)
F. Marín Girón (Málaga)
L. Martínez Millán (Bilbao)
E. Martínez Moreno (Madrid)
P. Mestres (Homburg, R.F.A.)

A. Mitro (Checoslovaquia)
M. Montesinos (Valencia)
L. Muñoz Barragán (Salamanca)
N. Múrrillo (Zaragoza)
G. Palomero (Oviedo)
Chr. Pilgrim (R.F.A.)
F. Reinoso (Madrid)
J.M. Rivera Pomar (Bilbao)
S. Rodríguez García (Soria)
D. Ruano (Barcelona)
F. Sánchez del Campo (Alicante)
J. Sandoval (León)
J. Sanz Esponera (Madrid)
J.M. Smith-Agreda (Málaga)
V. Smith-Agreda (Valencia)
J. Soler Viñolo (Granada)
R. Vázquez (Salamanca)
J.L. Velayos (Madrid)
A. Vera (Zaragoza)

© Universidad de Zaragoza

ISSN: 0569-9894

Depósito legal: Z-2429-89

Composición y maquetación de textos: Servicio de Publicaciones. Universidad de Zaragoza

Edita y Distribuye: Servicio de Publicaciones. Universidad de Zaragoza

Con la colaboración financiera de:

Universidad de Barcelona (Central)

Universidad de Córdoba

Universidad de Oviedo

Universidad de Salamanca

Universidad de Zaragoza

Printed in Spain

ANALES DE ANATOMÍA

Volumen XXXIX

Diciembre 1993

Núm. 100



27 OCT. 1993

© Universidad de Zaragoza

ISSN: 0569-9894

Depósito legal: Z-2429-89

Composición y maquetación de textos: Servicio de Publicaciones. Universidad de Zaragoza

Edita y Distribuye: Servicio de Publicaciones. Universidad de Zaragoza

DEDICATORIA

*Al profesor José ESCOLAR GARCÍA, fundador de Anales de Anatomía,
como homenaje de admiración y respeto
a su trayectoria universitaria, en su 80 cumpleaños.*

*A la Universidad de Zaragoza,
por su firme apoyo institucional a esta publicación.*

EL CONSEJO DE REDACCIÓN

PRESENTACIÓN

No es habitual en nuestro entorno que una publicación periódica de carácter científico alcance la cota del nº100. Es por ello comprensible que las personas que más directamente nos ocupamos en la actualidad de la confección de *Anales de Anatomía*, al verse acercar este momento, sintiéramos el deseo de celebrar esta efemérides, que coincidía por otra parte con el 80 cumpleaños de quien fuera su fundador y director, el profesor J. Escolar.

Anales de Anatomía, como cualquier obra humana, desde su inicio en Granada en el año 1954, ha pasado por vicisitudes que han delimitado una serie de etapas de mayor o menor esplendor. Siempre los relevos topográficos o personales representan momentos críticos, especialmente difíciles; pero la categoría científica y el poder moral del profesor Escolar por una parte, y la capacidad de trabajo de todos los anatómicos de este país por otra, han permitido que nunca hayan faltado originales en la redacción de *Anales*, y posibilita que estemos hoy aquí en el seno de la Universidad de Zaragoza, celebrando el alumbramiento de su emblemático nº100.

El Consejo de Redacción de la revista *Anales de Anatomía* quiere ofrecer este nº 100, como hemos hecho en la dedicatoria, al profesor Escolar, como símbolo y paradigma del universitario cabal.

Pero este acto, cargado de nostalgia, no es solamente un culto al recuerdo, sino un rito, que al oficiarlo, quiere alumbrar el inicio de una nueva etapa.

Los tiempos nuevos comportan nuevas e ineludibles exigencias; es por ello que nuestra revista, a partir del próximo año, pasará a publicarse en inglés, único idioma a pesar de los recelos y críticas, en el que es factible escribir si uno desea ser leído. Exigencias de normativas internacionales a efectos de conseguir un aceptable "índice de impacto", aconsejan al menos una periodicidad trimestral, y por fin y para concluir con las novedades, el lamentable y casi imprudente cambio de denominación del tan querido *Anatomischer Anzeiger* por *Annals of Anatomy*, realizado recientemente por nuestros colegas alemanes, nos han abocado irremisiblemente a modificar el título de nuestra publicación.

Esta circunstancia adversa, se ha visto en parte compensada, con la decisión de la Junta Directiva de la Sociedad Anatómica Española de que nuestra revista se constituyera en su órgano oficial de expresión, proponiendo para ella el futuro nombre de *European Journal of Anatomy*.

Somos conscientes del riesgo que corremos al aceptar el reto que supone editar una revista de esa envergadura, pero junto a nuestra ilusión y el firme deseo de que España participe de verdad en la construcción de la "Europa Unida", está el apoyo de colegas de todo el mundo científico, que se han sumado gustosos a este proyecto aceptando integrarse en el nuevo Consejo de Redacción, avalando con su solvencia y prestigio la publicación que ahora nace.

No sería justo si no destacásemos el papel primordial que en esta singladura ha desempeñado la Universidad de Zaragoza. Ella acogió *Anales de Anatomía* cuando fué trasladada desde Granada, ella impulsó su renovación cuando por el deseo del profesor Escolar al jubilarse en el Servicio propio de la Universidad, y ella ha pronunciado un "adelante" sin regateos ni temores, a la hora de patentar y asumir el soporte económico del actual *European Journal of Anatomy*.

Queremos asimismo agradecer a aquellas Universidades, cuyos nombres figurarán en el dorso de la portada, su apoyo humano y económico en la etapa pasada y que esperamos lo continuarán ejerciendo, con mayor interés si cabe en el futuro. ¡La empresa lo merece!

R. SARRAT y J.L. NIETO



Profesor J. Escolar
Fundador de *Anales de Anatomía*

Queridos amigos:

Al celebrarse la publicación del nº 100 de la revista *Anales de Anatomía*, me siento profundamente agradecido por la amable invitación que me hacéis a participar, aunque sólo sea ocasionalmente, en su redacción. Así puedo revisar lo que viví en la Universidad, y tuve que dejar por haber llegado el día de mi jubilación.

Pienso en la revista *Anales de Anatomía*, que os preocupa, como lo que más necesita renovarse. Es que, empezó impetuosamente; en Granada aún. Y el entusiasmo por «descubrir e inventar», no nos dejaría ver, lo que ya estaba descubierto e inventado. Las «fuentes» de indagación se limitaban a la Embriología clásica. Nos habíamos introducido en las «transformaciones experimentales del sustrato»; y refiriéndonos de continuo al «estado adulto» (sólo demostrable por disección).

Llegó esa etapa tan temida y necesitada de «cambios». Entonces me sentí favorecido, por el simple hecho de jubilarme. Pero quedé desconcertado porque mi «hogar» se deshacía: (Pues el hogar se centra en la «esposa»). Y me costó mucho tiempo, comprender, que el vínculo de «una sola carne», perdura en el «más allá»; notando inspiraciones como si mi esposa fuera la mutua comprensión entre los de mi edad. Sin embargo, no puedo desentenderme del «pasado»; máxime, cuando vosotros, aún jóvenes, con quienes surgieron tantas colaboraciones y entusiasmos, deseáis que os diga algo ahora, sobre *Anales de Anatomía*.

¿Y qué inspira la lógica, y lo que viene ocurriendo a tantas revistas científicas y departamentos extranjeros, que nos tomaron la delantera? ¿No se atienen a lo más sencillo, siguiendo las prescripciones de Cajal? ¿No procuran artículos sencillos, que digan lo «justo»? (Solamente, lo que tengan que decir, y que se callen cuando lo han dicho?). Esto significaría,

emplear las palabras precisas para hacer entender el problema que se trata, partiendo de lo ya existente.

En este empeño vuestro yo querré seguiros a lo lejos, como a vista de pájaro; pensando como me permita la mente y sintiendo con el corazón.

Deseo para esta publicación entrañable, que recoge buena parte de vuestros esfuerzos y desvelos en el cultivo de la Anatomía, que continúe por mucho tiempo, adaptada a los tiempos modernos y por tanto con las transformaciones que sean oportunas, pero conservando siempre su identidad, basada en la sencillez y la humildad que presidieron sus inicios y que deben arropar al científico de todos los tiempos y a sus obras.

J . ESCOLAR GARCÍA

*La docencia y la investigación
en morfología microscópica
antes y después
de la Ley de Reforma Universitaria (LRU)*

F. Marín Girón.
Catedrático de Biología Celular de la Universidad de Málaga
Homenaje al maestro D. José Escolar

Al pedirme la dirección de *Anales de Anatomía* un artículo para conmemorar su número 100, que sea homenaje del profesor José Escolar, gustosísimamente quiero contribuir con unas reflexiones sobre la investigación y la docencia que he practicado, siempre en exclusiva, siguiendo el modelo que en mí imprimió D. José en los años 1956-1958 cuando bajo su dirección realicé la Tesis Doctoral, y un año después en 1959 me «lanzó» a profundizar en mi formación en Alemania, en la etapa más decisiva de mi vida profesional.

¿Cómo se monta, se dirige y se hace la investigación y la docencia en morfología microscópica?

Investigar es siempre crear, aportar datos o conocimientos nuevos.

Pero es que, previamente a ello lo primero de todo, investigar es trabajar, y hacerlo intensamente a la vez que metodológicamente: recuerdo anecdóticamente los enfados de D. José cuando los protocolos de los animales de experimentación o de las fotografías no estaban suficientemente claros o no eran cuidadosos.

Yo terminé mi licenciatura en Medicina sin conocer a Escolar pero tuve la suerte de que en 1956 me admitiera en Anatomía para hacer la Tesis y sobre todo, para tener muchas horas de convivencia y trabajo tanto con el maestro, cuya influencia después comentaremos, como con su grupo de entusiastas colaboradores, que formaban el primer ambiente de investigación que yo conocí. Yo fui a Alemania porque D. José Escolar me lo propuso y lo gestionó enviándome para ocupar una plaza de *Assistent* en Anatomía de Tübingen. Allí descubrí que quería estudiar anatomía microscópica, que aquí en España había «aprobado» como Histología. Me quedé varios años en Alemania y D. José me mantuvo como profesor ayudante y colaborador del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, del que él tenía una sección, que mientras yo estaba en Alemania, se trasladó de Granada a Zaragoza. Y yo volví de

Alemania porque en 1963, de nuevo fue D. José quien intervino, escribiéndole una carta a José M.^º Albareda, Secretario General del Consejo, que ante el ofrecimiento escrito por parte alemana, de quedarme allí, para hacer mi currículum, me ofreció una plaza de colaborador en el Instituto Cajal de Madrid.

Posteriormente en 1969 obtuve una plaza de Profesor Agregado de Citología e Histología en la Universidad Complutense en la Facultad de Biológicas, de la que salté a La Laguna en 1972 para ser Catedrático y sólo tres años después a Málaga para abrir su Facultad de Ciencias.

¿Cómo he orientado mi quehacer docente e investigador en todos estos años desde 1956 hasta ahora para conseguir más de una veintena de Tesis Doctorales, un centenar de trabajos, más de una docena de Profesores Titulares de los que ya varios de ellos son Catedráticos?

Cuando llegué a Canarias, o después en Málaga, recuerdo que teníamos unas reuniones semanales de varias horas de duración, en las que comentábamos todo tipo de trabajos buenos, de novedades científicas, de avances técnicos porque yo consideraba entonces que los alumnos del último curso que hacían tesinas o los recién licenciados, en gran parte tenían que ser desprogramados respecto a que en cualquier asignatura biológica había algo terminado y podríamos decir etiquetado... y lo que aparentemente lo está, como puede ser en principio las ciencias que todo lo clasifican como la botánica o la zoología y le agregan nombres en latín. ¿Es que no están siendo ampliadas, enriquecidas, perfeccionadas con nuevos conocimientos, criterios, etc. de tipo fisiológico, genético, bioquímicos, etc.?

Recuerdo que incluso en aquel pequeño grupo de los años 75-80 de Málaga causó estupor a algunos que todos nos tratábamos de tú, pero creo que sin falsas modestias moralmente y humanamente impulsé a aquel pequeño grupo de jóvenes colaboradores que obliga a leer todo, los llevé al extranjero y les presenté a las más importantes figuras de nuestro campo. Casi simultáneamente con esa actividad se fueron presentando también a oposiciones a Adjuntos, hoy titulares, entonces en Madrid. En pocos años, los primeros numerarios de toda la Facultad, o en 1980 la mitad de todos los que había, eran de mi Departamento..., porque la promoción de cada uno se preparaba concienzudamente, se trabajaba en todos y cada uno de los ejercicios y luego, en Madrid, me jugaba el tipo defendiéndolos a base de resaltar sus méritos y quitarle importancia a sus defectos o fallos. Todos los que han hecho oposiciones en Madrid contaron con mi presencia. Pero debe reconocerse aquí, que el entrenamiento fueron las clases que, dentro del pequeño grupo, explicábamos por turnos, empezando por sí mismos y criticando después las clases de los demás. Eso duró sólo mientras pudo hacerse, porque eran los primeros años y aceptaban la dirección y experiencia. Debo reconocer aquí que el modelo de esta dirección fue el que yo había vivido en Granda entre los años 1956 y 1959 bajo la dirección y sobre todo convivencia con D. José Escolar. Muchos discípulos hoy maestros, la siguen y naturalmente tienen «escuela».

Realicé esa tarea entre los años 1975 y 1985 en que ya entonces, con la entrada en vigor y sobre todo con su influencia práctica en la vida universitaria de la Ley de Reforma Universitaria (LRU) permitió que los últimos profesores titulares que salieron en Málaga como en toda España ya lo hicieran solos, completamente autodidactas, sin haber demostrado saberse el programa... y lógicamente algunos de ellos, completamente inmaduros sembraron sólo rencillas, desasosiegos, «guerra» al jefe, al que «democráticamente», conquistando a los alumnos y al Personal de Administración y Servicios (PAS) consiguieron desbancar de toda área de influencia. Esto ha pasado prácticamente en casi todas las Universidades.

¿Es que son sólo esas pincelada negativas lo que aporta la LRU? De ninguna manera, la LRU tiene aspectos muy positivos. Cuando bien por las llamadas pruebas de idoneidad o por las rebajadas exigencias de las oposiciones *in situ* todos los incipientes profesores se hicieron Profesores Titulares, perdimos todos la obsesión por el número de trabajos a llevar a las

Oposiciones de Madrid y nos decidimos a publicar, preferentemente, en revistas internacionales. ¿Cuál es la situación actual?

En el presente si nos referimos sólo a los últimos 10 años tenemos numerosas publicaciones en congresos punteros de todo el mundo, aunque ello haya tenido que pasar, casi obligadamente, a que los últimos llegados, los más jóvenes, emprendan un movimiento para tratar de unificarlo todo, hacerse con el poder y dirección: no importan nada los medios porque lo importante es la pujanza del grupo o grupos. De hecho el primitivo Departamento único que yo formé ha fructificado en 3 ó 4 grupos que, con pleno éxito, están publicando, produciendo. Alguno de estos grupos han aprendido perfectamente la técnica de publicar en el *Journal of Comparative Neurologie* o similares, con el máximo índice de impacto. Yo en 1988 opté por formar grupo aparte cuando poco tiempo después obtuve la máxima calificación de todos los tramos de investigación.

¿Cuál es mi actual postura vital o visión personal en el Departamento como docente y como investigador que a finales de este año, 1993, cumpliré los 60?

En cuanto a la docencia, «he conseguido» algo que era mi mayor deseo: impartir una asignatura optativa de 4º y 5º cursos de Biológicas que está teniendo una gran aceptación en cuanto al número de estudiantes (entre 35 y 40), lo que es un récord como asignatura optativa que me permite contagiarles, a estos jóvenes que antes de un año van a ser licenciados, por un lado el sentido de admiración por todo proceso biológico y, por otro, ponerles al corriente de que todo, absolutamente todo lo que leo sobre el progreso médico-biológico, que está actualmente haciéndose, o lo que es igual, nadie que quiera hacer algo en investigación biológica llega tarde a nada. Yo les explico o refiero o cuento todo lo que cae en mis manos sobre cada tema, que es mucho y todavía más es lo que hay de desconocido sobre esos temas, para lo cual pongo todo énfasis posible en mostrarles que cada progreso biológico es sólo un peldaño, un paso hacia una meta que, como la ascensión a cualquier montaña, lo que plantea es nuevo y con más amplios horizontes.

Es muy bonita e interesante mi tarea docente e investigadora con el grupo de alumnos de 5º curso y recién licenciados que quieren realizar conmigo su trabajo de Tesis Doctoral.

¿Entonces en qué cosas puede decirse que a los «jóvenes maestros», esto es, los que aprobaron por idoneidad o a los numerarios posteriores se les nota negativamente la juventud?

Por supuesto no es en la información bibliográfica, que generalmente manejan bien, mucho mejor que antes y así, cualquier tesina con búsqueda retrospectivas, ordenadores, *Current Contents*, etc., tiene como mínimo 200 citas. Lo único que les falta, por supuesto no igual a todos, y no lo tienen porque es un fruto de madurez, es precisamente esa visión de conjunto, capacidad de síntesis, valoración del porqué y para qué de algunos proyectos, planes de investigación, etc. Como en algunos casos, en mi Departamento, se ha conseguido, llegar a la meta de publicar en revistas internacionales, lo que, repetimos, es ya importante; pero muchos de estos jóvenes consideran ociosa la pregunta de: todo eso para qué, que cuál es el plan de futuro, cuál es la meta lejana. Hemos podido ver en los últimos años cómo los recién licenciados o en las tesis doctorales dedican sus trabajos a sus «maestros», que si bien es cierto que le han enseñado a hacer los primeros pasos en la investigación en muchos casos son doctores con muy pocos años de experiencia y madurez. Y ésto se traduce tanto en la investigación que hacen como en las clases que dan. Suelen ser buenas informativamente hablando, pero sin estructura real de ofrecer al alumno las ideas fundamentales para reflexionar. Se hacen después los exámenes igual, con test de respuestas múltiples en los que cada afirmación o negación tiene varias contestaciones para que escojan una, y lógicamente

el que estudia aprueba. Pero cabría preguntarse, cuando pasen unos meses o años estos alumnos ¿saben suficientemente, al menos las ideas básicas y fundamentales, las realmente formativas, sobre cada asignatura? ¿Cómo se distingue lo fundamental de lo accesorio si en las clases o en los tests, no se discrimina en tal sentido?

Los trabajos que dirigiré de tesinas, tesis, etc., lógicamente deben ser juzgados sólo por los más jóvenes porque los «mayores» les somos incómodos. Como hace pocos años escribía mi amigo y compañero de Facultad en Madrid el zoólogo y académico Rafael Alvarado, precisamente al filo del fallecimiento de una de las grandes figuras de la Zoología, como fue el profesor Pierre-Paul Grassé y comentando asimismo con otro académico e importante maestro de la Física, también compañero en Madrid, el profesor Luis Bru: «Lo que está en crisis es el respeto hacia los valores del espíritu, el cariño hacia los mayores y, más aún, hacia el maestro». Son palabras textuales de Alvarado. Yo las refiero únicamente y además tengo totalmente asumido que sea así. No es un problema de tal o cual grupo o escuela sino una postura de gran parte de la juventud. Tenemos que decirlo abiertamente, las más avanzadas técnicas informáticas que en cuanto a la bibliografía científica, suministra un ordenador, lo que no pueden hacer nunca es una valoración de conjunto, una reflexión, un porqué o para qué que le podamos hacer los mayores, y esto les pone tan nerviosos a los «jóvenes maestros» que lo mejor es prescindir de nosotros.

Santiago Grisolla, del que hemos hablado anteriormente, muy recientemente ha citado a Luis Pasteur con su frase «La suerte favorece a las mentes preparadas». Esto es aplicable a todas, sin distinción de edades.

Alexander Fleming tenía cerca de 50 años en 1928 cuando descubrió la penicilina, pero llevaba más de 30 trabajando en el laboratorio; Josef von Gerlach, que tiñó neuronas con el café que se le derramó de una taza; son ejemplos de ello, eso ocurrió en Erlangen, de donde fuimos profesores varios años. Yo no digo, de ningún modo, que los mejores frutos sean de los maduros, sino que *los son de todas edades y no sólo de los jóvenes*. El mayor error de algunos de ellos es la valoración que hacen de sí mismos, como únicos depositarios de la verdad, que afortunadamente, es tan grande, que no cabe en toda una vida, menos aún en vidas todavía a mitad de camino.

Una última reflexión y cita que quiero hacer con especialísimo interés en homenaje a D. José Escolar, la pensadora y filósofa malagueña María Zambrano fallecida hace pocos años decía de su maestro José Ortega y Gasset que siempre, no sólo en los trabajos de investigación sino también en la convivencia diaria, o hasta en los momentos aparentemente más intrascendentes se había enriquecido y había recibido cosas positivas de ciencia y valores humanos del maestro.

Quiero recordar aquí aquellas tardes de los sábados que nos reuníamos en la casa de D. José, a tomar café y cada uno de nosotros, por turno riguroso llevábamos la botella de cognac. Aquellas horas complementaban maravillosamente la labor de toda la semana. D. José siempre se daba a todos a lo largo de su dilatada y fructífera labor de maestro.

F. MARÍN GIRÓN
Málaga, 20 de mayo de 1993

Importancia aplicativa de la anatomía con vistas a la clínica

J. Jiménez-Castellanos y Calvo Rubio
Catedrático de Anatomía Humana
Universidad de Sevilla

En estas páginas, dedicadas al profesor Escolar revisamos con experiencia personal la evolución de la enseñanza práctica de la Anatomía en los últimos cincuenta años. Se concretan los criterios utilizados para mantener en la actualidad una enseñanza práctica con proyección de utilidad para la clínica

Hemos aceptado la cordial invitación del profesor Sarrat, actual director, para participar en el número 100 de la revista *Anales de Anatomía*, cuando se han cumplido ya los cuarenta años de aquel 1952 en que bajo la experta dirección del profesor Escolar, tomábamos parte desde Granada en la puesta en marcha de esta publicación.

Ahora no sólo nos satisface la oportunidad de colaborar, sino que incluso acogemos con agrado la sugerencia del posible título de nuestra aportación: «Importancia aplicativa de la Anatomía con vistas a la Clínica», porque consideramos que ciertamente así queda reflejado uno de nuestros principales objetivos y preocupaciones por la enseñanza anatómica, desde que hace ya más de cincuenta años entrábamos en contacto con su estudio y conocimiento, que vino a ser un tanto presagio y determinación de nuestra definitiva vocación médica.

La experiencia nos viene demostrando que es interesante desde el presente echar una mirada hacia el futuro para encaminar nuestros proyectos y orientaciones con acierto, pero por otra parte no es menos fundamental el dedicar una ojeada al pasado, porque en él podemos encontrar enseñanzas y experiencias vividas interesantes, que cuentan con el respaldo de realidades fecundas y de experiencias aleccionadoras, tanto en sentido positivo para tenerlas en cuenta, como en el negativo para tratar de evitarlas.

Por ello comprendo ahora, más ostensiblemente lo que ya presentía desde mi juventud, cual es la aportación útil y beneficiosa de la veteranía, que ahora las circunstancias del tiempo transcurrido, me han puesto en condiciones de poder suministrar al servicio de las actuales generaciones, tal como dejábamos constancia en nuestra *Memoria de Cátedra*, redactada hace más de cuarenta años y posteriormente objeto de publicación en sendos trabajos incluidos en los *Anales de la Universidad Hispalense* (1959 y 1960), donde entresacamos nuestros propios proyectos docentes personales, respaldados en la experiencia ajena de los maestros y las oportunas referencias bibliográficas.

Con esa mentalidad me atrevo a ofrecer mi modesta experiencia, que tiene ya una valoración casi de carácter histórico y que me permite tomar en consideración a esas grandes figuras de la Ciencia Médica, que trataron de refugiarse en la Historia de la Medicina, en su etapa final y cuando consideraron culminada su tarea específica y que me llevan al recuerdo concreto de hombres internacionales de la talla fisiológica de un Fulton o neuroanatómica de Magoum, y en el plano nacional mi recuerdo se orienta hacia la figura entrañable de Sánchez de la Cuesta (Guerra, 1983).

La iniciación de mis contactos con la Anatomía estuvo vinculada a una generación de maestros, que simultanearon el cometido docente con el ejercicio profesional, con lo cual parecía lógico que sus enseñanzas anatómicas estuvieran impregnadas de un gran contenido aplicativo y clínico.

Por ello mismo, resultaba afirmación tradicional la necesidad de una sólida formación anatómica, como premisa indispensable para después pretender llegar a ser un buen cirujano.

Incluso en el currículum docente de aquella época, entre la Anatomía y la Cirugía existía un puente de conexión, que venía representado por aquella asignatura designada como «Anatomía Topográfica y Operaciones», que contribuía a facilitar el paso y la correlación entre ambas materias, y que justifica la enorme personalidad de algunas figuras tan señeras como D. Víctor Escribano o D. Antonio Cortés, que desempeñaron muy brillantemente su cometido y que destacamos por citar sólo dos ejemplos muy ligados a mi entorno personal de Granada y Sevilla (Pera, 1975).

Después se deslindaron los campos y junto a las facetas positivas de la especialización, vino también con su aspecto negativo un distanciamiento y antagonismo, que tuvo su expresión en la docencia con la desaparición de esa asignatura puente e incluso de sus contenido, pues en realidad no fue asumido seriamente por ninguna de las dos partes.

Sin embargo, el criterio anatomoclínico hemos procurado mantenerlo en el orden personal y en concreto en aquella parcela que hemos cultivado, por cuanto se refiere a la enseñanza de la Neuroanatomía, donde hemos procurado enlazar ambos aspectos, que incluso pudimos plasmar en el libro de texto, que bajo el título de *Lecciones de Neuroanatomía Clínica*, ha presidido y cubierto con sus ediciones muchos años de enseñanza (1959, 1965, 1975).

Por lo que a nuestra materia suponía, el problema quedó reflejado en una nueva denominación, que englobó las enseñanzas anatómicas bajo el título de «Anatomía descriptiva y topográfica», para después transformarse en sucesivos planes de enseñanza en la denominada «Anatomía humana».

Otra faceta que es digna de comentario por sus vicisitudes docentes evolutivas, ha sido el de la enseñanza práctica anatómica, cuyo cometido empezamos desde nuestra época estudiantil a recibir impartida en una asignatura independiente, que llevaba por título el de «Técnica Anatómica» y cuya enseñanza estaba asignada en calidad de asignatura acumulada al profesor anatómico con el compromiso de asumirla con horario independiente de carácter diario y afectando a la totalidad de los alumnos matriculados, que recibían así una enseñanza cotidiana en la sala de disección y con la base fundamental y exclusiva de la observación y visualización del cadáver.

La importancia de esta labor quedaba reflejada en el propio sistema de selección del profesorado, donde figuraba el terrorífico quinto ejercicio con la doble preparación cadavérica de carácter lento y rápido, de las oposiciones clásicas, que ponía en juego y en entredicho la adeduada preparación de muchos opositores, consituyendo a veces un obstáculo insalvable para que los resultados finales fueran favorables.

Sin olvidar que también constituían un mecanismo de adiestramiento en la práctica quirúrgica, que igualmente había que superar en el transcurso de todas las oposiciones, dignas de tal nombre.

La progresiva escasez del material cadavérico, unido por supuesto a otras circunstancias, como han sido el crecimiento desmesurado del número de alumnos, ha llevado al menoscabo de esta fuente de información, que ciertamente, como ya destacábamos en nuestra *Memoria*, nos proporcionaba una idea «muerta» e «inexacta» de la morfología, pero ello no justifica su abandono, sino más bien su posible sustitución.

Por lo pronto, esta falta aparente de contenido anatómico práctico, ha contribuido en la realidad institucional a la desaparición de la «Técnica Anatómica» y al criterio igualatorio de la «Anatomía» con las demás asignaturas del currículum médico.

Una circunstancia excepcional, representada por la necesidad de pronunciar el preceptivo discurso inaugural del curso 1971 en la Real Academia de Medicina de Sevilla, fue la ocasión solemne en que respaldados por quince años de experiencia docente, expusieramos de nuevo nuestros criterios, de cuyo contenido entresacamos algunos conceptos fundamentales, que vienen muy oportunos en el momento actual al destacar que: «El objetivo fundamental de la enseñanza anatómica era ofrecer al alumno los conocimientos necesarios para su futura orientación profesional médica».

En cuanto a la enseñanza práctica la objetivación de los conocimientos estaba presidida por los siguientes criterios, que también transcribimos: «La realidad vivida en el transcurso de estos años nos permitió resaltar algunos aspectos y por lo que afecta al alumno destacaba la *masificación de la enseñanza*, sumada a la falta de selección previa universitaria, así como el evidente crecimiento de la participación femenina.

Por lo que se refiere al profesorado se hizo necesario su aumento en número y la *figura del Profesor Adjunto*, fue una excelente colaboración para la enseñanza al igual que el *incremento de la dedicación universitaria*, que por lo pronto obligaron a un *trabajo en equipo y coordinado* para que los resultados fueran más eficaces y homogéneos, y por supuesto la aparición del *libro de texto* se convirtió en una necesidad esencial y práctica, no sólo para desterrar los antipedagógicos y nefastos apuntes, sino además para actuar como elemento de unificación y coordinación de los conocimientos impartidos».

Igualmente una novedad introducida fue la conveniencia de contar con la *opinión del alumnado* y recordamos con satisfacción aquellos criterios de aperturismo y auténtica democracia anticipada, que permitían acoger las sugerencias y puntos de vista del elemento estudiantil, valorarlos y tomarlos en consideración a través de encuentros y seminarios.

Es innegable que la enseñanza de la Medicina ha pasado una etapa de crisis de la formación práctica, que fundamentalmente ha estado ligada al crecimiento desmesurado del número de alumnos y la consiguiente plétora, que unida a unos evidentes fallos en la dedicación docente, han hecho muy dificultoso el cumplimiento de darle el contenido práctico adecuado a la enseñanza de la Medicina y como consecuencia ello ha determinado la salida de unas promociones médicas insuficientemente preparadas.

Por ello iniciados bajo el criterio de ese doble horario anatómico, mitad teórico y mitad práctico, comprometidos con él, primero como estudiante y después vivido durante toda nuestra preparación profesoral, tuvimos especial empeño en mantenerlo desde el principio de nuestra etapa de plenitud docente, teniendo que soportar muchas incomprendiones

y dificultades para llevarlo a la realidad, pero comprobando ahora la satisfacción del deber cumplido, sin chaqueteos ni claudicaciones, una vez superada la fase activa de nuestro cometido docente.

Ello ha supuesto la necesidad de ir evolucionando y dándole contenido oportuno y útil a la enseñanza práctica y a la vez de utilidad clínica, tratando de sustituir y suplir al cadáver, cuando faltó o fue insuficiente, sin aferrarnos a su absoluta necesidad, sino todo lo contrario procurando reemplazarlo por otra serie de medios y aportaciones, fuentes de una morfología viva, que allá en nuestra *Memoria de Cátedra*, proponíamos como soluciones hipotéticas e inalcanzables, por su excepcionalidad y carestía, pero que después la evolución ha ido progresivamente poniendo a nuestro alcance.

En este sentido tenemos que destacar ante todo el valor de la radiología clásica, que nos permitieron conseguir unas instalaciones radiológicas anatómicas, que fueron incorporadas a la docencia y la investigación, como tuvimos ocasión de poner de manifiesto en el trabajo: «Experiencia sobre las posibilidades de los métodos radiológicos en la docencia e investigación morfológicas» (1977), que publicamos en el número extraordinario del volumen XXV de *Anales de Anatomía* y donde se destacaba la importancia de los métodos radiológicos aplicados a la enseñanza anatómica, así como con orientación morfológica y aplicativa se pasaba revista a treinta trabajos realizados por nuestro equipo de colaboradores con el fundamental respaldo de las técnicas radiológicas, agrupándolos en estudios angiográficos, osteoarticulares, neuroradiológicos, estereotáxicos y de neuroradiología periférica.

Por otra parte, no cabe duda que la reproducción fotográfica incrementada y magnificada por el color ha venido a constituir un elemento enriquecedor para el estudio y la reproducción exacta de la morfología y todo ello concretado en la iconografía de los atlas, la diapositiva, la transparencia, el cine o el vídeo, que vienen a representar excelentes medios de enseñanza práctica anatómica, que rebasan con creces el pasado y que están puestos al servicio de nuestras actuales posibilidades docentes.

Por ello vuelven a tener vigencia nuestras palabras de 1971: «La disección con las vicisitudes de escasez cadavérica, que ha destacado en estas últimas etapas docentes, se ha mantenido como fuente anatómica en su justa medida, habiendo huido de los extremos perniciosos, ni hipertrofiando su valor para centrar toda la Anatomía en la Disección, ni por el contrario justificar en la escasez de cadáveres la renuncia absoluta al estudio analítico de los mismos».

Sin menoscabo de las actividades de la «Técnica Anatómica» clásica, la «Anatomía radiográfica», simple y contrastada, las «Imágenes endoscópicas», la «Técnica fotográfica y cinematográfica», vienen a constituir las bases de una «Técnica Anatómica» moderna y actualizada.

Por otra parte a partir de 1973 y con motivo del nacimiento de la tomografía axial computarizada (Ambrose, 1973), complementada y perfeccionada por la ecografía y la resonancia nuclear magnética y su progresiva divulgación y perfeccionamiento han puesto al alcance anatómico de la enseñanza un material y un nuevo enfoque de la bautizada «Anatomía tomográfica», que nos obliga a familiarizar el estudio con esta nueva forma planigráfica de considerar la Anatomía, estableciendo las adecuadas correlaciones anatomoclínicas en una serie de trabajos: «Fundamentos morfológicos de la tomografía axial computarizada craneo-encefálica» (Jiménez-Castellanos, Jr., 1979), «cervical» (Aragón, 1984), «craneo-encefálica según planos de sección frontal o coronal» (Catalina, 1984).

Con estos fundamentos es lógico que reclamemos las imágenes normales fruto de la exploración clínica, como manifestaciones morfológicas vitales, para su adecuado estudio, interpretación y base de la enseñanza anatómica práctica y aplicativa actual.

A ello tenemos que agregar que todos estos medios de formación morfológica, afectan por igual a cualquier médico, quedando así eliminado el antiguo tópico anatomo-quirúrgico, ya que todos simultáneamente tienen que familiarizarse con su interpretación clínica, como

condición previa al adecuado diagnóstico, independientemente de sus futuras preferencias profesionales médica o quirúrgicas.

En definitiva, al margen de la exclusividad morfológica del profesorado y sus muy específicas preferencias de investigación, en cambio en el terreno docente debe prevalecer el criterio médico de integración en una formación clínica y aplicativa, prevaleciendo esta visión amplia, que se puede ejercer personalmente o a través del equipo, para de esa manera evitar cualquier aislamiento o distanciamiento hacia la clínica, impropio e inadecuado.

Por otra parte lo adecuado de estos criterios viene respaldado por el apoyo y la conformidad que ahora vamos recibiendo de las distintas promociones que al celebrar sus bodas de plata profesionales nos reiteran con la aprobación de su experiencia la oportunidad del camino y la trayectoria adoptadas.

Por último, debo dejar constancia que muy recientemente he sido requerido por el *Boletín de la Sociedad Anatómica Española* para colaborar en la sección: «La Anatomía vista por...», y que actualmente figuran en prensa (1993) las ideas y puntos de vista que me ha exigido esta aportación.

He procurado deslindar campos y creo que ambas colaboraciones se complementan, pero no conviene olvidar que los problemas planteados en gran parte son comunes y han sido tratados por la misma autoría y en simultaneidad de fechas, aunque con una relativa prioridad de la que aquí quiero dejar constancia postrera.

BIBLIOGRAFÍA

- AMBROSE, J.A.E. (1973): Computerized transverse axial scanning (tomography): Clinical application. *Brit. Jour. Radiol.*, **46**, 1.023-1.047.
- ARAGÓN, M.J. (1984): Fundamentos anatómicos de la tomografía axial computarizada vertical. (Tesis Doctoral). Universidad de Sevilla.
- CATALINA, C.J. (1984): Fundamentos morfológicos de la tomografía computarizada craneo-encefálica según planos de sección frontal o coronal. (Tesis Doctoral). Universidad de Sevilla.
- GUERRA, P.F. (1983): El profesor SÁNCHEZ de la CUESTA historiador de la Medicina. Sevilla. Sesión necrológica, 51-63.
- JIMÉNEZ-CASTELLANOS, J. Jr. (1979): Fundamentos morfológicos de la tomografía axial computarizada craneo-encefálica. (Tesis de licenciatura). Universidad de Sevilla.
- JIMÉNEZ-CASTELLANOS, J. (1959): Consideraciones conceptuales sobre la Anatomía actual. *Anal. Univ. Hisp.*, **19**: 13-33.
- JIMÉNEZ-CASTELLANOS, J. (1959): Lecciones de Neuroanatomía Clínica. Ed. 1959, 1965, 1975. G.E.H.A. Sevilla.
- JIMÉNEZ-CASTELLANOS, J. (1960): Consideraciones sobre la enseñanza anatómica. *Anal. Univ. Hisp.*, **20**: 1-34.
- JIMÉNEZ-CASTELLANOS, J. (1971): El hoy y el ayer de la enseñanza anatómica sevillana. *Anal. Med. de Sevilla*, **10**: 289-307.
- JIMÉNEZ-CASTELLANOS, J. (1977): Experiencias sobre las posibilidades de los métodos radiológicos en la docencia e investigación morfológicas. *Anal. Anat.*, **25**: número extraordinario, 147-158.
- JIMÉNEZ-CASTELLANOS, J. (1993): La Anatomía vista por... *Bol. Soc. Anat. Esp.* (en prensa).
- PERA, J.C. (1975): La vida y la obra de D. Antonio Cortés: Biografía de un cirujano. *Anal. Univ. Hisp.*, **23**: cap. IV.

Correspondencia: Dr. Juan Jiménez Castellanos
C/ Conteros 9
41004 Sevilla. España

*Cervantes' anatomical terms
in his poem the ingenious gentleman
Don Quixote de la Mancha*

J.A. Henríquez-Pino

Department of Basic Science, Facultad de Medicina
Universidad de la Frontera, Temuco, Chile.

L.J.A. DiDio

Medical College of Ohio, USA

A.J.C. Bezerra

Centro de Ciências de Saúde, Universidade de Brasília, Brazil

Introduction

Within our program of studies on the relationship between Anatomy, Art, and Literature, where we attempt to emphasize the humanistic aspects of Morphology, far beyond the limits of the pure scientific field, we decided to recognize the anatomical terminology used by Cervantes (1605), in his poem, popularly known as *Don Quixote* (De Riquer, 1971).

Previous publications, following this line of study, to identify anatomical terms and descriptions related to the real or fictional human body in classic poems or plays, dealt with Alighieri's *Divine Comedy* (DiDio, 1984); Camões' *Lusiadas* (Pina, Correia and DiDio, 1984); Artistic vision of *The Lesson of anatomy* (Bezerra, DiDio, and Prates, 1988); Tulp's and Deyman's *Lessons of Anatomy* painted by Rembrandt (Bezerra, DiDio and Prates, 1988); Homer's *Iliad* (Bezerra, DiDio and Piva-Jr., 1991); Dissection of Rembrandt's *Anatomy of Dr. Nicolaus Tulp* (Bezerra, DiDio and Piva-Jr., 1991); Ercilla y Zuniga's *Araucana poem* (Rodríguez-Torres and Henríquez-Pino, 1992) and Shakespeare's *Hamlet* (DiDio, 1993). In these articles the authors identified, interpreted, translated, counted and commented on the anatomical or biomorphological terms contained in the literary and artistic masterpieces. The same study was carried out in Cervantes' poem, namely, listing the Spanish words, their Latin equivalents in the present anatomical terminology, the number of times each word was used in the poem and the classification according to their general meaning and the main portions of the human body.

Among the numerous editions of Cervantes' *Don Quixote* we decided to base the study on the Spanish text of Miguel Cervantes Saavedra's *Don Quijote de la Mancha* presented with notes by De Riquer (1971), limiting our observations to the I first volumen, I part.

According to the preliminary note of De Riquer, prefacing the edition of 1971, he followed in turn the first edition, published by Juan de la Cuesta (first part, Madrid, 1605), modernized the orthography, respecting the «contexture of typical words of the time and of the author» and as far as the poem first part is concerned he consulted, among others, in other languages, the translation by Shelton (1612).

Our study showed that Cervantes used many anatomical terms, some of which are adopted officially by the Federative Committee on Anatomical Terminology of the International Federation of Associations of Anatomists. In addition, we found vulgar or popular biomorphological words, corresponding to the style of the language of Cervantes. These terms were used a number of times (indicated after each term), and are included in the following list (in Spanish and Latin). Such a list comprises words that a stricter anatomical criterion may exclude, and omitting others that a more liberal approach may consider part of the anatomical terminology. Cervantes' words similar to anatomical terms currently in use are underlined.

The total number of anatomical terms used in the first part of *Don Quixote* is 91, classified as follows:

General terms	19
Head	32
Neck	3
Trunk	2
Thorax	7
Abdomen	11
Superior member	10
Inferior member	7

Each of the words used by Cervantes could be the subject of a special study. For example, the terms tooth or teeth (*dens, dentes*), found 23 times in our survey, were recently discussed by Tenenbaum (1986) in his paper «Cervantes, Don Quijote y los dientes», emphasizing that the poet «made a personal confession as his words report his unlucky experience in this field». He added that «it was the feeling of a man who indicated the irreparable loss of his own teeth with aging»...

In this first article, we limited our study only to the identification of the anatomical terms, the number of times they were used by Cervantes and their topographical classification in the human body.

Asadura(s)	- intestinun tenue	1	Martillo	- malleus	1
Barba	- barba	39	Mejilla	- buca	3
Barriga	- venter, abdomen	1	Mollera	- fonticulus	2
Bigote	- pili labii superioris	3	Muela(s)	- molares	11
Boca	- os, cavitas oris	45	Muñeca	- pulsus ²	8
Brazo	- brachium	98	Músculo(s)	- musculus(i)	1
Cabello(s)	- capilli	23	Muslo(s)	- femur (femora)	4
Cabeza	- caput	91	Nariz	- nasus	8
Cara	- facies	7	Nervios	- nervi	1
Carne(s)	- musculus(i)	24	Notomia	- anatomia	1
Carrillo	- gingiva	2	Oído	- auditus, auris	74
Ceja(s)	- supercilium(a)	5	Ojo(s)	- oculus(i)	124
Cintura	- cingulum	3	Olfato	- olfactus	3
Codo	- cubiti	2	Oreja	- auris, auricula	13
Cogote	- colli	2	Ossa	- ossa	1
Cola	- cauda	6	Palma	- palma	3
Corazón	- cor	48	Panza	- venter	1
Cordal	- molaris tertius	1	Pata(s)	- pes (pedes)	1
Costal	- costalis	5	Pecho	- pectus	53
Costilla	- costa	14	Pelo	- pili	4
Cuello	- collum	15	Pelli(s)	- pellis, cutis	1
Cuero	- cutis, pellis	13	Pestaña(s)	- cilium(a)	2
Cuerpo	- corpus	68	Piel	- pelis	1
Cuerpo human	- corpus humani	1	Pierna(s)	- crus (crura)	17
Dedo(s)	- ditutus(i)	12	Pie	- pes	130
Diente(s)	- dens (dentes)	23	Puño	- pugnus	8
Entraña(s)	- viscera ¹	3	Quijada	- mandibula	4
Espalda(s)	- dorsum	20	Rabo	- cauda	3
Espinazo	- spinae	2	Rodilla	- genu	13
Estomago	- stomachus, ventriculus	14	Rostro	- facies	61
Estribo	- stapes	1	Sangre	- sanguis	39
Frente	- frons	2	Seno	- sinus	5
Garganta	- fauces	5	Sentido	- sensus	1
Gusto	- gustus	87	Sesos	- cerebrum	5
Higado	- hepar	1	Siens	- tempora	1
Hombro	- regio deltoidea	16	Tacto	- tactus	1
Hueso(s)	- os (ossa)	10	Tobillo	- tarsus	1
Ijada	- latus	2	Tripa(s)	- intestinum	3
Insula	- insula	31	Tronco	- truncus	1
Islilla	- axilla	1	Uña	- unguis	1
Laberinto	- labyrinthus	6	Vellos	- villi	1
Labio(s)	- labium, labia	8	Vena(s)	- vena(e)	1
Lagrima(s)	- lacrima(e)	46	Ventre	- venter	2
Lengua	- lingua	47	Yunque	- incus	1
Lomo(s)	- lumbus(i)	4	Zanca	- membrum inferior	1
Mano	- manus	232			

¹ Vide Didio (1984)² Possibly articulatio radiocarpalis

Conclusions

1. The anatomical term most used by Cervantes was *mano* (manus) –hand– as we found it 232 times in the poem, followed by *pie* (pes) –foot– (130 times); *ojo* (oculus) –eye– (124 times); *brazo* (brachium) –arm– (98 times); *gusto* (gustus) –taste– (87 times); *oído* (auris) –ear– (74 times); *cuerpo* (corpus) –body– (68 times); *rostro* (facies) –face– (61 times); *pecho* (pectus) –breast– (53 times); *corazón* (cor) –heart– (48 times); *lengua* (lingua) –tongue– (47 times); *lágrimas* (lacrimae) –tears– (46 times); *boca* (cavitas oris) –buccal cavity– (45 times); *barba* (barba) –beard– and *sangre* (sanguis) –blood– (39 times); *ínsula* (insula) –ínsula– (31 times); *carne* (musculus) –muscle– (24 times); *espalda* (dorsum) –loin– (20 times); *pierna* (crus) –leg– (17 times); *hombro* (regio deltoidea) –shoulder– (16 times); *cuello* (collum) –neck– (15 times); *costilla* (costa) –rib– and *estómago* (ventriculus) –stomach– (14 times); *oreja* (auricula) –ear–, *rodilla* (genus) –knee– and *cuero* (pellis) –skin– (13 times); *dedos* (digiti) –fingers– (12 times); *muelas* (molares) –molars– (11 times); *huesos* (ossa) –bones– (10 times); *labio* (labium) –lip–, *muñeca* (pulsus) –wrist–, *nariz* (nasus) –nose– and *puño* (pugnis) –fist– (8 times); *cara* (facies) –face– (7 times); *laberinto* (labyrinth) –and *cola* (cauda) –tail– (6 times); *cejas* (supercilia) –eyebrows–, *costal* (costalis) –costal–, *garganta* (fauces) –throat–, *sesos* (cerebrum) –brain– and *seno* (sinus) –sinus– (5 times); *lomo* (lumbus) –loin–, *muslo* (femur) –thigh–, *pelo* (pilus) –hair– and *quijada* (mandíbula) –mandible– (4 times); *bigote* (pili labii superioris) –moustache–, *cintura* (cingulum) –girdle–, *entraña* (viscera) –viscera–, *mejilla* (bucca) –cheek–, *olfato* (olfactus) –smell–, *palma* (palma) –palm–, *rabo* (cauda) –tail– and *tripas* (intestinum) –intestine– (3 times); *codo* (cubiti) –elbow–, *cogote* (colli) –neck–, *carrillo* (gingiva) –gum–, *espinazo* (spina) –dorsum–, *frente* (frons) –forehead–, *ijada* (latus) –lumbar region–, *mollera* (fonticulum) –fontanel–, *pestaña* (cilium) –eyelash– and *ventre* (venter) –abdomen– (2 times); *barriga* (abdomen) –abdomen–, *cuerpo humano* (corpus humani) –human body–, *estribo* (stapes) –stirrup–, *hígado* (hepar) –liver–, *isilla* (axilla) –axilla–, *martillo* (malleus) –malleus–, *músculo* (musculus) –muscle–, *anatomía* (anatomia) –anatomy–, *nervios* (nervi) –nerve–, *ossa* (ossa) –bones–, *pellis* (pellis) –skin–, *pata* (pes) –foot–, *panza* (venter) –abdomen–, *piel* (pellis) –skin–, *sentido* (sensus) –sense–, *sienes* (tempora) –temples–, *tronco* (truncus) –trunk–, *tacto* (tactus) –touch–, *tobillo* (tarsus) –ankle–, *uña* (unguis) –nail–, *vellos* (villi) –hairs–, *venas* (venae) –veins–, *yunque* (incus) –incus– and *zanca* (membrum inferior) –inferior member– (1 time).

2. Anatomical general terms were used 19 times, less than those related to the head (32 times). The terms pertaining to the head were the most frequently used.

3. At least 37 words bear a close resemblance to anatomical terms currently in use.

REFERENCES

- BEZERRA, A.J.C.; DIDIO, L.J.A. and PRATES, J.C. (1988): As Aulas de Anatomia. Uma visão artística. *Anales de Anatomia Normal*. Santiago de Chile, **6**: 221-227.
- BEZERRA, A.J.C.; DIDIO, L.J.A. and PRATES, J.C. (1988): As Aulas de Anatomia, dos Professores Tulp e Deyman, segundo Rembrandt. *Anales de Anatomia Normal*. Santiago. Chile, **6**: 228-230.
- BEZERRA, A.J.C.; DIDIO, L.J.A. AND PIVA, Jr. L. (1991): Dissection of Rembrandt's. *Anatomy of Dr. Nicolaas Tulp*. *Arch. Ital. Anat. Embriol.*, **96(2)**: 153-164.
- BEZERRA, A.J.C.; DIDIO, L.J.A. and PIVA, Jr. L. (1991): Términos anatómicos en la *Ilíada* de Homero. *Rev. Chilena Anat.*, **9**: 73-77.
- DIDIO, L.J.A. (1993a): Anatomical terminology in Shakespeare's *Hamlet* (In preparation).
- DIDIO, L.J.A. (1948): Generalidades sobre a esplanchnologia: conceito de viscera. *Rev. Med.*, **32**: 187-198.
- RODRIGUES-TORRES, A.J. and HENRIQUEZ-PINO, J.A. (1992): Términos anatómicos en la *Araucana*. *Archivos Anatómicos de Costa Rica*, **1**: 152.
- SHELTON, THOMAS (1612): *The history of the valerous and wittie knight-errant don Quixote of the Mancha*. London, apud De Riquer.

THENENBAUM, L. (1986): Cervantes, Don Quijote y los dientes. *Acta Odontológica Venezolana*, **24(1)**: 51-56.
RIQUER, M. de (1971): Miguel de Cervantes de Saavedra. Don Quijote de la Mancha. Santiago. Chile. La casa del Libro. Barcelona. Editorial Juventud. 7th. edition. I tomo. Primera parte.

Correspondencia: J.A. Henríquez-Pino
Dep. Basic. Ciencia.
Fac. Medicina
Universidad de la Frontera
Temuco. Chile

*Un análisis de la creación de Adán
de Miguel Ángel
basada en la anatomía funcional*

J.M. Smith-Ágreda, I. Fernández-Ortega y V. Smith-Fernández
Departamento de Morfología Normal y Patológica.
Facultad de Medicina. Universidad de Málaga

«Y dijo Dios: hagamos al ser humano a nuestra imagen, como semejanza nuestra(...)» (Génesis 1,26)
«Entonces Yahveh Dios formó al hombre con polvo del suelo(...)» (Génesis 2,7)
«Dijo luego Yahveh Dios: No es bueno que el hombre esté solo. Voy a hacerle una ayuda adecuada(...),
formó una mujer y la llevó ante el hombre.» (Génesis 2,18,23)

En 1984 (5), publicamos en colaboración con otros compañeros un Atlas basado en el concepto anatómico funcional y aplicativo de los sistemas neuromusculares que Escolar introdujo en la docencia. El estar agotado este Atlas ya hace algunos años nos permite referirnos a él. A modo de Anatomía de superficie y bioscópica acompañábamos, a los esquemas, dibujos de obras de Arte (esculturas o pinturas) en las que acciones de músculos inervados por un nervio común se integraban dotando de mayor fuerza expresiva la intención que el artista había dado a su obra.

Recurrimos a obras desde el s. IV a. de C. hasta el s. XX d. de C. Nos sorprendió el conocimiento de la Anatomía de los artistas en estos últimos 24 siglos de la humanidad. A la obra de Miguel Ángel Buonaroti acudimos dos veces: una escultura, *David* (1501-1504) para referirnos a cabeza y cuello, y un fragmento de sus frescos del techo de la capilla Sixtina, la *Creación de Adán* (1508-1512) para el sistema neuromuscular del mediano.

En el comentario sobre el David decíamos: «*todo el sentido evolutivo en nuestra especie es conseguir una masa telencefálica lo suficientemente bien organizada para que pueda dar respuesta a lo que el hombre significa, ser creado a imagen y semejanza de Dios(...)*» y en el referente a la *Creación de Adán*: «*quizás Miguel Angel quiso conseguir todo el significado de la creación del hombre centrandó nuestra atención en ese aproximarse la mano divina y la humana resaltando en las dos los dedos sobre los que actúa fundamentalmente la acción de pinza del sistema del mediano, como expresión del matiz que permitió a un esquema pentadáctilo la posibilidad de conseguir la plenitud de evolución de nuestra mano*» (5).

Buonaroti, muerto días antes de sus 90 años postnatales hizo el *David* antes de cumplir 30 (26-29) y antes de los 40 (33-37) los frescos del techo de la capilla Sixtina (2).

Meshberger (4) ve en la *Creación de Adán* un tercer «protagonista» (Fig. 2). Este protagonista es lo que está a punto de recibir Adán y lleva al autor citado a proponer que este fresco debería de llamarse más apropiadamente, «La dotación de Adán». Termina su artículo con estas palabras: «*The important point, however, is not to identify minute neuroanatomic structures in the fresco, but to see that the larger image encompassing God is compatible with a brain. Michelangelo portrays that what God is giving to Adam is the intellect, and thus man is able to «plan the best and highest» and to «try all things received».*

Nosotros queremos centrarnos en las actitudes que Miguel Ángel eligió para los miembros superiores y en la interpretación que subyace.

Miembros superiores izquierdo de Adán y derecho de Dios

El cerebro con las características del de nuestra especie es capaz de recibir información, integrarla y procesarla hasta el punto de elaborar un comportamiento que nos hace responsables de nuestros actos. Este cerebro necesita de una herramienta que le aporte datos, que materialicen sus decisiones permitiéndole que perfeccione sus planteamientos y comportamientos, en una maduración progresiva. Esta herramienta es la mano.

En la pintura de Miguel Ángel el foco de atracción son las manos que casi se tocan (Fig.. 3). Dice Arbour (1): «*Tal vez no haya en toda la historia de la pintura nada tan conmovedor como el gesto de estas dos manos tan cercanas que se sienten sin tocarse*». Creemos es en la mano donde mejor se ve el sentido del Génesis: «... *formó al hombre con polvo del suelo*» (3).

La extremidad pentadáctila aparece en los anfibios en la era Paleozoica o Primaria en el periodo Devónico hace algo más de 360 millones de años. El hombre aproximadamente aparece hace dos (*Homo habilis*), y tan sólo cuarenta mil años el *Homo sapiens sapiens*.

La evolución de esa mano pentadáctila ha seguido diferentes derroteros. En la mayor parte de animales su evolución la podríamos admitir como más complicada que en el hombre. Ha tendido a suprimir dedos empezando por el primero, precisamente el dedo que para la evolución del hombre ha sido clave transformando su articulación metacarpo-carpiana en una que le permitiera oponibilidad a los demás dedos. Otros animales siguieron suprimiendo dedos perfeccionando un apoyo y contundencia que les permitió resolver sus problemas pero, en la huida o en su fuerza bestial.

Los animales más próximos a nosotros, los póngidos (monos antropomorfos) desarrollaron un mecanismo de braquiación, consiguiendo cuatro manos en vez de dos pero sin alcanzar la oponibilidad.

Ha sido un toque poco sofisticado en la evolución del hombre lo que permitió que un logro, la pentadactilia conseguida en la era Primaria transformara su miembro superior, una vez conseguida la bipedestación, en la herramienta que necesitaba para hacer progresar y manifestarse el don del intelecto que haría al hombre: «... *como semejanza de Dios*» (3).

Bonarotti podría haber desarrollado otra composición:... Dios infundiendo su aliento de vida, ... tocando la frente de Adán, ... despertando sus sentidos, cualquiera en las manos y el intelecto de Miguel Ángel habrían sido ejecutadas magistralmente, pues a pesar del —«yo no soy pintor»— de sus disputas con Julio II, el progreso desde la primera escena que realiza en la capilla Sixtina, la *Embriaguez de Noé* hasta la *Creación de Adán* es constante y como escribe Arbour (1): «... *En estrecha comunión con esas frases del Génesis, que repite sin cesar y que se graban en él tan profundamente que acaba por traducirlas tanto con su alma como con su mano creadora*». Pero... es la mano en actitud de expresar la acción del sistema neuromuscular del nervio mediano que al actuar en ese dedo oponible permitía: «... *pinzar los objetos proporcionándonos la herramienta que nos dotaría del lenguaje de la escritura y de la expresión gráfica, materializando en el trabajo y el arte el poder creador de nuestra mente*» (5) la elegida por Miguel Ángel. Como propone Meshberger se trata de la «dotación de Adán» no de su creación (4).

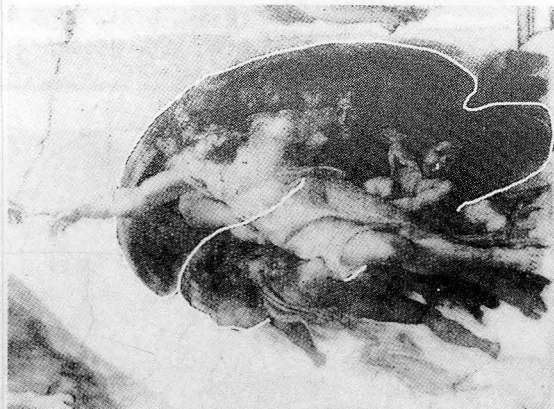
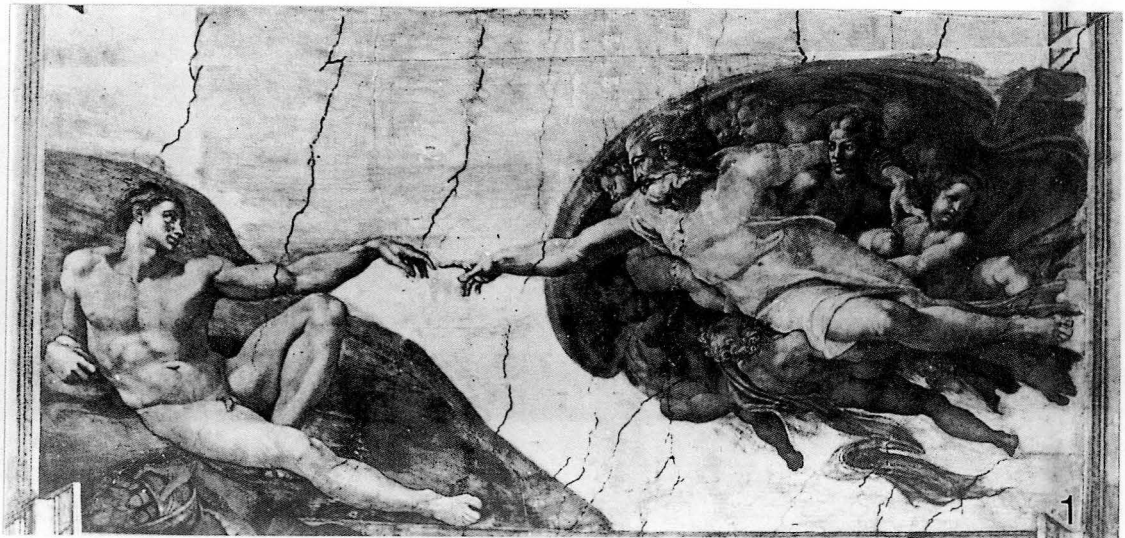


Figure 12.

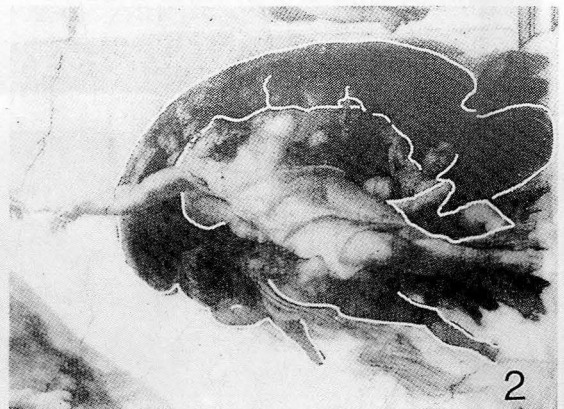
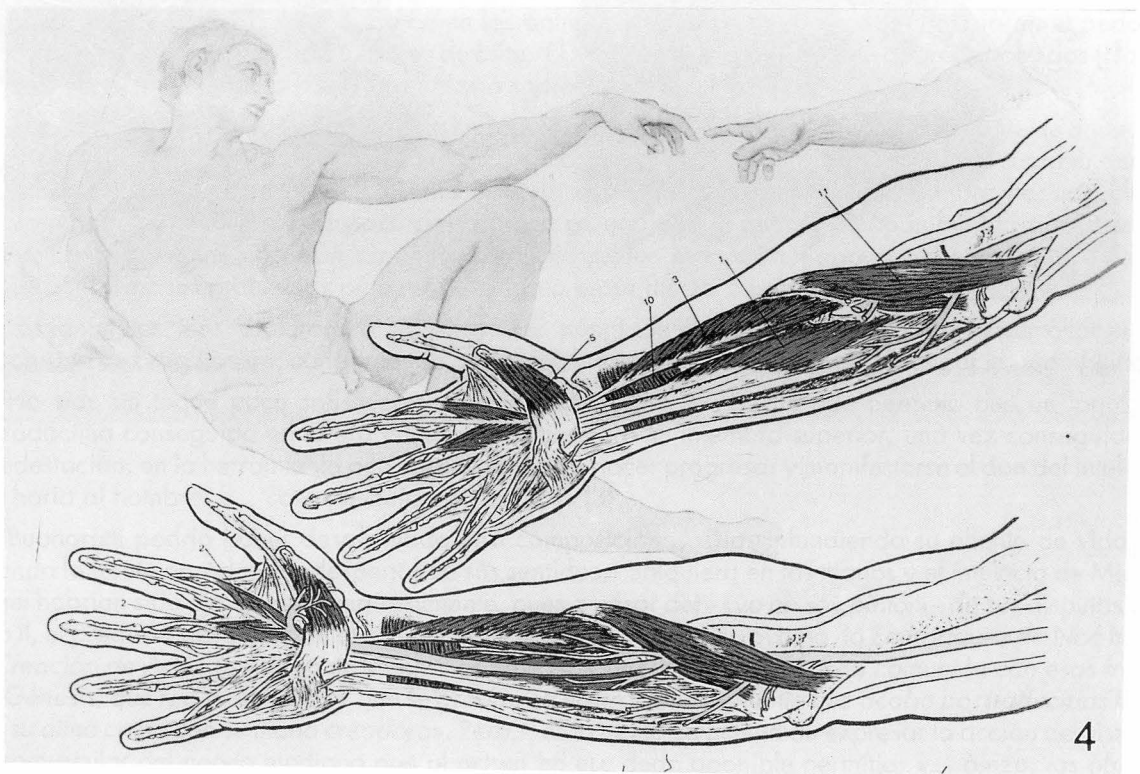
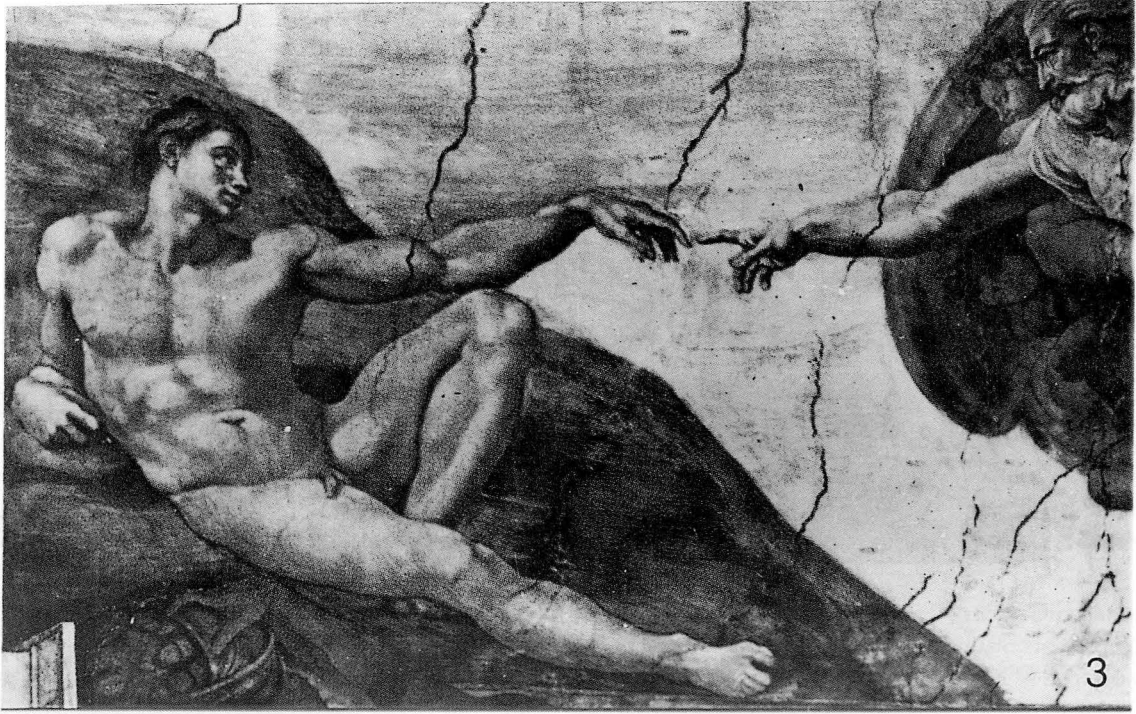


Figure 13.



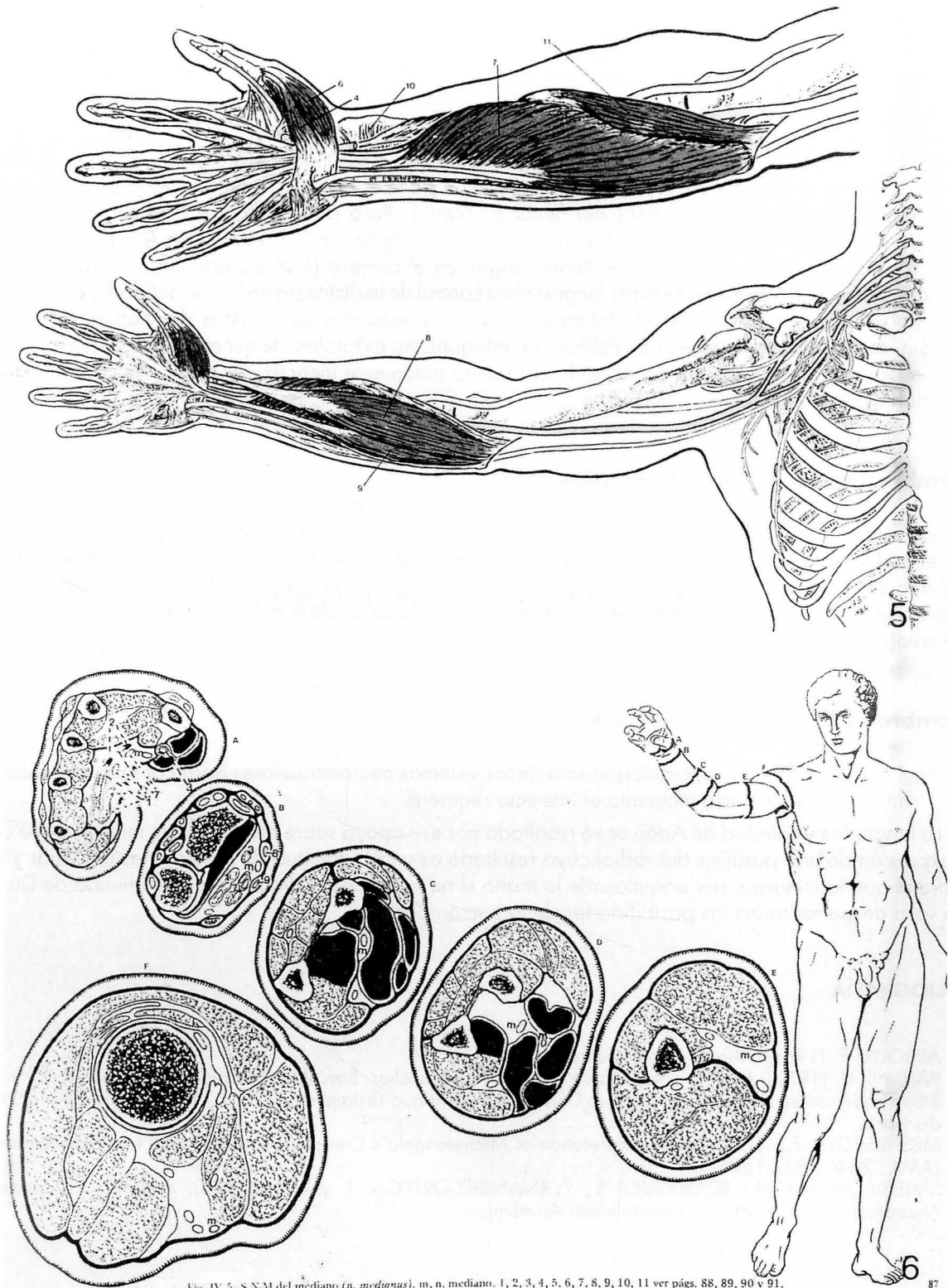


Fig. IV 5. S.N.M del mediano (*n. medianus*). m, n, mediano. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ver págs. 88, 89, 90 y 91.

Si repasamos los músculos de este sistema del mediano (Figs. 4, 5 y 6) podemos ir reconociendo sus funciones en el foco de atracción de la pintura que nos ocupa (Fig.. 3).

La pronación (*pronator cuadratus et p. terex*) y la flexión de la muñeca (*flexor carpi radialis et palmaris longus*) orientan la mano. Para realizar la pinza pequeños músculos que se integran en la eminencia tenar (expresión de que en evolución los logros trascendentes no son el resultado de planteamientos sofisticados) actúan sobre el primer dedo separándolo (*abductor pollicis brevis*), oponiéndolo (*opponens p.*) y flexionándolo (*fasciculus superficialis del flexor p. brevis*). Para dar eficacia a la pinza necesitamos músculos de fuerza en sus dos ramas (*f. pollicis longus et f. digitorum 2-3 profundus*). Ligera flexión en el codo por los músculos del sistema que tienen origen en el húmero (*f. d. superficialis, f. carpi radialis, pronator terex y el inconstante palmaris longus*) para control de la distancia en la que actúa el pinzamiento. Los lumbricales 1 y 2 flexionando la falanges proximal y extendiendo las otras dos hablan de que en Biología, como debiera acontecer en Política, el antagonismo es totalmente necesario para que la acción de un sistema sea efectiva y no quede en la caricatura totalmente ineficaz del poder ejercido anulando la acción moduladora de la oposición.

Miembro superior izquierdo de Dios (Figs. 1 y 2)

Los sistemas neuromusculares se coordinan en esa actitud de abrazo sobre Eva y como arrastrando tras ella el «intelecto» que habla Meshberger. Además del intelecto y del sistema neuromuscular del mediano en plenitud como dotación del hombre podría interpretarse que Miguel Ángel considera que en la dotación de la humanidad la mujer es tan necesaria como la del intelecto «(...) no es bueno que el hombre esté solo(...) formó una mujer y la llevó ante el hombre» (3).

Miembro superior derecho de Adán (Fig. 3)

Aquí volvemos al agonismo-antagonismo de los sistemas neuromusculares para conseguir la eficacia del movimiento que en cada momento el intelecto requiera.

La languidez y soledad de Adán se ve resaltada por ese apoyo sobre el codo de un miembro que casi es expresión de una parálisis del radial cuyo resultado es un predominio de los sistemas del ulnar y del mediano que terminarían por anquilosarle la mano si no fuera por el dinamismo que inmana de Dios y que va a despertar todas las posibilidades de la humanidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. ARBOUR, R. (1966): Miguel Ángel. Barcelona, Daimon.
2. BALDINI, U. (1977): La obra completa de Miguel Angel escultor. Barcelona-Madrid, Noguer S.A.
3. Biblia de Jerusalem ilustrada por Gustavo Doré. Tomo I. Antiguo Testamento (1985). Madrid, Club Internacional del Libro.
4. MESHBERGER, F.L. (1990): An interpretation of Michelangelo's Creation of Adan based on Neuroanatomy. JAMA. **264**: 1837-1841.
5. SMITH-ÁGREDA, J.M.; RODRÍGUEZ S.; FERNÁNDEZ-ORTEGA, I. y cols. (1984): Atlas de los Sistemas Neuromusculares. Málaga, Departamento Anatómico.

Correspondencia: Dr. J.M. Smith-Agreda
Cátedra de Anatomía
Facultad de Medicina
Universidad de Málaga
29071 Málaga. España

ARTÍCULOS Y REVISIONES

SINAPSIS ABIERTAS EN EL NÚCLEO ARCUATO DEL HIPOTÁLAMO DE RATAS TRATADAS CON ESTRÓGENOS

OPEN SYNAPSES IN THE HYPOTHALAMIC ARCUATE NUCLEUS OF ESTROGEN TREATED RATS

**P. AMAT, F.E. PASTOR, J.L. BLÁZQUEZ, A.J. ÁLVAREZ-MORUJO, D. TORANZO,
B. PELÁEZ, A. SÁNCHEZ, y G. AMAT-PERAL**

Departamento de Anatomía e Histología Humanas y Departamento de Investigación y Microscopía Electrónica,
Hospital Clínico Universitario. Facultad de Medicina de Salamanca

SUMMARY

The present work reports on the existence of synaptic modifications in the hypothalamic arcuate nucleus (ARCN) that may be related to the synaptic plasticity. This work was carried out in twenty male Sprague-Dawley rats treated with estradiol valerate (EV-treated rats) during the first 30 days of age (total dose 2 mg), in twenty animals injected with vehicle solution (ethyl oleate) (control rats) and in twenty untreated rats. All the animals were sacrificed at 150 days of age and the territories including the ARCN were processed for conventional electron microscopy. In the untreated and control rats, but especially in EV-treated rats, we observed the existence of communications between the pre- and postsynaptic elements in some axo-somatic and axo-dendritic synapses of the ARCN, which are referred to by our group as «open synapses». Moreover, we visualized other modifications of the synapses of the ARCN that may indicate a sequential event in the formation of the open synapses. This sequence comprises several stages: a) the presence of fusion zones between the pre- and postsynaptic membranes; b) the existence of membranous vesicles bound to pre- or postsynaptic membranes or to both; c) the disappearance of synaptic membrane fusion zones.

We propose that open synapses are a transient event caused by synaptic plasticity. Thus, the increased number of open synapses in the EV-treated rats sacrificed at 150 days of age, as compared to the normal and control animals, may be due to the well-known effects of estrogens upon synaptogenesis and synaptic remodelling.

KEY WORDS: Synapses. Arcuate nucleus. Estrogens. Rat.

RESUMEN

El presente trabajo describe la existencia de modificaciones en las sinapsis del núcleo arcuato del hipotálamo (NARC) de rata, las cuales pueden deberse a la plasticidad sináptica. En este trabajo hemos utilizado 20 ratas machos de la cepa Sprague-Dawley tratadas con valerianato de estradiol durante los 30 primeros días de vida (dosis total 2 mg) (ratas EV), 20 animales inyectados con la solución vehículo del valerianato de estradiol (oleato de etilo) (ratas control) y 20 ratas normales. Todos los animales se sacrificaron a los 150 días de edad y los territorios que contenían el NARC se procesaron para microscopía electrónica de transmisión. Hemos observado la existencia de comunicaciones entre los elementos pre- y postsinápticos en algunas sinapsis axosomáticas y axodendríticas del NARC, en todos los grupos de animales, pero especialmente en los tratados con valerianato de estradiol. Estas comunicaciones han sido denominadas por nosotros sinapsis

abiertas. Además, hemos observado otras modificaciones de las sinapsis en el NARC que pueden indicar un proceso secuencial en la formación de las sinapsis abiertas. Dicha secuencia comprende varios estadios: a) presencia de zonas de fusión entre las membranas pre- y postsináptica; b) existencia de vesículas membranosas unidas a las membranas presináptica, postsináptica o a ambas; c) desaparición de las zonas de fusión de la membrana sináptica.

A nuestro juicio las sinapsis abiertas son un fenómeno transitorio debido a la plasticidad sináptica. La mayor frecuencia con que se observan las sinapsis abiertas en las ratas tratadas con valerianato de estradiol, en comparación con los animales normales y controles, puede ser debida a los efectos bien conocidos de los estrógenos sobre la sinaptogénesis y la remodelación sináptica.

PALABRAS CLAVE: Sinapsis. Núcleo arcuato. Estrógenos. Rata.

Introduction

As long ago as 1981 (Amat *et al.*, 1981a), using transmission electron microscopy we were able to detect in some synapses the presence of pores or windows that communicate axon terminals with postsynaptic elements (somata of neurons, dendrites, axons). We termed this type of synapses «open synapses».

These open synapses have been seen in the arcuate and supraoptic nuclei of the hypothalamus of untreated rats and also of rats subjected to different experimental conditions (Amat *et al.*, 1981a,b; 1987, 1990; Ledesma *et al.*, 1982; Valzelli and Ledesma, 1985; Zamarrón *et al.*, 1991). Later, González-Santander *et al.* (1988, 1991a,b) also described this type of synapse in the mesencephalic nuclei of the cat, designating them «communicating synapses».

Our own view (Amat *et al.*, 1987, 1990) is that open synapses are formed from normal synapses and are the result of an intense traffic of membranes between terminal nerve boutons and postsynaptic elements. Since estrogens, in certain brain regions, play a significant role in modulating neuronal development and neuronal circuit formation during the perinatal period (see Matsumoto, 1991) and also act on synaptic remodelling in the adult (see Naftolin *et al.*, 1990), we were prompted to verify these effects on the synapses of the arcuate nucleus (ARCN) of estrogen-treated rats during the postnatal phase of hypothalamic sexual differentiation. The effects of estrogens on the synapses of the ARCN neurons were partially studied by our group in a previous work (Zamarrón *et al.*, 1990)

Materials and Methods

We used sixty male Sprague-Dawley rats sacrificed at the age of 150 days: 1) 20 rats injected with estradiol valerate (EV) in ethyl oleate every day over the first month of life (total dose 2 mg) (EV-treated rats); 2) 20 rats injected with ethyl oleate (control rats), and 3) 20 untreated rats. In all cases. The hypothalami were prepared for study by transmission electron microscopy. Under intraperitoneally administered sodium thiopental anaesthesia (30 mg/kg b.w.) the animals were perfused through the left ventricle with a fixative solution of 5% glutaraldehyde in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4 at 4°C, following a wash of the vascular tree with a 150 mM sodium chloride solution. After perfusion, a sample including the hypothalamic ARCN and surrounding tissue was obtained and kept in fixative solution over 12 h. The samples were then post-fixed in 1% osmium tetroxide in the same phosphate buffer for 90 min at 4°C. They were then dehydrated in acetone and contrasted with 2% uranyl acetate and embedded in Durcupan (Fluka). Ultrathin sections were taken on an LKB Ultratome III 8800 ultramicrotome and studied with a Philips EM-201 electron microscope.

Results

In the synapses of the ARC/N of normal, control and EV-treated rats we often found small zones of fusion of the synaptic membranes, which form zonulae occludentes or tight junctions (Scheme, A). In some synapses there were membranous vesicles, sometimes very large, joined to the zone of fusion. Some of them were attached to the presynaptic membrane and therefore inside the axon terminal (Fig. 1; Scheme, B); other vesicles were joined to the postsynaptic membrane in the soma of the neuron (Fig. 2; Scheme, C). Sometimes two membranous vesicles were seen to be attached to the zone of fusion of the presynaptic and postsynaptic membranes; one located on the terminal nerve bouton and the other on the soma of the neuron (Fig. 3; Scheme, D).

In the ARC/N of all rats the existence of open synapses (Scheme, E) was observed. However, the open synapses were more numerous in the EV-treated rats (Figs. 4 to 6). The communicating pore between the axon terminal and the soma of the neuron was situated either in the middle of the synaptic junctions (Fig. 4) or in their lateral zones (Fig. 5). At the level of the communicating pore a frequent finding was small vesicles (Fig. 5) or even a large membranous vesicle (Fig. 6; Scheme, F). The axon terminals always displayed an aggregate of synaptic vesicles and, generally, some dense core vesicles. Active zones could also be observed and even some puncta adherentes (Fig. 4).

In the ARC/N of EV-treated rats there were open synapses of the axosomatic type (Figs. 4 to 6) and of the axodendritic and axo-axonic types.

Discussion

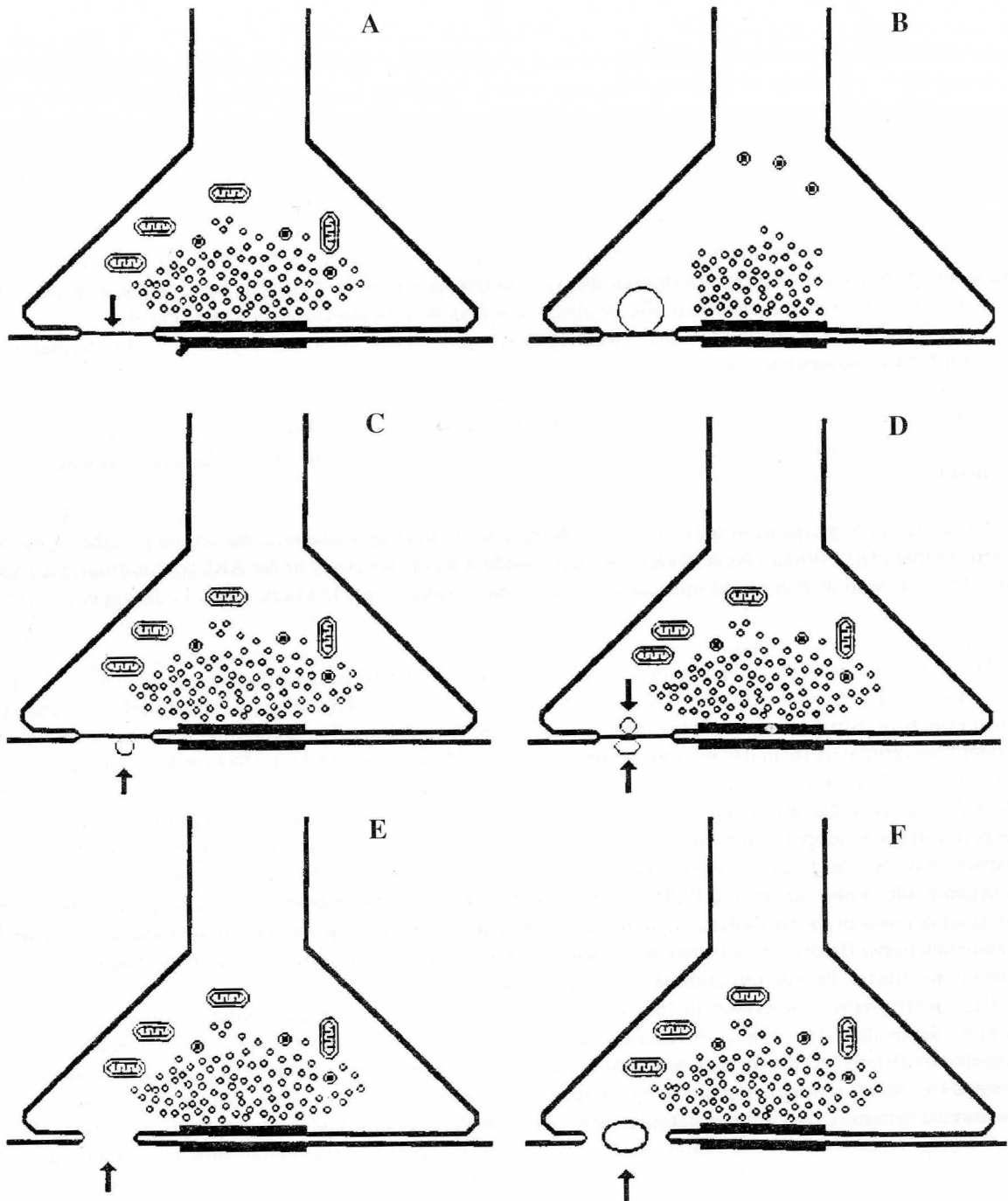
There are open synapses not only in the ARC/N but also in other hypothalamic nuclei, such as the supraoptic nucleus (Amat *et al.*, 1981a). Nevertheless, we have studied them especially in the ARC/N of normal rats (Amat *et al.* 1990), as well as that of chlorpromazine-treated rats (Amat *et al.*, 1981a,b; 1987; Ledesma *et al.*, 1982), castrated rats (Peláez, 1989), EV-treated rats (Zamarrón *et al.*, 1990) and ciproterone acetate treated rats (Zamarrón *et al.*, 1991).

The results of the present and previous work (Zamarrón *et al.*, 1990) indicate that the open synapses are more numerous in the EV-treated rats than in the untreated and control animals. This increase could be related to the well-known effects of estrogens on synaptogenesis and synaptic remodelling. For some time it has been known that estrogens are intimately related to neuronal plasticity events (Matsumoto and Arai, 1981) and synaptogenesis (see Naftolin *et al.*, 1990). Estrogens certainly have a remarkable facilitating effect on the formation of synapses in the ARC/N during postnatal development as well as in the brains of prepuberal and adult rats (Arai *et al.*, 1986). These effects of estrogens support our own view (Amat *et al.*, 1987, 1990) postulated above, according to which open synapses may be one stage in a process of intense membrane traffic between terminal nerve boutons and postsynaptic elements. Bueno and Pfaff (1976) have demonstrated that estrogens increase the unitary electric activity of neurons of the mediobasal hypothalamus, which must involve an increase in membrane traffic in the synaptic junctions. Below we shall attempt to explain our hypothesis on the formation of open synapses as a result of membrane traffic, basing our argument on ultrastructural images.

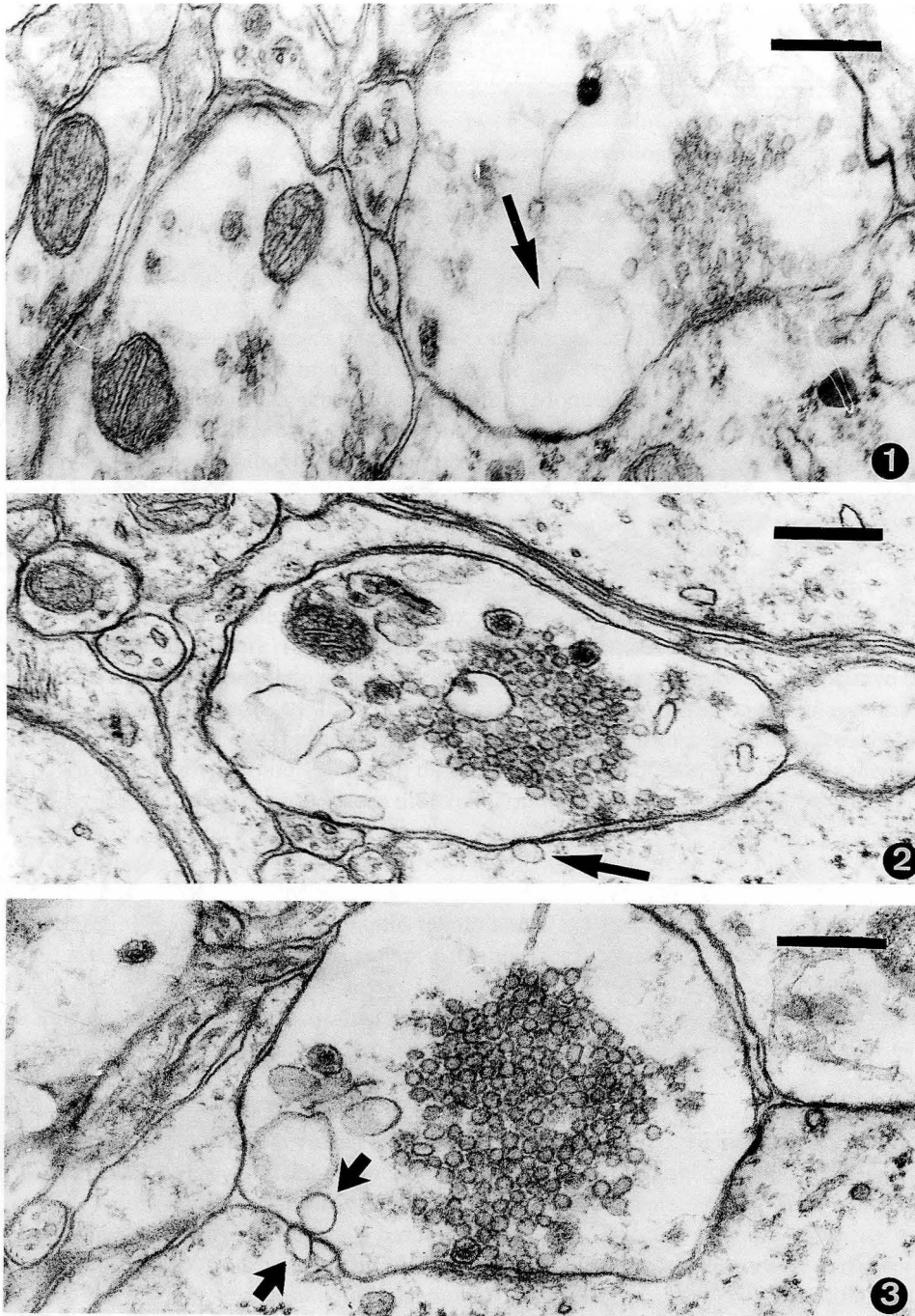
The open synapses described in this work are identical to the «communicating synapses» reported by González-Santander *et al.* (1981, 1991a,b) and should not be confused with what have been termed «perforated synapses» by Peters and Kaiserman-Abramof (1969), in which two areas of the same postsynaptic density are separated by a small zone of unspecialized membrane (see Cadete-Leite *et al.*, 1986; Calverley and Jones, 1990). In perforated synapses, the communicating pore between the nerve bouton and the postsynaptic element is absent.

Are open synapses artefacts? Although there is some doubt regarding this point, some images have allowed us to observe the continuity of the presynaptic and postsynaptic membranes on the rims of the pore. González-Santander *et al.* (1991) also insist on the continuity of the synaptic membranes in what they call «communicating synapses». Thus, the «*communicating*» passage (located in the synaptosome) is formed by the continuity of the presynaptic and postsynaptic membranes, and its limits or rims are the reflexion points of the membrane» (González-Santander *et al.*, 1991).

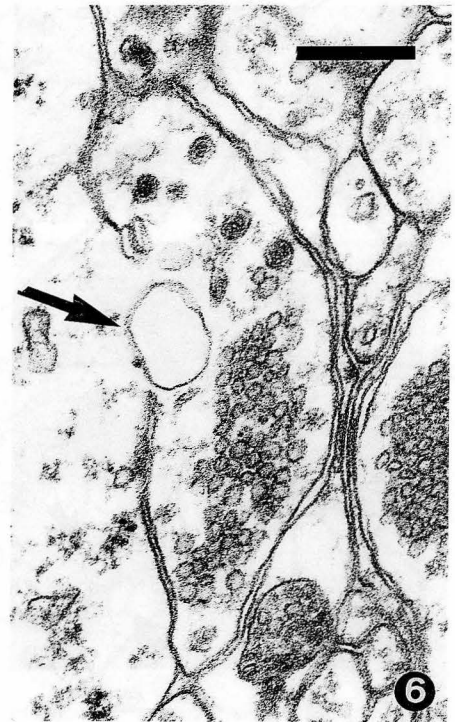
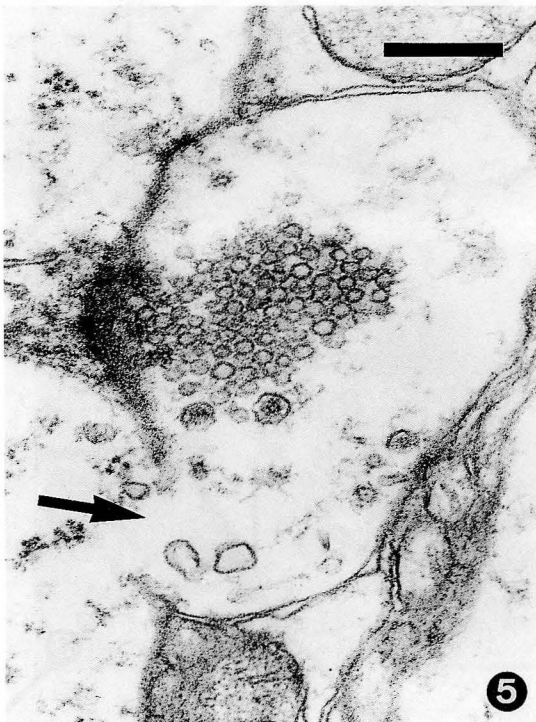
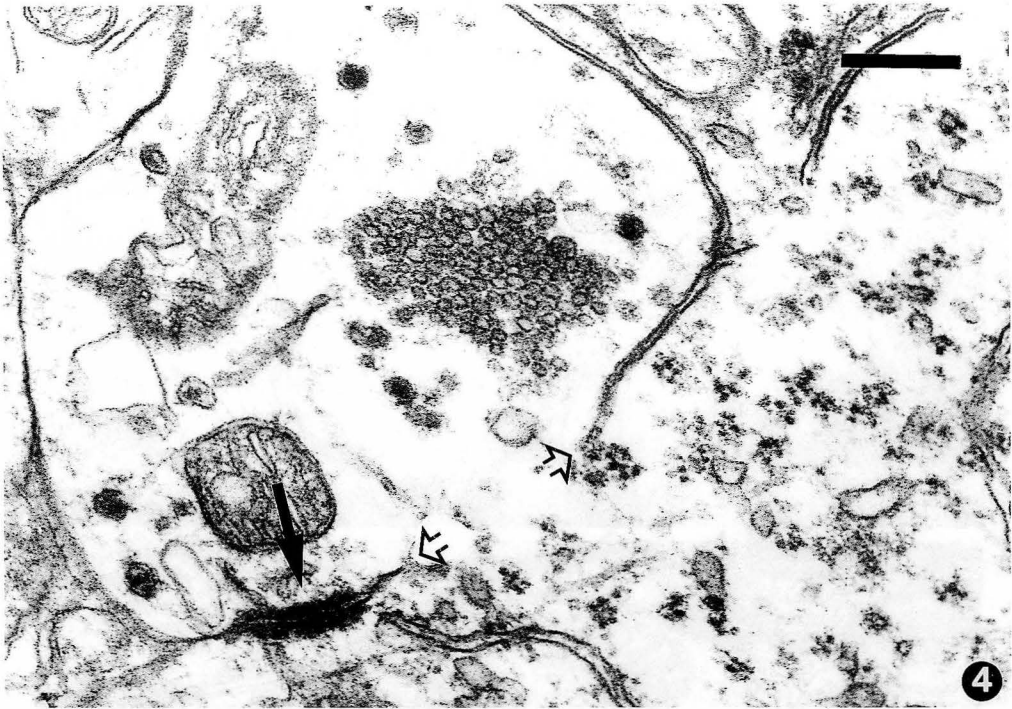
SCHEME



SCHEMES: A, B, C, D, E and F.



- FIGURE 1.** Axosomatic synapse in the ARCn of an EV-treated male rat. The arrow shows a large membranous vesicle attached to the zone of fusion of the presynaptic membrane with the postsynaptic one; the vesicle is situated in the axon terminal (63.700x). Scale indicates 0.3 μ m in each figure.
- FIGURE 2.** Axosomatic synapse in the ARCn of an untreated male rat. The arrow shows a vesicle attached to the zone of fusion of the presynaptic membrane with the postsynaptic one; the vesicle is situated in the soma of the neuron (63.700x).
- FIGURE 3.** Axosomatic synapse in the ARCn of a normal female rat (Amat *et al.*, 1990). The arrows show two membranous vesicles joined to the zone of fusion of the presynaptic and postsynaptic membranes; one vesicle is located in the axon terminal and the other in the soma of the neuron (63.700x).



- FIGURE 4.** Open synapse of axosomatic type in the ARCn of an EV-treated male rat. The communicating pore is in the middle part of the synaptic junction; the open arrows indicate the rims of the pore. Note a punctum adhaerens (arrow) (63.700x).
- FIGURE 5.** Open synapse of axosomatic type in the ARCn of an EV-treated male rat. The communicating pore (arrow) is on the lateral part of the synaptic junction (63.700x).
- FIGURE 6.** Open synapse of axosomatic type in the ARCn of an EV-treated male rat (Zamarrón *et al.*, 1990). The arrow indicates a large membranous vesicle, situated on the communicating pore between the axon terminal and the soma of the neuron (63.700x).

The existence of certain morphological features in the synaptic junctions as well in the pre- and postsynaptic elements of the synapses of the ARCn of all the groups of animals allows us to propose a hypothesis for the formation process of open synapses (Amat *et al.*, 1990). These morphological features can be the expression of synaptic plasticity and, in fact, of the nervous tissue plasticity that affects not only neurons but also glial cells.

The existence of a continuous structural reorganization of the nervous system has been known for many years. (Cajal, 1906, 1911), (Tello, 1911) and (Dunn, 1917) suggested the ability of neurons to modify their own structure and pattern of connections (see Carverley and Jones, 1990). It has also been known for some time that the ultrastructure of neurons, and especially of synapses, is variable. In the magnocellular neurons of the supraoptic nucleus ultrastructural reorganization takes place under conditions that stimulate secretion, a juxtaposition of the plasmalemmas of the neuronal somata or a separation of the same by thin layers of glial cells being observed, depending on the functional activity or repose of the neuron (Montagnese *et al.*, 1987).

Thus plasmalemma juxtaposition may express an increase in the functional activity of certain types of neurons. In chemical synapses, as reported above, a common observation is that in certain zones of the synaptic junction the pre- and post-synaptic membranes fuse to form zonulae occludentes, or tight junctions; currently (see Peters *et al.*, 1991), tight junctions are known to differ from gap junctions. It is precisely that latter that provide the morphological basis of the electrical synapses.

Both in untreated rats and in those subjected to different experimental conditions it is frequent to observe membranous vesicles attached to the zone of fusion of the presynaptic membrane with the postsynaptic one, situated on an axon terminal (Figure 1) or on the postsynaptic element (soma, dendrite or axon) (Figure 2); additionally, vesicles may be attached on either side of the zone of fusion (Figure 3). We believe that the fusion of synaptic membranes and the existence of vesicles adhering to the zone of fusion are images that demonstrate membrane traffic at the level of the synaptic junction, as an expression of functional states of activity of the synapses. It is possible that during some moment of this activity the zone of fusion of synaptic membranes is «torn off», thus forming communicating pores between the axon terminals and the post-synaptic elements. All this helps to confirm the reality of synaptic plasticity.

In the light of the foregoing, several stages of the synaptic junction can be distinguished in the formation of open synapses. This sequence of morphological changes comprises (see Scheme): 1) the presence of zones of fusion between the presynaptic and postsynaptic membranes (Scheme, A); 2) the existence of membranous vesicles attached to the zone of fusion of the synaptic membranes, situated either on the nerve ending (Scheme, B; Figure 1) or on the soma of the neuron (Scheme, C; Figure 2) or on both synaptic elements (Scheme, D; Figure 3); 3) the disappearance of the zones of fusion of the synaptic membranes, involving the formation of a communicating pore between the terminal nerve bouton and the soma of the neuron. Open synapses would be the result of this third stage (Scheme, E, F; Figures 4 to 6).

We do not believe that open synapses are an exception to the neural theory of Cajal, as suggested by González-Santander *et al.* (1988, 1991a). We believe that open synapses are the result of an increase in synaptic activity; this would involve a transient and reversible phenomenon. When this stage ends, the synaptic membrane must become reconstituted and it would be then that the communicating pore disappears. Hence, open synapses would be a manifestation of synaptic plasticity. Bertoni-Freddari *et al.* (1985) defined synaptic plasticity as «a dynamic condition of synapses (which), from a morphological point of view, denotes the ultrastructural reversible changes which take place at synaptic membranes». Our judgement is that open synapses could be entities whose existence in no way conflicts with Cajal's neural theory.

Acknowledgements

The authors wish to thank V. Alonso, S. García, M. Manteca and O. Martín for their technical assistance. This work was supported by the DGICYT (Project PM91-0104).

REFERENCES

- AMAT, P.; LEDESMA-JIMENO, A.; BLÁZQUEZ, J.M.; LLORCA, G. and PÉREZ URDÁNIZ, A. (1981a): Neuroleptic induced ultrastructural alterations in the rat neuroendocrine system. Preliminary study. *Phronesis*, **4**: 231-234.
- AMAT, P.; MUÑOZ-BARRAGÁN, L.; DOMÍNGUEZ, F.J. and PASTOR, F.E. (1981b): Modificaciones de las sinapsis axosomáticas en ciertas circunstancias experimentales: Sinapsis abiertas. *Actas de la II Reunión de Neurobiólogos Españoles (Salamanca)*, pág. 27.
- AMAT, P.; ÁLVAREZ-MORUJO, A.J.; TORANZO, D.; BLÁZQUEZ, J.L. and PASTOR, F.E. (1987): Etude ultrastructurale des synapses des régions des noyaux arqué et supra-optique de l' hypothalamus chez le rat castré et en différentes conditions esperimentales. *Bull. Ass. Anat.*, **71**: 23.
- AMAT, P.; ÁLVAREZ-MORUJO, A.J.; PASTOR, F.E.; TORANZO, D.; BLÁZQUEZ, J.L.; PELÁEZ, B.; SÁNCHEZ, A. and AMAT-PERAL., G. (1990): Sinapsis abiertas o comunicantes. Estudio ultraestructural en el núcleo arcuato de ratas normales. *An. Anat.*, **36/93**: 15-26.
- ARAI, Y.; MATSUMOTO, A. and NISHIZUKA, M. (1986): Synaptogenesis and neuronal plasticity to gonadal steroids: Implications for development of sexual dimorphism in the neuroendocrine brain. In: *Morphology of hypothalamus and its connections* (Ganten and Pfaff, eds.), pp. 291-307. Springer-Verlag, Berlin.
- BERTONI-FREDARI, C.; MERVIS, R.F.; GIULI, C. and PIERI, C. (1985): Chronic dietary choline modulates synaptic plasticity in the cerebellar glomeruli of aging mice. *Mechan. Age Dev.*, **30**: 1-9.
- BUENO, J. and PFAFF, D.W. (1976): Single unit recording in the hypothalamus and preoptic area of estrogen treated and untreated ovariectomized female rats. *Brain Res.*, **101**: 67-78.
- CADETE-LEITE, A.; TAVARES, M.A.; PAULA-BARBOSA, M.M. and GRAY, E.G. (1986): «Perforated» synapses in frontal cortex of chronic alcohol-fed rats. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, **18**: 495-499.
- CAJAL, S.R. (1906): Notas preventivas sobre la degeneración y regeneración de las vías nerviosas centrales. *Trab. Labor. Invest. Biol.*, **4**: 295-301.
- CAJAL, S.R. (1911): *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés*. Vol. 2, Maloine, Paris.
- CALVERLEY, R.K.S. and JONES, D.G. (1990): Contributions of dendritic spines and perforated synapses to synaptic plasticity. *Brain Res. Rev.*, **15**: 215-249.
- DUNN, E.H. (1917): Primary and secondary findings in a series of attempts to transplant cerebral cortex in the albino rat. *J. Comp. Neurol.*, **27**: 565-582.
- GONZÁLEZ-SANTANDER, R.; MARTÍNEZ CUADRADO, G. and RUBIO SÁEZ, M. (1988): Exceptions to Cajal's neuron theory: Communicating synapses. *Acta Anat.*, **132**: 74-76.
- GONZALEZ-SANTANDER, R.; MARTINEZ CUADRADO, G.; TOLEDO LOBO, M.V. and MARTINEZ ALONSO, F.J. (1991a): Communicating synapses: Types and functional interpretation. *Acta Anat.*, **142**: 249-260.
- GONZÁLEZ-SANTANDER, R.; MARTÍNEZ CUADRADO, G.; MARTÍNEZ ALONSO, F.J. and TOLEDO LOBO, M.V. (1991b): Types of communicating synapses. *Histol. Med.*, **7**: 91-92.
- LEDESMA-JIMENO, A.; DOMÍNGUEZ HERNÁNDEZ, F.J.; PASTOR, F.E.; LLORCA, G.; BLÁZQUEZ, J.M. and AMAT, P. (1982): Comparative effects of castration and chlorpromazine in the arcuate nucleus of the hypothalamus of the rat. *Actas Luso-Esp. Neurol. Psiquiatr.*, **10/6**: 351-358.
- MATSUMOTO, A. (1991): Synaptogenic action of sex steroids in developing and adult neuroendocrine brain. *Psychoneuroendocrinology*, **16**: 25-40.
- MATSUMOTO, A. and ARAI, I. (1981): Neuronal plasticity in the deafferented hypothalamic arcuate nucleus of adult female rats and its enhancement by treatment with estrogen. *J. Comp. Neurol.*, **197**: 197-205.
- MONTAGNESE, C.M.; POULAIN, D.A.; VINCENT, J.-D. and THEODOSIS, D.T. (1987): Structural plasticity in the rat supraoptic nucleus during gestation, post-partum and suckling-induced pseudogestation and lactation. *J. Endocrinol.*, **115**: 97-105.
- NAFTOLIN, F.; GARCÍA-SEGURA, L.M.; KEEFE, D.; LERANTH, C.; MACLUSKI, N.J. and BRAWER, J.R. (1990): Estrogen effects on the synaptology and neural membranes of the rat hypothalamic arcuate nucleus. *Biol. Reprod.*, **42**: 21-28.
- PELÁEZ, M. B. (1989): Estudio del hipotálamo mediobasal tras la castración o la administración de glutamato monosódico en ratas impúberes. Tesis Doctoral. Universidad de Salamanca.
- PETERS, A and KAISERMAN-ABRAMOF, I.R. (1969): The small pyramidal neuron of the rat cerebral cortex. The synapses upon dendritic spines. *Z. Zellforsch.*, **100**: 487-506.
- PETERS, A.; PALAY, S.L. and WEBSTER, H. de F. (1991): *The fine structure of the nervous system: Neurons and their supporting cells*. (Third edition). Oxford University Press, New York.
- TELLO, F. (1911): La influencia del neurotropismo en la regeneración de los centros nerviosos. *Trab. Labor. Invest. Biol.*, **9**: 123-137.
- VALZELLI, L. and LEDESMA, A. (1985): *Psicofarmacología*. Jarpyo Editores, S.A., Madrid.

- ZAMARRÓN, C.; AMAT, P.; ÁLVAREZ-MORUJO SUÁREZ, A.J.; SÁNCHEZ, A.; PELÁEZ, B.; TORANZO, D; BLÁZQUEZ, J.L. and PASTOR, F.E. (1990): Efectos de los estrógenos sobre el hipotálamo mediobasal de la rata macho. *An. Anat.*, **36** (núm. extr.): 349-351.
- ZAMARRÓN, C.; PASTOR, F.E.; BLÁZQUEZ, J.L.; PELÁEZ, B.; SÁNCHEZ, A.; AMAT-PERAL, G. and AMAT, P. (1991): Estudio ultraestructural del hipotálamo mediobasal de rata macho tras el tratamiento con acetato de ciproterona. *Histol. Med.*, **7**: 199-200.

Address for correspondence:
Departamento de Anatomía e Histología Humanas.
Facultad de Medicina
Avd. Campo Charro, s/n.
37007 Salamanca (Spain)

ANATOMÍA DEL CRISTALINO Y SU ZÓNULA MEDIANTE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

LENS AND ZONULA ANATOMY BY MEANS SCANNING ELECTRON MICROSCOPY

J. COSTA, M. CANALS y D. RUANO

Unidad de Morfología Ocular. Departamento de Anatomía Humana
Facultad de Medicina. Universidad de Barcelona

RESUMEN

La transparencia del cristalino se basa en sus citoarquitectura característica, su grado de hidratación y la integridad de su cápsula. Las fibras cristalinas se caracterizan por presentar una superficie de sección hexagonal, estando unidas unas a otras lateralmente mediante interdigitaciones a modo de cremallera. La regularidad de estas estructuras se modifica a lo largo de la vida, apareciendo irregularidades entre las fibras cristalinas, pérdida de la superficie de sección hexagonal de las fibras y consecuentemente pérdida de las características que asemejan el cristalino a un perfecto cristal. Las consecuencias de este hecho es la pérdida progresiva de transparencia del cristalino dando lugar a las cataratas. En el presente trabajo hemos efectuado un detallado análisis del cristalino humano normal y de cataratas mediante microscopía electrónica de barrido.

PALABRAS CLAVE: Cristalino. Ligamento de Zinn. Anatomía. Microscopía electrónica de barrido. Catarata.

SUMMARY

The transparency of the human lens is based on its characteristic cytoarchitecture, its hydration degree and the integrity of its capsule. The lens fibres are characterized by their hexagonal shape, being united by each other by ball and sockets junctions. The regularity of these structures is being modified with the pass of time occasioning the apparition of irregularities in the interfibrillar junctions, loss of the hexagonal shape of the fibres and subsequently the loss of the characteristic crystal-like morphology of the lens. The consequences of this fact is the definite loss of the lens transparency, commonly known as cataract. In the present paper we have studied the human lens and the cataract by means scanning electron microscopy.

KEY WORDS: Lens. Ligament of Zinn. Anatomy. Cataract. Scanning electron microscopy.

El director de la revista *Anales de Anatomía*, mi querido amigo el profesor René Sarrat, me ha pedido un artículo para ser publicado en el número 100 de la misma. Aceptó muy complacido este honroso cometido, no sólo por el extraordinario interés y dinamismo que está imprimiendo a la mencionada revista, sino también como testimonio de público reconocimiento al profesor José Escolar García, su primer director, que tuvo la iniciativa de crearla y conseguir, estoy seguro que con cuantiosos sacrificios, mantenerla hasta el relevo del profesor Sarrat,

en un país, como el nuestro, donde no son frecuentes, ni permanentes publicaciones de esta índole. Estas circunstancias, determinan que la revista *Anales de Anatomía* haya constituido un medio de difusión extraordinario, donde han venido publicando sus trabajos nuestros anatómicos y lo van a realizar los del futuro, representando un valioso patrimonio que todos debemos apoyar, cuidar, y mimar.

Los datos señalados precedentemente indican que D. José Escolar, merece la consideración de todos los anatómicos españoles, pero personalmente quiero señalar que despierta también mi admiración, pues en unión de nuestro maestro el profesor Francisco Orts Llorca, lamentablemente recientemente fallecido, cada uno con su estilo, según describe Miguel Guirao Pérez primorosamente en un reciente artículo, crearon las condiciones adecuadas que condujeron al nacimiento de dos escuelas, que en unión de colegas procedentes de otros grupos, han contribuido con sus aportaciones a mejorar notablemente el nivel de la Anatomía universitaria de nuestro país. Por todo ello, deseo que el profesor F. Orts Llorca haya encontrado la Verdad que tanto buscó y D. José Escolar permanezca largo tiempo con nosotros como ejemplo a imitar por nuevas generaciones.

Introducción

El cristalino constituye una estructura intraocular transparente situada entre el iris y el vítreo, de forma ovoide con dos caras convexas, anterior y posterior, y un borde unido al cuerpo ciliar mediante el ligamento suspensorio (de Zinn) o zónula. En el adulto, el cristalino presenta dos regiones particulares, el núcleo y el córtex, rodeadas por una cápsula. El córtex comprende todas las fibras secundarias formadas después de la pubertad. El núcleo está compuesto por las fibras remanentes del desarrollo. Se estima que tras el nacimiento existen 1.622 fibras cristalinas dispuestas alrededor de un núcleo cuyo eje polar es de 2,5 mm y el ecuatorial 6,5 mm. En el adulto joven (20 a.) el número de fibras asciende a 3,045 con un eje polar de 3,45 mm y ecuatorial de 8,8 mm. En el anciano (80 a.), existen aproximadamente 3.546 fibras con un eje polar de 3.65 mm y ecuatorial de 9 mm (Olson, 1991).

El estudio anatómico del cristalino lo podemos dividir en varios apartados: cápsula, epitelio, fibras cristalinas y fibras zonulares.

La cápsula cristalina es transparente, elástica, y de espesor variable según la edad y la localización, siendo más delgada en el niño y en la cara posterior y más gruesa en el adulto y en la cara anterior y ecuador (Hogan, 1971).

En cuanto al epitelio, la cápsula recubre a un epitelio subcapsular localizado en la superficie anterior y ecuador cristalino, estando ausente en la cara posterior del cristalino. Recordemos, que durante el desarrollo embrionario, será a partir de este epitelio posterior en donde comience a formarse las primeras fibras cristalinas, lo que conllevará su agotamiento posterior. Este epitelio está constituido por células poligonales de extraordinario poder de multiplicación a nivel del ecuador en donde se forman constantemente nuevas fibras cristalinas a partir del mismo.

Por lo que respecta a las fibras cristalinas, éstas son alargadas, de superficie de sección hexagonal, con dos caras anchas y cuatro lados estrechos, cuyos núcleos se encuentran en la proximidad del ecuador. Las fibras corticales miden de 8 a 12 mm de longitud, 7 micras de ancho y 4,6 micras de grueso (Hogan Alvarado, 1971). Estas fibras se disponen en forma de horquilla terminando anterior y posteriormente en sendas zonas de unión denominadas suturas. Estas suturas van aumentando de número y complejidad a lo largo de la vida, modificando así mismo su disposición. Las fibras cristalinas están unidas por una sustancia homogénea denominada genéricamente como cemento aunque cabe señalar que poseen un sistema de unión específico. Así a nivel de la zona ecuatorial existe un entramado complejo de interdigitaciones situados en los bordes de las fibras; en el córtex periférico las uniones se efectúan mediante microdigitaciones a nivel de los bordes y las caras y por último a nivel de las suturas los contornos celulares son más irregulares encajando unos con otros por sus bordes así como mediante desmosomas.

Finalmente en cuanto a las fibras zonulares, éstas se disponen entre el cuerpo ciliar y el ecuador periférico del cristalino, más concretamente desde los valles ciliares hasta la cara anterior y posterior ecuatorial de la cápsula cristalina en donde se difuminan. Las dimensiones de estas fibras oscilan entre 1 y 40 micras, presentan una morfología alargada y sección ovoide, y una de sus características más destacadas es la gran elasticidad de las

mismas, que permiten alcanzar el doble o más de su longitud a la tracción sin que se fracturen. En el presente trabajo, pretendemos contribuir al conocimiento de esta interesante estructura anatómica, utilizando para ello un método de estudio ideal como es la microscopía electrónica de barrido.

Material y métodos

Hemos utilizado 20 cristalinios humanos, obtenidos de cadáveres cuyas edades oscilan entre 22 y 68 años de edad, procedentes de cadáveres del Servicio de Donación de Cuerpos de nuestro Departamento así como de globos oculares de donantes de ojos a los que les extrajo las córneas para trasplantes. Tras la enucleación, los cristalinios fueron fijados en solución de Karnovsky, sometidos a su deshidratación mediante punto crítico utilizando para ello CO₂ como líquido de transición. Finalizada su deshidratación se procedió a la criofractura mecánica mediante cuchilla de cromovanadio. Posteriormente se procedió a su recubrimiento con una capa de oro coloidal de 400 amstrongs de espesor de diodo de sputtering. Las observaciones se efectuaron utilizando los microscopios electrónicos de barrido Jeol 1.840, Cambridge S120 o Hitachi S2300.

Resultados

Tras el procesado histológico, podemos ver cómo la deshidratación produce una ruptura espontánea del cristalino a nivel de las suturas (Fig. 1). Es lógico pensar que a este nivel se halla el punto débil del entramado de fibras cristalinianas ya que es en las suturas en donde se van a entrelazar las mismas para configurar esta estructura.

La criofractura, nos va a permitir observar las diferentes capas o estratos del córtex y del núcleo cristaliniano (Fig. 2). Es evidente que existe una disposición concéntrica de los diferentes estratos a modo de capas de cebolla, alrededor de un núcleo embrionario bien estructurado.

El estudio de las fibras corticales anteriores (Fig. 3), muestra unas fibras cristalinianas alargadas, de sección hexagonal, dispuestas de forma adosada unas a otras a partir de las caras más anchas, mientras que entre borde y borde estas fibras se unen mediante interdigitaciones a modo de cremallera. La estratificación en la disposición de las fibras es evidente, recordando enormemente a la estructura de un mineral cristalino. Estos detalles son más evidentes a mayor aumento, en donde podemos apreciar la sección exagonal de las fibras cristalinianas, que presentan pues seis caras, dos más anchas y cuatro más estrechas. Va a ser por las caras más anchas por donde se unan unas fibras a otras mediante el cemento intercelular, mientras que la unión mediante interdigitaciones a modo de cremallera sólo se efectúa a nivel de los bordes intercelulares, fibra a fibra (Fig. 4). Estas uniones, por su aspecto y morfología son las responsables de la gran coesión entre las fibras cristalinianas, por lo que cuando se produce una intumescencia del cristalino, ésta sucede a partir de la dehiscencia entre las caras fibrilares mayores. Así mismo la disposición de las fibras cristalinianas nos induce a pensar en la posibilidad de la existencia de un desplazamiento de las mismas a partir de las caras mayores, a modo de diafragma fotográfico, lo que tendría un importante papel en la acomodación.

En cuanto a la zónula, las fibras zonulares, de aspecto delgado, se disponen en forma de abanico característico. Así las fibras situadas más posteriormente en los valles ciliares, se insertan en la cara anterior del cristalino, difuminándose su inserción en el espesor de la cápsula anterior. Por contra, las fibras cuyo origen se sitúa en la parte más anterior de los valles ciliares se dirigirán a la cara posterior del cristalino, insertándose en el espesor de la cápsula posterior (Fig. 5). La inserción de las fibras zonulares a nivel del cristalino, no se efectúa de forma puntiforme, sino que se realiza de forma difuminada por un amplio tendón cuyas fibras se abren en abanico en el interior ya sea de la cápsula anterior o posterior, lo que garantiza una mayor elasticidad de todos los elementos implicados en la acomodación (Fig. 6). En efecto, la elasticidad de la cápsula cristalina se ve reforzada por la zónula dadas sus inserciones. Este hecho es fácilmente constatable, ya que podemos estirar las fibras zonulares hasta el doble de su longitud de reposo.

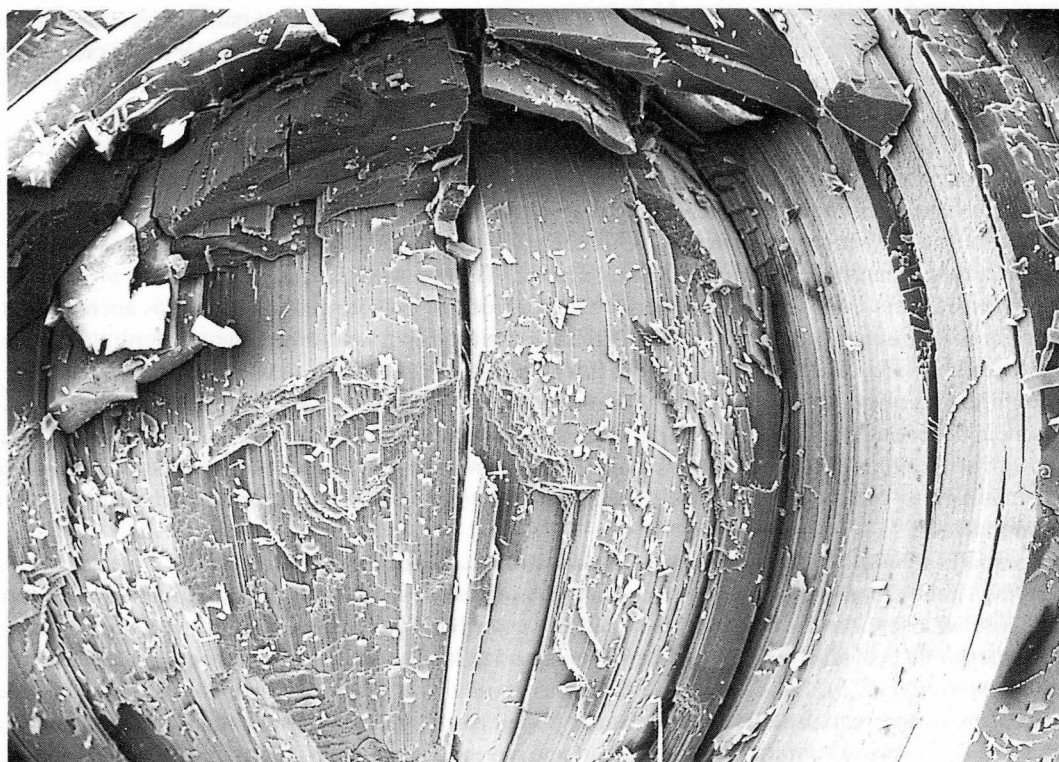


FIGURA 1. Sutura anterior del cristalino.

FIGURA 2. Núcleo y Cortex cristalino.

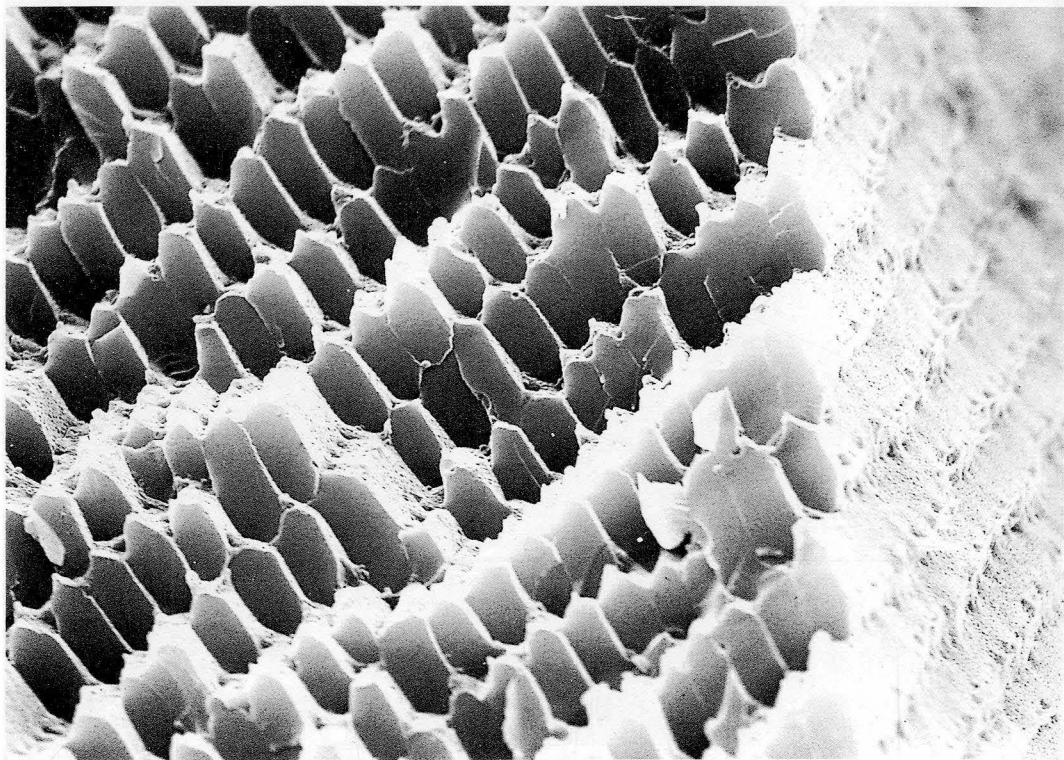
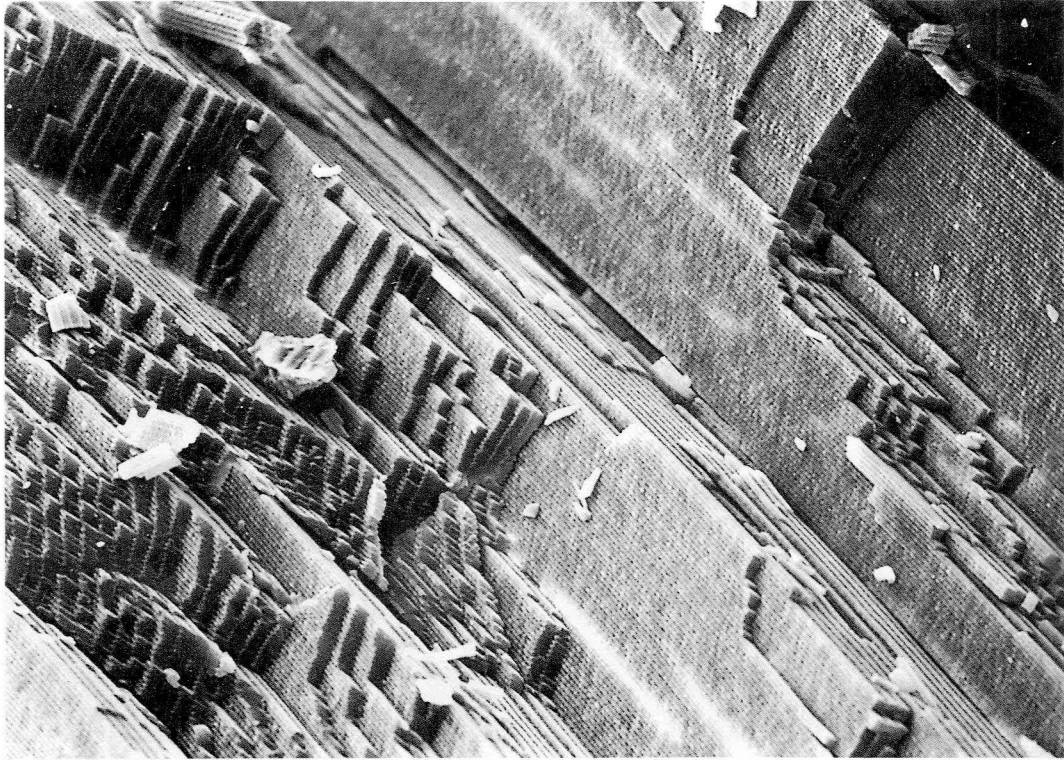


FIGURA 3. Estratificación de las fibras cristalinianas.
FIGURA 4. Morfología de las fibras cristalinianas.

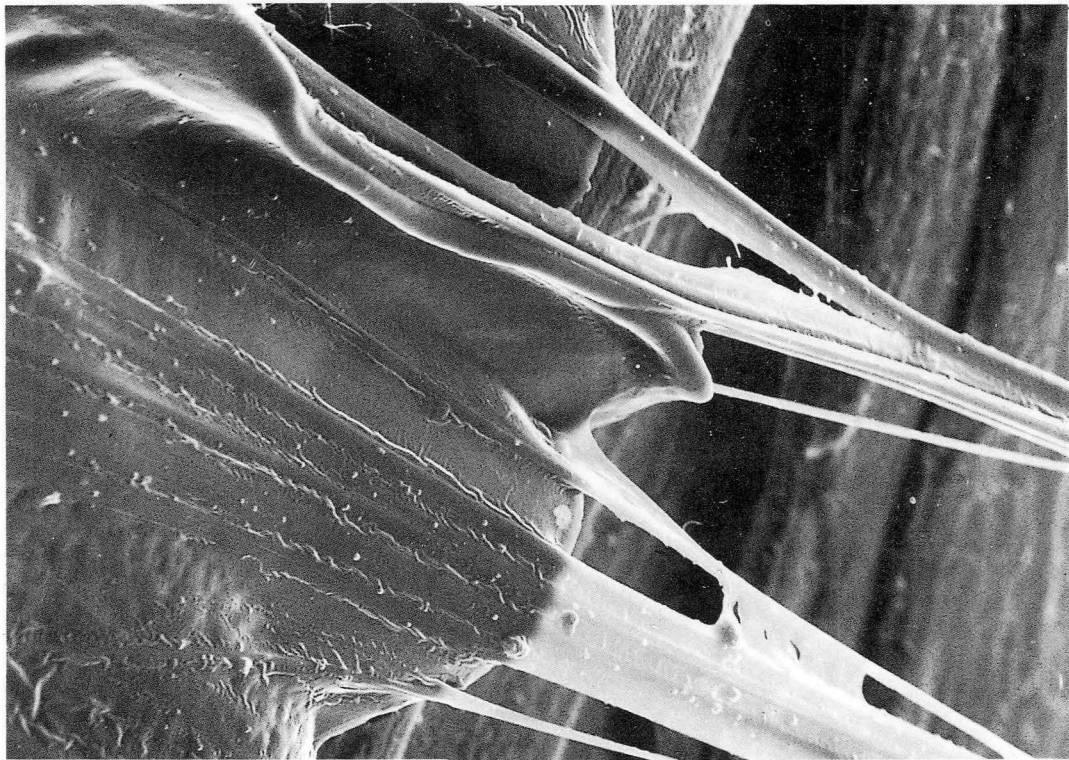
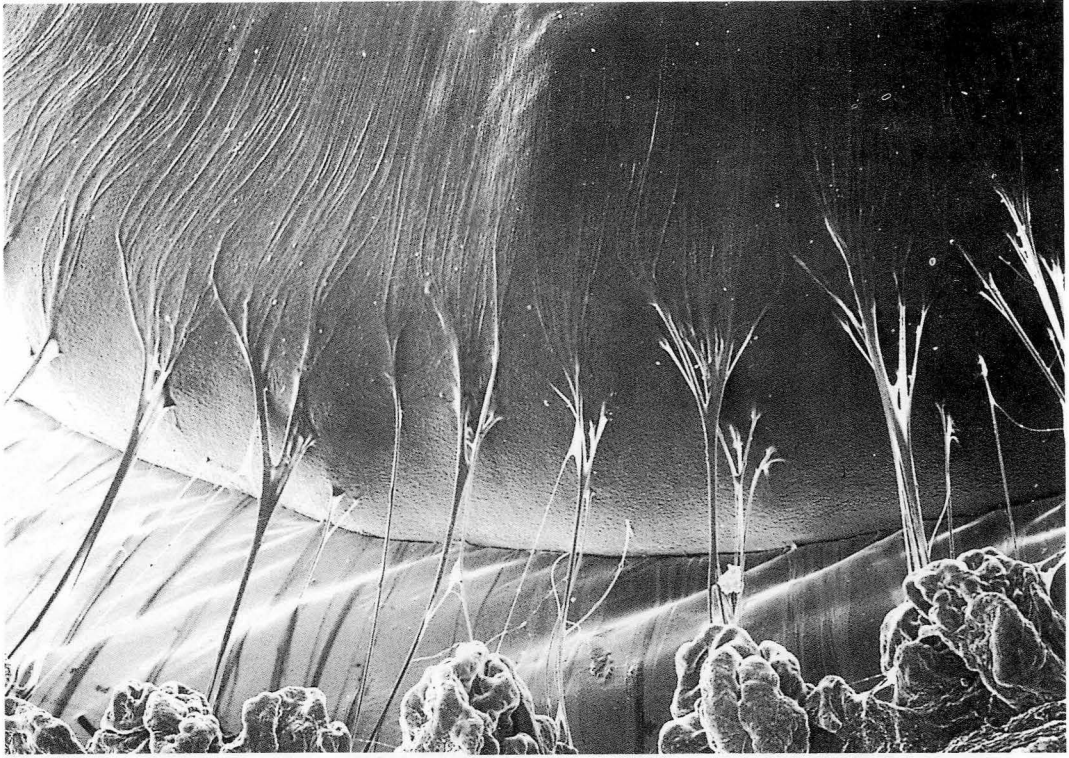


FIGURA 5. Aspecto morfológico de la zonula o ligamento suspensorio.

FIGURA 6. Detalle de una inserción zonular en la cápsula anterior del cristalino.

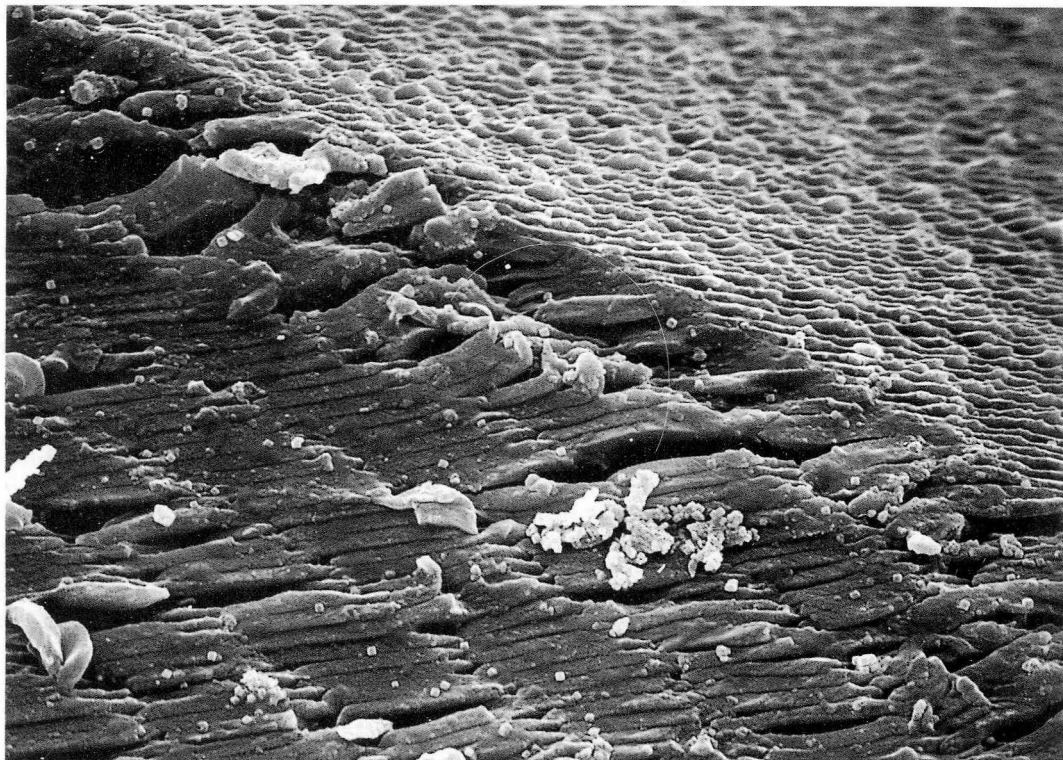


FIGURA 7. Morfología y estratificación de las fibras cristalinas en la catarata.

FIGURA 8. Detalle de la figura anterior.

Por lo que respecta al cristalino del anciano afecto de catarata, éste presenta notables modificaciones en su morfología y estructuras. En primer lugar, es conocida la existencia de alteraciones bioquímicas importantes en el seno de la catarata, en las que no vamos a entrar en el presente trabajo. Desde el punto de vista anatómico, la catarata, muestra una disposición de las fibras menos uniforme, en la que las uniones interfibrilares mediante el cemento intercelular se ven modificadas por la existencia de un magma amorfo, irregular, que altera la estratificación normal, siendo casi imposible poder seguir visualmente un estrato cortical, debido a los entrealtoos existentes. Así mismo, el espesor de las fibras cristaliniánas varía en las diferentes zonas, irregular (Fig. 7). Por otro lado, las uniones interfibrilares, ya sean entre las caras mayores o entre los bordes intercelulares, sufren notables modificaciones. El número de uniones digitiformes disminuye, observándose la presencia de un entramado amorfo, irregular que casi aparenta una cresta de difícil coesión fibrilar. Estos detalles, inducen a pensar que la intumescencia de la catarata, entre otros factores, bien puede ser debido a la pérdida de coesión fibrilar por la escasez de uniones digitiformes normales, así como a la presencia de un cemento celular amorfo de dudosa validez.

Finalmente, queremos señalar que el estudio del cristalino, no ha finalizado, la gran plétora de trabajos existentes en la actualidad que discuten el mecanismo intrínseco de la acomodación hacen que investigadores básicos y clínicos deban ponerse de acuerdo para aunar esfuerzos en bien de un mayor conocimiento actual de la fisiopatogenia real de las cataratas, ha de servir de estímulo para que se desarrollen líneas de investigación en este sentido.

BIBLIOGRAFÍA

- COHEN, A.I. (1965): The electron microscopy of the normal human lens. *Inves. Ophthalmol. Vis. Sci.* **4**: 433-437.
DUANE'S. (1991): Embriology and Anatomy of the Lens. *Clinical Ophthalmology*. Lippincott Ed. Philadelphia. Vol. I. Cap. 71A.
GRIGNOLO, A. (1954): Researches on the submicroscopic structure of the lens capsule. *G. Ital. Oftalmol.* **7**: 300-306.
HOGAN; ALVARADO y WEDELL (1971): *Histology of the Human Eye. The Lens*. Saunders Company Ed. 638-677.
SARAUX, H.; LEMASSON, C.; OFFRET, H. y RENARD, G. (1985): *Anatomía e Histología del Ojo*. Masson, S.A.
SMELSER, G.K. (198): *La Morfología del Ojo*. Ed. Universitaria de Puerto Rico.

Correspondencia: Dr. J. Costa Vila
Departamento de Anatomía Humana
Facultad de Medicina
C/ Casanovas 143
08036 Barcelona. España

EL DIBUJO DIDÁCTICO EN LAS DISCIPLINAS MORFOLÓGICAS ES UNA FORMA DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

A DIDACTIC DRAWING IN MORPHOLOGICAL SCIENCES IS A FORM OF SCIENTIFIC RESEARCH

R. KRSTIĆ

Instituto de Histología y de Embriología. Facultad de Medicina.
Universidad de Lausanne. Suiza

RESUMEN

El autor resume su experiencia como investigador y preparador de dibujos científicos realizando una crítica del proceso de creación del dibujo, tanto del aspecto científico como estético.

PALABRAS CLAVE: Dibujo. Ciencias morfológicas.

SUMMARY

In order to prepare didactic drawings for students; textbooks or atlases, authors have to accomplish two kinds of investigation.

The first one is that the author has to know as much as possible about the object he wants to draw. This is done not only through analysis of scientific literature about this object and personal microscopic observations, but also through real scientific research, which is undertaken to elucidate some details which have escaped current investigation.

The second one is an artistic-didactic research aiming to assemble on the same plate—using advantages of drawing over photography— a maximum of information and to present these in the best didactic and aesthetic manner possible.

Unfortunately all these efforts are not sufficiently considered by University authorities, for whom the usual criterion for evaluating assistants and professors is simply the number of scientific papers published.

Indeed, if one considers that preparing a collection of drawings 5 to 10 years, while a research scientist publishes 4 - 6 papers annually, this means that the author of an atlas or a self-designed book will have only one publication to this credit, instead of 20 - 60 papers. Consequently, authors of books for students are discouraged and penalized.

So long as University authorities use a purely numerical criterion for evaluation of assistants and professors, production of good books for students will remain neglected.

KEY WORDS: Didactic drawings. Morphological sciences.

Introducción

En medicina, la literatura consagrada a las disciplinas morfológicas está dividida (como otras ramas médicas) en dos grupos.

El primero es la literatura *científica* que, proviniendo de los resultados de la investigación, es considerada como original y creativa. El segundo es la literatura *didáctica* que utiliza estos resultados para introducirlos en los textos pedagógicos. Por este motivo se la considera menos inventiva. Además, a menudo se piensa que basta con compilar los libros ya existentes para crear otros nuevos.

A primera vista, parecería que estos dos tipos de literatura son bien diferentes uno del otro. Sin embargo, todos aquellos que han escrito atlas o, en general, manuales para estudiantes, de histología y de anatomía y que los han ilustrado ellos mismos con dibujos, saben muy bien que esto no es exacto y que la preparación de tales libros implica una parte esencial de investigación y de creatividad.

Para preparar estos dibujos, el autor está obligado de efectuar dos tipos de investigación: en primer lugar la *investigación científica*, para explorar personalmente la estructura u órgano a ilustrar y para completar eventuales lagunas dejadas en la literatura existente. En segundo lugar, una vez que ha obtenido las informaciones, el autor debe sintetizarlas y realizar una *investigación pedagógico-artística* para obtener una presentación apropiada del sujeto que asegure la transmisión de una máximo de conocimientos al lector.

Para examinar el tema elegido, la *investigación científica* se efectúa, como toda la investigación en morfología, analizando primero las monografías y las revistas especializadas, luego los archivos personales y por último preparando la estructura para su exploración macro y microscópica. La *investigación pedagógico-artística* tiene por objetivo encontrar la manera más didáctica de presentar las informaciones para que sean fácilmente asimiladas por los estudiantes. Se trata de reunir la mayor cantidad posible de información en un solo dibujo, sirviéndose de esta ventaja que tiene el dibujo en relación con la fotografía. Para lograrlo se evalúa la composición del dibujo, las diferentes proyecciones y los cortes estereográficos, incluyendo las perspectivas exageradas, pero prestando siempre atención de no disminuir la claridad del dibujo. Finalmente, una vez resueltos estos problemas, se considera la estética del dibujo.

De lo que acaba de decirse, resulta claro que la segunda investigación exige mucha reflexión, en particular cuando se trata de dibujar estructuras microscópicas en tres dimensiones, observando separadamente ya sea el interior o la superficie, porque actualmente no disponemos de instrumentos que permitan la observación simultánea de los dos a la vez.

Una vez terminado todo este trabajo, el autor está obligado, para re-examinarlo, de colocarse en la situación de un estudiante que debe captar rápidamente la estructura de una célula, de un tejido o de un órgano. Ya que, para los jóvenes estudiantes que comienzan en histología, el microcosmos del cuerpo humano es un descubrimiento sorprendente que sólo llegan a comprender correctamente con la ayuda de sus enseñantes. Estos deben disponer de una iconografía estereográfica que permita a los estudiantes comprenderlo fácilmente.

Vemos, en consecuencia, que toda investigación pedagógico-artística en la producción de una iconografía bien lograda, gira alrededor del problema técnico: encontrar un compromiso entre las diferentes exigencias impuestas por las ilustraciones científicas (ser científicamente correctas, actuales, absolutamente claras y estéticas) y la necesidad de permitir una reproducción económica.

Naturalmente, conciliar estas exigencias no es simple y requiere la preparación de varios bocetos. A continuación, ilustramos el proceso de creación del dibujo científico de un hepatocito, de su estructura interna y externa, de la unión con los otros hepatocitos, de la formación de una canalículo biliar, de la posición del espacio de Disse y de la estructura de la pared de los sinusoides hepáticos, todo esto reunido en un solo dibujo (Figura 1).

Después de un análisis detallado de la literatura general, de las monografías, de las revistas especializadas y de la consulta de archivos personales, se prepara un primer bosquejo. Si es necesario, este bosquejo puede modificarse o completarse siguiendo una investigación ulterior, luego se dibuja con lápiz un croquis definitivo. A continuación se copia en otra hoja de papel y se ejecuta en tinta china con la técnica del puntillado que es, considerando el grafismo, barata y fácil de reproducir pero que exige mucho tiempo para realizarla (1).

Los anatomistas-dibujantes que ilustran sus atlas o manuales están confrontadas a problemas similares a los evocados más arriba cuando producen sus obras. El ejemplo más reciente de este tipo de libros es el magnífico atlas

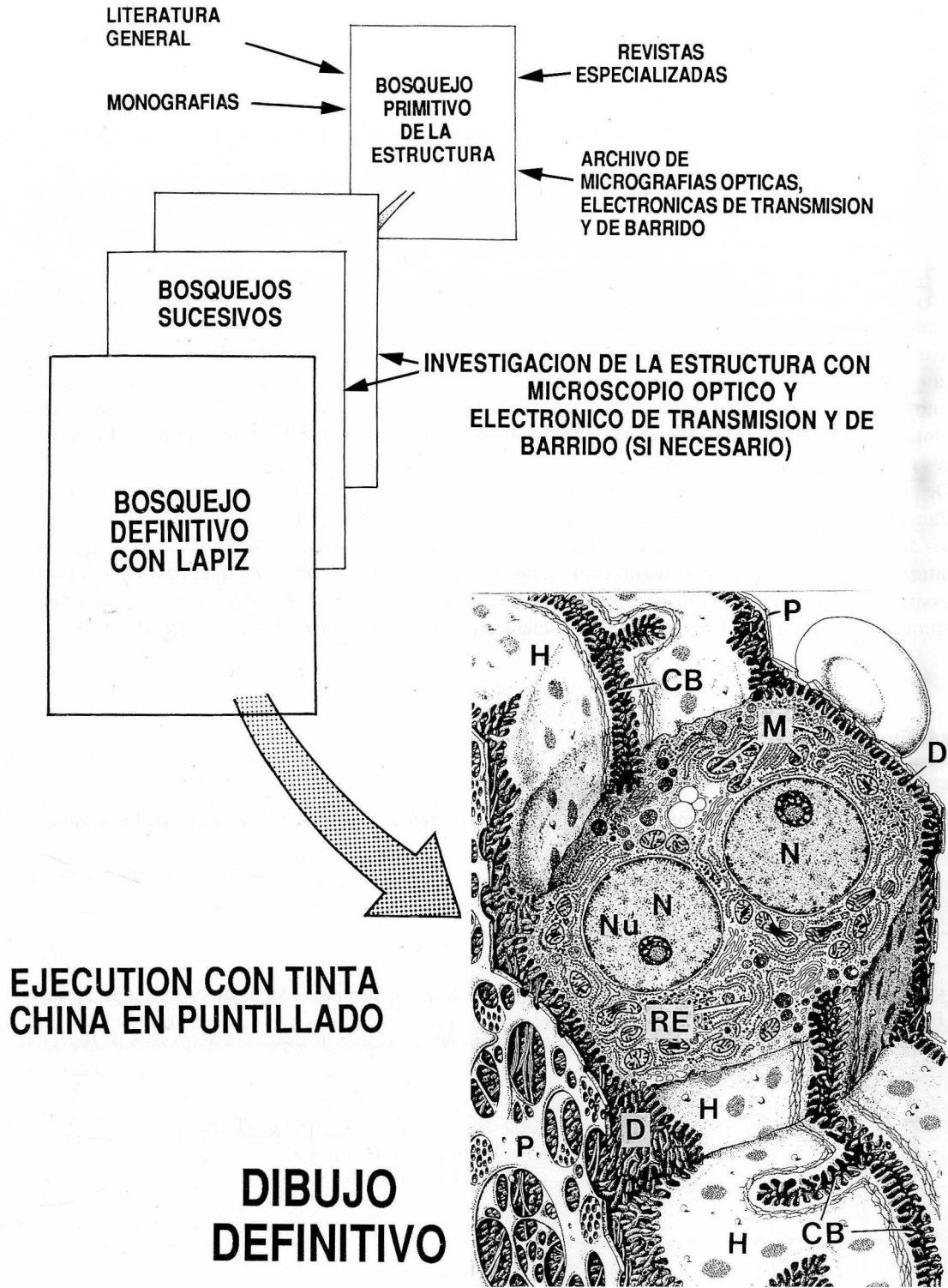


FIGURA 1. Proceso de la preparación de un dibujo científico. H = hepatocitos, D = espacio de Disse, P = pared del sinusoides hepático, CB = canalículo biliar, N = núcleo, Nu = nucleolo, M = mitocondrias, RE = retículo endoplásmico rugoso. (Tomado de Krstic, R.V.: *Human Microscopic Anatomy*. Springer-Verlag, Berlín 1991, con autorización).

de J. Smith-Agreda (2) cuyos espléndidos dibujos están reunidos en una colección de gran valor didáctico ya que se trata de una excelente idea de presentación de las estructuras anatómicas y embriológicas en planos sucesivos, como se observan durante una disección anatómica.

Esta idea ha sido perfectamente realizada, pero una profunda reflexión y largas investigaciones han sido necesarias para alcanzar este objetivo.

Como consecuencia de todo lo anterior, está claro que la preparación de la iconografía en las ramas morfológicas es una investigación exhaustiva no sólo científica sino también pedagógica, además de una creación artística. Por desgracia, todo este trabajo es mal conocido y por lo tanto poco apreciado por las autoridades universitarias. Las razones de esto son simples.

En efecto, si un investigador publica, en promedio, entre 4 y 6 artículos por año, la producción de un atlas o de un manual de morfología para los estudiantes exige entre 5 y 10 años según la importancia de la obra y la cantidad de ilustraciones que el autor deberá preparar. Un simple cálculo demuestra que durante ese tiempo un investigador tendrá entre 20 y 60 títulos en su lista de publicaciones (esencial para su promoción o la prolongación de su contrato) mientras que el autor de una publicación didáctica no tendrá más que uno. Esta es la causa del desaliento (absolutamente comprensible) que existe para la publicación de libros didácticos, porque de esta manera sus autores potenciales son penalizados.

De esto resulta una carencia, crónica en numerosos países, de buenos textos con ilustraciones originales.

Para remediar esta situación sería necesario que las autoridades universitarias no comparen los investigadores con los autores de atlas y manuales para estudiantes según un criterio puramente numérico en lo que concierne a la cantidad de publicaciones sino según otros criterios que quedan a definir. Ya que, hasta que las autoridades universitarias no valoren de la misma manera la investigación pura y la investigación efectuada para crear la literatura médico-didáctica, la calidad de la enseñanza de las ramas morfológicas se verá afectada.

Agradecimiento

El autor agradece cordialmente a la Dra. O. Blanc-Huerga la traducción de este texto al español.

BIBLIOGRAFÍA

1. KRSTIĆ, R.V. (1991): Human Microscopic Anatomy. An Atlas for Students of Medicine and Biology. Springer-Verlag. Berlin.
2. SMITH-AGREDA, J.M. (1991): Reconstrucciones humanas por planos de disección. Expans, S.A. Barcelona.

Correspondencia: Dr. Radivoj Krstić
Institut di Histologie
1005 Lausanne. Suiza

ALGUNAS CONSIDERACIONES SOBRE LA ANATOMÍA DEL SUEÑO

SOME CONSIDERATIONS OF THE ANATOMY OF THE SLEEP

F. REINOSO

Departamento de Moofología. Facultad de Medicina.
Universidad Autónoma. Madrid

RESUMEN

Partiendo de interrogantes que se planteaban en un artículo del número uno de la revista, se hace una breve historia de las investigaciones sobre los mecanismos del sueño, insistiendo en los datos anatómicos. Se hace una consideración especial de los circuitos talamo-corticales responsables de los husos de sueño, y de las estructuras troncoencefálicas ejecutivas en la inducción de sueño paradójico.

PALABRAS CLAVE: Mecanismos sueño.

SUMMARY

From the questions arised in an article of the first number of *Anales de Anatomía*, a brief history on the search about the sleep-waking mechanisms is carried out, emphasizing on anatomical data. A special consideration on the thalamocortical pathways responsible for the sleep spindles, and on the executive brainstem structures responsible for the paradoxical sleep induction, is made.

KEY WORDS: Sleep-warking mechanisms.

Introducción

Me ha producido gran satisfacción la invitación que me ha hecho el director de *Anales de Anatomía* a participar en el número 100 de esta querida revista. Yo participé en el número 1, no sólo como autor de dos artículos sino también como ayudante del impresor en la composición de las láminas, entre otros muchos pequeños detalles.

En estos momentos mi recuerdo se vuelve a D. José. Cuántos desvelos, cuánto entusiasmo, cuánta generosidad. D. José es un hombre con una mente prodigiosa, con una energía poco común, con una capacidad de resistencia

admirable ante las contrariedades, y sobre todo, con un enorme poder para entusiasmar a los jóvenes deseosos de salir de la vulgaridad en la búsqueda de la verdad, tanto científica como en otras facetas más profundas de la vida del hombre. Quiero rendir aquí un homenaje de admiración, cariño y profundo respeto y agradecimiento a ese *maestro* que fue y, afortunadamente sigue siendo D. José Escolar García.

Como final de mi trabajo «El problema facilitación-supresión en sistema nervioso central bajo un punto de vista anatómico», en aquel primer número de *Anales de Anatomía*, hacía una lista de temas a resolver (Reinoso-Suárez, 1952). Para su resolución propugnaba un tratamiento multidisciplinario, ya que sólo de esta forma se podría conseguir un profundo conocimiento de los problemas planteados en el estudio del sistema nervioso central. De lo que ha sucedido con algunos de aquellos proyectos me voy a ocupar a continuación.

Todos los temas que voy a tratar en este trabajo están relacionados con estructuras implicadas en los mecanismos del ciclo vigilia-sueño, de ahí el título del trabajo.

Una de las preguntas que quedaban pendientes en este primer trabajo era la conexión directa, o con estaciones intermedias, desde formación reticular mesencefálica y pontina a corteza cerebral. Yo dibujaba y proponía conexiones directas desde estas estructuras troncoencefálicas a la corteza cerebral (Figura 1) (Reinoso-Suárez, 1952). Suponía igualmente la existencia de conexiones con varias sinapsis. Para el estudio de conexiones utilizamos primero técnicas de degeneración anterógrada y retrógrada y, más tarde, técnicas de transporte axonal retrógrado y anterógrado. Siempre unimos a este estudio, un estudio fisiológico de las mismas estructuras que eran tratadas por técnicas anatómicas.

Pequeñas diatermocoagulaciones unilaterales en formación reticular mesencefálica y en el diencefalo basal, incluyendo la parte medial de la zona incierta que podían lesionar fibras del braquio conjuntivo, daban lugar a un aumento de la sincronización del electroencefalograma (EEG) en la corteza cerebral del gato. Este aumento solía ser más marcado en el hemisferio de la lesión y se solía traducir con un aumento de husos de sueño en regiones corticales frontal y parietal posterior (Reinoso-Suárez, 1952, 1954, 1959, 1961). Es decir, los husos del sueño aumentaban en las mismas áreas corticales donde Starlz y Magoun (1951) demostraron que termina el sistema difuso de proyección talamo-cortical, expresado en el registro por respuestas de reclutamiento y husos de sueño espontáneos. Estos hallazgos apoyaban la identidad de mecanismos para unas y otras de estas manifestaciones bioeléctricas, propuestos ya por Morrison y Cempsey (1942), y que estos autores atribuyeron al tálamo. Que en el tálamo se encontraba el marcapasos de estas ondas era confirmado por el hecho de que subcorticalmente, nosotros solamente registramos husos de sueño en el tálamo, principalmente en los núcleos ventral medial y ventral lateral, pero nunca en otras estructuras subcorticales como la zona incierta, el hipotálamo o la formación reticular mesencefálica. Observamos por tanto dos fenómenos tras estas lesiones: una sincronización del EEG en toda la corteza cerebral, más cerrada en el lado de la lesión, y un aumento de los husos de sueño en el lado de la lesión, concretamente en áreas corticales fronto-parietales. Otro hallazgo constante fue un aumento del voltaje de los potenciales evocados en corteza cerebral ante estímulos visuales y auditivos (Reinoso-Suárez, 1961, Reinoso Suárez *et al.*, 1962). Sin embargo, las lesiones caudales en el tronco del encéfalo a partir del núcleo reticular caudal del puente producían el aumento de la activación en la corteza cerebral. De esta forma las habíamos caracterizado: 1º) unas estructuras activadoras del EEG, y en consecuencia vigilantígenas, que ocupaban la porción rostral de la formación reticular del tronco del encéfalo y diencefalo basal, y, 2º) unas estructuras sincronizadoras del EEG, y por tanto hipnogénicas, que parecían situarse en la porción caudal de la formación reticular del tronco del encéfalo. En 1964 publiqué, en colaboración con Camacho-Evangelista un trabajo en la revista *Science* (Camacho-Evangelista y Reinoso-Suárez, 1964) en el que señalábamos los límites exactos entre las estructuras activadoras y sincronizadoras del EEG en tronco del encéfalo y en el que concluíamos: «que en la parte rostral del puente hay estructuras responsables de la activación, ya que su destrucción produce sincronización... estas estructuras son el núcleo reticular oral del puente y el núcleo reticular tegmento pontino... Influencias sincronizadoras desde el núcleo reticular caudal y formaciones vecinas, junto con las vías ascendentes, y las influencias sincronizadoras de especial importancia desde el cerebelo llegan al cerebro. La destrucción unilateral de parte limitada de estos núcleos o vías da lugar a activación del EEG... La supresión de las influencias sincronizadoras afecta bilateralmente los hemisferios cerebrales, mientras que la supresión de las influencias activadoras afecta principalmente el hemisferio del lado de la lesión».

Mientras tanto, varios hechos habían modificado los conceptos sobre el sueño. Seguramente los más importantes eran la descripción por Aserinski y Kleitman (1953) en el hombre, y por el grupo de Jouvet (1959a)

en el gato, del sueño paradójico o sueño de movimientos oculares rápidos. Desde la descripción de estos autores sabemos que el sueño no es un estado uniforme: tiene esencialmente una fase que se manifiesta por ondas lentas de gran voltaje (sueño de ondas lentas, que en el hombre se divide en tres grados), y tiene otra fase en la que aparecen los movimientos oculares rápidos (es la fase en la que aparecen los ensueños), se pierde el tono de la musculatura antigravitatoria y aparecen distintos fenómenos fásicos, de los cuales el mejor estudiado es el correspondiente a las llamadas puntas ponto-genículo-occipitales (PGOs), ondas bifásicas que se registran en la formación reticular pontina, núcleo geniculado lateral y corteza occipital.

Estos hallazgos hacían pensar que el sueño era un fenómeno más complejo de lo que hasta entonces habíamos considerado. Efectivamente, la existencia del sueño paradójico, la demostración de que las lesiones caudales en puente producían un aumento de vigilia (hecho que habían demostrado también Batini *et al.* (1959) en la preparación pretrigeminal mediopontina), y el hallazgo de Hernández-Peón y Chávez-Ibarra (1963) de un aumento del sueño por estimulación química del prosencéfalo basal, eran hechos que nos permitían afirmar que el sueño era un fenómeno activo y diversificado.

A partir de entonces comenzamos un estudio sistemático tratando de precisar las estructuras responsables de los mecanismos de las diferentes fases del sueño, sus interrelaciones y su interacción con las estructuras vigiliantígenas. Para ello consideramos el ciclo total vigilia sueño del gato dividido en cuatro fases: vigilia, somnolencia, sueño lento y sueño paradójico. Caracterizamos bioeléctricamente la vigilia por un EEG activado, con tono muscular manifiesto y a veces artefactos de actividad motora. La somnolencia corresponde a una fase entre la vigilancia en reposo y la entrada en sueño, electroencefalográficamente hay ritmos de relajación de frecuencia similar a los husos de sueño y existe tono muscular. Durante el sueño lento aparecen husos de sueño y ondas lentas de gran voltaje en el EEG y disminuye el tono muscular que, sin embargo, está claramente presente. Finalmente, en el sueño paradójico hay una pérdida total del tono muscular, el EEG es activado, aparecen movimientos oculares rápidos y PFOs.

En otros muchos laboratorios se habían emprendido los mismos estudios y ya se contaba con datos importantes. Entre los más significativos estaba la descripción por el grupo de Jouvét (1959b) de la supresión de las ondas lentas en el EEG tras la lesión amplia de la corteza cerebral o la afirmación de Morrison y Dempsey (1942) y Villablanca y Salinas-Ceballos (1972) de que para que aparezcan los husos de sueño característicos de la somnolencia es necesario el tálamo. Más recientemente Steriade *et al.* (1987) han demostrado que el núcleo reticular del tálamo hace de marcapasos para que aparezcan los husos del sueño. Experimentos con transección mesencefálica habían demostrado que en el cerebro aislado no se da ninguna manifestación de sueño paradójico que, sin embargo, sí aparecen en el animal descerebrado (Jouvét, 1964; Villablanca, 1965). Por consiguiente, debía ser en el tegmento ponto-bulbar donde debían encontrarse las estructuras responsables de los distintos indicadores del sueño paradójico (movimientos oculares rápidos, atonía, activación del EEG, PGOs) y de la génesis y organización del mismo.

A estos datos se añadieron muy pronto los concernientes a la naturaleza química de los neurotransmisores utilizados por cada una de estas estructuras (Jouvét, 1972), consideraciones que siguen siendo en la actualidad de la mayor importancia.

Nosotros tratamos de precisar la participación del prosencéfalo basal, tegmento del puente y cerebelo en la organización del ciclo vigilia-sueño. Así demostramos que pequeñas lesiones en el prosencéfalo basal producían disminución del sueño lento que iban seguidos siempre de una disminución del sueño paradójico. Estos efectos eran más notables cuando las lesiones estaban situadas en la porción horizontal de la banda diagonal de Broca (Madoz, 1968; Reinoso-Suárez y Madoz, 1968; Reinoso-Suárez y de Andrés, 1976). En esta zona han descrito recientemente neuronas que descargan durante el sueño lento.

Lesiones a nivel de núcleo reticular caudal del puente daban lugar a una disminución del sueño lento que iba acompañada de una disminución del sueño paradójico (Reinoso-Suárez y de Andrés, 1976; Reinoso-Suárez y Zarranz, 1971; Zarranz, 1971). Lesiones centrales en el núcleo reticular oral del puente producen aumento del sueño lento y paradójico (de Andrés *et al.*, 1985, 1989). Lesiones de los núcleos central superior del rafe produce un aumento de vigilia, mientras que lesiones en la región paramedial del núcleo reticular oral del puente produce un aumento de la somnolencia (de Andrés *et al.*, 1989). Lesiones ventrales y laterales en el tegmento rostopontino producen disminución del sueño paradójico (Gutiérrez-Rivas *et al.*, 1978; de Andrés *et al.*, 1985, 1989), y lesión dorsolateral en el tegmento rostopontino, que afectan la porción caudal del complejo de locus coeruleus, producen

un aumento de sueño paradójico (Caballero y de Andrés, 1986; de Andrés *et al.*, 1989). Lesiones del pedúnculo cerebeloso superior dan lugar a un aumento de vigilia y somnolencia con disminución del sueño lento y sueño paradójico, mientras que las lesiones de la corteza cerebelosa produce un aumento de sueño y disminución de vigilia y somnolencia (de Andrés y Reinoso-Suárez, 1979; García-Uría *et al.*, 1980).

Desde los años cincuenta habíamos comenzado el estudio de las conexiones de las estructuras troncoencefálicas con tálamo y corteza cerebral y del sistema difuso de proyección tálamo-cortical con corteza cerebral (Reinoso-Suárez, 1956a, 1956b, 1961). Pero es en 1963 cuando Molina-Negro hace, utilizando el método de degeneración retrógrada, la primera descripción de conexiones subcorticales no talámicas a corteza cerebral (Molina, 1966). De acuerdo con sus datos, la corteza frontal recibe proyecciones directas del área tegmental ventral de Tsai. Simultáneamente, Alfonso Llamas (Figura 1), utilizando el método de degeneración anterógrada de Nauta descubre el camino y la terminación de estas conexiones (Llamas, 1966; Llamas y Reinoso-Suárez, 1966).

Existía, pues, una vía directa que desde la formación reticular mesencefálica llegaba a la corteza cerebral siguiendo un trayecto subtalámico y que podía ser el camino seguido por los impulsos reticulares ascendentes. Sólo a finales de los años setenta fueron confirmadas estas conexiones utilizando técnicas de transporte axonal retrógrado.

La primera descripción existente en la literatura de conexiones desde el tegmento pontino (Figura 2) a la corteza cerebral también corresponde a nuestro grupo (Reinoso-Suárez y Llamas, 1988, 1975). Igualmente, fuimos los primeros en describir estas conexiones utilizando técnicas de transporte retrógrado de la peroxidasa (Llamas *et al.*, 1975). De esta forma habíamos confirmado la existencia de proyecciones ascendentes directas desde el mesencéfalo y tegmento pontino rostral a la corteza cerebral, principalmente a la corteza frontal, que habíamos propuesto en 1952. A esta corteza describimos finalmente proyecciones directas, aunque escasas, desde la formación reticular bulbar a finales de los años setenta.

Desde la segunda mitad de los años sesenta emprendimos un estudio sistemático de las proyecciones ascendentes desde el tronco del encéfalo a estructuras cerebrales. Utilizando métodos de degeneración anterógrada pudimos determinar en la rata conexiones ascendentes del formación reticular bulbar (Velayos, 1970) y desde la región pontina caudal (Fairén, 1973; Reinoso-Suárez *et al.*, 1977) hasta diencéfalo. Estas fibras degeneradas se localizaban en el tálamo bilateralmente; sin embargo, estas fibras se localizaban de manera distinta en la región subtalámica; eran principalmente contralaterales tras las lesiones bulbares, e ipsilaterales tras lesiones pontinas caudales. En ambos casos, las fibras degeneradas son bilaterales en las estructuras troncoencefálicas. Las lesiones en puente oral, además de dar lugar a la aparición de fibras y terminaciones degeneradas en la corteza cerebral e hipocampo (Fig. 3), demostraban también conexiones abundantes con hipotálamo, prosencéfalo basal y núcleos septales (Llamas y Reinoso-Suárez, 1969, Reinoso-Suárez, 1977). Las conexiones talámicas eran esencialmente ipsilaterales aunque presentes bilateralmente en los núcleos de la línea media. Las lesiones de la formación reticular mesencefálica daban lugar a la aparición de fibras y terminaciones degeneradas esencialmente en el tálamo, hipotálamo, el prosencéfalo basal y la corteza cerebral ipsilateral. Este conjunto de estudios pueden en parte explicar aquella afirmación (Camacho-Evangelista y Reinoso-Suárez, 1964) de que la supresión de las influencias sincronizadoras desde el puente caudal afecta a ambos hemisferios cerebrales, mientras que la supresión de las influencias activadoras desde el tegmento pontino rostral afecta principalmente el lado de la lesión.

Estos hallazgos se completaron a partir de mediados de los setenta con estudios de transporte axonal retrógrado y anterógrado que permitieron precisar muchas de estas conexiones (Avendaño *et al.*, 1985, 1990; Cavada y Reinoso-Suárez, 1983; Clascá *et al.*, 1989; Jiménez-Castellanos y Reinoso-Suárez, 1985; Llamas *et al.*, 1975; Reinoso-Suárez *et al.*, 1982, Roda y Reinoso-Suárez, 1983; Rodrigo-Angulo y Reinoso-Suárez, 1988; Velayos y Reinoso-Suárez, 1982; Velayos *et al.*, 1989).

En este momento parece existir un consenso en la designación de las estructuras que son responsables de las diferentes fases del ciclo vigilia sueño. Las estructuras responsables de la vigilia son la formación reticular pontina oral y mesencefálica, y el hipotálamo posterior y lateral; parece ser, por tanto, que esencialmente las estructuras aminérgicas y colinérgicas del tegmento mesopontino dorsolateral están implicadas en esta fase. Ya hemos dicho que las neuronas GABAérgicas del núcleo reticular del tálamo son el marcapasos de los husos de sueño característicos de la somnolencia. También hemos señalado que la corteza cerebral es necesaria para que se produzcan las ondas lentas (Villablanca y Marcus, 1972). Recientemente, el grupo de Steriade (*J. Neurosci.*, en prensa) ha profundizado sobre la génesis de las ondas lentas en corteza y su reforzamiento por el circuito cortico-

tálamo-cortical. Parece ser que en el hombre tiene una gran importancia la corteza prefrontal en la organización de los mecanismos del sueño lento (Home, 1993). También el prosencéfalo basal, el núcleo dorsomedial del tálamo y la formación reticular caudal se han relacionado recientemente con los mecanismos de esta fase del sueño (Hernández-Peón y Chávez-Ibarra, 1963; Reinoso-Suárez y Madoz, 1968).

En los últimos años se han descrito en el tegmento mesopontino y bulbar las estructuras responsables de todas las manifestaciones del sueño paradójico (Hobson *et al.*, 1986; Sakai, 1985): movimientos oculares rápidos –parte rostral de la formación reticular mediopontina–, atonía –región tegmental laterodorsal prontomesencefálica y núcleo reticular magnocelular del bulbo–, activación del EEG –formación reticular pontinal oral y mesencefálica y núcleo pedúnculo pontino–, y PGOs –núcleo laterodorsal del puente y núcleo pedúnculo pontino–. Sin embargo, se ha discutido cuál es la estructura responsable de que en un determinado momento puedan desencadenarse todas y cada una de aquellas manifestaciones bioeléctricas, resultando en definitiva, la generación de sueño paradójico.

En los años 70 se atribuyó a cada fase del ciclo un determinado neurotransmisor (Jouvet, 1972). Sin embargo, tan sencilla explicación de estos complejos mecanismos se hizo pronto insostenible. En 1980 nosotros demostramos la falta de correspondencia entre los cambios en los diferentes estados y los cambios del contenido de monoaminas en diferentes estructuras encefálicas (Cano y Reinoso-Suárez, 1980). Hobson, en una revisión hecha en 1987, haciendo una correlación entre la velocidad de descarga de las neuronas colinérgicas y aminérgicas y la liberalización de estos neurotransmisores en corteza cerebral, concluía que «cuando se pasa del estado de vigilia a sueño lento hay una disminución en la liberación a nivel cortical tanto de aminas biógenas como de acetilcolina, unido a un enlentecimiento de las descargas de las neuronas colinérgicas y aminérgicas. La disminución de la liberación de las aminas biógenas se hace más marcada durante el sueño paradójico, durante el cual, sin embargo, hay un aumento de la velocidad de descarga de las células acetilcolinérgicas y un aumento de liberación de acetilcolina a nivel cortical». Hallazgos más recientes señalan un comportamiento más complejo de estos neurotransmisores en estas y otras manifestaciones conductuales.

En este contexto yo quisiera insistir sobre dos temas en los que en nuestros laboratorios se han hecho algunas aportaciones: 1) los circuitos talamo-corticales responsables de la organización de los husos de sueño en la corteza cerebral, y 2) el lugar del tronco del encéfalo en donde se genera el sueño paradójico.

Circuitos talamo-corticales responsables de los husos de sueño

Como hemos señalado antes, los husos de sueño es el signo electrográfico distintivo de la fase de somnolencia en el ciclo vigilia sueño. Igualmente, hemos señalado que el tálamo es la estructura necesaria para la generación tanto de los husos de sueño como de las respuestas reclutantes generadas por la estipulación a baja frecuencia de los núcleos intralaminares del tálamo (Jasper, 1954; Morrison y Dempsey, 1942). También conocemos que, en el gato, las áreas corticales en donde se recoge estas dos manifestaciones bioeléctricas son las cortezas frontal, insular, cingular anterior y parietal (Starlz y Magoun, 1951). De acuerdo con hallazgos previos, un posible circuito talamocortical capaz de generar este tipo de actividad bioeléctrica tiene que cumplir tres requisitos: a) La larga latencia de las respuestas reclutantes registradas en la corteza cerebral tras la estimulación de los núcleos intralaminares, suponen la existencia entre estos núcleos y la corteza de varias sinapsis (Jasper, 1954, Morrison y Dempsey, 1942); b) Ambos tipos de actividades se originan en la capa I de la corteza cerebral, ya que se caracterizan por ondas negativas en la superficie cortical que se invierte en 0,2-0,3, mm de profundidad (Glenn *et al.*, 1982); c) Las neuronas GABAérgicas del núcleo reticular del tálamo son el marcapasos de los husos de sueño y sus proyecciones talámicas deben imponer este ritmo a las neuronas que proyectan a la capa I de la corteza cerebral.

Después de la inyección en el tálamo de trazadores que se transportan anterógrada y retrógradamente, hemos podido demostrar que el área diana de proyección del núcleo reticular del tálamo desde los núcleos intralaminares anteriores, proyecta a su vez sobre el núcleo ventral medial del tálamo y otros núcleos paralaminares anteriores, proyecta a su vez sobre el núcleo ventral medial del tálamo y otros núcleos paralaminares (Jiménez-Castellanos y Reinoso-Suárez, 1985; Reinoso-Suárez, 1992; Velayos y Reinoso-Suárez, 1985 y Velayos *et al.*, 1989). La inyección de trazadores anterógrados en el núcleo ventral medial del tálamo produce un marcaje en la capa I de las cortezas cerebrales, frontal, insular y cingular anterior (Reinoso-Suárez, 1992). Igualmente, en el núcleo medial

se encontraron neuronas marcadas después de situar depósitos de peroxidasa en la capa I de la corteza frontal (Rausell y Avendaño, 1985). Las cortezas frontal, insular y cingular anterior son junto con la corteza parietal posterior las áreas diana de los husos de sueño (Starlz y Magoun, 1951). La corteza parietal recibe en su capa I proyecciones desde la porción paralaminar de los núcleos ventral anterior y ventral lateral (Avendaño *et al.*, 1990).

Con estos hallazgos se puede diseñar una red neuronal que reúna los requisitos que hemos señalado más arriba (Figs. 4 y 5). De esta forma, los núcleos intralaminares proyectan sobre el núcleo reticular del tálamo, que es el marcapasos de las ondas de los husos de sueño, y es el núcleo reticular del tálamo el que impone este ritmo a los núcleos paralaminares (ventral medial y parte paralaminar del ventral anterior y ventral lateral), que, a su vez, proyectan a la capa I de las cortezas frontal, insular, límbica anterior y parietal.

A su vez estos núcleos paralaminares son el sitio de la proyección del pedúnculo cerebeloso superior (Jiménez-Castellanos y Reinoso-Suárez, 1985). Por ello, se ha sugerido que la proyección a capa I está relacionada con la respuesta talamocortical superficial inducida por la estimulación cerebelosa (Sasaki *et al.*, 1972). En nuestra experiencia, la lesión del pedúnculo cerebeloso superior aumenta la producción de husos de sueño, en el hemisferio contralateral cuando la lesión se hizo antes de la decusación del braquio conjuntivo (Camacho-Evangelista y Reinoso-Suárez, 1964) y en el hemisferio del mismo lado cuando la lesión se hizo después de esta decusación (Reinoso-Suárez 1954). En consecuencia, se produce un aumento de somnolencia después de la lesión de este haz (de Andrés y Reinoso-Suárez, 1979). Sobre las neuronas de los núcleos paralaminares hay dos tipos de influencias contrapuestas (Fig. 5): una inhibidora de las neuronas GABAérgicas del núcleo reticular del tálamo, marcapasos de los husos de sueño, y otra excitatoria de los núcleos centrales del cerebelo. La supresión de esta segunda hace que predomine la procedente del núcleo reticular y aumente el número de husos de sueño en las cortezas frontal y parietal del hemisferio correspondiente.

¿Donde se genera el sueño paradójico?

En colaboración con Isabel de Andrés, Margarita Rodrigo-Angulo, Elisia Rodríguez Veiga (Reinoso-Suárez *et al.*, 1990) propusimos a la porción ventral del núcleo reticular oral del puente como la estructura ejecutiva de la puesta en marcha del sueño paradójico, a diferencia de lo afirmado por otros autores de que el marcapasos o generador del sueño paradójico se encontraba situado en la porción dorsal del tegmento pontino oral (Vanni Mercier *et al.*, 1989, Yamamoto *et al.*, 1990). Estos autores haciendo inyecciones de una solución carbacol que oscilaban entre 500 a 200 nl, señalaron al *locus coeruleus alpha* y al núcleo *pericoeruleus alpha* como las estructuras que tendrán un papel ejecutivo en la organización del sueño paradójico.

En nuestro laboratorio se había demostrado que lesiones en esta zona dorsal del tegmento oral del puente producían aumento de sueño paradójico (Caballero y de Andrés 1986), mientras que las lesiones en la porción ventral producían disminución de esta fase del sueño (Gutiérrez-Rivas *et al.*, 1978). Además, otros autores habían señalado que la estimulación eléctrica y química de la parte dorsal del tegmento pontino oral producía atonía, pero también aumento de la vigilia, sin modificar el sueño paradójico (Hayes *et al.*, 1984, Mitler y Dement, 1974).

Nosotros hemos explorado con microinyecciones intracerebrales de 20 a 30 nl de una solución de carbacol todo el tegmento pontino. Para localizar bien el lugar de la microinyección unimos al carbacol peroxidasa, lo que nos ha permitido también estudiar las conexiones de la zona inyectada. Además, las inyecciones que hemos realizado en cada animal han sido en un solo sitio.

En el caso de las inyecciones en el *locus coeruleus alpha* o *pericoeruleus alpha* obtuvimos, en las tres primeras horas tras la inyección, un aumento de vigilia, a veces largos periodos de atonía, disminución del sueño lento y disminución o no modificación del sueño paradójico. Sin embargo, las inyecciones ventrales en el núcleo reticular oral del puente produjeron en estas tres primeras horas un aumento dramático del sueño paradójico, desaparición del sueño lento, y disminución de la vigilia en la primera hora tras la inyección, para igualarse después al control. Estos hechos fisiológicos parecen demostrar que es el tegmento pontino ventral la zona ejecutiva para la inducción de sueño paradójico. Si esto fuera así, esta zona debe tener conexiones con: a) todas las estructuras necesarias para que se den las manifestaciones conductuales y bioeléctricas del sueño paradójico, para poder así organizar su puesta en marcha, y b) todas las estructuras que controlan los otros estados del ciclo vigilia-sueño (vigilia, somnolencia y sueño lento) para que sea posible la interacción de todas estas estructuras en la organización del ciclo.

El estudio del transporte anterógrado y retrógrado nos demostró que efectivamente esta parte ventral del núcleo reticular oral del puente estaba conectada con esos dos tipos de estructuras.

En el primer caso, encontramos conexiones bidireccionales con las estructuras responsables de las diferentes manifestaciones que definen el sueño paradójico (Fig. 6): 1) La formación reticular pontomesencefálica y el núcleo tegmento pedúnculopontino que son el substrato neural que puede explicar la activación del EEG durante el sueño paradójico; 2) El núcleo tegmento pedúnculopontino, en el que se encuentran neuronas PGO-on (Paré *et al.*, 1990), puede ser el camino a través del cual la región pontina ventral, inductora del sueño paradójico, actuando como un marcapasos de actividad PGO transmita la señal correspondiente a las neuronas PGO-on situadas en este núcleo. 3) La región tegmental laterodorsal pontomesencefálica y el núcleo reticular magnocelular del bulbo que se sabe son las estructuras imprescindibles para que se produzca la atonía del sueño paradójico (Sakai, 1980) y 4) Bilateralmente con la parte rostral de la región mediopontina, responsable de los movimientos oculares rápidos. En consecuencia, la parte ventral del núcleo reticular oral del puente puede actuar sobre estas estructuras organizando todas las manifestaciones comportamentales y bioeléctricas que definen el sueño paradójico.

En el segundo caso, el tegmento pontino oral en su parte ventral está conectado con estructuras que desempeñan un papel esencial en los otros estados del ciclo vigilia sueño (Fig. 7): formación reticular del puente y mesencefalo, e hipotálamo posterior y lateral como responsables de la vigilia; corteza prefrontal, prosencéfalo basal y núcleo dorsomedial del tálamo como estructuras que participan en la organización del sueño lento; y núcleo reticular del tálamo como estructura responsable de la somnolencia (Fig. 7). Estas conexiones proporcionan el substrato morfológico para la organización de interacciones recíprocas entre todas estas estructuras que dan lugar a la alternancia de los diferentes estados del ciclo vigilia sueño. Incluso podríamos adelantar algunos de los posibles neurotransmisores para que se realice esta interacción (Fig. 7). No conocemos la naturaleza bioquímica de las neuronas del puente ventral, aunque sí sabemos que aquí terminan fibras acetilcolinérgicas, aminérgicas y GABAérgicas, y posiblemente glutamatérgicas. Por eso, en el momento presente seguimos estudiando esta región: estructura y naturaleza química de sus neuronas y de las terminales que a ella llegan a nivel de microscopía óptica y electrónica; efectos de su destrucción, estimulación con otros neurotransmisores y registros unitarios intra y extracelulares *in vitro* y *in vivo*; etc.

Como vemos, a lo largo de estos 41 años hemos resuelto preguntas que quedaron pendientes en el 1952. Sin embargo, aparecen nuevas y más complejas cuestiones. La colaboración de diferentes técnicas para resolverlas se hace cada vez más necesaria. El trabajo en equipo es imprescindible.

Finalmente, me gustaría hacer algunas consideraciones sobre el futuro de nuestra revista. *Anales de Anatomía* cumplió bajo la batuta de D. José Escolar un papel importante en aquellos momentos de la vida científica española. Los tiempos han cambiado, en el momento presente se plantea un reto difícil a esta publicación. Hay que sopesar muy bien los cambios. El cambio tiene que ser sólido y firme. La ciencia es universal. La revista tiene que responder a esta demanda. Nos hemos comprometido con unos científicos de prestigio al incorporarlos a su comité de redacción. Son muchos los compromisos. Hago votos por que el cambio sea de verdad y haga triunfar la revista.



FIGURA 1. Primera demostración del camino y proyecciones desde el área tegmental ventral de Tsai a la corteza frontal. Método de degeneración anterógrada (Llamas, 1966, Llamas y Reinoso-Suárez, 1969).

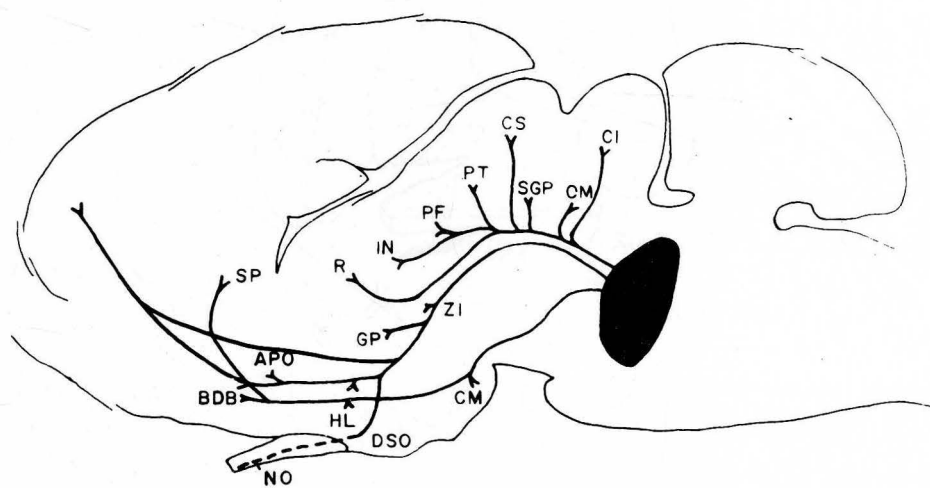


FIGURA 2. Esquema de proyecciones ascendentes desde el tegmento pontino oral en el ratón (Reinoso-Suárez y Llamas, 1968).

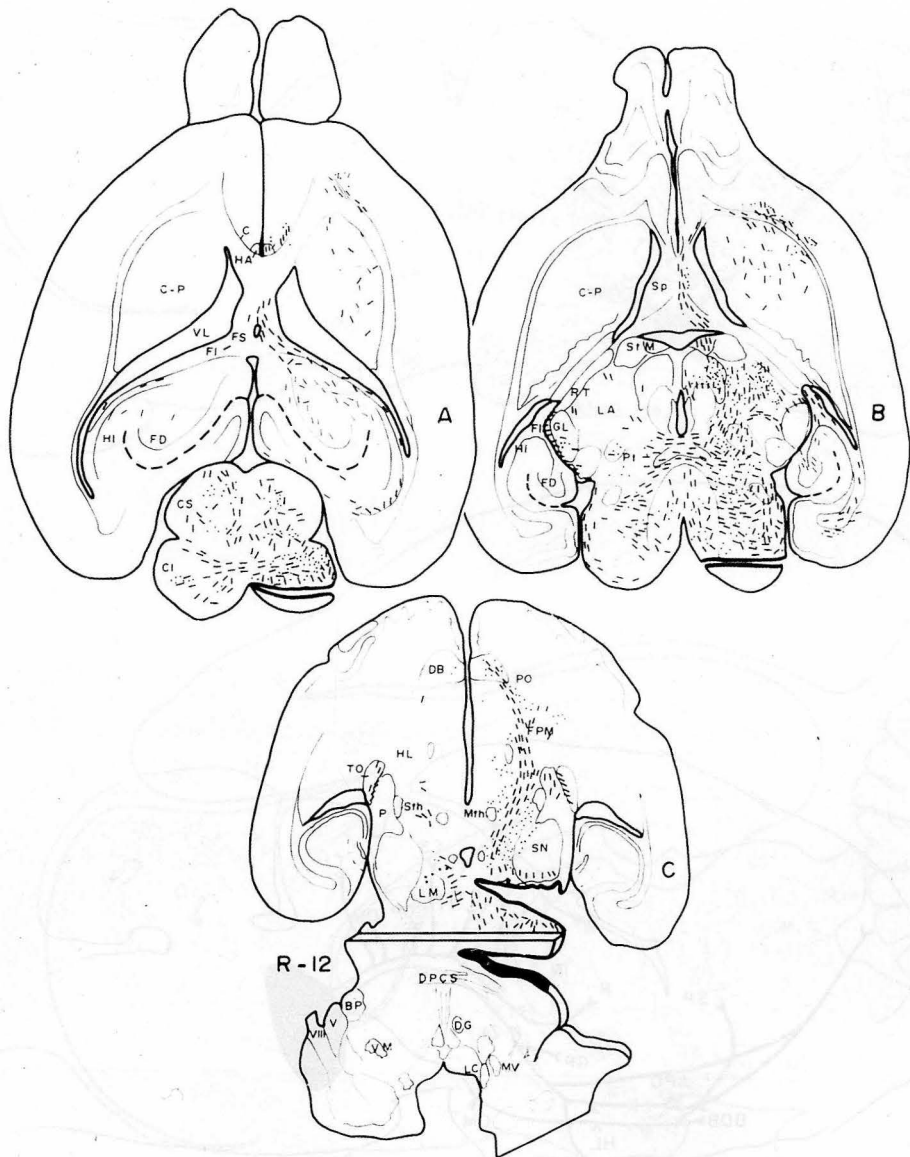


FIGURA 3. Después de una hemisección rostral a puente, se representa en cortes horizontales del cerebro de la rata la proyección esencialmente ipsilateral a hipotálamo; núcleos talámicos mediales y reticular; prosencéfalo basal; corteza frontal, e hipocampo.

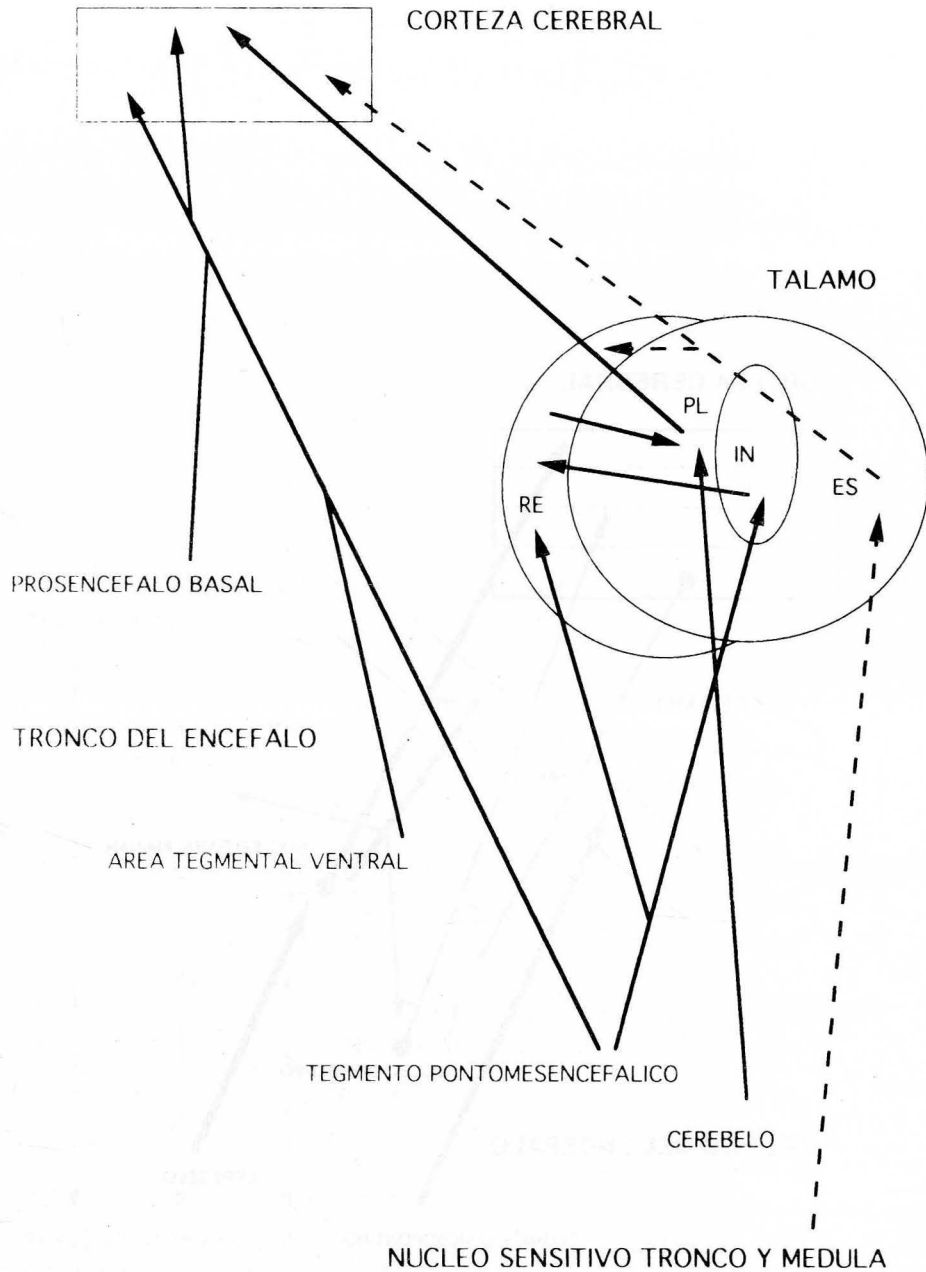


FIGURA 4. Esquema de proyecciones directas desde el tronco del encéfalo y el prosencéfalo basal a la corteza cerebral. Proyecciones desde el tronco del encéfalo y cerebelo a los núcleos intralaminares (IN), paralaminar (PL) y reticular (RE) del talamo. Representación en el talamo del camino del sistema «inespecífico» de proyección talamo cortical. En línea interrumpida representación esquemática de un sistema sensitivo específico (ES).



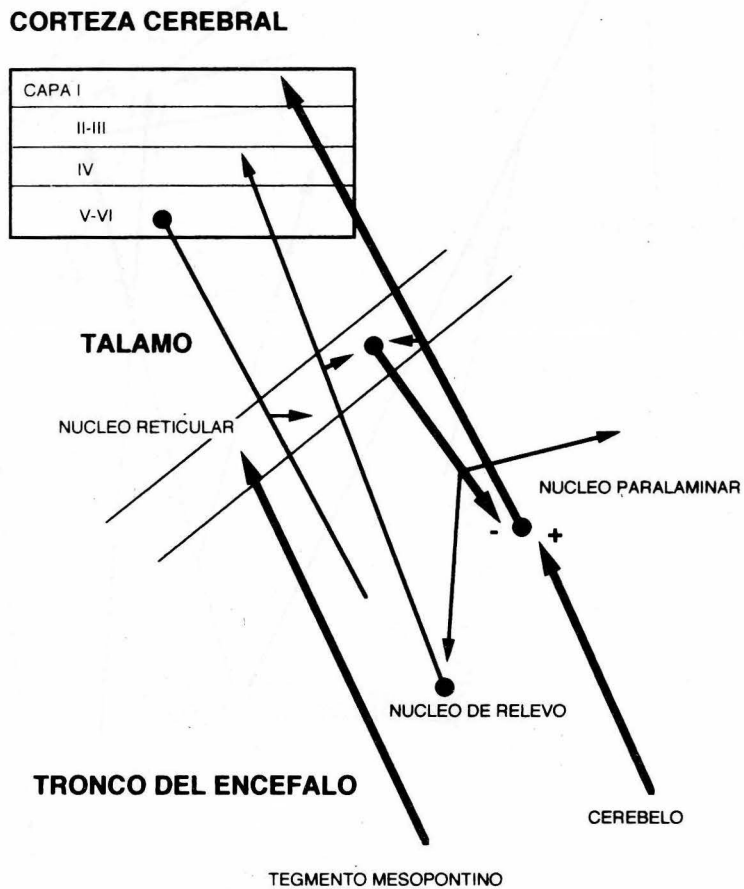


FIGURA 5. Esquema de las conexiones aferentes y eferentes del núcleo reticular y núcleos paralaminares talámicos. Obsérvese como el núcleo reticular puede ser modulado por aferentes corticales, talámicas y troncoencefálicas. Señalamos el diferente sentido de las aferentes reticulares y cerebelosas sobre los núcleos paralaminares. La supresión de las influencias reticulares suprime los husos de sueño. La supresión de las cerebelosas aumentan su número y amplitud.

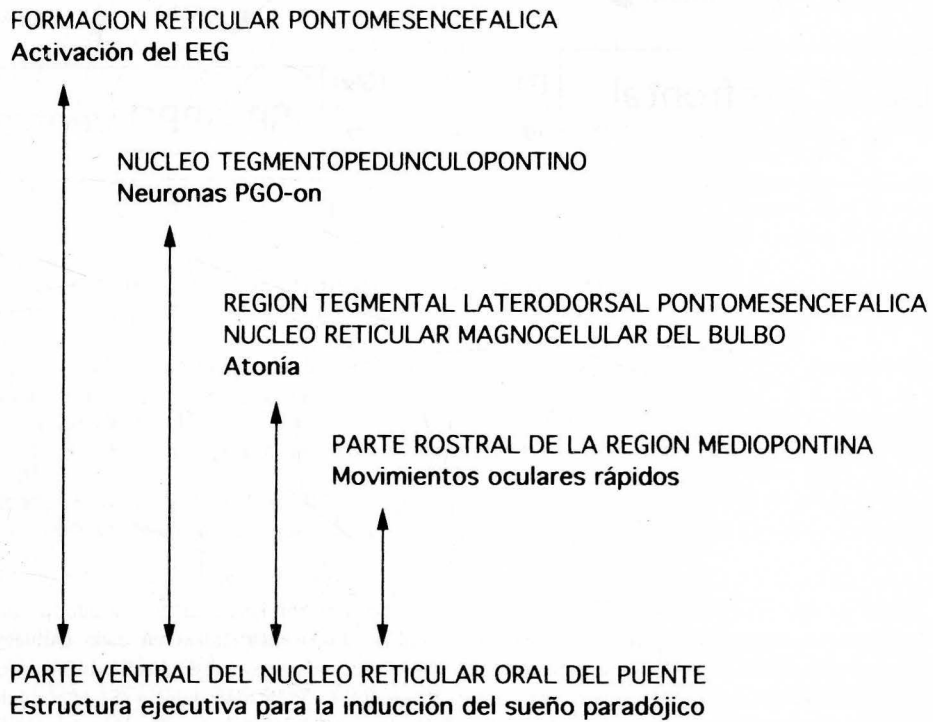


FIGURA 6. Esquema que demuestra la conexión de la parte ventral del núcleo reticular oral del puente con todas las estructuras responsables de las diferentes manifestaciones que caracterizan al sueño paradójico. Estas conexiones posibilitan a esta estructura pontina el actuar como ejecutiva en la inducción del sueño paradójico.

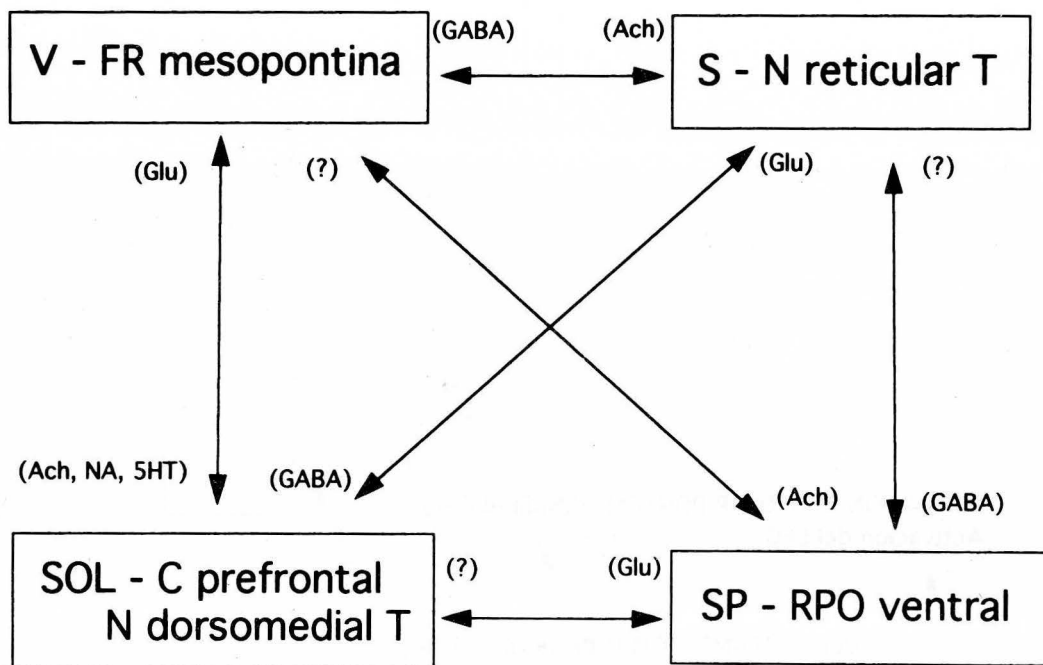


FIGURA 7. Esquema que representa las conexiones y posibles neurotransmisores de las estructuras implicadas en la organización del ciclo vigilia sueño. Se han simplificado las estructuras en cada paralelepípedo. Como responsable de la vigilia (V) se ha situado a la formación reticular mesopontina con posibles neurotransmisores dependiendo de la estructura sobre la que actúe. Responsable de la somnolencia (S) es el núcleo reticular del tálamo. Responsable del sueño de ondas lentas (SOL) la corteza prefrontal y el núcleo dorsomedial del tálamo. Este núcleo recibe proyecciones del resto de estructuras representadas en el esquema, pero él sólo proyecta sobre el núcleo reticular del tálamo y corteza prefrontal. Es esta última estructura la que proyecta sobre formación reticular mesopontina y núcleo reticular oral del puente (RPO). La parte ventral de este núcleo es la estructura que nosotros consideramos como responsable de la inducción del sueño paradójico (SP). No conocemos la naturaleza bioquímica de sus neuronas. Demostramos una estrecha conexión bidireccional entre el RPO y el núcleo reticular del tálamo (Reinoso-Suárez *et al.*, 1990).

BIBLIOGRAFÍA

- ASELINSKI, E. y KLEITMAN, N. (1953): Regularly occurring periods of eye motility, and concomitant phenomena, during sleep. *Science*, **118**: 87-88.
- AVENDAÑO, C.; RAUSELL, E. y REINOSO-SUÁREZ, F. (1985): Thalamic projections to areas 5a and 5b of the parietal cortex in the cat: A retrograde horseradish peroxidase study. *J. Neurosci.*, **5**: 1446-1470.
- AVENDAÑO, C.; STEPNIIEWSKA, I.; RAUSELL E. y REINOSO-SUÁREZ, F. (1990): Segregation and heterogeneity of thalamic cell populations projecting to superficial layers of the posterior parietal cortex: a retrograde tracing study in the cat and monkey. *Neuroscience*, **39**: 547-559.
- BATINI, C.; MAGNI, F.; PALESTINI, M.; ROSSI, G.F. y ZANCHETTI, A. (1959): Neural mechanisms underlying the enduring EEG and behavioral activation in the midpontine pretrigeminal cat. *Arch. Ital. Biol.*, **97**: 13-25.
- BREMER, F. (1951): Les reactions auditives de l'écorce cérébrale. *L'année psychologique*, pp. 115-128.
- CABALLERO, A. y DE YRÉS, I. (1986): Unilateral lesions in locus coeruleus area enhance paradoxical sleep. *EEG Journal*, **64**: 339-346.
- CAMACHO-EVANGELISTA, A. y REINOSO-SUÁREZ, F. (1964): Activating and synchronizing centers in cat brain. *Science*, **146**: 268.
- CANO, J. y REINOSO-SUÁREZ, F. (1980): Effects of cerebellar lesions on monoamine levels in various brain areas of the cat. *J. Neurochem.*, **35**: 1446-1448.
- CAVADA, C. y REINOSO-SUÁREZ F. (1983): Afferent connections of area 20 in the cat studied by means of the retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. *Brain Res.*, **270**: 319-324.
- CLASCÁ, F.; LLAMAS, A. y REINOSO-SUÁREZ, F. (1989): Hypothalamic connections of the insular cortex in the cat. *Brain Res.*, **490**: 361-366.
- DE ANDRÉS, I. y REINOSO-SUÁREZ, F. (1979): Participation of the cerebellum in the regulation of the sleep-wakefulness cycle through the superior cerebellar peduncle. *Arch. Ital. Biol.*, **117**: 140-163.
- DE ANDRÉS, I. y REINOSO-SUÁREZ, F. (1979): Influencia del cerebelo en la regulación del ciclo vigilia sueño. En: *El cerebelo, problemas fisiopatológicos y clínicos*. Monografías neuroquirúrgicas de Santander. Ed. B.Santander, p. 22-29, 1979.
- DE ANDRÉS, I.; GÓMEZ-MONTOYA, J.; GUTIÉRREZ-RIVAS, E. y REINOSO-SUÁREZ, F. (1985): Differential action upon sleep states of ventrolateral and central areas of pontine tegmental field. *Arch. Ital. Biol.*, **123**: 1-11.
- DE ANDRÉS, I.; RODRIGO-ANGULO, M.L. y REINOSO-SUÁREZ, F. (1989): El tegmento pontino: implicación en los estados de vigilia y de sueño. *Rev. Esp. Fisiol., Suppl.*, **45**: 158-167.
- FAIRÉN CARRIÓN, A. (1973): Conexiones ascendentes del tegmento pontino caudal (Un estudio experimental en la rata blanca). Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Madrid.
- GARCÍA-URÍA, J.; de ANDRÉS, I.; CUNCHILLOS, J.D. y REINOSO-SUÁREZ, F. (1980): Modification of the sleep-wakefulness cycle after surgical removal of the cerebellar cortex. In: *Sleep 1978*. Eds. L.Popovicin, B.Asgian y G.Badin, S. Karger, Basel, 1980, pp. 289-292.
- GLENN L.L.; HADA, J.; ROY, J.P.; DESCHENES, M. y STERIADE, M. (1982): Anterograde tracer and field potential analysis of the neocortical layer I projection from nucleus ventralis medialis of the thalamus in the cat. *Neuroscience*, **7**: 1861-1877.
- GUTIÉRREZ-RIVAS, E.; DE ANDRÉS, I.; GÓMEZ-MONTOYA, J. y REINOSO-SUÁREZ, F. (1978): The influence of the rostromedial-ventrolateral region on the sleep-wakefulness cycle. *Experientia*, **34**: 61.
- HAYES, R.L.; PECHURA, C.M.; KATAYAMA, Y.; POVLISHOCK, J.T.; GIEBEL, M.L. y BECKER, D.P. (1984): Activation of pontine cholinergic sites implicated in unconsciousness following cerebral concussion in the cat. *Science*, **223**: 301-303.
- HERNÁNDEZ-PEÓN, R. y CHÁVEZ-IBARRA, G. (1963): Sleep induced by electrical or chemical stimulation of the forebrain. In: *The physiological basis of mental activity* (R. Hernández-Peón ed.), 1963. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol. suppl.*, **24**: 188-198.
- HOBSON, J.A.; LYDIC, R. y BAGHDOYAN, H.A. (1986): Evolving concepts of sleep cycle generation: From brain centers to neuronal populations. *The behavioral and brain sciences*, **9**: 371-448.
- HORNE, J.A. (1993): Human sleep, sleep loss and behaviour implications for the prefrontal cortex and psychiatric disorder. *British J. Psychiat.*, **162**: 413-419.
- JASPER, H.H. (1954): Functional properties of the thalamic reticular system. In: *Brain Mechanisms and Consciousness* (Delafresnaye J.F., Ed.), pp. 374-401. Blackwell, Oxford, 1954.
- JIMÉNEZ-CASTELLANOS Jr., J. y REINOSO-SUÁREZ, F. (1985): Topographical organization of the afferent connections of the principal ventro-medial thalamic nucleus in the cat. *J. Comp. Neurol.*, **236**: 297-314.
- JOUVET, M. (1964): Recent aspects of the neurophysiology of sleep. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, **18**: 93.
- JOUVET, M. (1972): The role of monoamines and acetylcholine-containing neurons in the regulation of the sleep-waking cycle. *Ergebn. Physiol.*, **64**: 166-307.
- JOUVET, M.; MICHEL, F. y COURJON, J. (1959a): Sur un stade d'activité électrique cérébrale rapide au cours du sommeil physiologique. *C.R. Soc. Biol.*, **153**: 1024-1028.

- JOUVET, M.; MICHEL, F. y COURJON, J. (1959b): Enregistrement et stimulation de structures sous-corticales chez l'animal décortiqué chronique. *Revue Neurologique* **101**: 255-256.
- LLAMAS MARCOS, A. (1966): Conexiones eferentes de la sustancia negra y del área tegmental ventral de Tsai. Tesis Doctoral. Universidad de Navarra.
- LLAMAS, A. y REINOSO-SUÁREZ, F. (1969): Projections of the substantia nigra and ventral tegmental mesencephalic area. En: *Third Symposium on Parkinson's Disease*. Ed. F.J. Gilligam, Londres 1969, pp. 82-87.
- LLAMAS, A.; REINOSO-SUÁREZ, F. y MARTÍNEZ-MORENO, E. (1975): Projections to the gyrus proreus from the brain stem tegmentum (locus coeruleus, raphe nuclei) in the cat, demonstrated by retrograde transport of horseradish peroxidase. *Brain Res.*, **89**: 331-336.
- MADOZ JÁUREGUI, P. (1968): Influencia de la región preóptica en la regulación de la actividad eléctrica cerebral. Tesis Doctoral. Universidad de Navarra.
- MITLER, M.M. and DEMENT, W.C. (1974): Cataplectic-like behavior in cats after microinjections of carbachol in pontine reticular formation. *Brain Res.*, **68**: 335-343.
- MOLINA NEGRO, P. (1966): Conexiones nigro-corticales. Tesis Doctoral. Universidad de Navarra.
- MORRISON, R.S. and DEMPSEY, E.W. (1942): A study of thalamo-cortical relations. *Am. J. Physiol.*, **135**: 281-292.
- PARÉ, D.; DOSSI, R.C.; DATTA, S. and STERIADE, M. (1990): Brainstem genesis of reserpine-induced ponto-geniculo-occipital waves. An electrophysiological y morphological investigation. *Exptl. Brain Res.*, **81**: 533-544.
- POSADA FORERO, J.T. (1964): Comportamiento clínico y bioeléctrico tras lesiones en tegmento pontomesencefálico dorsal (un estudio experimental en el gato libre con electrodos implantados). Tesis doctoral. Universidad de Navarra.
- RAUSELL, E. and AVENDAÑO, C. (1985): Thalamocortical neurons projecting to superficial and deep layers in parietal, frontal and prefrontal regions in the cat. *Brain Res.*, **347**: 159-165.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1952): El problema facilitación-supresión en sistema nervioso central bajo un punto de vista anatómico. *An. Anat.*, **1**: 59-84.
- REINOSO-SUÁREZ (1954): Die Auswirkungen der Ausschaltung eines Nucleus ruber auf die Hirnrinde (Electroencephalographische Untersuchungen an der Katze). *Dtsch.Z.Nervenheilk.*, **172**: 201-219.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1956a): Conexiones diencefalo-corticales en el sistema reticular ascendente de activación. *An. Anat.*, **5**: 25-36.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1956b): Conexiones recíprocas cortico-subcorticales en el sistema reticular de activación. *An. Anat.*, **5**: 231-242.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1958): Formación reticular y actividad bioeléctrica encefálica. *An. Anat.*, **7**: 239-266.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1959): Algunas consideraciones sobre el sistema reticular ascendente de activación. *Act.Méd.*, **45**: 1010-1013.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1960): Modifications of the potential evoked by acoustic stimuli by means of diatermo-coagulation in the diencephalon. *J. Comp. Neurol.*, **114**: 207-215.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1961): El sistema reticular ascendente de activación. Desarrollo de su escalón diencefálico en el hombre y estudio experimental en el gato. Publicaciones del C.S.I.C., Madrid.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1962): Consideraciones sobre las bases anatomofisiológicas del control de las sensaciones a la luz de las modificaciones que sufren los potenciales evocados en la vía visual y acústica. *Rev. Med. Univ. Navarra*, **6**: 203-216.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1963): Effects of diencephalic and mesencephalic lesions upon afferent impulses in the central sensory pathways. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, Suppl., **24**: 33-42.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1977): Proyecciones a neocórtex e hipocampo desde el tronco del encéfalo e hipotálamo. *An. Anat.*, N° **Extraord.**: 1-9.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1992): Some considerations on thalamic and pontine sleep mechanisms. In: *Fundamental Neurobiology*. R. Velluti ed., Work, Montevideo, 9-71.
- REINOSO-SUÁREZ, F.; SIERRA, G. y CAMACHO-EVANGELISTA, A. (1962): Efectos de lesiones en formación reticular protuberancial e istmo ponto-mesencefálico sobre el EEG del gato (Su participación en el mecanismo del sueño). *Rev. Med. Univ. Navarra*, **6**: 119.
- REINOSO-SUÁREZ, F. y LLAMAS A. (1968): Fibras ascendentes desde tegmento pontino oral en el ratón. *Acta Neurol. Latinoamer.*, **14**: 5- 16.
- REINOSO-SUÁREZ, F. y MADOZ, P. (1968): Influence of lesions in preoptic region on the states of sleep and wakefulness. 24th International Congress of Physiological Sciences. Bethesda (USA).
- REINOSO-SUÁREZ, F. y ZARRANZ, J.J. (1971): The pontine tegmentum and sleep wakefulness states. 25th International Congress of Physiological Sciences. Munich (Alemania).
- REINOSO-SUÁREZ, F. y LLAMAS, A. (1975): Conexiones aferentes a la corteza frontal desde tegmento ponto-mesencefálico (locus coeruleus, rafe, sustancia negra) en la rata. *An. Anat.*, **24**: 337-350.
- REINOSO-SUÁREZ F. y DE ANDRÉS, I. (1976): Brain structures and sleep. *Trab. Inst. Cajal Invest.Biol.*, **68**: 39-68.
- REINOSO-SUÁREZ, F.; FAIRÉN, A.; MARTÍNEZ-MORENO, E.; NAVA, B.E. y PASQUIER, D. (1977): Ascending projections from the brain stem. *Medical and Biological Papers*, **1**: 233-246.
- REINOSO-SUÁREZ, F.; LLAMAS, A. y AVENDAÑO, C. (1982): Pallido-cortical projections in the cat studied by means of the horseradish peroxidase retrograde transport technique. *Neurosci. Lett.*, **29**: 225-229.

- REINOSO-SUÁREZ, F., RODRIGO-ANGULO, M.L., RODRÍGUEZ-VEIGA, E. y DE ANDRÉS, I. (1990): Thalamic connections of oral pontine tegmentum sites whose cholinergic stimulation produces enhancement of paradoxical sleep signs. In: *The Diencephalon and sleep*. M. Mancía and G. Marini eds., 1990, 49-63.
- RODA, J.M. y REINOSO-SUÁREZ, F. (1983): Topographical organization of thalamic projections to the cortex of the anterior ectosylvian sulcus in the cat. *Exp. Brain Res.*, **49**: 131-139.
- RODRIGO-ANGULO, M.L. y REINOSO-SUÁREZ, F. (1988): Connections to the lateral posterior-pulvinarthalamic complex from the reticular and ventral lateral geniculate thalamic nuclei: A topographical study in the cat. *Neuroscience*, **26**: 449-459.
- SAKAI, K. (1980): Some anatomical and physiological properties of ponto-mesencephalic tegmental neurons with special reference to the PGO waves and postural atonia during paradoxical sleep in the cat. In: J.A. Hobson and M.A.B. Brazier (Eds.), *The Reticular Formation Revisited*. Raven Press, New York, 1980, 427-447.
- SAKAI, K. (1985): Anatomical and physiological basis of paradoxical sleep. In: D.J. McGinty, R. Drucker-Colin, A. Morrison y L. Parmeggiani (Eds.), *Brain Mechanisms of Sleep*, Raven Press, New York, 1985, 11-137.
- SASAKI, K., MATSUDA, Y., KAWAGUCHI, S. y MIZUNO, N. (1972): On the cerebellothalamo-cerebral pathway for the parietal cortex. *Expl. Brain Res.*, **16**: 89-103.
- STARZL, T.E. y MAGOUN, H.W. (1951): Organization of the diffuse thalamic projection system. *J. Neurophysiol.*, **14**: 133-156.
- STERIADE, M.; DOMICH, L.; OAKSON, G. y DESCHENES, M. (1987): The deafferented reticular thalamic nucleus generates spindle rhythmicity. *J. Neurophysiol.*, **57**: 260-273.
- VANNI-MERCIER, G., SAKAI, K., LIN, J.S. y JOUVET, M. (1989): Mapping of cholinceptive brainstem structures responsible for the generation of paradoxical sleep in the cat. *Arch. Ital. Biol.*, **127**: 133-146.
- VELAYOS JORGE, J.L. (1970): Conexiones ascendentes del bulbo raquídeo. Tesis Doctoral. Universidad de Navarra.
- VELAYOS, J.L. y REINOSO-SUÁREZ, F. (1982): Topographic organization of the brainstem afferents to the medio-dorsal thalamic nucleus. *J. Comp. Neurol.*, **206**: 12-27.
- VELAYOS, J.L. y REINOSO-SUÁREZ, F. (1985): Prosencephalic afferents to the mediodorsal thalamic nucleus. *J. Comp. Neurol.*, **242**: 161-181.
- VELAYOS, J.L.; JIMÉNEZ-CASTELLANOS Jr., J. y REINOSO-SUÁREZ, F. (1989): Topographical organization of the projections from the reticular thalamic nucleus to the intralaminar and medial thalamic nuclei in the cat. *J. Comp. Neurol.*, **279**: 4574-9.
- VILLABLANCA, J. (1965): The electrocorticogram in the chronic *cerveau isolé* cat. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, **19**: 576-586.
- VILLABLANCA, J. y MARCUS, R. (1972): Sleep-wakefulness, EEG and behavioral studies of chronic cats without neocortex and striatum diencephalic cat. *Arch. Ital. Biol.*, **110**: 348-382.
- VILLABLANCA, J. y SALINAS-CEBALLOS, M.E. (1972): Sleep-wakefulness, EEG and behavioral studies of chronic cats without thalamus. The «athalamic cat». *Arch. Ital. Biol.*, **110**: 383-411.
- YAMAMOTO, K., MAMELAK, A.N., QUATTROCHI, J.J. y HOBSON, J.A. (1990): Cholinceptive desynchronized sleep induction zone in the anterodorsal pontine tegmentum. Locus of the sensitive region. *Neurosci.*, **39**: 279-294.
- ZARRANZ IMIRIZALDU, J.J. (1971): Influencia de la región caudal del puente sobre los mecanismos neurofisiológicos del sueño. Tesis Doctoral. Universidad de Navarra.

Correspondencia: Dr. F. Reinoso
Departamento de Morfología. Facultad de Medicina
Universidad Autónoma
Madrid. España

MORFOTOPOGRAFÍA DEL RIÑÓN ENDOCRINO. (UNA APROXIMACIÓN A LA FUNCIÓN RENAL A TRAVÉS DE LA ESTRUCTURA)

MORPHOTOPOGRAPHY OF THE ENDOCRINE KIDNEY. (AN APPROACH TO RENAL FUNCTION THROUGH STRUCTURE)

S. RODRÍGUEZ

Departamento de Anatomía
Facultad de Medicina. Valladolid

RESUMEN

Se hace un estudio morfotopográfico de diferentes estructuras del riñón endocrino tales como el aparato yuxtaglomerular y las células peripolares. Se explican los mecanismos de acción de las sustancias segregadas basándose en las relaciones topográficas así como en la constitución morfológica de las células mioepitelioides, lacis, mácula densa y células peripolares.

PALABRAS CLAVE: Morfotopografía. Aparato yuxtaglomerular. Células peripolares.

SUMMARY

A morphotopographical research of different kidney endocrine structures such as the juxtaglomerular apparatus and peripolar cells is carried out. Mechanisms of action of segregated substances are explained on the basis of topographical relations as well as in the morphological constitution of myo-epithelioid cells, lacis, macula densa and peripolar cells.

KEY WORDS: Morphotopography. Juxtaglomerular apparatus. Peripolar cells.

Introducción

La actividad funcional de nuestro organismo va a estar en gran parte determinada por dos sistemas orgánicos –nervioso y circulatorio– que se encargan de transportar a cualquier parte del cuerpo impulsos bioeléctricos o sustancias generadas en lugares comúnmente alejados del sitio donde producen su efecto o simplemente donde se han de depositar.

Es posible que este concepto funcional global, en donde están estrechamente implicados órganos tan distantes, por ejemplo, como la hipófisis y las gónadas diese lugar, hace ya bastantes años, a que la anatomía, ciencia básica en la que las relaciones topográficas tienen mucha importancia, cediese posiciones respecto a la fisiología.

Al margen de otras consideraciones de tipo docente, vamos a hacer algunas referencias a la importancia de la anatomía topográfica microscópica para llegar al entendimiento de mecanismos básicos que tienen lugar en el riñón.

Aparato yuxtaglomerular

El aparato yuxtaglomerular (Figura 1) es un buen ejemplo para comprender la importancia de la morfotopografía. Sus componentes: células mioepitelioides, mácula densa y células del lacis fueron descritas por Ruyter (1925), Zimmermann (1933) y Goormaghtigh (1932) respectivamente. Este último investigador fue quien integró a las tres estructuras en un bloque funcional que denominó aparato yuxtaglomerular (AY) relacionándolo con la regulación del metabolismo hidrosalino y la presión arterial.

La estrecha vecindad entre sus componentes da pie, en este caso, a que estructuras de origen mesenquimatoso, como las arteriolas aferente y eferente del glomérulo y el mesangio colaboren funcionalmente con la mácula densa que es de origen epitelial (Mittchell y col., 1982). Del mismo modo que a nivel macroscópico las estrechas relaciones entre la cabeza del páncreas y el duodeno no se quedan en un simple contacto, sino que la desembocadura de los conductos pancreáticos en duodeno determina una imbricación funcional de la mayor importancia, en el caso del AY ocurre algo similar, pues la topografía condiciona su actividad funcional.

El estudio morfotopográfico del AY ha ido desentrañando, al menos en parte, aspectos estructurales y de relaciones mútuas, básicos para la comprensión de unas funciones en las que intervienen glomérulo, túbulo, arteriolas glomerulares, mesangio e intersticios. Como ejemplo de lo que acabamos de decir es importante recordar que desde el principio, es decir, desde la década de los años 30 hasta los años 80, la actividad funcional que se ha adscrito al AY se ha centrado en la síntesis, almacenamiento y secreción de la renina –presente en los granos citoplasmáticos de las células mioepitelioides de las arteriolas glomerulares– responsable, a través de la angiotensina II, del tono vascular y de la secreción de aldosterona.

Esta importante función se achacó al principio a los barorreceptores de las propias células mioepitelioides (Tobian, 1960). Más tarde estas teorías fueron completándose y evolucionando y así surgió el «mecanismo de la mácula densa», sospechado ya por Goormaghtigh en 1945, cuando pensó que la composición del fluido urinario en el túbulo distal podía influir en la liberación de los granos citoplasmáticos presentes en las paredes arteriolas. Thureau y col. (1982) y otros autores confirman dicho mecanismo al comprobar qué concentraciones elevadas de sodio en mácula densa influyen en la actividad de las células mioepitelioides. Este mensaje, para ahorrar o excretar sodio, se hace directamente en virtud del estrecho contacto que hay entre estas estructuras (Barajas y Latta, 1963; Barajas, 1970).

Más recientemente Rosivall y Taugner (1986) profundizan en el estudio de esta zona y describen nuevos aspectos estructurales que relacionan con la regulación de la tasa de filtración glomerular. De esta manera, algo topográficamente tan cercano al AY como es el glomérulo queda integrado funcionalmente con él pues estos autores observan la existencia de pies de podocitos, con sus correspondientes aberturas interpodocíticas, no sólo en la hoja visceral de la cápsula de Bowman, sino también en la porción de hoja parietal que está en contacto con las células mioepitelioides y el mesangio extracelular o lacis. En consecuencia por medio de las aberturas interpodocíticas el ultrafiltrado glomerular puede influir en los dos componentes del AY antes citados que a su vez modifican, a través del eje renina-angiotensina-aldosterona el tono vascular y la excreción de sodio. Por otra parte, estos mismos autores han visto que el endotelio de la arteriola aferente es fenestrado en alguno de los tramos que contacta con las células del mesangio extracelular. Esta doble comunicación humoral (la del filtrado glomerular y la sangre) con las células mesangiales del lacis y su intersticio, es un mecanismo que por poner en estrecho contacto –a través del intersticio– a todos los componentes del AY, favorece sus relaciones tubulovasculares regulando de manera directa la tasa de filtración glomerular (Schnermann y Briggs, 1985) mediante un servomecanismo tubulovasculoglomerular.

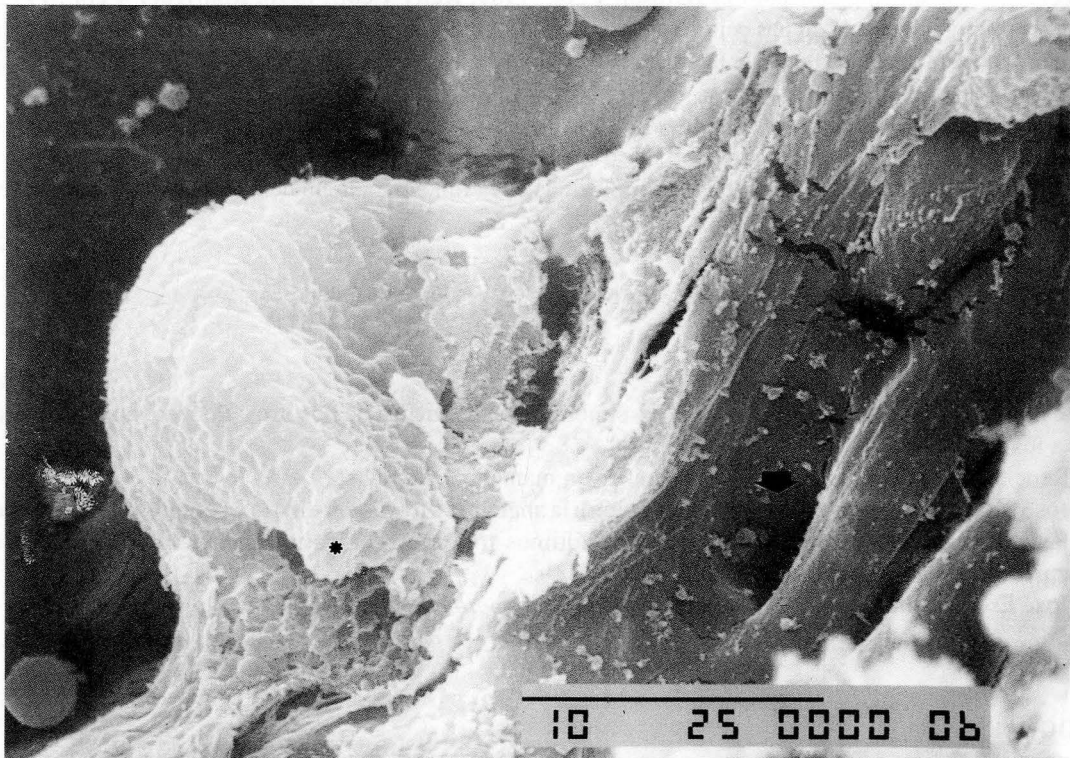
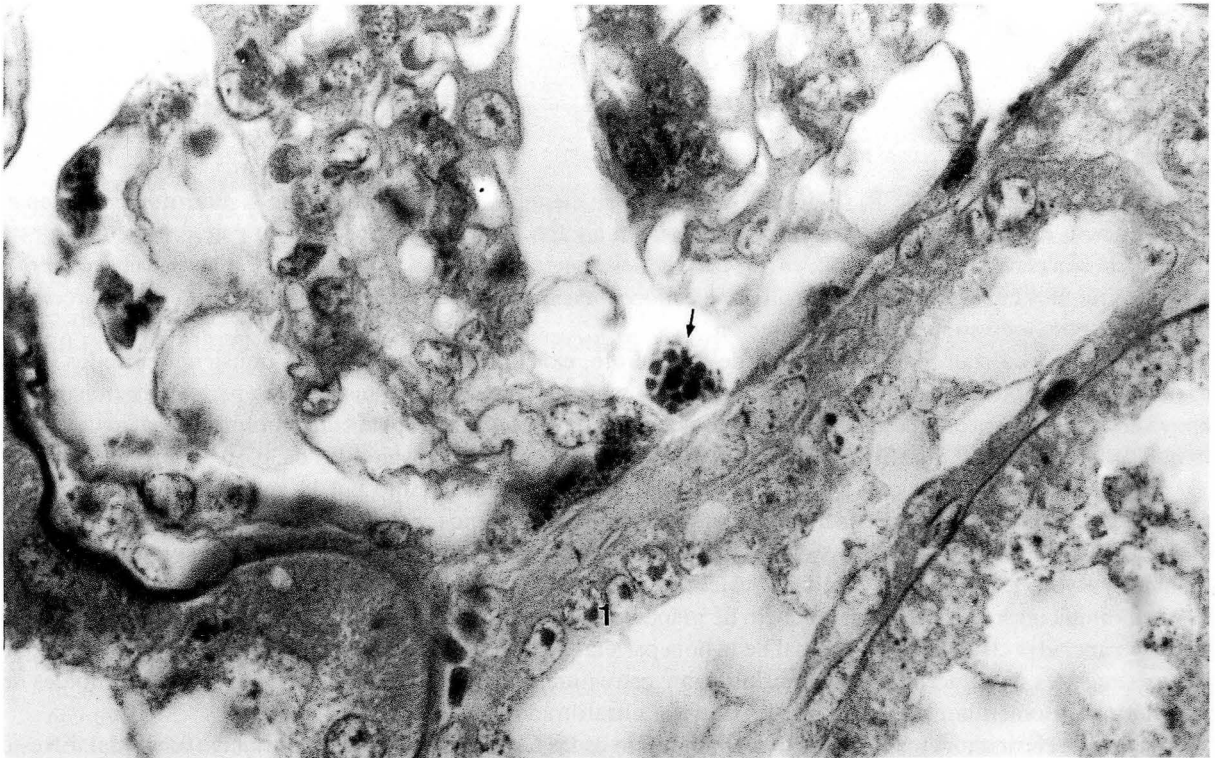


FIGURA 1. Se observa una célula peripolar (flecha) situada sobre la cápsula de Bowmann. Su citoplasma está lleno de gránulos. 1 = mácula densa. Tinción de Bowie. Objetivo de inmersión.

FIGURA 2. Célula peripolar, vista con microscopio de barrido, anclada en la cápsula de Bowmann. Se observa una prolongación (*) rota que intenta abrazar a la arteriola glomerular (flecha). Nótese la superficie rugosa de la célula peripolar debido a los gránulos citoplasmáticos que hacen hernia en la superficie celular.

Células peripolares

Las células peripolares (CP) (Figuras 1 y 2), son otro ejemplo de la importancia de la morfotopografía en el camino hacia la comprensión de la función que lleva a cabo cualquier estructura. En este caso, aún no está dilucidada con certeza dicha función, ya que las CP, descubiertas por Ryan y col. en 1979, albergan en su interior grandes gránulos cuya naturaleza todavía no se conoce bien. Su topografía nos pone tras la pista de esclarecer su función y sobre todo su mecanismo de acción.

Las CP se localizan rodeando al tallo del glomérulo, exactamente en la zona de transición entre las hojas parietal y visceral de la cápsula de Bowmann. De tal manera quedan dispuestas que una parte de las mismas se apoya en la membrana basal de la cápsula de Bowmann y otra parte, más amplia, contacta con el espacio urinífero, lo que determina que el ultrafiltrado glomerular, al caer en el espacio capsular, las bañe.

La situación topográfica de las CP tiene importancia funcional no sólo por lo anteriormente citado, sino también porque sus productos de secreción pueden ser vertidos, al menos en parte, en el espacio urinífero y escapar hacia los túbulos contorneados, los cuales además de ser influidos en sus procesos de reabsorción-excreción (Hanner y Ryan, 1980; Ryan y col., 1982; Alcorn y col., 1984; Dhiab y Bearn, 1986; Morild y col., 1988; etc.), se comportan como un verdadero conducto de glándula de secreción externa. Por otra parte, el hecho de que las CP estén ancladas en la membrana basal de la hoja parietal de la cápsula de Bowmann, las faculta también a que por mecanismos de paracrinia puedan influir sobre estructuras vecinas, como son las células mioepitelioideas de las arteriolas glomerulares, al igual que le ocurre al ultrafiltrado glomerular.

Vamos a referir ahora un último detalle topográfico de las CP que puede tener importancia funcional. En este caso es el hecho de que algunos autores (Gibson y col., 1989; Kelly y col., 1990; Rodríguez y col., 1992), han observado prolongaciones de dichas células abrazando el tallo glomerular. Dichas prolongaciones pueden actuar como un órgano sensor capaz de captar la presión de la sangre a la entrada del glomérulo e incluso tener capacidad de modificar el calibre arteriolar.

En resumen, es muy importante llegar a conocer la naturaleza de los granos secretorios de las CP, pero cuando se afine más en la estructura y en la morfotopografía de esa zona se estará más cerca de comprender el porqué de la necesidad, justamente en ese lugar, de unas moléculas cuya función, aún no desentrañada del todo, parece tan importante para nuestra economía.

Dedicatoria

Este número 100 de *Anales de Anatomía* es simbólico para muchos de nosotros. Por eso, quiero dedicar este trabajo a los profesores:

- René Sarrat, por su tenacidad y gran mérito en mantener esta revista.
- José M. Smith Ágreda, por su gran aportación a la anatomía a través del dibujo y composiciones anatómicas.
- Pedro Gómez Bosque, con quien en estos últimos tres años comparto muchos ratos de conversación aprendiendo de su gran formación.
- José Escolar, mi maestro y fundador de *Anales de Anatomía*, que resume todo lo anterior.

BIBLIOGRAFÍA

- ALCORN, D.; CHESHIRE, G.R.; COGHLAN, J.P. y RYAN, G.B. (1984): Peripolar cell hypertrophy in the renal juxtaglomerular region of newborn sheep. *Cell. Tissue Res.*, **236**: 197-202.
- BARAJAS, L. (1970): The ultrastructure of the juxtaglomerular apparatus as disclosed by three-dimensional reconstruction from serial sections: the anatomical relationship between the tubular and vascular components. *J. Ultrastruct. Res.*, **33**: 116-147.

- DHIAB, A.A.H. y BEARN, J.G. (1986): Effect of dehydration on the glomerular granular cells in new-born rat kidney. *Acta Anat.* **127**: 176-178.
- GIBSON, I.; MORE, I.A.R. y LINDOP, G.B.M. (1989): The glomerular peripolar cell in the rat kidney: a scanning electron microscopic study. *Cell Tissue Res.*, **257**: 201-206.
- GOORMAGHTIGH, N. (1932): Les segments neuro-myoartériels, juxtaglomérulaires du rein. *Arch. Biol.*, **43**: 575-591.
- KELLY, G.; DOWNIE, I.; GARDINER, D.S.; MORE, I.A.R. y LINDOP, G.B.M. (1990): The peripolar cell: a distinctive cell type in the mammalian glomerulus. Morphological evidence from a study of sheep. *J. Anat.*, **168**: 217-227.
- MITCHELL, G.B.; STRATFORD, B.F. y RYAN, G.B. (1982): Morphogenesis of the renal juxtaglomerular apparatus and peripolar cells in the sheep. *Cell. Tissue. Res.*, **222**: 101-111.
- MORILD, I.; CHRISTENSEN, J.A.; MIKELER, E. y BOHLE, A. (1988): Peripolar cells in the avian kidney. *Virchows Archiv. A. Pathol and Histopathol.*, **412**: 471-477.
- RODRÍGUEZ, S.; MORO, J.A. y PASTOR, J.F. (1992): Estudio de las células peripolares de la oveja con el microscopio electrónico de barrido y el de transmisión. *An. Anat.* **38**: 229-235.
- ROSIVALL, L. y TAUGNER, R. (1986): The morphological basis of fluid balance in the interstitium of the juxtaglomerular apparatus. *Cell Tissue Res.*, **243**: 525-533.
- RYAN, G.B.; COGHLAN, J.P. y SCOGGINS, B.A. (1979): The granulated peripolar epithelial cell: a potential secretory component of the renal juxtaglomerular complex. *Nature*, **277**: 655-656.
- RYAN, G.B.; ALCORN, D.; COGHLAN, J.P.; HILL, P.A. y JACOBS, R. (1982): Ultrastructural morphology of granule release from juxtaglomerular mioepithelioid and peripolar cells. *Kidney Int.*, **212**: 53-58.
- RUYTER, J.H.C. (1925): Über einem merkwürdigen Abschnitt der vasa afferentia in der Mäuseniere. *Z. Zellforsch.*, **2**: 242-248.
- SCHNERMANN, J. y BRIGGS, J. (1985): Function of juxtaglomerular apparatus: local control of glomerular hemodynamics. In: Seldin DW, Giebisch G. (eds.). *The kidney. Physiology and Pathophysiology*. Vol. 1. Raven Press. New York, pp. 669-697.
- TOBIAN, L. (1960): Interrelationship of electrolytes, juxtaglomerular cells and hypertension. *Physiol. Rev.* **40**: 280-312.
- THURAU, K.; GRÜNER, A.; MASON, J. y DAHLEIN, H. (1982): Tubular signal for the renin activity in the juxtaglomerular apparatus. *Kidney Int.*, **22**: (Suppl. 12) S 67.
- ZIMMERMANN, K.W. (1933): Über den Bau des Glomerulus der Säugeniere. Weitere Mitteilungen. *Z. Mikrosk. Anat. Forsch.* **32**: 176-278.

Correspondencia: Dr. Santiago Rodríguez
Dpto. de Anatomía Humana.
Facultad de Medicina
Ramón y Cajal, 7
4005 Valladolid. España

ALGUNOS ASPECTOS Y PARÁMETROS DE ESTIMACIÓN EN ANATOMÍA COMPARADA EVOLUTIVA Y ANOTACIONES SOBRE CIERTAS MODIFICACIONES ADAPTATIVAS EN LA FILOGENIA DE LOS ÉQUIDOS (ORDEN *PERISSODACTYLA*)

SOME FUNDAMENTALS AND PARAMETERS FOR EVALUATING IN THE EVOLUTIVE COMPARATIVE ANATOMY AND REMARKS ON CERTAIN ADAPTATIVE VARIATIONS IN THE EQUINE PHILOGENY (*PERISSODACTYLA*)

J. SANDOVAL

Departamento de Biología Celular y Anatomía
Facultad de Veterinaria
Universidad de León

RESUMEN

Se revisan y discuten algunos principios que fundamentan los estudios e investigaciones en Anatomía comparada evolutiva, con especial referencia a los conceptos de homología/analogía y apuntando a las variaciones adaptativas de la filogenia equina (Orden *Perissodactyla*). Se discuten también algunos parámetros de valoración, tales como los de crecimiento alométrico, linealidad filogenética y tasa morfológica evolutiva, precisando las modificaciones anatomofuncionales más aparentes que se han producido en cabeza y miembros desde las formas ancestrales hasta el actual *Equus*.

PALABRAS CLAVE: Anatomía comparada. Anatomía evolutiva. Filogenia equina.

SUMMARY

In this paper are reviewed and discussed some fundamentals of the study and research on evolutive comparative anatomy, with special reference to the factors of homology/analogy and pointing at adaptative variations of the equine phylogeny (*Perissodactyla*). There are also discussed the allometric growth, phylogenetic linearity and evolutive morphological rate parameters and likewise denoted the anatomo-functional variations, which have been get out on head and limbs from the ancestral patterns to recent *Equus*.

KEY WORDS: Comparative anatomy. Evolutive anatomy. Equine phylogeny.

Hace tres décadas Waddington (1962) invocó los «factores de evolución, desarrollo y función» como requisitos a cualquier estudio en Anatomía comparada sobre los órganos o partes corporales que se investigan. Lamentablemente, las posibilidades de instrumentar los elementos pertinentes hacia un objetivo concreto son bastante limitadas en la práctica. Sobre todo en el campo de la *evolución* (filogénesis), pues no de todas las especies actuales se disponen los datos o referencias que dan cuenta de su historia evolutiva, o esta puede resultar incompleta al faltar eslabones fundamentales; además no disponemos, obviamente, de embriones y órganos blandos de las formas precursoras o ancestrales. Posiblemente, dentro de los mamíferos terrestres, sea el caballo actual (Orden

Perissodactyla) una de las pocas especies donde el morfológico accede con mayor facilidad a esa cadena evolutiva, pues, al menos del esqueleto cefálico y de los miembros, dispone de los eslabones correspondientes más representativos (fósiles) de sus antepasados; no en vano la filogenia de los équidos ha servido como prototipo en estudios evolutivos de distinto orden.

En relación con los otros dos factores de Waddington, el *desarrollo* (ontogénesis) y la *función* (capacidades funcionales), se incorporan al conocimiento de la Anatomía comparada los conceptos de homología y analogía en los órganos que se estudian. Dando por sabido que dos o más órganos son homólogos porque se desarrollan a partir de esbozos o patrones embriológicos comunes (pero que pueden desplegar funciones vitales distintas) y que son análogos los que ofrecen distinto origen embrionario, pero que realizan o colaboran en una función básica, es fácil entender el significado de dichos principios en el momento de precisar la adecuación semántica a lo que debemos entender por «Aparato orgánico» o «Sistema orgánico».

A. ASPECTOS Y PARÁMETROS DE VALORACIÓN EN ANATOMÍA COMPARADA EVOLUTIVA

Los conceptos de *homología* y *analogía* se han ido incorporando al conocimiento de la Anatomía comparada desde el momento que se concilian los postulados, confrontados durante algún tiempo, de Cuvier (interpretación dinámica de las formas), Lamarck (fundador del transformismo) y Darwin (evolucionista). La célebre y quizás inútil querrela entre lamarckismo y darwinismo, al llamar la atención de forma definitiva sobre la interpretación de las modificaciones adaptativas en las formas y estructuras, consagraba el carácter de estudio que ya había adquirido la Anatomía comparada. Es evidente que en la noción de homología viene implícita la idea de descendencia común en una medida difícil de precisar; es decir, es en una secuencia filética donde mejor se plasma la noción, sin que se deba por ello exigir el conocimiento de todas las etapas de esta secuencia. El concepto de homología nos parece tan preciso en el estado actual del conocimiento biológico que resulta innecesaria toda tentativa por redefinirla. Tal fue la obsesión de Bock (1963), basándose en la posibilidad que puede tener un rasgo anatómico para emerger y evolucionar varias veces con independencia (homodinamia).

Por otro lado, el modo en que los morfológicos abordan en la práctica la descripción de las formas vivas conduce a frecuentes interferencias entre analogía y homología, difíciles de evitar. El ejemplo más característico lo tenemos en los grandes enunciados de aparatos y sistemas de casi todos los tratados de Anatomía. Podríamos preguntarnos si, frente al principio de homología, la analogía merece un interés real en Anatomía comparada (Goodrich, 1930). Nadie duda hoy de la creciente importancia que se atribuye a todas las relaciones de tipo analógico asociadas a la búsqueda de homologías. En el plano del fenómeno vital analogía significa simplemente correspondencia de respuestas funcionales a una exigencia ambiental, pero esta es la definición fisiológica de la adaptación, o sea, del mecanismo de supervivencia. Ahora bien, cuando se indaga basándose en una Anatomía evolutiva, tampoco podremos descartar todo cuanto esté relacionado con la supervivencia y uno de los principales objetivos será el de buscar las «analogías de las homologías».

De hecho, en el concepto de homología se apoyó en el pasado siglo una expresión del sintetismo de la evolución anatómica conocida como «ley biogenética fundamental», postulada por K.E. von Baer en cuatro proposiciones referentes a la concepción actual de los gradientes de desarrollo embrionario y su evolución y a las categorías de ese desarrollo bajo el punto de vista filogenético. Precisamente en este sistema de categorías del desarrollo flotan multitud de incógnitas, no fáciles de despejar cuanto se intentan establecer correlaciones organización/evolución. Se sabe, por ejemplo, que no existe relación alguna entre las formas de placentación más especializadas o perfeccionadas (placentas hemoendoteliales o hemocoriales), típicamente deciduas, con la duración de la gestación ni con el nivel que ocupa la especie en la escala filogenética. Otro dato más entre los mamíferos domésticos: ¿Por qué el fondo del saco vitelino permanece durante mucho tiempo en los embriones de la yegua y perra en estrecha síntesis con el corión (onfaloplacenta funcional duradera) cuando en el primer caso la placenta corioalantoidea es meramente epiteliocorial y en el segundo endoteliocorial, y cuando la duración de la gestación es del orden de 340 días en la primera y de sólo 63 días en la segunda?.

Es difícil imaginar, en fin, el porqué y el cómo de las múltiples inducciones que se operan desde la fase de gástrula a cargo del oncogén int-2, determinante del RNA-mensajero y, por consiguiente, de la proteína específica de distinta actividad biológica y selectividad para dirigir los procesos de diferenciación y multiplicación celular en

los territorios presuntivos del sustrato germinal. ¿Y qué no decir de los factores coadyuvantes y determinantes del ritmo de crecimiento absoluto y relativo de los órganos y partes corporales? En este sentido hay que significar que el *crecimiento alométrico* que preside el desarrollo prenatal de los mamíferos es ponderable e interesa en el campo de la Anatomía evolutiva. Es bien sabido que, desde la fase de línea primitiva, el embrión crece moderadamente en longitud hasta la edad de feto precoz y que, a partir de este momento, el ritmo de crecimiento es más acelerado (mayor ímpetu de crecimiento) y uniforme en todas las formas de mamíferos superiores; sólo en los pequeños mamíferos declina ligeramente ese ímpetu hacia el último cuarto de la gestación, como compensación a una tasa de crecimiento más rápida por unidad de tiempo en edades previas (al ser en éstos también más corto el período de desarrollo prenatal). Mas, como no todas las regiones o partes corporales crecen con igual ímpetu, puede admitirse (Newt, 1976) que: siendo y la dimensión de una parte corporal y x la del todo, $y = bx^{TM}$, siempre que b y a fuesen constantes. Suponiendo que $a = 1$, x e y crecerían sin modificar el tamaño relativo, pero si $a > 1$, y crecerá más rápidamente; por consiguiente, si $a < 1$ crecerá más lentamente. La fórmula puede quedar mejor expresada en $\log y = \log b + a \log x$, sobre todo en aquellas etapas del desarrollo en que x e y están creciendo*.

Las fórmulas de crecimiento alométrico indicadas satisfacen igualmente cuando se aplican en el desarrollo posnatal. Con la expresión logarítmica se obtiene en el sistema de coordenadas la recta que da cuenta del grado de isometría o de alometría (positiva o negativa) del órgano o parte corporal que se investiga. Pero es que también son aplicables a valoraciones en etapas sucesivas de las formas pertenecientes a la historia de una serie filogenética, cuyos miembros han mostrado con el tiempo un proceso evolutivo acompañado de aumento progresivo de tamaño, como se ha podido demostrar en las proporciones cráneo-faciales y en otras partes corporales de la filogenia equina. Son, así pues, incuestionables los efectos morfogenéticos de la alometría en las formas orgánicas «normales», como son también numerosos los ejemplos de órganos o partes orgánicas desproporcionadas (hipertelias) que resultan de la misma, sin olvidar en ningún caso que los efectos de la alometría están necesariamente supeditados a un umbral de viabilidad. Citemos, en fin, los trabajos encaminados a cuantificar las tasas de desarrollo alométrico de concretos órganos somáticos (sistema músculo-esquelético) en edades críticas de algunas especies de peces (Huggins, 1942), aves (Huggins, 1940; Lener, 1941) y mamíferos (Butterfield, 1966; Fowler, 1968; Seebeck/Tulloch, 1968 y Davies, 1979). Hay que significar que muchas de estas investigaciones, más que al conocimiento de la morfología evolutiva pretenden un objetivo zootécnico-económico (producción cárnica), pero en todo caso han suministrado gradientes de desarrollo músculo-esquelético e ímpetus de desarrollo muscular de indiscutible interés en la valoración de las formas orgánicas, su evolución y adaptación funcional.

Un aspecto más a considerar en la filogénesis de los mamíferos superiores es el relativo a la *linealidad*, bien manifestada en la historia evolutiva de la familia de los équidos: la línea de sucesión directa que nos lleva hasta el caballo actual es tan sólo una rama del abanico genealógico, aunque sí la de mayor influjo entre los numerosos descendientes que han intervenido en el largo proceso (algunas se prolongan espectacularmente en dirección lineal durante millones de años y se las denomina «ortogenéticas»). El hecho de que prosperen estas líneas y no las paragenéticas se debe a la selección que actúa tarde o temprano, a veces implacablemente, en el curso de un largo proceso evolutivo, buscando siempre la supervivencia de ciertas formas en detrimento o extinción de otras. En el fondo se asiste a un fenómeno de variabilidad —y no de variación anatómica—, pues en ella los caracteres que se transmiten a la descendencia dependen de factores poliméricos de genoma (Fischer, 1952).

Establecida la linealidad en cualquier grupo filogenético, el método de estudio de la Anatomía comparada incorpora un nuevo parámetro, el de la tasa morfológica evolutiva, siempre más fácil de valorar que la tasa genética, por razones obvias. Se refiere a la estimación cuantitativa de los cambios que se operan en uno o varios caracteres fenotípicos por unidad de tiempo. Casi siempre se aplica la correlación entre rasgos y detalles de conformación y arquitectura del cráneo y el desarrollo encefálico, pero también han sido de gran utilidad los datos suministrados con otros especímenes (huesos varios y dientes) de formas fósiles. De todas las expresiones propuestas la más satisfactoria es la referente a la denominada «tasa morfológica temporal» que permite valorar no sólo el incremento de las formas en función del tiempo (por ejemplo, 1 cm cada 1.000 años), sino además con la dimensión que afecta. Dicha expresión viene dada por la fórmula $dx/dt \sum 1/x$; donde x es la estructura medida, t el tiempo y l la longitud que afecta (la mayor incertidumbre reside en la estimación de t , tanto si se expresa en años como en generaciones).

* En cualquier caso, a es la tasa constante de crecimiento diferencial o coeficiente de heterogonia.

B. SOBRE ALGUNAS MODIFICACIONES ADAPTATIVAS EN LA FILOGENIA DE LOS ÉQUIDOS

La tasa morfogenética evolutiva de la familia *Equidae* se considera de tipo intermedio cuando se compara, por ejemplo, con la del grupo de los celacantos, saurios o mustélidos (desde el Cretáceo) de evolución lenta, y con la del grupo de los proboscídeos de evolución rápida. Una simple ojeada a su *phylum* (Fig. 1) nos da idea de la marcada linealidad que ha presidido su historia evolutiva desde el *Eohippus* hasta el actual *Equus*, pasando por las formas intermedias más representativas de *Hyracotherium*, *Mesohippus*, *Parahippus* y *Pliohippus*.

La adaptación de las formas y funciones de los équidos en el curso de su largo proceso evolutivo ha venido, en principio, acompañada de un aumento progresivo de las proporciones corporales, rasgo dominante y factor selectivo de primer orden para la supervivencia de todos y cada uno de los eslabones de la cadena filogenética determinantes de la linealidad. Se ha dicho por los paleontólogos que la tendencia hacia las grandes formas corporales, en cualquiera de los *phylum* de mamíferos que se considere, ofrece menos posibilidades de extinción (frente a los agentes climáticos o predadores) y mejores oportunidades para reproducirse. Simultáneamente, la tendencia a la perisodactilia— y consiguientes modificaciones en la organización anatómica de los miembros— ha ido dotando al aparato locomotor de capacidades óptimas para la velocidad y resistencia, factores más a añadir a esas posibilidades de supervivencia (evasión, versatilidad de desplazamiento, búsqueda expedita de pastos, etc). Un rasgo anatómico más a destacar reside en el desarrollo progresivo del macizo facial y, paralelamente, las modificaciones que este mismo hecho comporta en la dentición. En cualquier caso, el simple examen del genoma y caracteres fenotípicos del caballo actual bastaría para demostrar la dirección progresiva en la evolución de los équidos. Basándonos en las estructuras esqueléticas de las formas ancestrales y en la organización anatómica del presente *Equus*, pasamos a hacer una sucinta discusión en torno a las modificaciones adaptativas sobre algunos hechos anatómicos más relevantes, en cabeza y miembros preferentemente:

1. Cabeza

A nivel cefálico las modificaciones evolutivas más sobresalientes las referimos sucintamente a las tasas de crecimiento lineal cráneo-macizo maxilar, a las fosas temporal y orbitaria, a las proporciones de la mandíbula y a la dentición. El crecimiento de la craneofacies (Fig. 2) es prácticamente equitativo desde el *Eohippus* al *Parahippus* (A, B, C). Siempre en términos aproximativos, a partir de la forma más ancestral (A) —donde la proporción cráneo/macizo facial viene a ser de 1:1.60— las proporciones son del orden de 1:1.90 en B y de 1:1.60 en C; a partir de aquí parece que se detiene el crecimiento del neurocráneo y se inicia con mayor ímpetu el desarrollo del macizo facial, de tal modo que la proporción en *Pliohippus* (D) alcanza 1:2.00 y en el *Equus* actual (E) 1:2.40. En un intento de determinar si la alometría filogénica guarda alguna relación con la ontogénica, Robb (cit. por Pirlot, 1969) ha demostrado un estrecho paralelismo en ambas modalidades de crecimiento a nivel cefálico (Fig. 3), pudiendo notar que la curva de desarrollo ontogénico se cruza con la filogénica en el *Merychippus* del Mioceno, cuando el esqueleto cefálico alcanza la longitud de 17 cm. En otro orden de ideas nótese también que las fosas temporal y orbitaria se continúan sin puente óseo intermedio en A, B y C —el músculo temporal tuvo que ser en estas formas el agente más vigorosos del aparato masticador—, pues la apófisis cigomática del frontal no alcanza el arco cigomático hasta que aparece el *Pliohippus* (C). Como en todo el esqueleto cefálico la forma de la mandíbula del *Eohippus* (A) evoca, en cierto modo, la de los cánidos: la fuerte proyección caudal de su ángulo se homologa con la característica apófisis angular de la mandíbula de estos últimos. Es de suponer, así pues, que el músculo digástrico alcanzó un desarrollo importante en las formas más ancestrales de équidos; el hecho de que el caballo actual presente una importante porción occipitomandibular del referido músculo lo confirma. Adviértase igualmente que la rama (ascendente) de la mandíbula crece cuando más se desarrolla el hueso y todo el macizo facial, o sea, en las formas más recientes de *Pliohippus* (D) y *Equus* (E), coincidiendo con el mayor ímpetu de desarrollo del complejo muscular masetero-terigoideo. En lo que se refiere a la dentición, por último, hay que hacer notar que las formas más ancestrales (hasta el *Epihippus*) del Eoceno eran secodontos (de dientes cortantes y con tubérculos de esmalte) y prevalecían los diastemas o espacios interdentarios. Pero pronto (en el *Mesohippus*) se ponen en juego los mecanismos adaptativos, apareciendo los dientes infundibulares (con esmalte invaginado), mucho más aptos para una conducta masticadora propia de herbívoros. La atrofia de los caninos —en el actual caballo sólo en el arco maxilar y en el macho se asiste a una tímida erupción de los mismos— ha sido un proceso lento, en estrecha armonía con la progresiva hipsodontia que preside en las formas más recientes a partir del Mioceno.

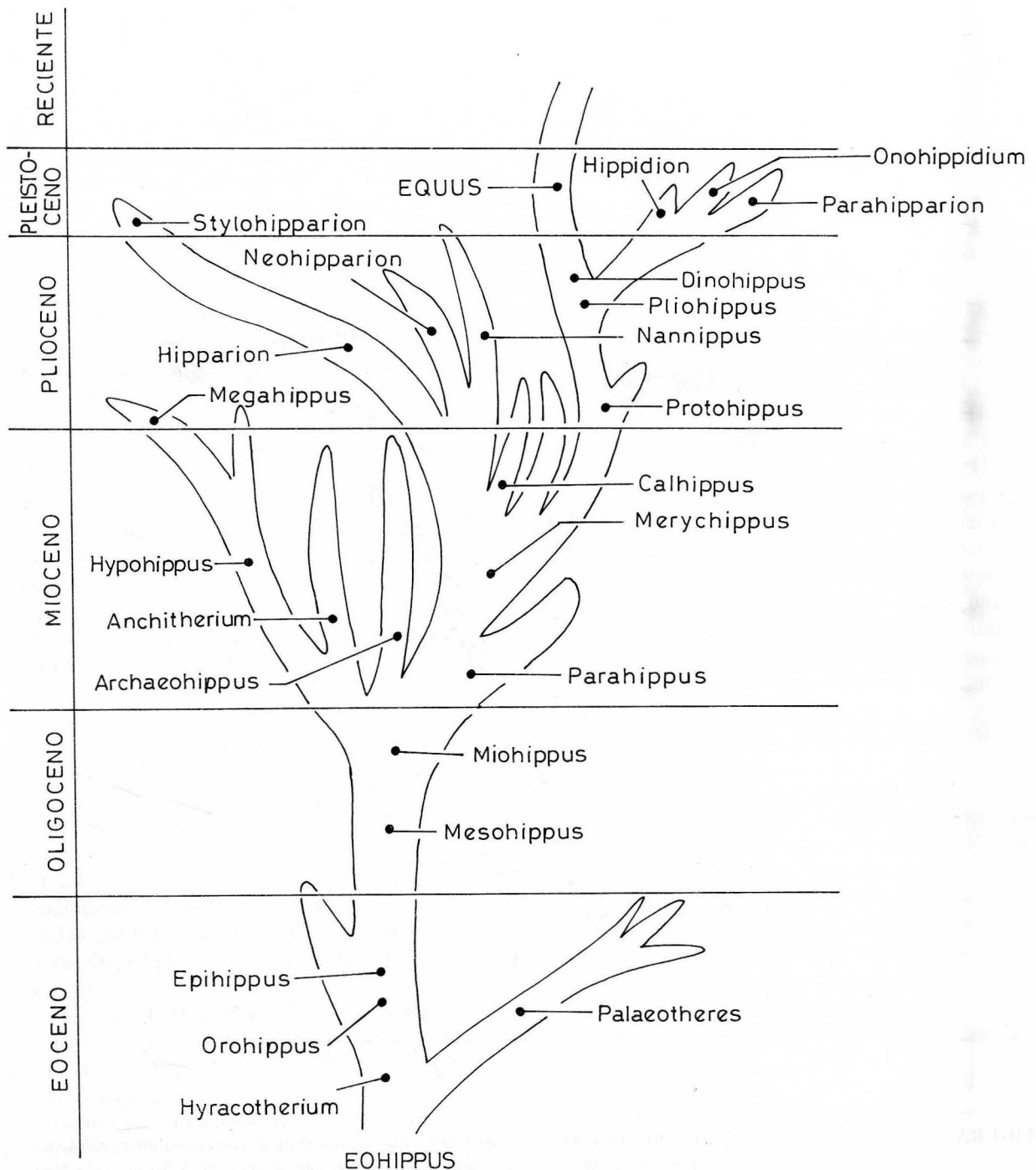


FIGURA 1. Representación esquemática y simplificada del árbol genealógico de la Familia *Equidae* (Según Simpson, modif. Pirlot, 1969 y Taseer-Husain, 1975). Nótese las formas ancestrales que establecen la linealidad hasta el actual *Equus*.

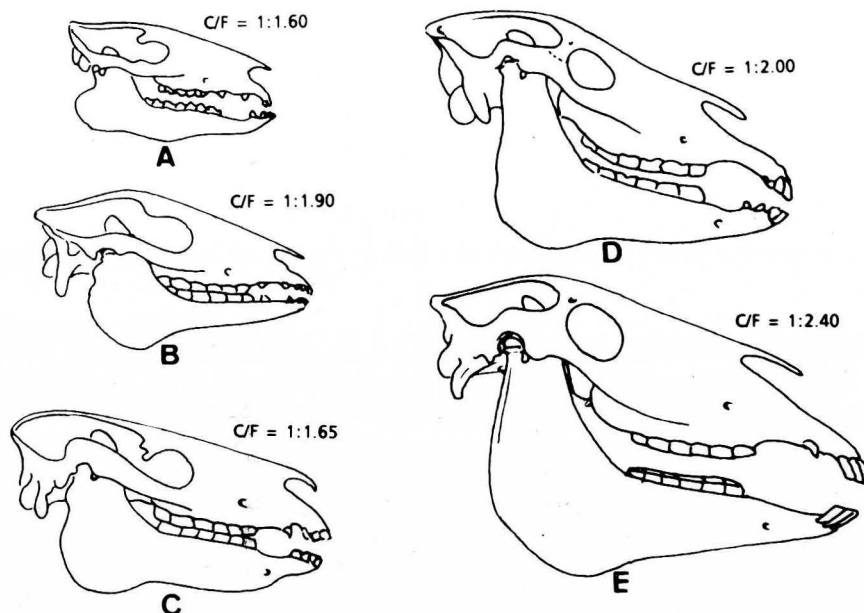


Figura 2

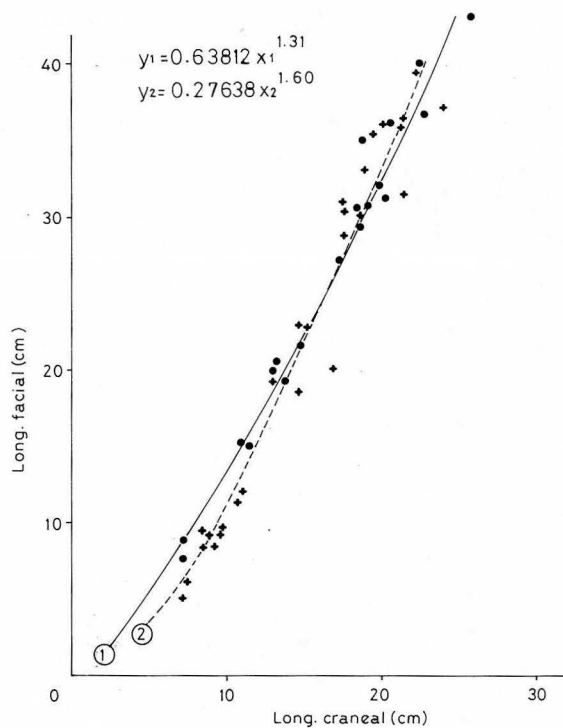


Figura 3

FIGURA 2. Vista lateral derecha de los esqueletos cefálicos de las formas más representativas en la linealidad evolutiva de los équidos. No estrictamente a escala. Los cocientes craneofaciales que se indican (C/F) en cada forma (aproximados) dan cuenta del desarrollo o crecimiento proporcional del macizo facial respecto al cráneo a lo largo de la historia evolutiva (Modif. de Pirlot, 1969). A, *Eohippus*; B, *Mesohippus*; C, *Parahippus*; D, *Dinohippus*; E, *Equus*.

FIGURA 3. Curvas ontogénica del caballo actual (1) y filogénica de la Familia *Equidae* (2) y sus ecuaciones, para mostrar la estrecha correlación de los parámetros longitud facial/longitud craneal entre la secuencia de desarrollo ontogénico y filogenético (Pirlot, 1969, modificado).

2. Miembros torácico y pelviano

Desde mediados del pasado siglo, la morfología evolutiva de los miembros torácico y pelviano de los équidos ha interesado vivamente a paleontólogos, zoólogos y anatomistas. Algunas de las referencias más recientes analizan con inusitado detalle las estructuras de los especímenes filogénicos que presiden la perisodactilia equina, aportando interesantes datos al conocimiento de la Anatomía evolutiva comparada y funcional (Rodinski, 1966; Ondar, 1968, 1969; Taseer-Hussain, 1975). Los objetivos de dichas aportaciones consistieron en: a) valorar las modificaciones adaptativas de los huesos en el transcurso de las épocas geológicas; b) interpretar sus efectos sobre la distribución del peso corporal; c) discutir y determinar el desarrollo y actividad de los diferentes músculos, tendones y ligamentos hasta el actual équido y d) interpretar la evolución de las formas y mecanismos de las articulaciones. Sólo a algunas parcelas de los resultados de estas investigaciones podemos hacer referencia muy sucintamente, apuntando siempre hacia las formas funcionales que presiden las capacidades estático-dinámicas en los miembros del caballo actual.

La perisodactilia es el proceso más expresivo de la historia evolutiva equina (Fig. 4). Aunque la reducción de los dedos colaterales se inicia en el *Hyracotherium* del alto Paleoceno, tarda mucho en manifestarse. De hecho es en el alto Plioceno cuando se asiste a la formación de un miembro típicamente monodáctilo, cuya presencia no corresponde precisamente al *Pliohippus*, como se ha venido atribuyendo durante mucho tiempo, sino que corresponde al *Dinohippus* (Fig. 4,d), forma ésta que prosigue realmente la linealidad y conserva, además, los rasgos morfológicos en dientes y cabeza en general más próximos al reciente *Equus* (Tasser-Husain, 1975). Todas las modificaciones adaptativas que se produjeron en el autópodo de los miembros torácicos y pelvianos en el curso de tantos siglos se fueron canalizando hacia el desarrollo masivo del único dedo funcional (dedo 3º), al servicio del apoyo y la anticoncusión. De ahí que dichas modificaciones afectarán no solamente al esqueleto del metacarpo/metatarso y falanges, sino también y en gran medida a los músculos y tendones de la región. Es así como en el moderno équido (Fig. 5) prevalece un tenaz agente moderador elástico, suspensor de la articulación metacarpo o metatarsofalangiana, que resulta de la modificación y desarrollo masivo del músculo interóseo 3º; dos únicos, densos y largos tendones flexores digitales (superficial y profundo), subsidiarios del ligamento suspensor, y dotados por ello de altos gradientes de fluencia y viscoelasticidad; una densa almohadilla digital (tela subcutánea muy modificada) flanqueada por un par de láminas cartilaginosas hialinas, o cartilagos ungulares, básicamente amortiguadores. Si a todas estas formaciones añadimos un órgano digital de revestimiento y protección no menos modificado, nos resulta fácil entender que el dedo del caballo se halla organizado más para «ceder» que para «resistir».

Aparte de estas adaptaciones evolutivas a nivel del autópodo en ambos pares de miembros, no deben subestimarse las que paralelamente se fueron produciendo en regiones más proximales a costa de determinados músculos y condensaciones fasciales; no sólo en el miembro torácico (destinado a soportar en pronación una importante carga), sino también en el pelviano, dotándolos de tirantes y resortes propulsores de marcado rendimiento mecánico con el mínimo esfuerzo muscular. A partir del *Parahippus* del Mioceno, ante el aumento gradual del peso corporal y la restricción de las articulaciones de los miembros a los movimientos de flexión y extensión preferentemente, hubieron de producirse, entre otras, las siguientes modificaciones morfoestructurales (Fig. 6):

En el miembro torácico: 1) las fibras del músculo bíceps del brazo modificadas en gran número en colágeno entretejido y delegando un tirante o brida fibrosa que prolonga su inserción hasta la aponeurosis del músculo extensor carporradial; 2) la progresiva atrofia del cúbito en orden disto-proximal y su unión por coalescencia al cuerpo del radio en el *Protohippus*; 3) la modificación de los músculos pronador redondo y supinador en los fascículos superficiales de refuerzo de los ligamentos colaterales del codo, y 4) la progresiva hipertrofia de los ligamentos colaterales del carpo y reducción de la versatilidad en las articulaciones intercarpianas y carpometacarpianas (a partir del *Miohippus*).

En el miembro pelviano: 1) el ensanchamiento del ala del ilion y consiguiente desarrollo de los músculos glúteos (porciones superficial y profunda del glúteo medio, preferentemente) desde el *Mesohippus*; 2) a partir del *Parahippus* se crea el mecanismo rotuliano, o posibilidad de que la rótula pueda cabalgar (bloqueo rouliano) sobre el saliente labio medial de la tróclea femoral, inmovilizando las articulaciones de la rodilla y tarso para descanso alternativo de los miembros; 3) el desarrollo, para dicho fin, de los retináculos rotulianos o condensaciones de la

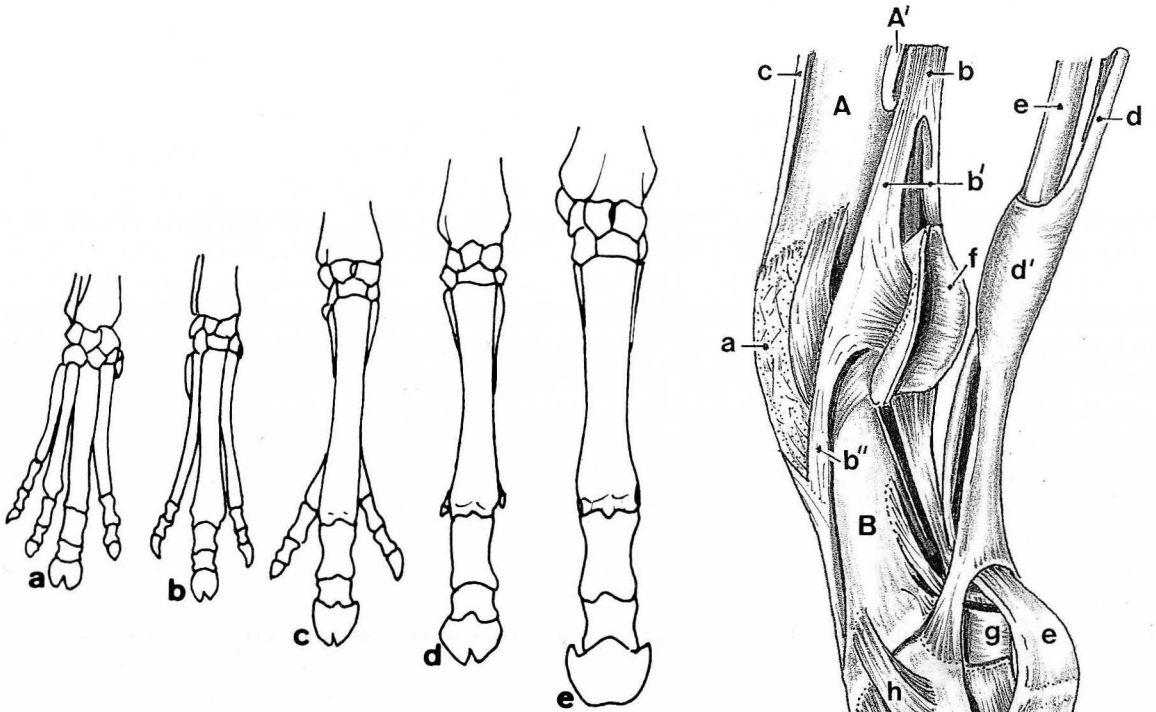


Figura 4

Figura 5

FIGURA 4. Representación esquemática de la evolución del esqueleto de la mano derecha (vista dorsal) en la Familia *Equidae*. Nótese que la perisodactilia es un proceso considerable lento, pues no culmina hasta el alto Plioceno. No precisamente a escala. a, *Eohippus*; b, *Mesohippus*; c, *Parahippus*; d, *Dinohippus*; e, *Equus*.

FIGURA 5. Las modificaciones evolutivas en el autópodo de los miembros hasta culminar la perisodactilia en el actual *Equus*, ha comportado profundas transformaciones en el único dedo funcional. Nótese que la mayor parte de las estructuras son elásticas, suspensoras o amortiguadoras, para mitigar al máximo los efectos de la concusión. Vista mediopalmar del dedo de la mano derecha del caballo después de retirado el órgano digital (úngula o casco) y el cartílago unguar medial. A, metacarpiano 3º; A', metacarpiano 2º (regresivo); B, C, D, falanges proximal, media y distal (hueso unguar). a, cápsula articular metacarpofalangiana; b, b', b'', músculo interóseo 3º modificado en ligamento suspensor (b, tendón interóseo; b', ramas sesamoideas; b'', rama extensora medial); c, tendón extensor digital común; d, tendón flexor digital superficial (d', su mango); e, tendón flexor digital profundo; f, g, escudos proximal y medio; h, i, ligamentos colaterales mediales de las articulaciones interfalangianas; j, ligamento sesamoideo colateral medial; k, cartílago unguar lateral; l, almohadilla digital, mitad lateral (la flechas indican las influencias que transmite a los cartílagos unguares durante el apoyo o la concusión).

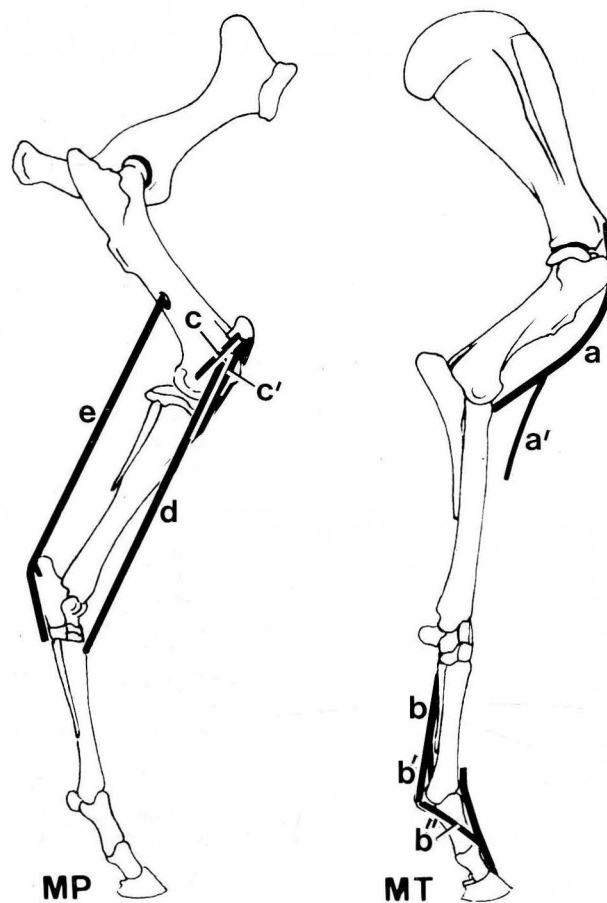


FIGURA 6. Vista lateral del esqueleto de los miembros torácico (MT) y pelviano (MP) derechos en posición de apoyo normal del actual *Equus*. En el curso de su evolución filogenética algunos músculos modificaron su naturaleza estructural, haciéndose parcial o totalmente fibrosos, como partes integrantes de un aparato estático en el miembro torácico, o de un aparato recíproco en el pelviano, así como de un tenaz aparato suspensor de la articulación metacarpo y metatarsofalangiana. *a, a'*, músculo bíceps del brazo y su brida fibrosa; *b, b', b''*, músculo interóseo 3º modificado en ligamento suspensor (*b*, tendón interóseo; *b'*, ramas sesamoideas; *b''*, rama extensora); *c, c'*, retináculo rotuliano lateral; *d, e*, músculos tercer peroneo y flexor digital superficial modificados en cuerdas fibrosas (aparato recíproco).

fascia de la rodilla a estos niveles; 4) la regresión del peroné en dirección disto-proximal (*Protohippus*); 5) la modificación de los músculos tercer peroneo y flexor digital superficial en fuertes cuerdas fibrosas (femorometarsiana y femorocalcánea, respectivamente) que funcionan como aparato recíproco sincronizando los movimientos de la rodilla y tarso, y 6) la hipertrofia progresiva de los ligamento colaterales del tarso y consiguiente reducción de movimientos en las articulaciones intertarsianas y tarsometatarsiana (desde *Mesohippus* a *Protohippus*).

En orden a estos procesos evolutivos –y sobre todo a los producidos a nivel del autópodo– Tasser-Husain (1975) ha catalogado las formas evolutivas del miembro pelviano de la Familia de los *Equidae* en cuatro tipos: hircoterinos (*Hyracotherium*), anquiterinos (*Anchitherium*), equino tridáctilo (*Parahippus*) y equino monodáctilo (*Dinohippus* y *Equus*).

BIBLIOGRAFIA

- BOCK, W.J. (1963): Homodynamics and evolution. *Am. Naturalist*, **97**: 265-275.
- BUTTERFIELD, R.M. y N.D.S. MAY (1966): *Muscles of the Ox*. Univ. Queensland Press, Brisbane.
- DAVIES, A.S. (1979): Musculoskeletal growth gradients: A contribution to quadrupedal mechanics. *Zbl. Vet. Med. C. Anat. Histol. Embryol.*, **8**: 164-167.
- FISCHER, E. (1952): Ueber das Wesen der Anatomischen Varietaeten. *Z. f. menschl. Vererbungs und Konstit. lehre*, **31**: 217-242.
- FOWLER, V.R. (1968): Body development and some problems of its evaluation. In «Growth and Development of Mammals». Butterworth, London.
- GOODRICH, E.S. (1930): *Studies on the Structure and Development of Vertebrates*. The McMillan Co., London.
- HUGGINS, S.E. (1940): Relative growth in the house wren. *Growth*, **4**: 225-236.
- HUGGINS, S.E. (1942): Relative growth in several species of fresh water gar. *Growth*, **6**: 163-171.
- LERNER, I.M. (1941): Relative growth in bantams and leghorns. *Growth*, **5**: 1-9.
- NEWT, D.R. (1976): *Crecimiento y Desarrollo Animal*. Ed. Omega, Barcelona.
- PIRLOT, P. (1969): *Morphologie Evolutive des Chordés*. Les Presses de l'Université de Montréal, Montréal.
- RADINSKY, L.B. (1966): The adaptative radiation of the phenacodontic condylarths and the origin of *Perissodactyla*. *Evolution*, **20**: 408-417.
- SANDOVAL, J. (1986): Los músculos como unidades de sistemas funcionales en el aparato locomotor. Factores de crecimiento y desarrollo muscular en el vacuno. En «Bases Anatómicas, Tecnológicas y Comerciales de la Carnización del Vacuno». Imp. Moderna, Córdoba.
- SANDOVAL, J. y F. MORENO (1981): Peculiaridades del aparato locomotor del caballo en relación con sus capacidades estático-dinámicas. *Hygia Pecoris*, **3**: 43-59.
- SEEBECK, R.M., y N.M. TULLOCH (1968): Developmental growth and body weight loss in cattle. III: Dissected components of the commercially dressed carcass, following anatomical boundaries. *Aust. J. Agr. Res.*, **19**: 673-688.
- SONDAAR, P.Y. (1968): The osteology of the manus of fossil and recent *Equidae*, with special reference to phylogeny and function. *Kon. Neder. Weten. eerste reeks*, **25**: 1-76.
- TASEER-HUSAIN, S. (1975): Evolutionary and functional anatomy of the pelvic limb in fossil and recent *equidae* (*Perissodactyla*, *Mammalia*). *Zbl. Vet. Med. C. Anat. Histol. Embryol.*, **4**: 179-222.
- WADDINGTON, C.H. (1953): *How Animals Develop*. Harper and Brothers, New York.

Correspondencia: Prof. J. Sandoval
 Depart. Biología Celular y Anatomía
 Facultad de Veterinaria
 León, España

TÉCNICA INFORMÁTICA DE MEDICIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO EN IMÁGENES MORFOLÓGICAS

INFORMATIC TREATMENT FOR AREA MEASUREMENT OF MORPHOLOGY IMAGES

V. SMITH, E. FERRES y M. CALATAYUD

Departamento de Ciencias Morfológicas.
Universidad de Valencia

RESUMEN

Ante cualquier imagen histológica, prima siempre la opinión individual del morfológico, al no existir criterios objetivos de medición de fácil acceso.

El material iconográfico utilizado han sido diapositivas obtenidas de cortes histológicos. Estas diapositivas se «scanean» para ser incorporadas a un sistema informático de tratamiento de imágenes. Vemos aparecer en la pantalla imágenes idénticas a los originales iconográficos. En esta imagen informática podemos delimitar con toda exactitud el área que nos interesa medir. La medición se realiza siempre en *pixels*, pudiendo realizar posteriormente estudios comparativos de los diferentes valores obtenidos. Existe la posibilidad de convertir la medida en pixels a unidades tradicionales en sistema métrico decimal ($1\text{mm}^2 = 375.972 \text{ pixels}$). Pensamos que las *posibilidades* de medida abiertas con esta técnica que combina la informática actual con la morfología clásica, *son inmensas*.

PALABRAS CLAVE: Sistema informático de tratamiento de imágenes. *Pixels*. Medida de área. Estudios comparativos.

SUMMARY

Before any histologic image, then person individual opinion is the most important one, because there are not measuring objectives criterions of easy access.

The iconographic used material has been the slides are scanned to be incorporated into a treatment images informatic system. We can see in the screen identical images as the real ones. In this informatic image we can exactly outline the area we are interested in measuring. The measurementis always made in «pixels», but later we can make comparative studes in the different obtained values.

There is the possibility of turning the pixels measure into traditional units of decimal metric system ($1 \text{ mm}^2 = 375.972 \text{ pixels}$). We think that the possibilities of open measurement with this method which combines the present informatic with the clasical morphology are inmensas.

KEY WORDS: Treatment images informatic system. Pixels. Area Measurement. Comparative studies

Introducción

A las ciencias morfológicas, en sus trabajos histológicos, con mucha frecuencia se les achaca el plantear siempre una interpretación subjetiva, de aquello que el investigador esta viendo con su herramienta fundamental de trabajo: el microscopio.

Se pueden hacer magníficas descripciones de la iconografía con la que trabajamos, que no siempre son compartidas por todos los observadores.

Ante cualquier imagen histológica, prima siempre la opinión individual del morfológico, al no existir criterios objetivos de medición de fácil acceso, que nos permitan tomar la determinación de que un corte es distinto a otro, no sólo porque esta diferencia se intuye en la imagen, sino porque además se puede medir.

Material y métodos

El material iconográfico utilizado han sido diapositivas obtenidas de cortes histológicos de tendón rotuliano lesionado, con una sección horizontal parcial del mismo, en el que quisimos ver como evolucionaba la cicatrización.

Estas diapositivas se «scanean» o se someten al scáner, para ser incorporadas a un sistema informático de tratamiento de imágenes, procesadas mediante el programa de nominado Adobe Photoshop 2.01, en un ordenador «Apple» modelo «Macintosh II FX».

A través del scáner modelo «Sharp JX-600», conseguimos traducir a lenguaje informático, las imágenes en material iconográfico que hemos obtenido a microscopía óptica.

Vemos aparecer en la pantalla marca «Radius» de 21 pulgadas, imágenes idénticas a los originales iconográficos, formadas por multitud de puntos luminosos, que reproducen exactamente todas y cada una de las líneas, formas y colores de la figura, a razón de 600 puntos por pulgada.

Las distintas diapositivas escaneadas se orientan posteriormente en la pantalla para que todas tengan la zona de lesión en el mismo lado. Para ello la imagen informática se voltea hasta 180° para conseguir su correcta orientación.

En esta imagen informática podemos delimitar con toda exactitud el área reparativa o cicatricial que nos interesa medir.

La medición se realiza siempre en *pixels*, (medida informática habitual), que nos permite realizar posteriormente estudios comparativos de los diferentes valores obtenidos.

El primer problema que encontramos al realizar esta medición, es que disponemos de imágenes obtenidas a microscopía con diferentes aumentos, lo cual no nos permite comparar automáticamente unos valores con otros.

Hemos trabajado con imágenes con los siguientes aumentos:

1.- 2,5 x; 2.- 10 x; 3.- 20 x; 4.- 40 x

Nuestra primera iniciativa consiste en comprobar que la relación de incremento existente entre los distintos aumentos, se mantiene también entre los *pixels* que medimos en las imágenes de cada uno de los aumentos con los que hemos trabajado.

Para ello recurrimos a un papel milimetrado transparente que colocamos en el microscopio óptico, de la misma manera que hubiésemos hecho, si se tratara de un portaobjetos con cortes de pieza histológica.

Preparamos el microscopio a 2,5 aumentos y fotografiamos con la cámara incorporado, la rejilla de papel milimetrado que aparece a nuestra vista.

Repetimos la operación para los restantes aumentos, obteniendo así cuatro diapositivas que reflejan la imagen vista a microscopio óptico, de unas medidas conocidas.

A 2,5 aumentos podemos fotografiar íntegramente un cuadrado con una superficie de 1mm², sin embargo, a 10 aumentos el cuadrado antes mencionado queda cortado en la imagen obtenida por microscopía, ya que su tamaño es superior a la cantidad de superficie que podemos ver con el microscopio. Idénticos problemas tenemos para delimitar la misma zona a mayores aumentos.

La única solución que nos queda es fotografiar el *grosor* de la *línea* que delimita uno de los lados de este cuadrado, que si podemos ver íntegramente en todo los aumentos. Así lo hacemos y obtenemos 4 diapositivas, en las que observamos nítidamente el *ancho de cada una* de las líneas milimetradas, en los distintos aumentos.

Nos queda comprobar si la *medida del grosor* de la línea elegida del aumento, *cumple* la misma proporción que aparece entre los mismos.

«Scaneamos» las cuatro imágenes de la línea obtenida a diferentes aumentos y medimos en *pixels* su grosor, obteniendo:

AUMENTOS	GROSOR (en pixels)
2,5 x	37,50
10,0 x	150,00
20,0 x	300,00
40,0 x	600,00

Analizando la *relación aumentos, anchura* de la línea, vemos que a 10 aumentos la constante de relación con el tamaño a 2,5 aumentos es multiplicar por 4. A 20 aumentos la constante es 8 y a 40 es 16.

Es decir, las medidas del grosor de la línea *varían* en la misma proporción que los aumentos en las que se han obtenido.

Esto nos sirve para, una vez calculadas las medidas de la zona regenerativa o cicatricial en cada una de las imágenes informáticas que aparecen en la pantalla, poder *transformar* los valores en *pixels* a una *única medida* estandard.

Elegimos como *valor* estandard de la medición el correspondiente a los *10 aumentos*, con lo cual todos los valores obtenidos en imágenes de un aumento diferente, deben transformarse al que corresponda a este tipo de aumento.

Así en las imágenes tomadas a 2,5 x el resultado de la medición se debe multiplicar por 4. En las imágenes tomadas a 20 aumentos el resultado se divide por 2 y en las de 40 aumentos se divide por 4.

Una vez realizadas estas operaciones, los valores obtenidos mantienen todos una *uniformidad* que permite su comparación y obtención de *resultados generales*.

El segundo problema, es que la medida en *pixels*, aunque es un *valor exacto* y con rigor científico suficiente para efectuar nuestras comparaciones, *no es de fácil comprensión* al estar acostumbrados a *otro tipo de unidades* de superficie.

Lo primero que hacemos al no saber el valor de un *pixel* en estas medidas de superficie es *definir una zona* de medida conocida en *sistema métrico decimal* y averiguar cuantos *pixels* suponen esta superficie concreta.

Disponemos de la imagen de un cuadrado realizada a 2,5 aumentos con una superficie de 1mm² y averiguamos cual es su medida en *pixels*.

La cifra obtenida es de 93.993 pixels.

A 10 aumentos esta cifra por lo ya explicado anteriormente se multiplica por 4 y resultan 375.972 pixels.

Luego 1mm² = 375.972 pixels.

Por tanto una sencilla regla de tres, nos permite en función de los *pixels medidos en cada imagen*, calcular el valor en *mm²* que corresponda.

Reproducimos en blanco y negro y en papel las imágenes en color, que hemos tenido en la pantalla informática a la hora de realizar la medición. También sobre película de acetato hemos impreso en *color negro* las zonas de la figura que no se han medido y en claro o sin color la zona cicatricial que medimos. La reproducción se realiza con el empleo de una filmadora marca «Linotoronic 230» y una reveladora.

Resultados

Con esta técnica establecemos una forma *nueva de medida* del área de lesión de un corte histológico cualquiera.

A partir de zonas histológicas de la zona de lesión, hasta el momento sin ningún parámetro común de la medida, hemos confirmado la posibilidad de *transformación* a un *valor único* de los datos correspondientes a imágenes tomadas a diferentes aumentos y que ahora podemos relacionar entre sí para su comparación.

Existe la posibilidad de convertir la medida *pixels obtenida*, a *medidas tradicionales* en sistema métrico decimal, sabiendo que 1mm^2 a 10 aumentos de objetivo=375.972 *pixels*.

Discusión

Pensamos que las posibilidades de *medida abiertas* con esta técnica que *combina* la informática actual con la *morfología clásica*, son *inmensas*.

Puede aplicarse a la medida de *cualquier tejido*, estructura, o área de lesión, capaces de ser procesadas hasta depositarse en cortes sobre un portaobjetos y teñirse para contrastar los diferentes elementos. Luego y tras la correspondiente fotografía a microscopía a cualquier aumento, no queda mas que «scanear» y medir aquella zona que nos interese.

Al no tener que perfilarse los contornos de los campos o de las células como se hace con los métodos actuales de morfometría disminuye considerablemente el error.

Por otra parte la conversión de medidas en *pixels* a unidades tradicionales del sistema métrico decimal es fácil al saber que $1\text{mm}^2 = 375.972 \text{ pixels}$.

Al conocerse el espesor del corte es útil para la realización de reconstrucciones estereométricas de gran precisión.

Como ejemplo citaremos el campo de las neoplasias, en las que se puede *evaluar con precisión*, el tamaño que va adquiriendo la *lesión en su evolución*.

Correspondencia: V. Smith Agreda
Avda. Barón de Carcer, nº17
46001 Valencia. España

PROYECCIÓN WALLERIANA CARDÍACA TRAS ESTELECTOMÍAS DERECHAS EN EL GATO. ANÁLISIS DE LOS VENTRÍCULOS

WALLERIAN CARDIAC PROJECTION AFTER RIGHT ESTELECTOMY IN THE CAT. A STUDY IN THE VETRICLES

J. SOLER, M. LÓPEZ-SOLER y F. ARREBOLA

Departamento de Ciencias Morfológicas
Facultad de Medicina. Universidad de Granada

RESUMEN

Se estudia la degeneración walleriana en las distintas áreas ventriculares cardíacas, tras estelectomías derechas. Las fibras degeneradas disminuyen en número y calibre desde las áreas pediculares a las zonas distales y sólo se les ve terminar entre las neuronas de ganglios yuxtaviscerales y formando redes difusas perivasculares.

PALABRAS CLAVE: Inervación del corazón.

SUMMARY

We have studied vallerian degeneration in different cardiac areas of the ventricles after right estelectomy. The degenerated fibres diminish in cardiac distal zones. Their endings can only be seen among the neurons of the juxtavascular ganglia and forming diffuse perivascular networks.

KEY WORDS: Innervation of the heart.

Introducción

El problema de la inervación cardíaca es un tema que nos ha venido preocupando a partir de los años cincuenta, habiéndose realizado, en aquella década, gran cantidad de trabajos, personales y de colaboradores que han trabajado bajo nuestra dirección. Estos trabajos dieron lugar a un estudio monográfico (Soler, 1961), en el cual se recopila la labor realizada hasta entonces.

Posteriormente, a partir de 1985 hemos insistido en la cuestión (Soler, López-Soler y Rodríguez, 1985; Soler, Megías, Roda y López-Soler, 1985; Soler y López-Soler, 1988; Soler-Arrebola, 1991), intentado puntualizar datos

no concretados entonces y que tampoco son aclarados por los trabajos recientes de otros investigadores como posteriormente indicaremos.

Una continuación de esta labor es el trabajo que hoy presentamos sobre las vías de proyección walleriana, en los ventrículos del corazón de gato, tras realizar la estelectomía derecha.

Material y métodos

Hemos utilizado en este estudio 16 gatos adultos, nueve normales y siete con estelectomías monolaterales derechas. El ganglio fue abordado por dos vías quirúrgicas diferentes: anterior y posterior.

La supervivencia de los animales tras la lesión nerviosa osciló entre cinco y diez días.

Fijación *in vivo* del animal con formol neutro o formol clorato neutro (Soler, 1950), previa anestesia intraperitoneal.

Estudio *post mortem* de la lesión nerviosa y posibles elementos afectados. Extracción del corazón, continuando su fijación en igual fórmula fijadora durante, aproximadamente, diez o quince días.

División del corazón en bloques, topografiando esquemáticamente cada uno de ellos.

Cortes por congelación de alrededor de 10 micras.

Tinciones argénticas por los procedimientos de Gros, según nuestra modificación (Soler, 1951b) y nuestro método neurofibrilar de doble impregnación (Soler, 1951a).

Las preparaciones fueron analizadas mediante un microscopio de luz «Leitz», modelo Orthoplan, con cámara automática de microfotografía tipo Orthomat, de lentes variables (1.0, 1.25, 1.6, 2.0, 2.5 y 3.2). Las lentes empleadas en el microscopio fueron las siguientes: ocular periplan GW 10xM; y los objetivos P1 F1 4/014 y 10/030, P1 25/050 y 40/065 P1 Apo Oel 100/132.

Finalmente, se realizó un estudio reconstructivo, mediante dibujos y microfotografías, de los bloques de las diferentes áreas cardíacas analizadas.

Tales tipos de análisis nos han permitido obtener los siguientes resultados que vamos a sistematizar partiendo de las áreas pediculares.

Resultados

Zona del pedículo arterial (Lámina I, Figuras 1 a 6). En las áreas superiores se encuentra abundante degeneración walleriana, en el intersticio celular graso comprendido entre los dos grandes vasos aorta y pulmonar. En esta zona también se encuentran abundantes grupos y ganglionares: unos entre cuyas neuronas no se encuentran fibras degeneradas y que presentan características tintoriales específicas, los cuales creemos que son los ganglios relacionados con el nervio vago (Soler Arrebola, 1991); y otros, por cuyo pedículo penetran fibras mielínicas degeneradas, las cuales se dividen y subdividen en arborizaciones, y se distribuyen finalmente entre las neuronas de dichos ganglios (Figura 1: zona superior del pedículo arterial. Ganglio. Ocular (cámara 3.2:1; tubo vario 1.0). Objetivo 40); (Figura 2: ampliación de una neurona del ganglio de la figura 1. Ocular (cámara 3.2:1; tubo vario 1.0). Objetivo 100). Las características de las neuronas de estos últimos ganglios son: que la mayoría, sobre todo las periféricas, son de gran tamaño y tanto su protoplasma como el núcleo apenas toman impregnación argéntica; ambas estructuras están delimitadas por una pequeña membrana un poco más afin por las sales de plata. En el núcleo de estas neuronas resalta un poco la sustancia cromática y lo que sí presenta mayor afinidad por la plata es su nucleólo.

Además de las fibras nerviosas degeneradas que van a terminar en los citados ganglios, existen también abundantes cordones nerviosos, con fibras parcialmente degeneradas (Figura 3: zona del pedículo arterial, nervios con fibras degeneradas. Ocular (cámara 3.2:1; tubo vario 1.0). Objetivo 25), que se dirigen hacia otras áreas

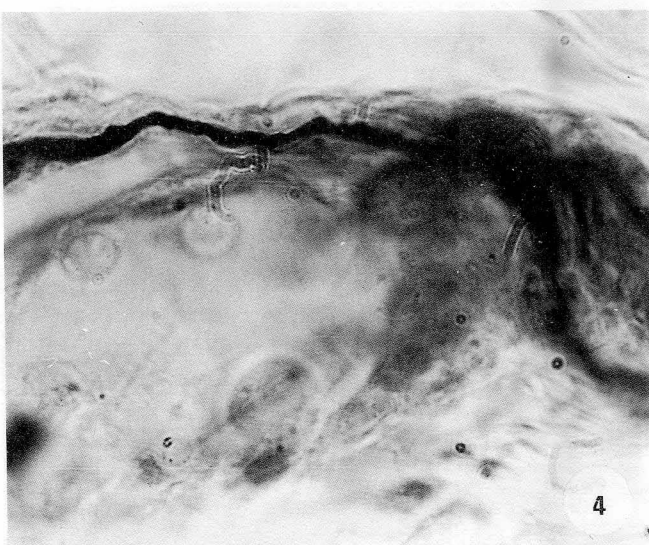
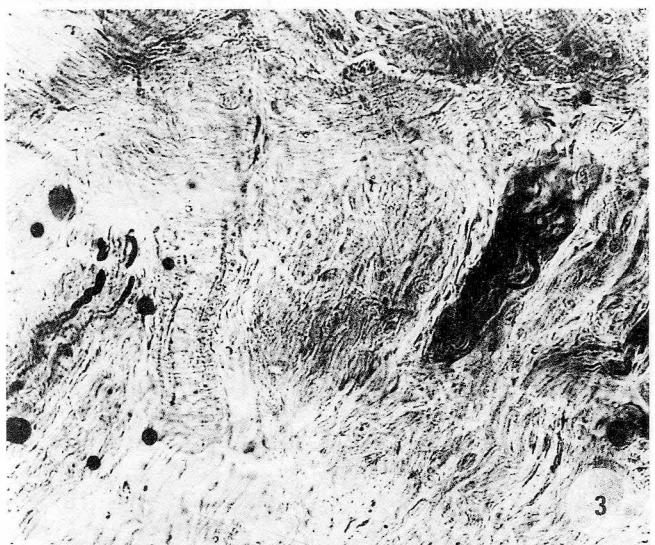
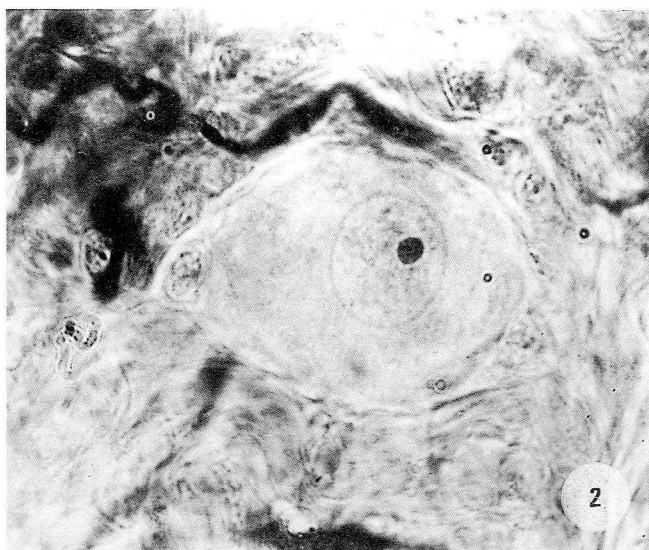
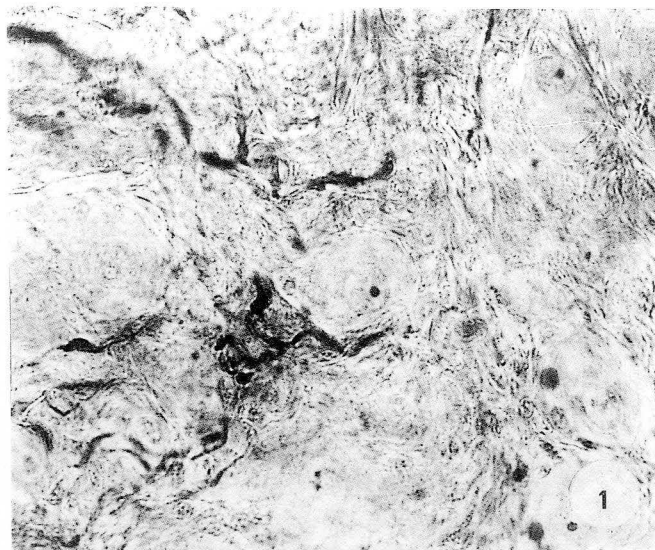
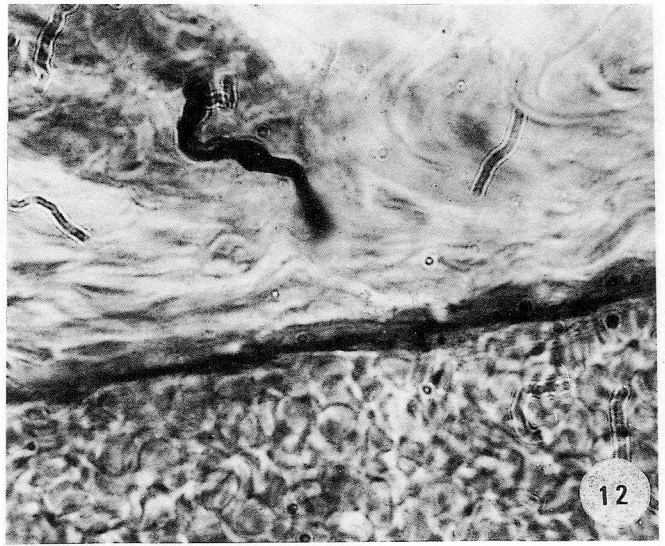
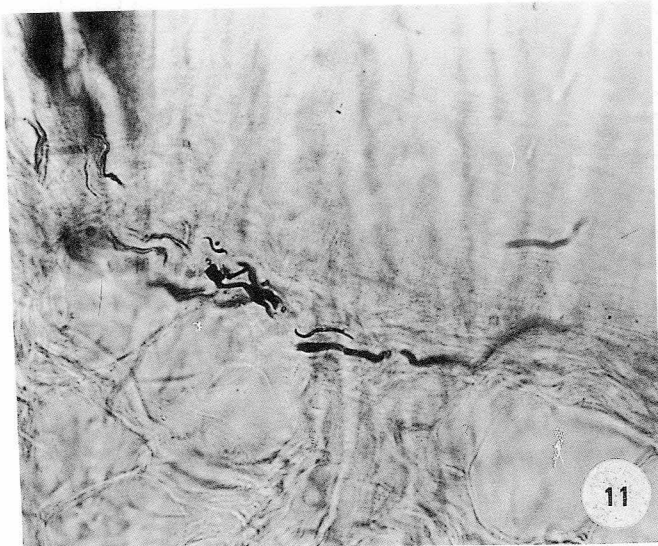
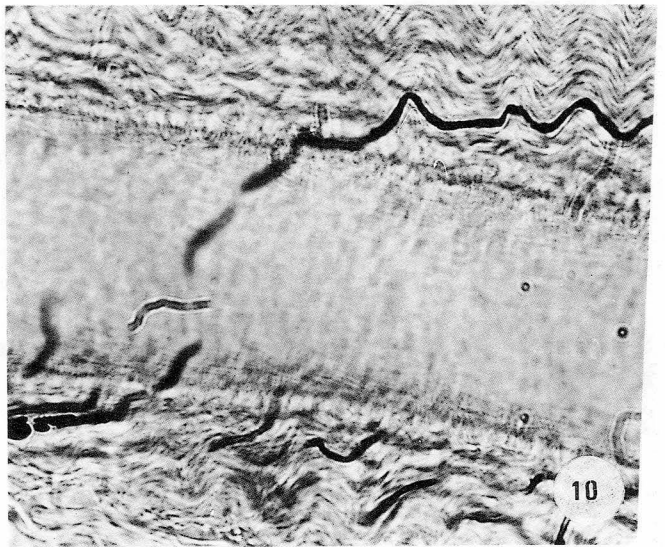
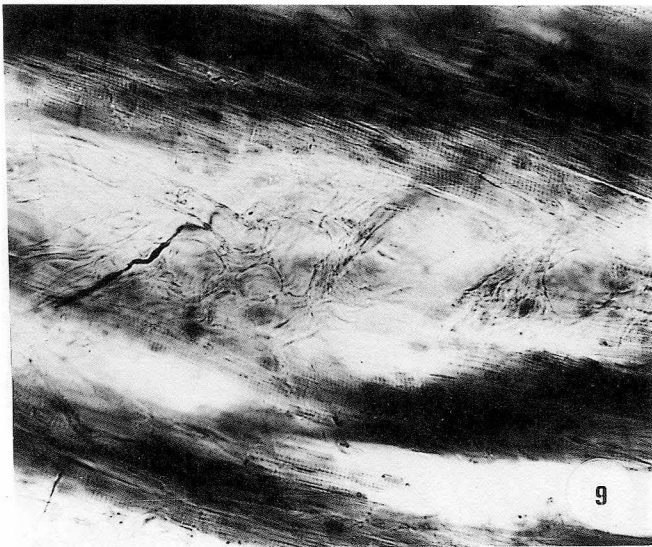
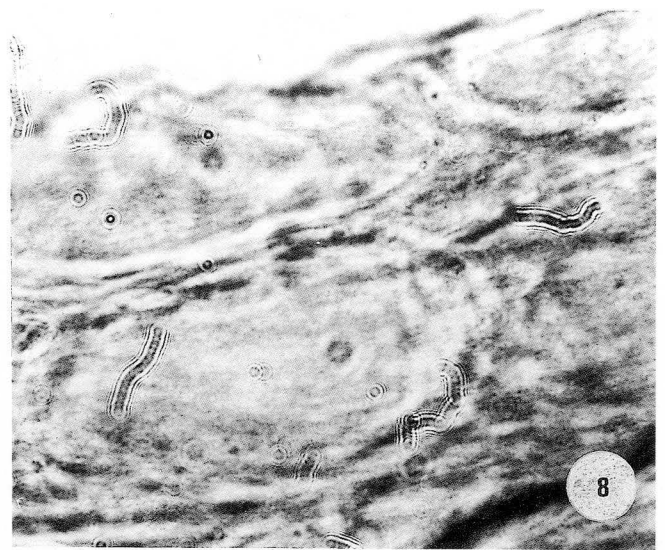
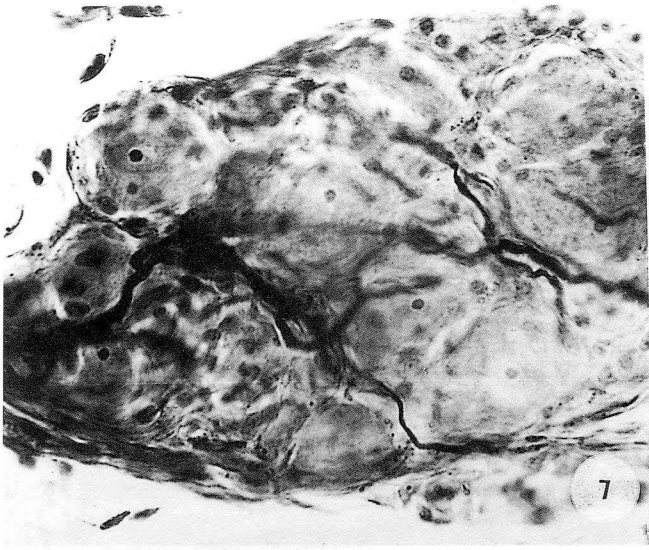


LÁMINA I



cardíacas, ya superficialmente; o bien en profundidad por entre las estructuras musculares. En ambos casos siguen el trayecto de los vasos y ayudan a la formación de las redes perivasculares.

Los hallazgos descritos y los que indicaremos en otras áreas se observan repetidamente en todas las experiencias; las únicas diferencias estriban en el distinto grado de impregnación de las fibras nerviosas, según el tiempo de supervivencia a la lesión.

Si seguimos analizando en regiones más inferiores del pedículo arterial, como las zonas de origen de las arterias coronarias y de las arterias pulmonar y aorta, nos encontramos los siguientes hallazgos: tanto en una como en otra se encuentran abundantes, pero pequeños, acúmulos ganglionares con características argentófilas diferentes, según indicamos en uno de nuestros trabajos anteriores (López Soler, Soler Viñolo, Arrebola Nacle, Soler Arrebola, 1990) y que esquemáticamente vamos a resumir. En el origen de las arterias coronarias los pequeños ganglios se disponen junto a estos vasos y siguen, en cadena y en orden decreciente, su trayecto a través de los surcos aurículo-ventriculares e interventriculares; en ellos terminan fibras degeneradas de los nervios perivasculares, que son los que los encadenan, los cuales cada vez se reducen de tamaño y disminuyen el número de fibras con degeneración, predominando las amielínicas normales.

En las áreas de los conos arteriales los dispositivos nerviosos son los siguientes: en el área del cono de la arteria aorta el número de acúmulos ganglionares disminuye, pero éstos, por lo general, son de tipo intramuscular, localizados entre la delgada capa muscular superficial y la gruesa capa profunda y están situados, predominantemente, en las áreas externas del cono; a ellos no les hemos observado llegar fibras con degeneración. Sí, en cambio, hemos visto llegar fibras nerviosas degeneradas a ganglios perivasculares situados también en estructuras intramusculares. En estos casos (Figura 4: fibras degeneradas perivasculares. Ocular (cámara 3.2:1; tubo vario 1.0). Objetivo 100) el número de fibras mielínicas degeneradas es menor que en las superficiales. En la microfotografía (Figura 5: zona del pedículo arterial. Ocular (cámara 3.2:1; tubo vario 1.0). Objetivo 40) podemos observar un pequeño ganglio yuxtavascular formado por dos o tres células a cuyas neuronas van a terminar fibras degeneradas. El vaso junto al cual está situado dicho ganglio lo observamos mejor en esta otra microfotografía (Figura 6: Ocular (cámara 3.2:1; tubo vario 1.0). Objetivo 40) a cuyo alrededor se puede observar la red difusa formada por fibras normales y degeneradas que van saliendo escalonadamente de un nervio que sigue el trayecto de dicho vaso.

En el cono de la arteria pulmonar, el número de acúmulos ganglionares es mayor que en el cono aórtico y unos, los menos, son intramusculares y los más son subepicárdicos y están situados también en el margen externo, en las zonas próximas a los surcos interventricular anterior y aurículo-ventricular derecho. A estos últimos grupos ganglionares sí se les ha visto llegar fibras degeneradas, como también hemos visto fibras degeneradas en los nervios que caminan junto a los vasos en ambos conos, pulmonar y aórtico (Figura 7: ganglio situado en el borde superior del ventrículo derecho, junto a la desembocadura de la arteria pulmonar. Ocular (cámara 3.2:1; tubo vario 1.0). Objetivo 40).

Surcos aurículo-ventriculares e interventriculares. Gran parte de los elementos nerviosos descritos en el pedículo arterial se van a repartir por las estructuras cardíacas siguiendo el trayecto de los vasos coronarios, por los surcos citados. Estos elementos están situados primero en superficie y después se van haciendo profundos, generalmente a través de los intersticios intermusculares por donde estos vasos lo hacen. Durante su trayecto superficial presentan las siguientes características: los nervios son más gruesos en las áreas proximales al pedículo y decrece paulatinamente el número de fibras conforme se aproximan a las áreas más distales. También las cadenas ganglionares van decreciendo en número y tamaño desde las zonas proximales a las distales. Generalmente, los ganglios en los surcos interventriculares no alcanzan el vértice y la distancia hasta este varía de unos animales a otros. Además, aunque generalmente los ganglios son superficiales, algunos profundizan entre las estructuras musculares, situándose entre la capa muscular superficial y la profunda; estos últimos ganglios se encuentran en mucha menor proporción.

En la mayoría de los nervios que caminan por esta zona se observan fibras mielínicas degeneradas, y su número decrece conforme avanzan hacia las áreas cardíacas más distales. Generalmente tales fibras nerviosas se encuentran en los nervios yuxtavasculares y terminan, bien en los ganglios situados junto a los vasos, o ya formando redes perivasculares por las distintas estructuras del corazón, según a continuación analizaremos.

La distribución de las citadas fibras nerviosas superficiales por las paredes cardíacas y la proyección walleriana consecutiva a la estelectomía derecha que la acompaña es la siguiente:

– *Paredes ventriculares anterolaterales y posterior*. En todas las áreas parietales de este ventrículo se ha observado fibras con degeneración walleriana, tanto superficiales como profundas, con las siguientes características. Generalmente acompañan a los nervios perivasculares. El número de fibras degeneradas en estos disminuye en cantidad y diámetro paulatinamente desde las áreas de los surcos interventricular y auriculoventriculares hacia la parte central e inferior del corazón y además, desde la superficie a la profundidad. Las fibrillas terminales degeneradas sólo las hemos visto llegar a pequeños acúmulos ganglionares en la parte superior del ventrículo (Figura 8: ganglio situado en el borde superior del ventrículo derecho. Ocular (cámara 3.2:1; tubo vario 1.0). Objetivo 100) o formando parte de las redes perivasculares (Figura 9: zona media superior de la pared del ventrículo derecho, fibras degeneradas perivasculares. Ocular (cámara 3.2:1; tubo vario 1.0). Objetivo 25).

Estos hechos se dan prácticamente en ambos hemicorazones si bien predomina la degeneración en el lado derecho, pero sin excluir el izquierdo tanto en las áreas superiores, como en la media (Figura 10: zona del tercio medio posterior de la pared del ventrículo izquierdo. Ocular (cámara 3.2:1; tubo vario 1.0). Objetivo 40) y vértice (Figura 11. Ocular (cámara 3.2:1; tubo vario 1.0). Objetivo 40).

Septum interventricular. Como en las restantes paredes cardíacas, se observa en los nervios, sobre todo en los perivasculares, algunas fibras con degeneración walleriana, cuyo número y grosor aumenta en las áreas periféricas próximas a los surcos interventriculares y en la parte anterosuperior que corresponde a zonas próximas a la desembocadura del seno coronario (Figura 1: zona media del tercio superior del *septum* interventricular. Ocular (cámara 3.2:1; tubo vario 1.0). Objetivo 100).

Discusión

Un análisis bibliográfico sobre la inervación simpática en los ventrículos del corazón muestra pocos datos concretos; ello es debido por una parte a las dificultades técnicas que entrañan los distintos tipos de procedimientos (morfológicos, histoquímicos y funcionales), y por otra, a la complejidad por fusión de distintos tipos de fibras en cualquier nervio cardíaco, aún en las primeras fases embrionarias (véase entre nosotros Morales, 1988 y Ramírez, 1990). Es más, lesionando los ganglios de la propia cadena simpática, hemos de tener en cuenta que por ellos caminan fibras aferentes de los ganglios raquídeos últimos cervicales, y sobre todo, los cuatro primeros torácicos (Mizeres, 1957a, b; Khaisman y Fedorova, 1972; etc.).

Los datos más significativos obtenidos hasta hoy sobre este tipo de inervación en los ventrículos cardíacos son los siguientes. Para Cullis y Tribe (1913), los ventrículos no reciben fibras del vago, sino que están abundantemente abastecidos por fibras simpáticas que le llegan a través del haz atrioventricular y otras vías. Woollard (1926a, b) dice que las grandes ramas de las arterias coronarias las inerva principalmente el simpático, pero a las pequeñas lo hace fundamentalmente el vago. Nettleship (1936), después de realizar estelectomías bilaterales y del ganglio cervical medio, encuentra degeneración en el epicardio paraventricular; y tras gangliectomías de las raíces dorsales torácicas, encuentra degeneración en los nervios de las aurículas y en los de las arterias coronarias.

Tcheng (1949; 1950a, b) tras lesionar el nervio vago y el ganglio estrellado encuentra en las paredes de las aurículas y ventrículos fibras degeneradas eferentes simpáticas y parasimpáticas; subraya que los ventrículos, sobre todo el izquierdo, está inervado por gran cantidad de fibras simpáticas. Augustin (1952) tras realizar estelectomías busca degeneración en zonas cardíacas concretas: en la desembocadura del seno coronario y de la cava, y en el vértice del corazón; en esta última zona, relacionada con nuestro trabajo, halla fibras degeneradas. Nosotros en trabajos previos (Soler Viñolo, 1954a, b; 1955; 1956a, b; 1961) concretamos la existencia de fibras degeneradas perivasculares con tendencia homolateral. Peso (1954) analiza la degeneración tras estelectomías, sólo en la zona del pedículo arterial, hallando igual proporción de fibras degeneradas en las derechas que en las izquierdas. Corso (1956) tras denervación total del corazón indica que la cantidad de fibras con degeneración walleriana es mayor en las áreas pediculares y desciende gradualmente en las zonas más distales.

Hirsch, Kaiser y Cooper (1964a, b; 1965a, b) hallan elementos simpáticos y parasimpáticos degenerados en los ventrículos cardíacos. Dolezel, Gerova, Gero, Sladek y Vasku (1980) mediante neurotomías locales perivasculares y extirpación del ganglio estrellado, indican que las fibras postganglionares del ganglio estrellado inervan los vasos del corazón y que la contribución a la inervación del miocardio ventricular es aproximadamente del 30%. Munnell (1982) observa degeneración de pequeñas fibras después de realizar simpatectomías torácicas. López Soler y Soler Viñolo (1986) tras simpatectomías cervico-torácicas observan degeneración en las grandes neuronas argentófilas de los ganglios subepicárdicos y fibras degeneradas en la adventicia de los vasos y redes difusas perivasculares.

Finalmente, Forsgren (1988), mediante técnicas inmunohistoquímicas encuentra fibras nerviosas simpáticas en las paredes de las arterias y arteriolas de las ramas del haz de His y en los falsos tendones.

Nuestros hallazgos, tras un meticuloso estudio por zonas topográficas concretas y, dentro de éstas, de superficie a profundidad obtenemos unos resultados, que si a veces concuerdan con los de los investigadores citados, complementan en muchos datos a los hallazgos de estos y aún de los personales y de nuestros colaboradores anteriores.

En este trabajo podemos puntualizar que tras el tipo de lesión realizada llegan a los ventrículos del corazón fibras que terminan en dos lugares diferentes: en los ganglios cardíacos perivasculares, y forman redes difusas alrededor de los vasos de diferente calibre. El primer tipo de fibras suponemos han de ser eferencias que llegan a las neuronas de los citados ganglios, para, a partir de estos, regular la actividad motriz de los vasos. El segundo tipo de fibras, que son mielinizadas y contribuyen a formar la red difusa perivascular, suponemos son las de tipo aferente o sensitivas con origen en los ganglios raquídeos, las cuales atraviesan estos ganglios y tienen por misión detectar las sensaciones de tipo nociceptivo cardíacas.

En cuanto al modo de distribución de estos tipos de fibras aferentes y eferentes, aunque predominan en el lado homolateral a la lesión, también existen fibras degeneradas en el contralateral.

Tanto de estos hechos, como de otras consideraciones de tipo funcional, insistiremos en trabajos posteriores, después de analizar las restantes áreas topográficas cardíacas y no sólo después de los citados tipo de estelectomías, sino también tras lesionar el ganglio izquierdo y bilateralmente ambos ganglios estrellados.

BIBLIOGRAFÍA

- AUGUSTÍN JIMÉNEZ, F. (1952): Aportaciones al wallerianismo simpático cardíaco. (Un análisis en el gato tras estelectomías). Tesis doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Granada.
- CORZO SAMOS, L. (1956): Contribución al estudio de las vías wallerianas tras denervación total del corazón. Un análisis de las zonas de desembocadura de cava pedículo y *septum*. Tesis doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Granada.
- CULLIS, W. y E.M. TRIBE (1913): Distribution of nerves in the heart. *J. Physiol.*, **46**: 141-150.
- DOLEZEL, S.; GEROVA, M.; GERO, J.; SLADEK, T. y VASKU, J. (1980): Monoaminergic pathways to the coronary arteries and to the myocardium. *Acta Anat.* **108**: 490-497.
- FORSGREN, S. (1988): The distribution of terminal sympathetic nerve fibers in bundle branches and false tendons of the bovine heart. An immunohistochemical and catecholamine histofluorescence study. *Anat. Embryol.*, **177/5**: 437-443.
- HIRSCH, E.F.; KAISER, G.C. y COOPER, T. (1964a): Terminal innervation of heart: II. Studies of perimysial innervation apparatus and of sensory receptors in rabbit and dog with the techniques of total extrinsic denervation bilateral cervical vagotomy, and bilateral thoracic sympathectomy. *Arch. Pathol.*, **77**: 172-187.
- HIRSCH, E.F.; KAISER, G.C. y COOPER, T. (1964b): Experimental heart block in the dog. I. The distribution of nerves, their ganglia and terminals in the septal myocardium of the dog and the human hearts. *Arch. Pathol.*, **78**: 523-532.
- HIRSCH, E.F.; KAISER, G.C. y COOPER, T. (1965a): Experimental heart block in the dog. II. Injuries of the septal nerves. *Arch. Pathol.*, **79**: 86-107.
- HIRSCH, E.F.; KAISER, G.C. y COOPER, T. (1965b): Experimental heart block in the dog. III. Distribution of the vagus and sympathetic nerves in the septum. *Arch. Pathol.*, **79**: 441-451.
- KHAISMAN, E.B. y FEDOROVA, L.G. (1972): Cholinergic and adrenergic neural structures of the ventricular epicardium. *Acta Anat.*, **182**: 145-156.
- LÓPEZ SOLER, M. y SOLER VIÑOLO, J. (1986): Sobre las proyecciones wallerianas en los dispositivos nerviosos del sistema atrio-ventricular cardíaco tras distintos tipos de lesiones vagales y simpáticas. *Comun. XII Con. Nac. Soc. Anat. Esp.*, **34**.



- LÓPEZ SOLER, M.; SOLER VIÑOLO, J.; ARREBOLA NACLE, F. y SOLER ARREBOLA, M. (1990): Estudio de los elementos fibrilares y de las conexiones entre las neuronas de los ganglios cardíacos periarteriales. *Comun. XIV Con. Nac. Soc. Anat. Esp.* (141). *Rev. Anales de Anatomía*, **36**: 185-186.
- LÓPEZ SOLER, M.; SOLER VIÑOLO, J.; SOLER ARREBOLA, M. y ARREBOLA NACLE, F. (1990): Características morfológicas y situación tipográfica de los ganglios nerviosos cardíacos periarteriales. *Comun. XIV Con. Nac. Soc. Anat. Esp.* (140). *Rev. Anales de Anatomía*, **35**: 187-189.
- MIZERES, N.J. (1957a): The course of the left cardioinhibitory fibers in the dog. *Anat. Rec.*, **127/1**: 109-115.
- MIZERES, N.J. (1957b): The origin and course of cardio-accelerator fibers in the dog. *Anat. Rec.*, **127/2**: 336.
- MORALES GONZÁLEZ, I. (1988): Sobre el desarrollo de la innervación extrínseca cardíaca. Análisis en distintas fases del periodo embrionario. Tesis doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Granada.
- MUNNELL, J.F. (1982): Sensory components in the terminal innervation of the ovine cardiac conduction system. *Am. J. Anat.*, **136/4**: 337-350.
- NETTLESHIP, W.A. (1936): Experimental studies on the afferent innervation of the cat's heart. *J. Comp. Neurol.* **64**: 115-131.
- PESOCORTÉS, F. (1954): Aportaciones a la innervación cardíaca mediante degeneración secundaria tras resección simpática. Un análisis en el pedículo vascular y aurículas del gato. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Granada.
- RAMÍREZ HERNÁNDEZ, J.A. (1990): Sobre el desarrollo de los plexos nerviosos yuxta e intraparietales del corazón. Análisis en distintas fases del periodo embrionario. Tesis doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Granada.
- SOLER ARREBOLA, M. (1991): Sobre las vías nerviosas del vago para la dinámica del corazón. Tesis doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Granada.
- SOLER VIÑOLO, J. (1950): El fijador formol clorato en el método de Gros. *Rev. Laboratorio*, **10/56**: 117-125.
- SOLER VIÑOLO, J. (1951a): Método rápido neurofibrilar argenticoaplicable al estudio de la degeneración terminal axónica. *Rev. Laboratorio*, **12/68**: 125-132.
- SOLER VIÑOLO, J. (1951b): Aportaciones al estudio morfológico, topográfico y sistematización de los plexos intramurales gástricos. *Actualidad Médica*, **37/316**: 198-206.
- SOLER VIÑOLO, J. (1952): Aportaciones a la investigación anatómica experimental de los dispositivos nerviosos parietoviscerales por proyección walleriana. *Rev. Laboratorio*, **14/83**: 501-513.
- SOLER VIÑOLO, J. (1954a): Contribución al estudio morfológico y topográfico de los ganglios intramurales del corazón y sus relaciones con la innervación cardíaca. *Anal. Anat.*, **3/5**: 203-229.
- SOLER VIÑOLO, J. (1954b): Die angewend Reichweite unserer neurofibrillären Silber-methode beim Studium des zentralen Nerven- systems. *Verh. Anat. Gesell.* 52 Versamm. 335.
- SOLER VIÑOLO, J. (1955): Sur le probleme de l'innervation cardache. *R. Comm. 6^o Cong. Feder. Inter. Anat.* 211-212.
- SOLER VIÑOLO, J. (1956a): Sobre la innervación y el sistema de conducción cardíaco. *Anal. Anat.* **5&8**: 5-22.
- SOLER VIÑOLO, J. (1956b): Degenerativa aspekte in nervösen plexus des herzens bei der Katze nach Experimentellen Verletzungen ihrer nerven. 53 Versamm. *Anat. Gess.*
- SOLER VIÑOLO, J. (1961): Aportaciones al estudio de la innervación extrínseca e intrínseca del corazón. Su naturaleza y relaciones con los elementos parietales cardíacos. Premio «Ramón y Cajal» de Ciencias, 1957. Monografías del CSIC Patronato Ramón y Cajal, Madrid.
- SOLER VIÑOLO, J.; MEGÍAS, L.; RODA, J.A. y LÓPEZ-SOLER, M. (1985): Aspectos ultraestructurales de las neuronas de los ganglios autónomos de la raíz del pedículo arterial cardíaco. *Actas del 4^o Congreso Nacional de Histología*. Granada, junio 1985.
- SOLER VIÑOLO, J.; LÓPEZ-SOLER, M. y RODRÍGUEZ LOZANO, J.M. (1985): Topografía y aspectos morfológicos y estructurales de los ganglios autónomos de la raíz del pedículo arterial cardíaco. *Actas del 4^o Congreso Nacional de Histología*. *An. Desarr.* **32/71-72**: 67-87.
- TCHENG, K.T. (1949): Caracteres de fibres de l'innervation cardiaque chez les mammifères. *Arc. Sci.*, **2/2**: 368-369.
- TCHENG, K.T. (1950a): Innervation du myocarde ventriculaire chez le chat nouveaune. *Cr. Soc. Biol.* **144**: 162.
- TCHENG, K.T. (1950b): Innervation du miocarde et du faisceau de His chez deux mammifères, le mouton et le chat. *Cardiol. Basle.* **14/3-5**: 227-265.
- WOOLLARD, H.H. (1926a): The innervation of the heart. *J. Anat.*, **60**: 345-373.
- WOOLLARD, H.H. (1926b): The innervation of blood vessels. *Heart*, **31**: 319-336.

Correspondencia: Dr. José Soler Viñolo
 Dpto. Ciencias Morfológicas.
 Facultad de Medicina
 18071 Granada. España

REVISIÓN: APORTACIONES DE LAS TÉCNICAS MORFOLÓGICAS AL CONOCIMIENTO DEL NÚCLEO SUPRAÓPTICO

REVIEW: CONTRIBUTIONS OF THE MORPHOLOGICAL TECHNIQUES TO THE KNOWLEDGE OF THE SUPRAOPTIC NUCLEUS

**R. VÁZQUEZ, F. SÁNCHEZ, J.M. RIESCO, E. BLANCO, J.A. JUANES, R. ARÉVALO, M. RUBIO
y J. CARRETERO**

Departamento de Anatomía e Histología Humanas
Facultad de Medicina
Universidad de Salamanca

Los conocimientos actuales sobre el sistema hipotálamo-neurohipofisario (HNS) en general y, dentro de él, del núcleo supraóptico (SON), se deben a las aportaciones efectuadas mediante técnicas bioquímicas, fisiológicas y morfológicas. De manera aislada o combinando varias de ellas, se ha logrado, desde finales del siglo pasado, recoger un gran número de datos que permitieron un gran avance en su conocimiento aunque, en la actualidad, existan múltiples problemas aún por resolver.

El SON se localiza en el hipotálamo anterior y se le considera formado por un grupo de grandes neuronas que se sitúan sobre el borde lateral del quiasma óptico, constituyendo la llamada porción prequiasmática, porción compacta o principal. A este grupo se añaden otros, considerados como accesorios, también formados por grandes neuronas y situados medialmente al tracto óptico, en la base del cerebro, como la porción tuberal de Bodian (1939) o grupo retroquiasmático (Peterson, 1966) y un pequeño grupo de neuronas que, siguiendo a los vasos, se introducen en el tracto óptico, formando la porción intraóptica (Leranth y cols., 1975).

El SON ha sido y sigue siendo uno de los núcleos hipotalámicos más estudiados, debido a: su fácil localización y sistematización, sus grandes neuronas, su homogeneidad neuronal y unas funciones bastante claras, que han permitido y aún posibilitan plantear numerosas hipótesis de trabajo.

Las neuronas de este núcleo poseen características propias de toda célula nerviosa y, además, otras que corresponden a células endocrinas, imbricándose en él los sistemas nervioso y endocrino. En el SON y en el núcleo paraventricular (PVN) se sintetizan, principalmente, dos péptidos: la Vasopresina (VP) y la Oxitocina (OT), hormonas que, elaboradas en sus células, son liberadas después, fundamentalmente, al sistema circulatorio en el lóbulo neural de la hipófisis (NLH), aunque hoy día se conoce que también alcanzan la adenohipófisis, sobre la cual ejercen importantes mecanismos reguladores (Swanson y Sawchenko, 1983; Silverman y Zimmerman, 1983).

Los estudios morfológicos del SON, aunque no de forma exclusiva, han contribuido fundamentalmente al conocimiento del mismo y será sobre ellos y sobre las técnicas aplicadas en los mismos en los que fijaremos nuestra atención.

Técnicas mielo y citoarquitecturales

Utilizando técnicas morfológicas como la hematoxilina-eosina o colorantes tipo azul de metileno, azul de toluidina, violeta de cresilo, etc., que ponen de manifiesto los grumos de Nissl de las neuronas o bien técnicas de impregnación argéntica, para visualizar los contornos neuronales y sus prolongaciones, como las impregnaciones de Golgi, se ha podido estudiar el SON como un núcleo más dentro del hipotálamo.

El SON fue denominado por Meynert (1869) "ganglio óptico basal". Ramón y Cajal (1894, 1911) lo describió como "ganglio tangencial" y "periquiasmático", para Winkler y Porter (1914) es el "ganglio óptico", para Rioch (1929) "núcleo tangencial" y Loo (1931), le llamó "núcleo supraóptico", término utilizado con anterioridad por Lenhossek (1887), aunque los grupos neuronales descritos no coincidieran exactamente en cada una de las descripciones hechas por los autores citados. Gurdjian (1927) y Krieg (1932) en la rata, Leontovich (1969/1970) y Armstrong y cols. (1982) en el perro, Lefranc (1966) en el gato y el cobaya, Luqui y Fox (1976) en el mono, Felten y Cashner (1979) en el conejo, Viglietti-Panzica y Panzica (1981) en el gallo doméstico, entre otros, describen sus características morfológicas, en preparaciones de Golgi o alguna de sus variantes.

En preparaciones de Golgi, las neuronas del SON se describen como neuronas grandes (entre 25-40 μm de diámetro), bipolares o multipolares, aunque su forma depende de la emergencia de las dendritas. Su árbol dendrítico es muy simple; a menudo poseen dos troncos dendríticos dirigidos dorsolateral y ventromedialmente; este último está pobremente ramificado y con frecuencia se une a las fibras del tracto supraóptico-neurohipofisario o se junta con la membrana pial, formando parte de la "lámina ventral glial", mientras que el primero, ramificado en varias dendritas pequeñas, se extiende en todas las direcciones. Troncos dendríticos accesorios, más pequeños, se originan del cuerpo celular, sin orientación preferencial. Las dendritas, en general, tienen escasas espinas.

Los axones emergen de una eminencia cónica corta y forman parte del tracto hipotálamo-neurohipofisario; algunas colaterales, que emergen en ángulo recto, han sido descritas por Felten y Cashner (1979) en el conejo, aunque Leontovich (1969/1970) no observara tales ramificaciones en el perro recién nacido. En los primates sólo se ven cuando los axones ya han entrado a formar parte del tracto (Luqui y Fox, 1976).

En el SON, también se describen pequeñas neuronas en número muy reducido, células de neuroglía, fundamentalmente astrocitos fibrosos, en relación con el tracto óptico y emitiendo procesos que se introducen en el tracto o en el espesor del núcleo (Luqui y Fox, 1976) y capilares sanguíneos; respecto a los vasos, el SON está ricamente vascularizado (Finley, 1939, 1940; Craigie, 1940; Ambach y Palkovits, 1974), tratándose de capilares con un endotelio continuo, rodeado por una capa de pericitos.

Con métodos de Nissl, Rioch (1929) lo describe como una banda de células dispuestas en las partes anterior y posterior del quiasma, continuándose con células aisladas dorsalmente. Las células tienen forma triangular o fusiforme y su citoplasma contiene finas, difusas y densas granulaciones; su núcleo es redondeado, grande y pálido. Bleier y cols. (1979), utilizando como colorante la tionina, describen una porción anterior y otra tuberal, de células grandes y redondeadas, muy teñidas y asociadas a vasos. La porción anterior aparece rostralmente adosada al tracto óptico y, al dejar el quiasma, se extiende a lo largo de la base del cerebro, inmediatamente dorsal y lateral al tracto.

Con este tipo de técnicas, además de describir las características del núcleo, se ha realizado el conteo de sus neuronas. En la rata, se contabilizaron una media de 14.740 en la porción principal y de 2.015 en la porción tuberal (Bodian y Maren, 1951).

La sección del tallo hipofisario en diversos animales de experimentación y el empleo de técnicas como el azul de toluidina han permitido observar cambios degenerativos, como la atrofia del SON, con irregularidades del contorno neuronal, núcleo celular excéntrico, picnosis, acúmulos anómalos de gránulos de Nissl en la periferia e hiperplasia de células gliales (Kary, 1924; Lewy, 1924; Maiman, 1930; Fisher y cols., 1935; Bodian, 1939).

A partir de los años 50, se utilizan estas técnicas, conjuntamente con otras, dando lugar a que Bodian y Maren (1951) describieran los núcleos magnocelulares como aquellos cuyas neuronas poseen tinción periférica de los grumos de Nissl, dejando una zona central pálida y en sus somas se observen gránulos de coloide. Se tiñen con la hematoxilina al alumbre de cromo, según Gomori (1941) y están localizadas fundamentalmente en dos núcleos (SON y PVN), que poseen una rica vascularización y, en algunos casos, las neuronas siguen a los vasos. Por último, después de realizar una neurohipofisectomía, se produce en ellos una degeneración neuronal.

Técnicas histoquímicas

La actividad enzimática y endocrina de las neuronas del SON permite que puedan ser teñidas histoquímicamente y, por lo tanto, estudiadas experimentalmente.

Considerando al SON como un núcleo de aspecto glandular, los trabajos de Scharrer (1928, 1930, 1932, 1933 y 1936), fueron los primeros en demostrar en el diencéfalo de peces, en los núcleos preóptico y laterales del túbulo, la existencia de vacuolas con coloide, utilizando varias técnicas, entre ellas el azul de toluidina, y corroborando hallazgos anteriores de Speidel (1919, 1922), que describió células de secreción interna en el sistema nervioso, concretamente en la médula espinal de peces teleosteos.

Pero fueron las técnicas histoquímicas, como la hematoxilina al alumbre de cromo-floxina, según el método de Gomori (1941), las que revolucionaron el análisis y estudio del SON. Utilizando este método, Bargmann (1949) puso de manifiesto la existencia de la neurosecreción, que se denominó globalmente sustancia Gomori positiva. Otro tipo de tinciones, como el paraldehído-fuchina, según las pautas de Gabe (1953), el azul alción de Adams y Sloper (1956) y el aldehído-tionina de Ezrin y Murray (1963), entre otras, tiñen también la sustancia neurosecretora.

El empleo de las técnicas histoquímicas propició un mejor conocimiento de las partes integrantes del SON (Peterson, 1966; Hatton y cols., 1972; Bandaranayake, 1971) y permitió definir claramente el sistema hipotálamo-neurohipofisario, el tracto hipotálamo-neurohipofisario (HNT), la neurosecreción y los cuerpos de Herring.

El sistema hipotálamo-neurohipofisario es, en definitiva, el conjunto de estructuras integrado por los núcleos magnocelulares, el NLH y el HNT.

El HNT es el conjunto de axones de las neuronas de los núcleos magnocelulares que, desde su origen, se dirigen hacia el NLH. Ramon y Cajal (1894) fue el primero en describir estas fibras, como fibras arrosariadas, pero sin llegar a determinar cuál era su origen. Más tarde, Greving (1926a y b) comprobó su origen en el SON y en el PVN, siendo descrito por Bargmann (1949), Hild (1951), Scharrer y Scharrer (1954), etc.

Con el término de neurosecreción, se engloba a aquella sustancia Gomori positiva que se visualiza en los núcleos magnocelulares, en el HNT y en el NLH y que es producida y liberada por células nerviosas que tienen características citológicas de células secretoras (Bargmann, 1966). Esta definición puede ser confusa (ver Stutinsky, 1970; Sloper, 1972) y quizás quede más completo el concepto añadiendo, que el término neurosecreción engloba a aquella sustancia que contiene las hormonas VP y OT y que funcionalmente interviene en las contracciones uterinas durante el parto, en la eyección láctea por el pezón y en la reabsorción de agua por el túbulo contorneado distal (para más detalles ver De Wied, 1983; Doris, 1984; Sladek y Armstrong, 1985).

Entre las neuronas del SON y en el resto del sistema, es posible visualizar acúmulos de neurosecreción de muy diferentes tamaños, que recibieron el nombre de cuerpos de Herring, en honor al primer autor que los describió (Herring, 1908).

Estos cuerpos se consideraron, a microscopía óptica, como una unidad de referencia y sus variaciones indicarían estados de hiper o hipoactividad del sistema. Se ponen de manifiesto empleando las sustancias tintoriales antes reseñadas; la neurosecreción que contienen se tiñe de color morado con el paraldehído-fuchina, de azul intenso con el azul de toluidina y de azul claro con el azul alción. En condiciones normales y/o experimentales, en ellos pueden verse, además de material neurosecretor, otras estructuras, las cuales toman un color diferente (siendo, por ejemplo, PAS positiva). Las diferencias tintoriales de los componentes de los cuerpos de Herring quedarían perfectamente demostradas al utilizar la microscopía electrónica y observar los diferentes elementos que los constituyen (Vázquez, 1972; Vázquez y Amat, 1976, 1978).

Experimentalmente, estas técnicas histoquímicas han contribuido de forma notable a encontrar una correlación entre neurosecreción y hormonas VP y OT, aclarando algunas de las funciones en las que participa el HNS y el SON en particular. Las variaciones en el número de neuronas teñidas, la mayor o menor intensidad de tinción, la aparición de una zona yuxtaneuclear manifiesta (casquete yuxtaneuclear), así como las variaciones en el número de los cuerpos de Herring, son los datos a tener en cuenta para el análisis morfofuncional del SON.

EL SON ha sido muy estudiado provocando cambios osmóticos de muy diverso tipo (administración de suero salino, privación de agua, hemorragias, etc.) o bien en estados de estrés (pinchazos en la cola del animal, inmovilización, bajas temperaturas, etc.) o administrando gran cantidad de sustancias para observar si ejercen o no acción sobre el mismo; en muchos casos se ha demostrado la correlación existente entre la neurosecreción y

el metabolismo hídrico (Ortmann, 1950, 1951; Hild, 1951; Leveque, 1953; Wolter, 1956; Rinne, 1960; Engelhardt, 1961; Zacks y Shapiro, 1965; Jasinski y cols., 1967; Sarrat, 1967; Reinhard y cols., 1969; Kalimo, 1971).

Vázquez y Palomero (1970, 1975) y Vázquez y Lancho (1973), destacan la existencia de un casquete yuxtannuclear, paraldehído-fuchina positivo, en las neuronas de ratas deshidratadas, considerándolo como signo de actividad. Otros hallazgos fueron la degranulación en el pericarion del SON en ratas deshidratadas, o bien, una activación del SON, con aumento del material neurosecretor en ratas sometidas a un descenso agudo de temperatura o una disminución del mismo tras un descenso moderado de la temperatura.

La preñez, el parto y la lactación son otros modelos experimentales utilizados para el estudio del SON, comprobándose un aumento de la neurosecreción durante la preñez (Amat, 1955, 1960; Malandra, 1956; Heller, 1959; Vázquez, 1970b) y la deplección de neurosecreción en el parto y lactancia (Stutinsky, 1951, 1953; Collin y Racadot, 1953; Malandra, 1956; Racadot, 1957; Bargmann, 1958; Rennels, 1958; Vázquez, 1970a y b).

Estudios histoquímicos realizados después de seccionar el tallo hipofisario definieron el funcionamiento del HNS: la neurosecreción se produce en el soma neuronal, localizado en el SON o el PVN y, a través del HNT, llega al NLH para ser liberada (Hild, 1951; Stutinsky, 1952; Billestein y Leveque, 1955), confirmando así la teoría del transporte activo propuesta por Bargmann (1951).

Aunque las técnicas inmunohistoquímicas han desplazado a las técnicas histoquímicas en el estudio de la neurosecreción, estas últimas se han seguido utilizando para analizar otros componentes, como la actividad enzimática neuronal del SON.

Nuestro grupo ha demostrado recientemente la presencia de actividad NADPH-diaforasa en las neuronas del SON (Arévalo y cols., 1992). Esta enzima, encargada de sintetizar el óxido nítrico (Hope y cols., 1991), actuaría, entre otras funciones, como un mensajero neuronal que no se almacena en vesículas sinápticas ni actúa sobre receptores proteicos específicos de la membrana post-sináptica (Bredt y cols., 1991). Se trataría pues de un mensajero que difunde libremente por las membranas biológicas (Palmer y cols., 1987).

La NADPH-diaforasa está presente en toda la extensión rostrocaudal del núcleo, tanto en la subdivisión precomo retroquiasmática. En la primera se localiza preferentemente en la zona dorsal, mientras que en la segunda no ocupa una disposición específica.

Por otra parte, hemos observado que la actividad diaforasa coexiste en el SON con algunos neuropéptidos, tales como vasopresina y oxitocina (Sánchez y cols., 1993) y con algunas proteínas ligantes de calcio tales como calbindina (Alonso y cols., 1992a) y calretinina (Arévalo y cols., 1993a y b). No obstante, otros estudios de nuestro grupo han demostrado la ausencia de coexistencia con somatostatina (Alonso y cols., 1992b). Estas coexistencias en el SON, varían notablemente de unas sustancias a otras siendo el mayor grado para calbindina (53.05%), seguida de VP (10%), calretinina (7.5%) y por último OT (7%). También hemos hallado coexistencia de actividad diaforasa con tiroxin-hidroxilasa a nivel hipotalámico, especialmente en las neuronas del NSO (Blanco, observaciones no publicadas).

Así pues, el patrón selectivo de la distribución de NADPH-diaforasa así como las respectivas coexistencias encontradas por nosotros, sugieren que todas estas sustancias no se encuentran involucradas en un mecanismo hipotalámico funcional común, sino más bien en funciones fisiológicas específicas compartidas por poblaciones neuronales determinadas. La actividad diaforasa parece ser independiente de todos estos sistemas, aunque recientemente se ha establecido una relación sináptica común, entre neuronas reactivas al factor liberador de la corticotropina y la sintasa del óxido nítrico (Knigge y Schock, 1992).

Microscopía electrónica de transmisión

La microscopía electrónica de transmisión (TEM) ha aportado importantes datos sobre el SON. Gracias a ella, se tiene un exacto conocimiento de la morfología del núcleo, de las características de sus neuronas y de los cambios que se producen, ante distintas situaciones, en sus diferentes organelas. Como técnica, ha contribuido en el análisis y estudio de cada una de las organelas en las diversas fases de la hormonogénesis de VP y OT, en la relación de

las neuronas con los vasos, en la plasticidad neuronal, en el papel de las células gliales y en el conocimiento de las sinapsis que se establecen entre y con las neuronas. Con la TEM, se ha avanzado de forma considerable en el conocimiento del funcionamiento del HNS por lo que se sigue utilizando ampliamente, en muchas ocasiones combinada con otras técnicas inmunocitoquímicas, morfométricas, estereológicas, etc.

Las características del núcleo y del nucleolo, la aportación de los ribosomas y del retículo endoplásmico rugoso, la morfología del aparato de Golgi y de los componentes que le son vecinos, vesículas, cuerpos multivesiculares y cuerpos densos, el papel del citoesqueleto y el de los gránulos de secreción se deben, en gran manera, a la microscopía electrónica (Palay, 1955; Barry, 1957; Duncan y Alexander, 1961; Zambrano y De Robertis, 1966; Eneström, 1967; Bargmann y Gaudeker, 1969; Klein y cols., 1969; Pilgrim, 1969; Scott, 1969; Picard y Cotte, 1970; Flament-Durand, 1971; Kalimo, 1971; Norström y cols., 1971; Pickering y cols., 1971; Livingston, 1971; Sloper, 1972; Cannata y Morris, 1973; Morris y Cannata, 1973; Tweedle y Hatton, 1976; Morris y cols., 1977; Gregory y cols., 1980; Carithers y cols., 1981; Viglietti-Panzica y Panzica, 1981; Carithers y Bealer, 1985).

Su utilización ha permitido saber que el núcleo celular de las neuronas del SON es grande, está situado normalmente en el centro de la célula, con una cromatina distribuida al azar y posee un nucleolo muy patente, a veces múltiple, y la membrana nuclear tiene poros a intervalos regulares.

El aparato de Golgi está constituido por varios dictiosomas dispuestos perinuclearmente. A menudo están formados por membranas paralelas o bien tienen forma curvilínea, viéndose, en este caso, un lado convexo y otro cóncavo, éste último mirando hacia el núcleo; en el lado convexo predominan las vesículas unidas como las cuentas de un rosario y los túbulos estrechos; en la porción intermedia los sacos largos y dilatados y por el lado cóncavo, los sacos estrechos y pequeños. En sus proximidades hay vesículas de diversa morfología. El contenido de sus cisternas es generalmente claro, con zonas ocasionales más densas, de material fino y granular. En la porción terminal de las membranas se pueden ver yemas con un contenido similar, constituyendo una formación idéntica a los gránulos de secreción.

Son característicos de estas neuronas los gránulos de secreción como vesículas constituídas por una membrana y un contenido electrodenso. Contienen las hormonas VP y OT, así como sus proteínas asociadas. El material hormonal es empaquetado en vesículas, en los extremos libres de las cisternas golgianas, vesículas que se conocen con el nombre de gránulos elementales de secreción; según el contenido denso del gránulo, que ocupe toda la vesícula o sólo parcialmente la misma, se denominan gránulos maduros o inmaduros (jóvenes) de secreción.

El retículo endoplásmico rugoso es muy abundante y se sitúa periféricamente. Está formado por cisternas dispuestas paralelamente. Los ribosomas adosados a la membrana son muy numerosos. También es frecuente la observación de rosetas constituidas por grupos de 4 u 8 ribosomas libres por todo el citoplasma.

Las mitocondrias se aprecian como cuerpos ovales o alargados; son muy numerosas y están distribuidas por el citoplasma, siendo su matriz poco densa.

Hay cuerpos densos y multivesiculares. Los primeros son formaciones rodeadas por membrana y con actividad fosfatasa ácida marcada, por lo que se les considera como lisosomas. Son redondos u ovalados y muy electrodensos y, a veces, presentan restos de membrana y gotas de lípidos; se ven, sobre todo, perinuclearmente. Los cuerpos multivesiculares están formados por pequeñas vesículas envueltas por una membrana.

Las neuronas del SON tienen un citoesqueleto, formado por filamentos y túbulos, así como aposiciones de membrana soma-somáticas entre las propias neuronas, aposiciones con terminaciones gliales y numerosas sinapsis, con fibras vecinas.

Utilizando hipótesis de trabajo similares a las empleadas en los estudios histoquímicos (metabolismo hídrico, esfera sexual, estrés, administración de sustancias), la TEM ha dado un gran impulso al conocimiento del SON.

Los gránulos de secreción y cuerpos de Herring han sido ampliamente estudiados en distintos diseños experimentales, si bien estos estudios no se han limitado sólo al SON, sino que se ha analizado la totalidad del HNS (Green y Maxwell, 1959; Lederis, 1964; Sachs y Takabatake, 1964; Zambrano y De Robertis, 1966; La Bella, 1968; Morris y Cannata, 1973; Krisch, 1975; Morris, 1976; Nordmann y cols., 1979; Parish y cols., 1981). La microscopía electrónica permitió comprobar cómo los cuerpos de Herring estructuralmente presentan gránulos, mitocondrias, filamentos, túbulos y ocasionalmente otras estructuras (Dellmann y Rodríguez, 1970a y b; Polenov y Garlov, 1971; Dellmann, 1973; Ugrumov, 1973; Ugrumov y Belenky, 1974; Lederis, 1974; Vázquez y Amat, 1978; Morris y Nordmann, 1979; Vázquez y cols., 1987).

La aparición de una zona yuxtaneuclear rica en apilamientos golgianos, el agrandamiento del núcleo celular y del nucleolo, la disminución de las vesículas neurosecretoras en el pericarion, el agrandamiento del aparato de Golgi y el aumento y vesiculación del retículo endoplásmico rugoso y del número y tamaño de los lisosomas, son todos ellos signos de hiperactividad celular (Picard y Stahl, 1966; Zambrano y De Robertis, 1966).

Estos rasgos de hiperactividad neuronal han sido definidos en estados de deshidratación (Klein y cols., 1969; Picard y Cotte, 1970), después de impedir el transporte y liberación hormonal por tratamiento con colchicina (Norström y cols., 1971; Vázquez, 1976), tras diuresis provocada por glibenclamida (Vázquez y cols., 1980) y después de la castración (Zambrano y De Robertis, 1968).

La TEM ha permitido estudiar el efecto de distintos moduladores sobre las neuronas del SON. Mediante la administración de bromocriptina se han analizado los cambios en relación con el sistema dopaminérgico, efecto que es estimulado por los estrógenos (Carvajal, 1982). En nuestro grupo hemos comprobado cómo las neuronas del SON también liberan sus productos de secreción al neuropilo del propio núcleo mediante procesos de exocitosis (Vázquez y cols., 1988); como la met-enkefalina induce un aumento significativo en las sinapsis axo-somáticas de las neuronas del SON (Blanco, 1986; Blanco y cols., 1992) o la aparición de signos de hipoactividad tras lesionar el área AV3V, pared ántero ventral del III ventrículo, incluyendo el órgano vasculoso de la lámina terminal (Urién, 1992).

Los estímulos de deshidratación y rehidratación afectan a la formación o desaparición de dobles sinapsis (Tweedle y Hatton, 1984) así como los estímulos crónicos durante la gestación y lactación (Perlmutter y cols., 1984). Cambios similares, afectando fundamentalmente las neuronas OT han sido observados en el NSO por Theodosios y cols. (1986a); estos cambios morfológicos pueden tener una importancia funcional para facilitar la actividad eléctrica sincronizada de estas neuronas. Las variaciones de la glia perivascular en torno al parto y en la lactación pueden tener un papel funcional importante para una posible secreción paracrina estímulo dependiente desde las neuronas OT perivasculares (Kamei, 1986; Blanco y cols., 1991).

Orkand y Palay (1967) estudian la ultraestructura de las neuronas del SON en la diabetes insípida; las neuronas muestran, lo que ellos llaman una hipertrofia frustrada, al no poder sintetizar VP.

Esta técnica ha servido para identificar, dentro de las neuronas del SON, dos tipos de neuronas: células claras y oscuras. Cammermeyer (1960, 1962) considera a las células oscuras como producto de autólisis *post-mortem* y Murakami (1964) y Nemestcher-Gansler (1965) hablan de células oscuras y claras en relación con la cantidad de ribosomas. Zambrano y Mordoh (1966), hablan de células tipo I y II y Eneström (1967), de células A y B, existiendo una correlación entre células A, oscuras y tipo I y células B, claras y tipo II.

Además se ha podido analizar la plasticidad estructural en el HNS, demostrada por varios grupos en condiciones de estímulos naturales (Hatton, 1986; Kamei, 1986; Theodosios y Poulain, 1987). La plasticidad afecta a la citoarquitectura básica y a las sinapsis de neuronas magnocelulares, así como a la cobertura glial de estas células. Estos cambios consisten en extensiones variables de aposiciones de membrana entre los somas magnocelulares debido a la retracción activa de la glía que recubre a las neuronas y en la formación de dobles sinapsis asociando dos o más neuronas por medio de terminales presinápticos comunes (Tweedle y Hatton, 1984; Theodosios y cols., 1986a, b; Chapman y cols., 1986; Theodosios y Poulain, 1987), siendo reversibles en condiciones fisiológicas (Theodosios y cols., 1988).

Trazadores neuronales

Uno de los campos más interesantes en el estudio morfológico del sistema nervioso central y en particular del SON es el conocimiento de los terminales y/o fibras aferentes y eferentes del núcleo. Su conocimiento permite establecer la circuitería neuronal implicada en los procesos de regulación y respuesta del mismo. El empleo de trazadores neuronales y los estudios de degeneración, retrógrada o anterógrada, han permitido conocer dichos terminales, los cuales han sido identificados en su origen y naturaleza, al combinar el trazado neuronal con técnicas histo o inmunohistoquímicas.

Las técnicas de transporte retrógrado, como el empleo de la peroxidasa del rábano picante, aplicadas desde el NLH, han sido utilizadas para definir las células de origen de las terminaciones nerviosas de dicho lóbulo, que

corresponden a las neuronas del SON, PVN y núcleos accesorios (Sherlock y cols., 1975; Wiegand y Price, 1980; Kelly y Swanson, 1980; Armstrong y Hatton, 1980). Sherlock y cols. (1975) concluyeron que prácticamente todas las neuronas del SON resultaban marcadas tras la inyección de peroxidasa en el NLH.

Aparte de sus proyecciones hacia el NLH, mediante transporte retrógrado, se han descrito algunas proyecciones descendentes hacia la médula espinal y el núcleo dorsal del vago; sin embargo, no está claro si las mismas son del SON o bien de los núcleos accesorios magnocelulares e incluso de la zona incerta o los núcleos septales (Peterson, 1966; Kelly y Swanson, 1980); además, el empleo combinado de inmunohistoquímica y trazadores parece confirmar que dichas proyecciones son principalmente del PVN (Sawchenko y Swanson, 1980; 1982).

En relación con las aferencias al SON se sabe que dicho núcleo posee aferencias desde el tronco del encéfalo, el diencefalo y, muy probablemente, del telencefalo.

El SON posee gran cantidad de terminales noradrenérgicos (Carlsson y cols., 1962; Fuxe, 1965; Ungerstedt, 1971; Lindvall y Björklund, 1974). Dichos terminales proceden fundamentalmente de los grupos neuronales A1, dispuesto dorsalmente al núcleo reticular lateral del tronco del encéfalo, A2, situado medialmente al núcleo del haz solitario y el grupo A6, en el *locus coeruleus* (Jones y Moore, 1977; Sakumoto y cols., 1978; Swanson y Hartman, 1980; Palkovits y cols., 1980a y b; Takagi y cols., 1980; Berk y Finkelstein, 1981; Tribollet y Dreifuss, 1981). También existen proyecciones serotoninérgicas desde los núcleos del rafe hacia el SON (Conrad y cols., 1974).

El núcleo dorsomedial y el núcleo preóptico mediano proyectan hacia neuronas magnocelulares del SON (Sawchenko y Swanson, 1981). También existen fibras reactivas a ACTH, probablemente procedentes del núcleo arcuato del hipotálamo, que proyectan sobre neuronas oxitocinérgicas del SON (Sawchenko y cols., 1982).

Existen proyecciones desde los órganos circunventriculares que alcanzan el SON, entre ellas las del órgano subfornical (Miselis y cols., 1979; Sawchenko y Swanson, 1981; Silverman y cols., 1981; Tribollet y Dreifuss, 1981; Miselis, 1981).

Parecen existir conexiones con el sistema límbico, aunque éstas podrían efectuarse indirectamente a través del área preóptica o del núcleo del lecho de la estría terminal. Distintos ensayos electrofisiológicos sugieren proyecciones directas desde áreas neocorticales hasta el SON (Koizumi y cols., 1964), aunque no se han evidenciado morfológicamente.

Autoradiografía

El empleo de isótopos radiactivos como marcadores morfológicos mediante autoradiografía, ha permitido analizar la ruta de síntesis hormonal intraneuronal, el transporte de neurotransmisores (conociendo las proyecciones aferentes y eferentes del SON, lo que ya hemos analizado en el capítulo anterior) y caracterizar los distintos tipos de receptores existentes en las neuronas del SON.

Los estudios de Sloper (1955), Flament-Durand (1967) y Roux (1968), mediante la incorporación de precursores marcados radiactivamente, concluyeron que la síntesis hormonal se realiza en los somas neuronales localizados en el SON. El material radiactivo se localizaba, en un primer momento, en las cisternas del retículo endoplásmico rugoso, en el aparato de Golgi y en los granos de secreción, siendo posteriormente transportado hacia el tracto y de esta forma alcanzar el NLH. Se contribuyó así a la aceptación de la teoría del transporte activo de Bargmann (1949), de la que ya hemos hablado en un capítulo anterior.

Mediante el empleo de ligandos de alta afinidad marcados radiactivamente, ha sido posible la localización de distintos receptores para neurotransmisores en el SON, lo que ha permitido identificar sustancias que modulan la actividad de sus neuronas. Así se ha identificado la presencia de receptores nicotínicos (Polz-Tejera y cols., 1975; Silver y Billar, 1976; Hunt y Schmidt, 1978; Segal y cols., 1978), muscarínicos (Rotter y cols., 1979), opiáceos, principalmente receptores μ (Goodman y cols., 1980) y receptores noradrenérgicos (Young y Kuhar, 1979; Palacios y Kuhar, 1980), principalmente receptores alfa-2 (Young y Kuhar, 1980a). Además, se ha descrito la presencia de receptores benzodiacepínicos (Young y Kuhar, 1980b) y el receptor H1 para histamina (Palacios y cols., 1981). Gracias a esta técnica, se ha descrito la distribución de los receptores de VP y OT en el cerebro de la rata (Tribollet, 1992).

La autorradiografía ha sido y es empleada como un método de revelado en la hibridación *in situ*, cuando ésta se efectúa mediante sondas marcadas radiactivamente, de lo que hablaremos más adelante.

Inmunohistoquímica

Las técnicas inmunohistoquímicas han sido muy utilizadas, en sus distintas variantes: inmunofluorescencia, empleando marcadores enzimáticos o, a nivel ultraestructural, el oro coloidal. Todas ellas han contribuido en gran manera al conocimiento del SON y han desplazado a las técnicas histoquímicas en el estudio de la neurosecreción.

La especificidad de la inmunohistoquímica ha permitido diferenciar, dentro del material neurosecretor, el componente vasopresinérgico del oxitocinérgico e, incluso, de las proteínas transportadoras, neurofisinas I y II. El hecho de poder determinar la presencia intraneuronal de las hormonas permitió diferenciar neuronas VP, neuronas OT y neuronas que reaccionan positivamente a ambas hormonas. Ello ha posibilitado un considerable avance en la interpretación de los resultados obtenidos mediante distintos diseños experimentales; sobre todo combinada con análisis planimétricos o morfométricos.

La inmunohistoquímica ha permitido realizar contajes selectivos o totales de las distintas poblaciones neuronales (Leranth y cols., 1975; Blanco y cols., 1989), hasta 4400 neuronas en la rata (Leranth y cols., 1975) o bien ha permitido comprobar que, de las dos porciones del NSO, la porción prequiasmática es la principal, siendo accesoria la retroquiasmática (Rhodes y cols., 1981).

Inmunohistoquímicamente se ha comprobado que, en el SON, las neuronas de VP son más numerosas que las de OT, existiendo ambas, en menor número, en su porción retroquiasmática (Fisher y cols., 1979; Reaves y Hayward, 1979; Sofroniew y cols., 1979). Ambas poblaciones vasopresinérgicas son consideradas por la mayoría de los autores como una masa celular única (Antunes y Zimmerman, 1978).

Mediante inmunohistoquímica, se ha determinado la existencia de una distribución topográfica para VP y OT en la porción prequiasmática del SON. Vandesande y Dierickx (1975) describieron un predominio dorsal de neuronas OT y otro ventral para las VP, hallazgos concordantes, aunque con ligeras matizaciones, fueron obtenidos posteriormente por otros autores (Dierickx y Vandesande, 1977; Van Leeuwen y Swaab, 1977; Dierickx, 1980; Rhodes y cols., 1981; Sofroniew, 1985), pudiendo coexistir ambas hormonas en una pequeña población neuronal durante la lactación (Mezey y Kiss, 1991).

También han servido para establecer respuestas, sexualmente dependientes, de las neuronas vasopresinérgicas a la modulación por opioides (Blanco y cols., 1989; Sánchez y cols., 1991a); para analizar las diferencias y analogías entre distintas especies animales (Goosens y cols., 1977; Bons, 1980; Bläshner, 1982; Berk y cols., 1982; Tennyson y cols., 1985; Stoll y Voorn, 1985; Viglietti-Panzica, 1986; Hou-Yu y cols., 1986; Sánchez y cols., 1991b) o para confirmar que las neuronas vasopresinérgicas del SON no están involucradas en la regulación de la secreción de ACTH tras la adrenalectomía (Sánchez y cols., 1989).

Las variaciones de las neuronas en relación con la edad han sido analizadas por Kawamoto y Kawashima (1985), viendo las modificaciones tanto para células VP como para células OT e incluso tras estados experimentales como la hipofisectomía, también en relación con la edad (Kawamoto y Kawashima, 1987).

La inmunocitoquímica, a nivel de microscopía electrónica, ha permitido visualizar la presencia de VP, OT o sus precursores, en las distintas organelas celulares (Van Leeuwen y Swaab, 1977; Broadwell y cols., 1979; Nordmann y Morris, 1984; Castel y cols., 1986), comprobar cómo terminales oxitocinérgicos sinaptizan sobre neuronas oxitocinérgicas del SON (Theodosios, 1985) o bien complementar los estudios realizados mediante trazadores demostrando qué hormonas o neurotransmisores del SON son transportados (Buijs y Swaab, 1979).

Estas técnicas han permitido confirmar el déficit hipotalámico de VP normal en la diabetes insípida, experimental y humana, comprobándose una disminución de neuronas vasopresinérgicas en un caso hereditario de diabetes insípida (Bergeron y cols., 1991).

En relación con OT, se ha constatado su aumento en el SON en relación con el parto (Greer y cols., 1986; Caldwell y cols., 1987; Blanco y cols., 1990) y cómo las neuronas OT modifican su disposición y relaciones con los vasos sanguíneos (Blanco y cols., 1991) durante la gestación tardía y primeras etapas de la lactación.

Además de las neuronas peptidérgicas, mediante el empleo inmunohistoquímico de marcadores, se ha estudiado el comportamiento de las células gliales en el SON, sus diferencias o no en relación con el sexo (Suárez y cols., 1991) o bien en relación con los vasos sanguíneos en distintos diseños experimentales (Salm y cols., 1985; Ray y Choudhury, 1990). También se ha determinado la existencia de distintas sustancias que parecen desempeñar un importante papel en la fisiología del SON, como proteínas calcio-relacionadas tipo calbindina, pero no parvalbúmina (Sánchez y cols., 1992), con un alto grado de coexistencia entre calbindina y NADPH-diaforasa, íntimamente relacionada con el óxido nítrico (Alonso y cols., 1992a).

Por último, la inmunohistoquímica ha permitido establecer la presencia en el SON de otros neurotransmisores o neuromoduladores como dopamina (Kiss y Mezey, 1986; Li y cols., 1988), renina (Calza y cols., 1982), galanina (Rokaeus y cols., 1984; Ch'ng y cols., 1985; Gaymann y Martin, 1989) y opioides (Whitnall y cols., 1983; Adachi y cols., 1985). Recientemente, la expresión inmunocitoquímica de c-fos ha sido empleada como marcador de la actividad neuronal en el SON, guardando una estrecha relación con la síntesis y liberación de vasopresina y oxitocina (Roberts y cols., 1993).

Hibridación *in situ*

La hibridación *in situ* es el método más moderno empleado para el estudio morfológico del SON y, en general, de la actividad de las neuronas peptidérgicas (McCabe y cols., 1986), sobre todo gracias a la alta especificidad de los oligonucleótidos sintéticos (Wallace, 1986).

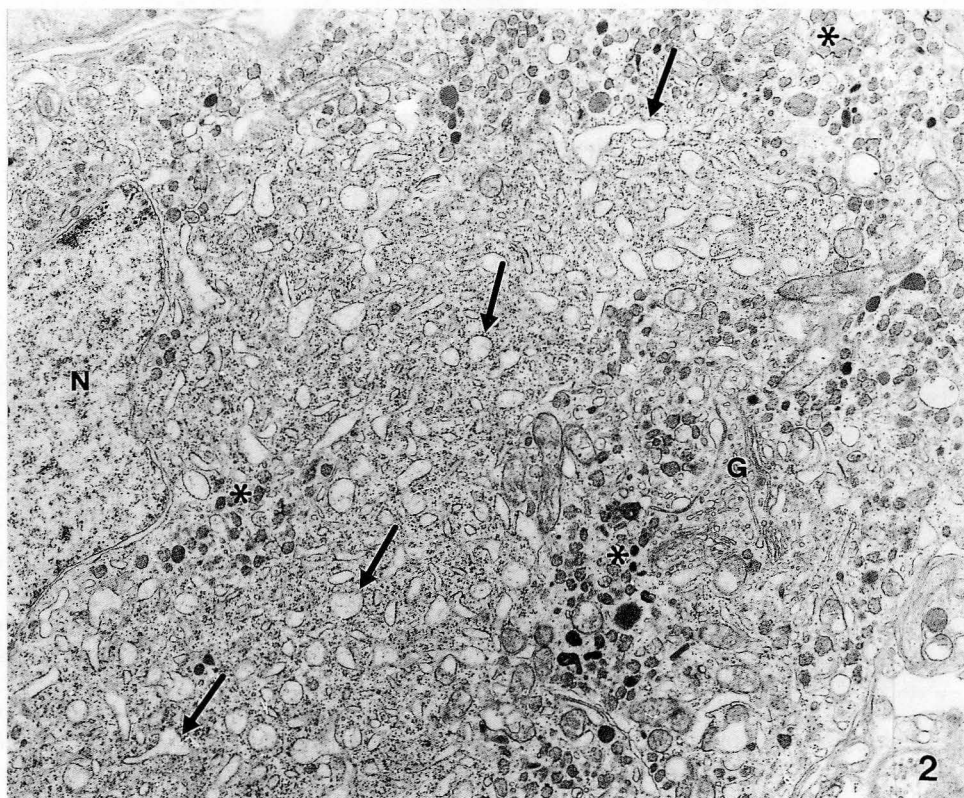
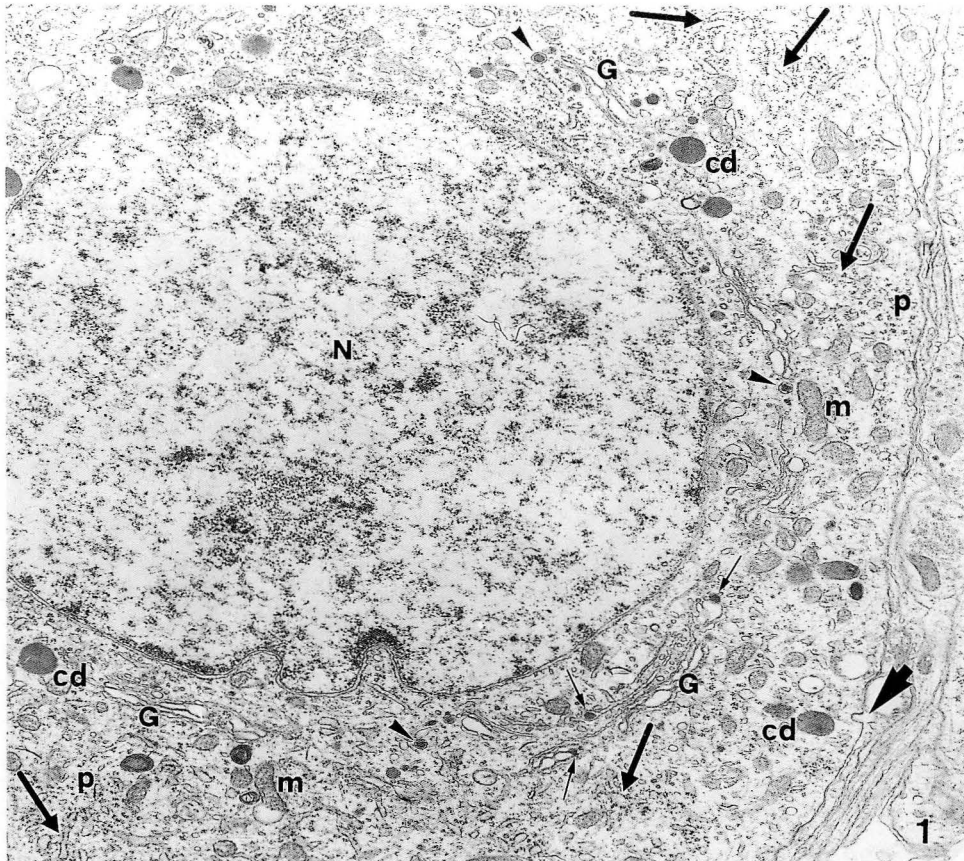
En la segunda mitad de los años ochenta y principios de los noventa, se han sintetizado distintos oligonucleótidos que, empleados como sonda, hibridizan específicamente con el mRNA de vasopresina (Fuller y cols., 1985; Wolfson y cols., 1985; Nojiri y cols., 1985; Guitteny y cols., 1988a, b; Arai y cols., 1988; Meeker y cols., 1991; Terrier y cols., 1991) y el de oxitocina (Jirikowski y cols., 1988) o ambos a la vez (Young y cols., 1986).

Si bien la metodología es más compleja, la hibridación *in situ* representa un importante avance en el conocimiento de la actividad de las neuronas magnocelulares del SON. Así, esta técnica confirmó hallazgos previos de la inmunocitoquímica, como: que las neuronas magnocelulares del SON sintetizan VP y OT (Guitteny y cols., 1988a; Jirikowski y cols., 1989; Bugnon y cols., 1991) y que, en condiciones de normalidad, existen dos poblaciones neuronales bien definidas, una ventral que expresa mRNA para VP y otra dorsal que expresa mRNA para OT (Uhl y cols., 1985; Uhl y Reppert, 1986; Young y cols., 1986; Guitteny y cols., 1988a, b). Además, permitió descubrir la síntesis, en condiciones normales, de ambos mRNA en una pequeña proporción de neuronas del SON (Baldino y cols., 1988), población que aumenta en estados de deshidratación (Kiyama y Emson, 1990) y en la lactación (Mezey y Kiss, 1991).

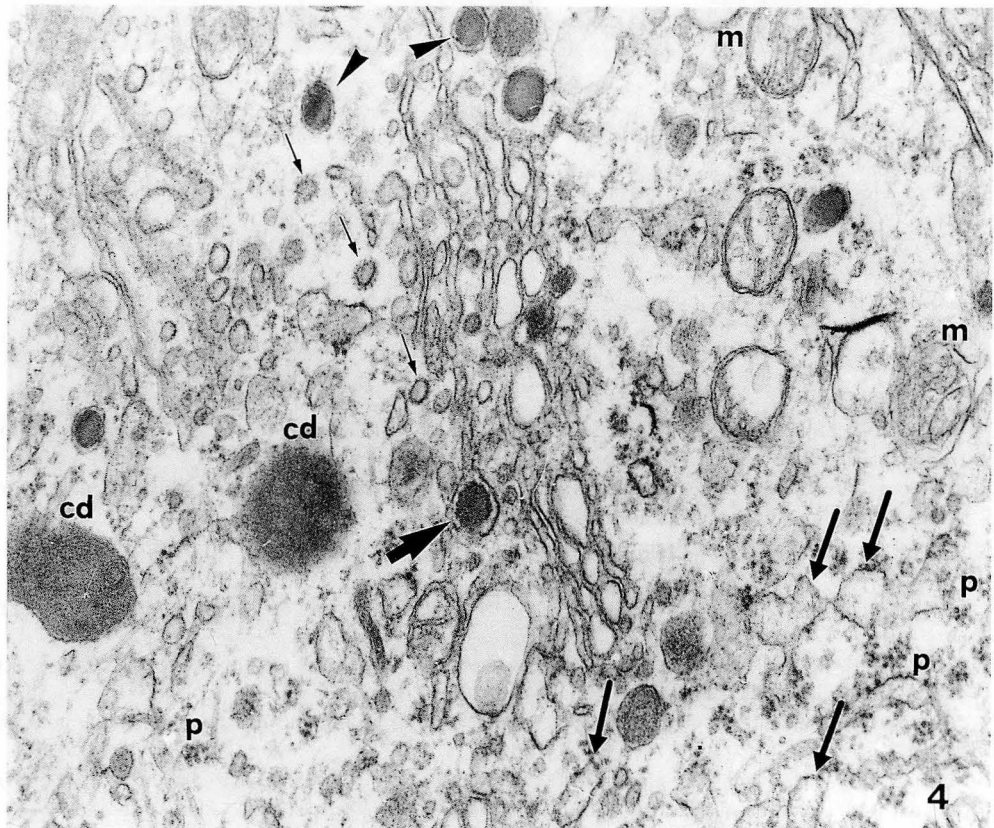
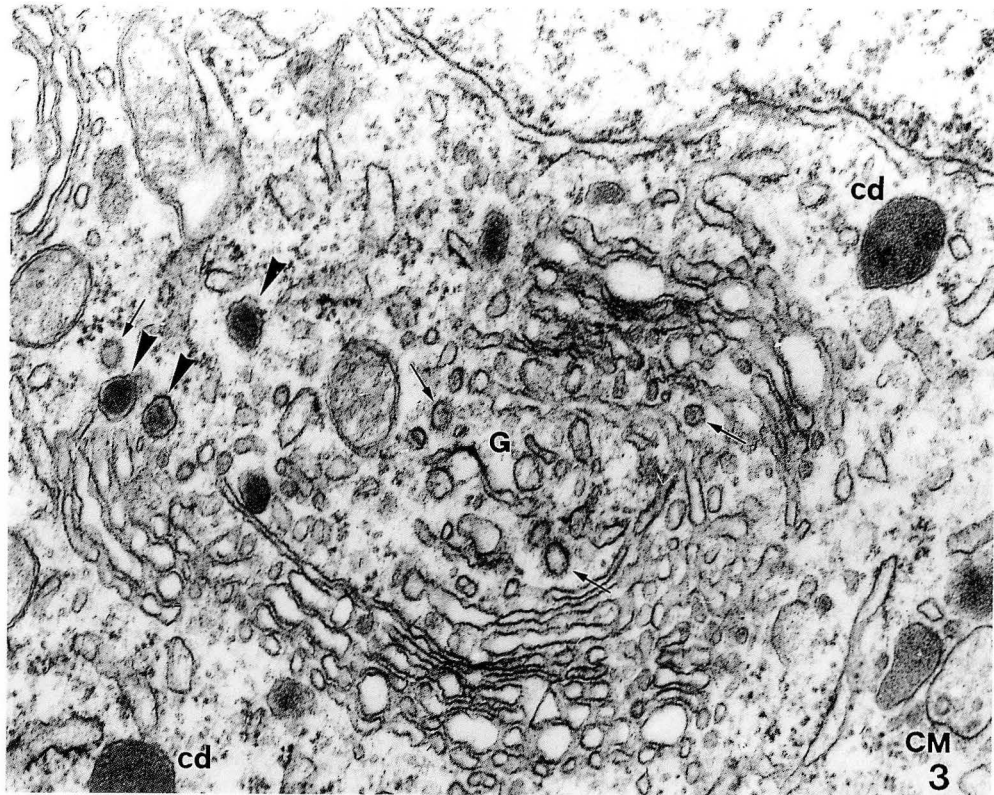
Junto a los hallazgos anteriores, la hibridación *in situ* ha permitido establecer los aumentos en la síntesis de VP y OT en estados hiperosmóticos (Meister y cols., 1990; Meeker y cols., 1991). También se ha demostrado la presencia de mRNA que codifica para OT en los axones del HNT (Jirikowski y cols., 1990), pudiendo ser transportado a través de los mismos.

Otro importante avance conseguido mediante hibridación ha sido la confirmación de hallazgos analíticos de *northern blot*. Así, se ha observado que la rata Brattleboro, cepa homocigótica con diabetes insípida hipotalámica hereditaria, expresa el gen codificador de VP (Uhl y cols., 1985; McCabe y cols., 1986), pudiéndose detectar el m-RNA, mientras que la inmunocitoquímica es incapaz de detectar la hormona; lo que demuestra que existe transcripción, pero no translación. La distribución hipotalámica de las neuronas que expresan el mRNA para VP en estos animales es idéntica a la observada mediante inmunocitoquímica para las neuronas VP de los animales normales (Coghlan y cols., 1984; Fuller y cols., 1985); sin embargo, la delección del gen codificador de AVP provoca modificaciones en la localización intraneuronal del mRNA (Guitteny y cols., 1989). La hibridación ha permitido estudiar dicho gen codificador y comprobar que se localiza en el cromosoma 20 (Bahnsen y cols., 1992). Recientemente, se ha comprobado que la inyección intrahipotalámica de mRNA de VP purificado en ratas Brattleboro, condujo a la captación selectiva, transporte retrógrado y expresión de VP exclusivamente en las neuronas magnocelulares, observando una reversión de su diabetes insípida hereditaria al cabo de unas horas post-inyección y hasta un máximo de 5 días (Jirikowski y cols., 1992).

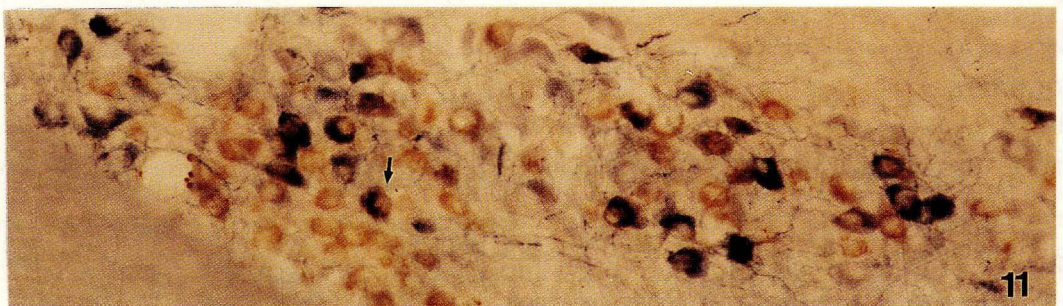
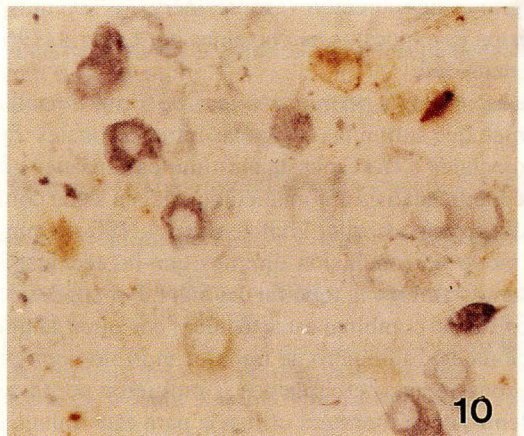
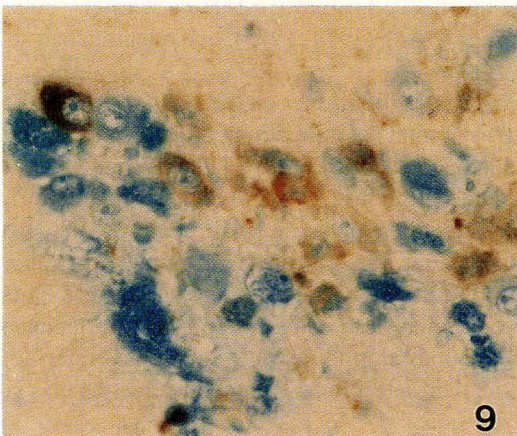
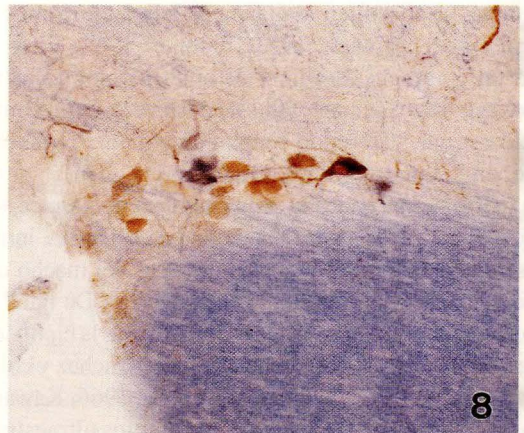
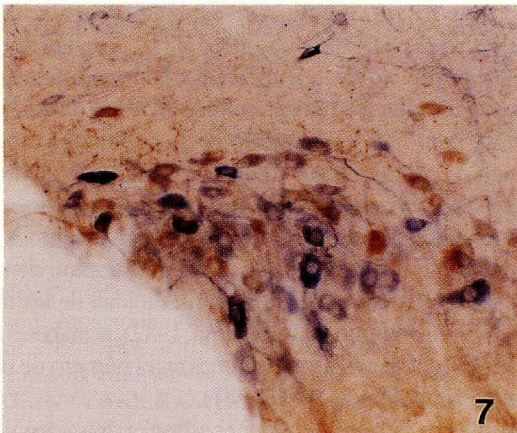
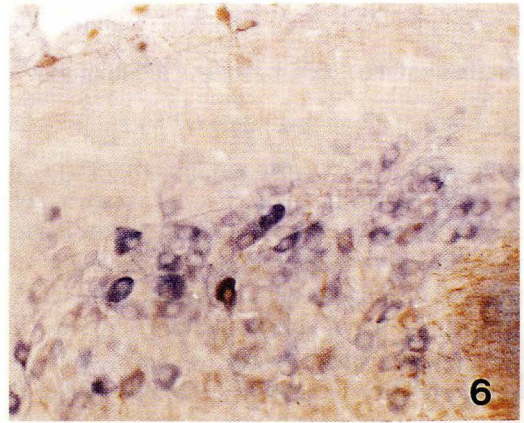
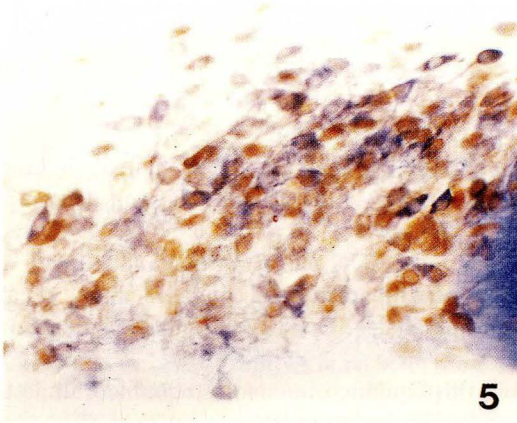
- FIGURA 1.** Ultramicrografía de una neurona del SON con características de célula normal. Muestra un núcleo grande (N), con escasa cromatina. Perinuclearmente y cerca de la membrana nuclear, se sitúan varios apilamientos golgianos que prácticamente rodean al núcleo (G); en algunas de las cisternas del aparato de Golgi se ve material denso (flechas pequeñas) y en sus proximidades hay algunos granos neurosecretorios recién formados (señalados con dos cabezas de flecha). El retículo endoplásmico rugoso se observa en forma de trayectos tubulares cortos (flechas largas) y se dispone, fundamentalmente, por fuera de los apilamientos golgianos. Por todo el citoplasma se ven mitocondrias (m), algunos cuerpos densos (cd) y polisomas (p). Una figura en omega es claramente visible en la membrana celular (flecha gruesa). (11.200x)
- FIGURA 2.** Detalle de una neurona del SON en la que se aprecia: a) un gran número de gránulos de secreción maduros localizados próximos al núcleo y periféricamente (asterisco); b) un retículo endoplásmico rugoso situado no periféricamente sino en situación intermedia, estando sus cisternas dilatadas (flechas largas); c) el aparato de Golgi (G) está en situación periférica. Se trata de una neurona correspondiente a un animal al que se le administró colchicina intraventricularmente. (11.200x)



- FIGURAS 3 Y 4.** Detalles del aparato de Golgi correspondientes a neuronas del SON. En la Fig. 3 se aprecian las cisternas dilatadas del mismo y gran cantidad de vesículas, algunas de las cuales son espiculadas (flechas finas). Se ven algunos gránulos de secreción recién formados (flechas gruesas), así como cuerpos densos (cd) y un cuerpo multivesicular (CM). (45.500x)
- En la Fig. 4 se ve en el extremo libre de una cisterna golgiana, una vesícula con material denso que, al desprenderse, forman un gránulo de secreción (flecha gruesa). Se ven gránulos de secreción recién formados (dos flechas gruesas), vesículas espiculadas (flechas finas), cuerpos densos (cd), retículo endoplásmico rugoso con cisternas dilatadas (flechas largas) y polisomas (p) algunas mitocondrias (m).(45.500x)



- FIGURA 5.** Neuronas del SON reactivas a NADPH-diaforasa (azul) mostrando, algunas de ellas, coexistencia con neuronas inmunorreactivas a calbindina. (100x)
- FIGURA 6.** Micrografía en la que se aprecian algunas neuronas del SON inmunorreactivas a calretinina (marrón) coexistiendo con neuronas reactivas a NADPH-diaforasa (azul). (100x)
- FIGURA 7.** Imagen que muestra la coexistencia entre neuronas vasopresinérgicas del SON (marrón) y neuronas reactivas a NADPH-diaforasa (azul). (100x)
- FIGURA 8.** Visión parcial del SON demostrando la coexistencia entre neuronas oxitocinérgicas (marrón) y NADPH-diaforasa (azul). (100x)
- FIGURA 9.** Micrografía del SON en la que se aprecia coexistencia entre algunas neuronas oxitocinérgicas (marrón) y vasopresinérgicas (azul) en una hembra durante la lactación. (400x)
- FIGURA 10.** Imagen que muestra neuronas del SON de un macho no tratado en las que es raro apreciar coexistencia entre vasopresina (azul) y oxitocina (marrón). (400x)
- FIGURA 11.** Detalle del SON (porción prequiasmática) de un animal no tratado, en el que se pueden ver neuronas reactivas a tiroxin-hidroxilasa (marrón) y neuronas con actividad diaforasa (azul). Alguna de ellas (flecha) muestra coexistencia de ambas reacciones. (200x)



Morfometría, estereología y análisis de imagen

Los métodos morfométricos y estereológicos, manuales, semiautomáticos o por análisis automático de imagen, han supuesto la validación cuantitativa, sobre todo cuando se han contrastado con determinaciones analíticas, de los cambios morfológicos que acontecen en el SON.

Aplicando sus principios generales al estudio morfológico del SON han permitido establecer y analizar, eliminando la subjetividad del investigador, los cambios de hipo e hiperactividad celular mediante el cálculo de las variaciones de número y tamaño: longitud, superficie o volumen del SON, sus neuronas, sus fibras o de cada una de las organelas intracelulares.

Por ello han sido y son ampliamente empleados en el estudio histoquímico, inmunohistoquímico, ultraestructural e incluso en la cuantificación de la expresión del mRNA en la hibridación *in situ*.

Aunque ya se habían realizado estudios morfométricos previos de las células neurosecretoras hipotalámicas (Hillarp, 1949; Ortmann, 1951; Eichner, 1952; Rinne, 1960; Ifft y Berkowitz, 1965), Bandaranayake (1974) efectuó un completo estudio morfométrico sobre las neuronas del SON, identificadas histoquímicamente, en distintos estados experimentales de deshidratación, con o sin rehidratación, en lactación o en relación con las fases del ciclo estrual, valorando fundamentalmente el número de neuronas y el tamaño de sus núcleos y nucleolos; comprobando que los cambios observados guardaban relación con los estados de hipo e hiperactividad celular.

La morfometría, aplicada con la inmunocitoquímica a nivel de microscopía óptica, ha servido para valorar el efecto de distintas sustancias sobre la actividad de neuronas, inmunocitoquímicamente tipificadas del SON, como la distinta respuesta de las neuronas vasopresinérgicas del macho con respecto a la hembra tras la administración de opioides (Blanco y cols., 1989; Sánchez y cols., 1991a). De igual manera se ha podido evaluar la plasticidad de las neuronas vasopresinérgicas y oxitocinérgicas del SON tras la hipofisectomía (Kawamoto y Kawashima, 1987), la diabetes insípida (Rhodes y cols., 1981) o la adrenalectomía (Sánchez y cols., 1989), así como las variaciones en el número de neuronas (Moll y De Wied, 1962; Kawashima y cols., 1966; Kawamoto y Kawashima, 1985, 1987).

La morfometría, empleada en los estudios ultraestructurales ha permitido conocer cómo el diámetro y tamaño de los granos de secreción vasopresinérgicos son mayores que los de los oxitocinérgicos (Castel y cols., 1986), datos éstos ya expuestos mucho antes por Lederis (1964) y por Krisch (1974, 1975), que relacionaban su tamaño con su densidad.

La estereología permite conocer, de forma cuantitativa, las modificaciones en densidad numérica, superficie y volumen que sufren las organelas intraneuronales relativas al total del volumen neuronal, en distintos estados experimentales o en respuesta a estímulos osmóticos o relacionados con el parto y la lactación.

Mediante análisis automático de imagen se ha comprobado cómo las proyecciones gliales inmunorreactivas a GFAP (proteína fibrilar glial ácida) del NSO disminuyen durante la lactación (Salm y cols., 1985).

A modo de conclusión diremos que las técnicas morfológicas han dado un gran impulso para conocer la estructura y también la función del SON. Por supuesto, como decíamos al principio, los hallazgos expuestos han sido posibles al combinar estas técnicas con otras de tipo bioquímico y/o fisiológico, pero sus aportaciones fueron excepcionales. El número de trabajos morfológicos es mucho más amplio del que aquí hemos referido; de ello somos conscientes, pero muchos se omitieron por la necesidad de seleccionar solamente aquellos más significativos dentro de la literatura utilizada para este trabajo de revisión.

BIBLIOGRAFÍA

- ADACHI, T.; HISANO, S. y DAIKOKU, S. (1985): Intragranular colocalization of immunoreactive methionine-enkephalin and oxytocin within the nerve terminals in the posterior pituitary. *J. Histochem. Cytochem.*, **33**: 891-899.
- ADAMS, C.W.M. y SLOPER, J.C. (1956): The hypothalamic elaboration of posterior pituitary principles in man, the rat and dog. Histochemical evidence derived from a performic acid-alcian-blue reaction for cystine. *J. Endocr.*, **13**: 221-228.
- ALONSO, J.R.; SÁNCHEZ, F.; ARÉVALO, R.; CARRETERO, J.; AIJÓN, J. y VÁZQUEZ, R. (1992a): CaBP D-28K and NADPH-diaphorase coexistence in the magnocellular neurosecretory nuclei. *Neuroreport*, **3**: 249-252.

- ALONSO, J.R.; SÁNCHEZ, F.; ARÉVALO, R.; CARRETERO, J.; VÁZQUEZ, R. y AIJÓN, J. (1992b): Partial coexistence of NADPH-diaphorase and somatostatin in the rat hypothalamic paraventricular nucleus. *Neurosci. Lett.*, **148**: 101-104.
- AMAT, P. (1955): Aspectos de la actividad genital en relación con la suprarrenal e hipófisis. Algunas expresiones morfológicas en las castración y embarazo. *An. anat.*, **4**: 279-308.
- AMAT, P. (1960): Aportaciones a la integridad funcional neuroendocrina durante la gestación (estudio experimental en la gata): *An. Anat.*, **9**: 475-529.
- AMBACH, G. y PALKOVITS, M. (1974): Blood supply of the rat hypothalamus. I. Nucleus supraopticus. *Acta Morphol. Acad. Sci. Hung.* **22**: 291-310.
- ANTUNES, J.L. y ZIMMERMAN, E.A. (1978): The hypothalamic magnocellular system of the Rhesus Monkey: An immunocytochemical study. *J. Comp. Neurol.*, **181**: 539-566.
- ARAI, H.; EMSON, P.C.; AGRAWAL, S.; CHRISTODOULOU, C. y GAIT, M.J. (1988): In situ hybridization histochemistry: localization of vasopressin mRNA in rat brain using a biotinylated oligonucleotide probe. *Mol. Brain Res.*, **4**: 63.
- ARÉVALO, R.; SÁNCHEZ, F.; ALONSO, J.R.; CARRETERO, J.; VÁZQUEZ, R. y AIJÓN, J. (1992): NADPH-diaphorase activity in the hypothalamic magnocellular neurosecretory nuclei of the rat. *Brain Res. Bull.*, **28**: 599-603.
- ARÉVALO, R.; SÁNCHEZ, F.; ALONSO, J.R.; RUBIO, M.; VÁZQUEZ, R. y AIJÓN, J. (1993a): NADPH-diaphorase and calretinin in the magnocellular neurosecretory nuclei of the rat hypothalamus. *J. Chem. Neuroanat.* (en prensa).
- ARÉVALO, R.; SÁNCHEZ, F.; ALONSO, J.R.; RUBIO, M.; AIJÓN, J. y VÁZQUEZ, R. (1993b): Calretinin immunoreactivity in the magnocellular neurosecretory nuclei of the hypothalamus. *Acta Histochemica* (en prensa).
- ARMSTRONG, W.E. y HATTON, G.I. (1980): The localization of projection neurons in the rat hypothalamic paraventricular nucleus following vascular and neurophysiological injections of HRP. *Brain Res. Bull.*, **5**: 473-477.
- ARMSTRONG, W.E.; SCHOLER, J. y MCNEILL, T.H. (1982): Immunocytochemical, Golgi and electron microscopic characterization of putative dendrites in the ventral glial lamina of the rat supraoptic nucleus. *Neuroscience*, **7**: 679-694.
- BAHNSEN, U.; OOSTING, P.; SWAAB, D.F.; NAHKE, P.; RICHTER, D. y SCHMALE, H. (1992): A missense mutation in the vasopressin-neurophysin precursor gene cosegregates with human autosomal dominant neurohypophyseal diabetes insipidus. *Embo J.*, **11**: 19-23.
- BALDINO, F.; O'KANE, T.M.; FITZPATRICK-McELLIGOT, S. y WOLFSON, B. (1988): Coordinate hormonal and synaptic regulation of vasopressin messenger RNA. *Science*, **241**: 978-981.
- BANDARANAYAKE, R.C. (1971): Morphology of the accessory neurosecretory nuclei and of the retrochiasmatic part of the supraoptic nucleus of the rat. *Acta Anat.*, **80**: 14-22.
- BANDARANAYAKE, R.C. (1974): Karyometric study of hypothalamic neurosecretory neurones under different conditions. *Acta Anat.*, **90**: 431-461.
- BARGMANN, W. (1949): Über die neurosekretorische Vernüpfung von Hypothalamus und Neurohypophyse. *Z. Zellforsch.*, **34**: 610-634.
- BARGMANN, W. (1951): Zwischenhirn und Neurohypophyse; eine neue Vorstellung über die funktionelle Bedeutung des Hinterlappens. *Med. Mschr. Stuttgart*, **5**: 466-470.
- BARGMANN, W. (1958): Elektronenmikroskopischen Untersuchungen an der Neurohypophyse. En: 2. Int. Symp. Neurosekretion, Lund. Springer, Berlin.
- BARGMANN, W. (1966): Neurosecretion. *Int. Rev. Cytol.*, **19**: 183-201.
- BARGMANN, W. y GAUDEKER, B. (1969): Über die Ultrastruktur neurosekretorischer Elementargranula. *Z. Zellforsch.*, **96**: 495-504.
- BARRY, J. (1957): Etude au microscope électronique de certains éléments de la voie neurosécrétoire hypothalamo-hypophysaire. *C.R. Soc. Biol. (Paris)*, **151**: 156-158.
- BERGERON, C.; KOVACS, K.; EZRIN, C. y MIZZEN, C. (1991): Hereditary diabetes insipidus: an immunohistochemical study of the hypothalamus and pituitary gland. *Acta Neuropathol.*, **81**: 345-348.
- BERK, M.L.; REAVES, T.A.; HAYWARD, J.N. y FINKELSTEIN, J.A. (1982): The localization of vasotocin and neurophysin neurons in the diencephalon of the pigeon *Columba livia*. *J. Comp. Neurol.*, **204**: 392-406.
- BERK, M.L. y FINKELSTEIN, J.A. (1981): Afferent projections to the preoptic area and hypothalamic regions in the rat brain. *Neuroscience*, **6**: 1601-1624.
- BILLESTEIN, D.C. y LEVEQUE, T.F. (1955): The reorganization of the neurohypophyseal stalk following hypophysectomy in the rat. *Endocrinology*, **56**: 704-717.
- BLANCO, E. (1986): Estructura del sistema hipotálamo-neurohipofisario tras la administración de opiáceos endógenos. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca.
- BLANCO, E.; CARRETERO, J.; SÁNCHEZ, F.; RIESCO, J.M. y VÁZQUEZ, R. (1989): Sex-specific effects of met-enkephalin treatment on vasopressin immunoreactivity in the rat supraoptic nucleus. *Neuropeptides*, **13**: 115-120.
- BLANCO, E.; CARRETERO, J.; RIESCO, J.M.; SÁNCHEZ, F.; JUANES, J.A. y VÁZQUEZ, R. (1990): Distribución topográfica de las neuronas oxitocinérgicas durante la gestación tardía y lactación en el cerebro de la rata. *An. Anat.*, **36**: 27-34.
- BLANCO, E.; PILGRIM, CH.; VÁZQUEZ, R. y JIRIKOWSKI, G.F. (1991): Plasticity of the interface between oxytocin neurons and the vasculature in late pregnant rats: an ultrastructural morphometric study. *Acta Histochem.*, **91**: 165-172.
- BLANCO, E.; CARRETERO, J.; RIESCO, J.M.; SÁNCHEZ, F.; JUANES, J.A. y VÁZQUEZ, R. (1992): Met-enkephalin induces fast synaptic plasticity of magnocellular neurons in the rat supraoptic nucleus. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, **24**: 35-42.

- BLÄSHER, S. (1982): Vasotocin and mesotocin system in birds. En: Farner, D.S., Lederis, K. (eds.). *Neurosecretion: Molecules, Cells, Systems*. Plenum, New York. pp: 71-77.
- BLEIER, R.; COHN, P. y SIGGELKOW, I.R. (1979): A cytoarchitectonic atlas of the hypothalamus and hypothalamic third ventricle of the rat. En: *Handbook of the Hypothalamus*. Vol. 1. *Anatomy of the Hypothalamus*. P.J. Morgane y J. Panksepp (eds.) Marcel Dekker, Inc. New York. pp: 137-220.
- BODIAN, D. (1939) Studies on the diencephalon of the virginia opossum. I. The Nuclear pattern in the adult. *J. Comp. Neurol.*, **71**: 259-323
- BODIAN, D. y MAREN, T.H. (1951): Effect of neuro and adenohipophysectomy on retrograde degeneration in the hypothalamic nuclei of the rat. *J. Comp. Neurol.*, **94**: 485-511.
- BONS, N. (1980): The topography of mesotocin and vasotocin systems in the brain of the domestic mallard and Japanese quail: immunocytochemical identification. *Cell Tissue Res.*, **213**: 37-51.
- BREDT, D.S.; HWANG, P.M.; GLATT, C.E.; LOWENSTEIN, C.; REED, R.R. y SNYDER, S.H. (1991): Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase. *Nature*, **351**: 714-718.
- BROADWELL, R.D.; OLIVER, C. y BRIGHTMAN, M.W. (1979): Localization of neurophysin within organelles associated with protein synthesis and packaging in the hypothalamo-neurohypophysial system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**: 5999-6003.
- BUGNON, C.; BAHJAQUI, M. y FELLMANN, D. (1991): A simple method for coupling in situ hybridization and immunocytochemistry: application to the study of peptidergic neurons. *J. Histochem. Cytochem.*, **39**: 859-862.
- BUIJS, R.M. y SWAAB, D.F. (1979): Immuno-electron microscopic demonstration of the vasopressin and oxytocin synapses in the limbic system of the rat. *Cell Tissue Res.*, **204**: 355-365.
- CALDWELL, J.D.; GREER, E.R.; JOHNSON, M.F.; PRANGE, A.J.Jr. y PEDERSEN, C.A. (1987): Oxytocin and vasopressin immunoreactivity in hypothalamic and extrahypothalamic sites in late pregnant and postpartum rats. *Neuroendocrinology*, **46**: 39-47.
- CALZA, L.; FUXE, K.; AGNATI, L.F.; ZINI, I.; GANTEN, D.; LANG, R.E.; POULSEN, K. y HÖKFELT, T. (1982): Presence of renin-like immunoreactivity in oxytocin immunoreactive nerve cells of the paraventricular and supraoptic nuclei in the rat hypothalamus. *Acta Physiol. Scand.*, **116**: 313.
- CAMMERMEYER, J. (1960): The post-mortem origin and mechanism of neuronal hyperchromatosis and nucleolar pyknosis. *Exp. Neurol.*, **2**: 379-405.
- CAMMERMEYER, J. (1962): An evaluation of the significance of the neurone. *Ergebn. Anat. Entwickl. Gesch.*, **36**: 1-161.
- CANNATA, M.A. y MORRIS, J.F. (1973): Changes in the appearance of hypothalamo-neurohypophysial neurosecretory granules associate with their maturation. *J. Endocrinol.*, **57**: 531-538.
- CARITHERS, J.; DELLMANN, H.D.; BEALER, S.L.; BRODY, M.J. y JOHNSON, A.K. (1981): Ultrastructural effects of anteroventral third ventricle lesions on supraoptic nuclei and neural lobes of rat. *Brain Res.*, **220**: 13-29.
- CARITHERS, J. y BEALER, S.L. (1985): The effects of transverse cuts caudal to the preoptic recess on the fine structure of paraventricular nuclei in rats. *Brain Res.*, **327**: 15-28.
- CARLSSON, A.; FALCK, B. y HILLARP, N.A. (1962): Cellular localization of brain monoamines. *Acta Physiol. Scand.*, **56** (suppl. 196): 1-27.
- Carvajal, J.C. (1982): Ultraestructura de las diversas partes de la Neurohipófisis tras la administración de bromocriptina (CB-154). Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca.
- CASTEL, M.; MORRIS, J.F.; WHITNALL, M.H. y SIVAN, N. (1986): Improved visualization of the immunoreactive hypothalamo-neurohypophysial system by use of immuno-gold techniques. *Cell Tissue Res.*, **243**: 193-204.
- CH'NG, J.L.C.; CHRITOFIDES, N.D.; ANAND, P.; GIBSON, S.J.; ALLEN, Y.S.; SU, H.C.; TATEMOTO, K.; MORRISON, J.F.B.; POLAK, J.M. y BLOOM, S.R. (1985): Distribution of galanin immunoreactivity in the central nervous system and the responses of galanin-containing neuronal pathways to injury. *Neuroscience*, **16**: 343-354.
- CHAPMAN, D.B.; THEODOSIS, D.T.; MONTAGNESE, C.; POULAIN, D.A. y MORRIS, J.F. (1986): Osmotic stimulation causes structural plasticity of neurone-glia relationships of the oxytocin- but not vasopressin-secreting neurones in the hypothalamic supraoptic nucleus. *Neuroscience*, **17**: 679-686.
- COGHLAN, J.P.; PENSCHOW, J.; HUDSON, P.J. y NIALL, H.D. (1984): Hybridization histochemistry: use of recombinant DNA for tissue localization of specific mRNA populations. *Clin. Exp. Hyperten.*, **6**: 63.
- COLLIN, R. y RACADOT, J. (1953): La chute du taux de la substance Gomori neurohypophysaire dans le postpartum chez le cobaye. *Ann. Endocrin. Paris*, **14**: 546-549.
- CONRAD, L.C.A.; LEONARD, C.M. y PFAFF, D.W. (1974): Connections of the median and dorsal raphe nuclei in the rat: an autoradiographic and degeneration study. *J. Comp. Neurol.*, **156**: 179-206.
- CRAIGIE, E.H. (1940): Measurements of vascularity in some hypothalamic nuclei of the albino rat. *Assn. Res. Nerv. Ment. Dis.*, **20**: 310-319.
- DE WIED, D. (1983): Central actions of neurohypophysial hormones. En: *The Neurohypophysis: Structure, Function and Control*. Prog. Brain Res., **60**: 155-167. Elsevier, Amsterdam.
- DELLMANN, H.D. (1973): Degeneration and regeneration of neurosecretory systems. *Int. Rev. Cytol.*, **36**: 215-315.
- DELLMANN, H.D. y RODRÍGUEZ, E.M. (1970a): Herring bodies, an electron microscopic study of local degeneration and regeneration of neurosecretory axons. *Z. Zellforsch.*, **111**: 293-315.

- DELLMANN, H.D. y RODRÍGUEZ, E.M. (1970b): Investigations of the hypothalamo-neurohypophysial neurosecretory system of the grass frog (*Rana pipiens*) after transection of the proximal neurohypophysis. III. Ultrastructure and hormone content of the distal stump. En: *Aspects of Neuroendocrinology*. W. Bargmann y B. Scharrer (eds), pp:124-139. Springer-Verlag, Berlin.
- DIERICKX, K. (1980): Immunocytochemical localization of the vertebrate cyclic nonapeptide neurohypophysial hormones and neurophysins. *Int. Rev. Cytol.*, **62**: 119-185.
- DIERICKX, K. y VANDESANDE, F. (1977): Immunocytochemical localization of the vasopressinergic and the oxytocinergic neurons in the human hypothalamus. *Cell Tissue Res.*, **184**: 15-27.
- DORIS, P.A. (1984): Vasopressin and central integrative processes. *Neuroendocrinology*, **38**: 75-85.
- DUNCAN, D. y ALEXANDER, R. (1961): An electron microscope study of the supraoptic nucleus of the rat. *Anat. Rec.*, **139**: 223.
- EICHNER, D. (1952): Über funktionelle Kernschwellung in den Nuclei supraoptici und paraventriculares des Hundes bei experimentellen Durstzuständen. *Z. Zellforsch.*, **37**: 406-414.
- ENESTRÖM, S. (1967): Nucleus supraopticus. A morphological and experimental study in the rat. *Acta Path. microbiol. Scand.*, **186**: 1-99.
- ENGELHARDT, Fr. (1961): Zur Morphologie des Hypophysenzwischenlappens im Experiment. 8 Symp. Dt. Ges. Endok. Springer-Verlag, p. 159.
- EZRIN, C. y MURRAY, S. (1963): The cells of the human adenohypophysis in pregnancy, thyroid disease and adrenal cortical disorders. En: *Cytologie de l'adenohypophyse*. J. Benoit y C. da Lage (eds.), pp. 183-199. C.N.R.S., París.
- FELTEN, D.L. y CASHNER, K.A. (1979): Cytoarchitecture of the supraoptic nucleus. A Golgi study. *Neuroendocrinology*, **29**: 221-230.
- FINLEY, H. (1939): The capillary beds of the paraventricular and supraoptic nuclei of the hypothalamus. *J. Comp. Neurol.*, **71**: 1-19.
- FINLEY, H. (1940): Angioarchitecture of the hypothalamus and its peculiarities. *Res. Publ. Ass. nerv. ment. Dis.*, **20**: 286-319.
- FISHER, C.; INGRAM, W.R.; HARE, W.K. y RANSON, S.W. (1935): The degeneration of the supraoptic-hypophysial system in diabetes insipidus. *Anat. Rec.*, **63**: 29-52.
- FISHER, A.W.F.; PRICE, P.G.; BURFORD, G.D. y LEDERIS, K. (1979): A 3-dimensional reconstruction of the hypothalamo-neurohypophysial system of the rat. The neurons projecting to the neuro/intermediate lobe and those containing vasopressin and somatostatin. *Cell Tissue Res.*, **204**: 343-354.
- FLAMENT-DURAND, J. (1967): Contribution à l'étude de la neurosécrétion chez le rat par la méthode autoradiographique. En: *Neurosecretion*, F. Stutinsky edit., pp. 60-76. Berlín, Springer Verlag.
- FLAMENT-DURAND, J. (1971): Ultrastructural aspects of the paraventricular nuclei in the rat. *Z. Zellforsch.*, **116**: 61-69.
- FUXE, K. (1965): Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system. IV. The distribution of monoamine terminals in the central nervous system. *Acta Physiol. Scand.*, **64** (suppl. 247): 37-85.
- FULLER, P.J.; CLEMENTS, J.A. y FUNDER, J.W. (1985): Localization of arginine vasopressin-neurophysin II messenger ribonucleic acid in the hypothalamus of control and Brattleboro rats by hybridization histochemistry with a synthetic pentadecamer oligonucleotide probe. *Endocrinology*, **116**: 2366-2368.
- GABÉ, M. (1953): Sur quelques applications de la coloration par la fuchsine-paraldehyde. *Bull. Micr. appl.*, **3**: 153-162.
- GAYMANN, W. y MARTIN, R. (1989): Immunoreactive galanin-like material in magnocellular hypothalamo-neurohypophysial neurons of the rat. *Cell Tissue Res.*, **255**: 139-147.
- GOMORI, G. (1941): Observations with differential stains on human islets of Langerhans. *Amer. J. Pathol.*, **17**: 395-406.
- GOODMAN, R.R.; SNYDER, S.H.; KUHAR, M.J. y YOUNG, W.S.III. (1980): Differentiation of delta and mu opiate receptor localizations by light microscopic autoradiography. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**: 6239-6243.
- GOSENS, N.; BLAHSERR, S.; OKSCHE, A.; VANDESANDE, F. y DIERICKX, K. (1977): Immunocytochemical investigation of the hypothalamo-neurohypophysial system in birds. *Cell Tissue Res.*, **184**: 1-13.
- GREEN, J.D. y MAXWELL, D.S. (1959): Comparative anatomy of the hypophysis and observations on the mechanism of neurosecretion. En: *Comparative Endocrinology*. A. Gorbman, edit, pp. 368-392. Wiley, New York.
- GREER, E.R.; CALDWELL, J.D.; JIRIKOWSKI, G.F.; STUMPF, W.E.; PRANGE, A.J.Jr. y PEDERSEN, C.A. (1986): Changes in oxytocin and vasopressin content and distribution in the brain across late pregnancy and early postpartum. *Soc. Neurosci. Abs.*, **12**: 298.
- GREGORY, W.A.; TWEEDLE, C.D. y HATTON, G.I. (1980): Ultrastructure of neurons in the paraventricular nucleus of normal, dehydrated and rehydrated rats. *Brain Res. Bull.*, **5**: 301-306.
- GREVING, R. (1926a): Beiträge zur Anatomie der Hypophyse und ihrer Funktion. I. Eine Faserverbindung zwischen Hypophyse und Zwischen-hirnbasis (Tr. supraoptico-hypophyseus): *Dtsch. Z. Nervenheilk.*, **89**: 179-195.
- GREVING, R. (1926b): Beiträge zur Anatomie der Hypophyse und deren Funktion. II. Das nervöse Regulationsystem des Hypophysenhinterlappens (Der Nucleus supraopticus und seine Fasersysteme). *Z. ges. Neurol. Psychiat.*, **104**: 466-479.
- GUITTENY, A.F.; BÖHLEN, P. y BLOCH, B. (1988a): Analysis of vasopressin gene expression by in situ hybridization and immunohistochemistry on semi-thin sections. *J. Histochem. Cytochem.*, **36**: 1373-1378.
- GUITTENY, A.F.; FOUQUE, B.; MOUGIN, C.; TEOULE, R. y BLOCH, B. (1988b): Histological detection of messenger RNAs with biotinylated synthetic oligonucleotide probes. *J. Histochem. Cytochem.*, **36**: 563-571.

- GUITTENY, A.-F.; FOUQUE, B.; TEOULE, R. y BLOCH, B. (1989): Vasopressin gene expression in the normal and Brattleboro rat: a histological analysis in semi-thin sections with biotinylated oligonucleotide probes. *J. Histochem. Cytochem.*, **37**: 1479-1487.
- GURDJIAN, E.S. (1927): The diencephalon of the albino rat. *J. Comp. Neurol.*, **43**: 1-114.
- HATTON, G.I. (1986): Plasticity in the hypothalamic magnocellular neurosecretory systems. *Fed. Proc.*, **45**: 2328-2333.
- HATTON, G.I.; JOHNSON, J.J. y MALATESTA, C.Z. (1972): Supraoptic nuclei of rodents adapted for mesic and seric environments: number of cells, multiple nucleoli and their distributions. *J. Comp. Neurol.*, **145**: 43-60.
- HELLER, H. (1959): Maturation of the hypothalamo-neurohypophysial system. *J. Physiol., Londres*, **147**: 299.
- HERRING, P.T. (1908): The histological appearance of the mammalian pituitary body. *Quart. J. exp. Physiol.*, **1**: 121-159.
- HILLARP, N.A. (1949): Cell reactions in the hypothalamus following overloading of the antidiuretic function. *Acta endocr. (Kbh.)* **2**: 33-43.
- HILD, W. (1951): Experimentell-morphologische Untersuchungen über das Verhalten der "Neurosekretorischen Bahn" nach Hypophysenstiel-durchschneidung, Eingriffen in den Wasserhaushalt und Belastung der Osmoregulation. *Virchows Arch. Path. Anat.*, **319**: 526-546.
- HOPE, B.T.; MICHAEL, G.J.; KNIGGE, K.M. y VINCENT, S.R. (1991): Neuronal NADPH diaphorase is a nitric oxide synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**: 2811-2814.
- HOU-YU, A.; LAMME, A.T.; ZIMMERMAN, E.A. y SILVERMAN, A.J. (1986): Comparative distribution of vasopressin and oxytocin neurons in the rat brain and spinal cord. *Neuroendocrinology*, **44**: 235-246.
- HUNT, S. y SCHMIDT, J. (1978): Some observations on the binding pattern of alfa-bungarotoxin in the central nervous system of the rat. *Brain Res.*, **157**: 213-232.
- IFFT, J.D. y BERKOWITZ, W. (1965): A comparison of selected morphological and chemical methods for measuring neuron activity in the supraoptic nucleus of dehydrated rats. *Anat. Rec.*, **152**: 231-234.
- JASINSKI, A.; GORBMAN, A. y HARA, T. (1967): Activation of the preoptic-hypophysial neurosecretory system through olfactory afferents in fishes. En: *Neurosecretion*. F. Stutinsky (ed.), pp. 106-123. Springer-Verlag, Berlín.
- JIRIKOWSKI, G.F.; RAMALHO-ORTIGAO, J.F. y SELIGER, H. (1988): In situ hybridization with complementary synthetic oligonucleotide and immunocytochemistry: a combination of methods to study transcription and secretion of oxytocin by hypothalamic neurons. *Mol. Cell. Probes*, **2**: 59-64.
- JIRIKOWSKI, G.F.; RAMALHO-ORTIGAO, J.F.; LINDL, T. y SELIGER, H. (1989): Immuno-cytochemistry of 5-bromo-2'-deoxyuridine labelled oligonucleotide probes. A novel technique for in situ hybridization. *Histochemistry*, **91**: 51-53.
- Jirikowski, G.F.; Sanna, P.P. y Bloom, F.E. (1990): mRNA coding for oxytocin is present in axons of the hypothalamo-neurohypophysial tract. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**: 7400-7404.
- JIRIKOWSKI, G.F.; SANNA, P.P.; MACIEJEWSKI-LENOIR, D. y BLOOM, F.E. (1992): Reversal of diabetes insipidus in Brattleboro rats: intrahypothalamic injection of vasopressin mRNA. *Science*, **255**: 996-998.
- JONES, B.E. y MOORE, R.Y. (1977): Ascending projections of the locus coeruleus of the rat. II. Autoradiographic study. *Brain Res.*, **127**: 23-53.
- KALIMO, H. (1971): Ultrastructural studies on the hypothalamic neurosecretory neurons of the rat. I. The paraventricular neurones of the non-treated rats. *Z. Zellforsch.*, **122**: 283-300.
- KAMEI, I. (1986): The role of oxytocin cells around the blood vessels in the rat hypothalamus: immunohistochemical study. *Acta Physiol. Scand.*, suppl. **552**: 25-28.
- KARY, C. (1924): Patologisch-anatomische und experimentelle Untersuchungen zur Frage des Diabetes insipidus und der Beziehungen zwischen Tuber cinereum und Hypophyse. *Virchows Arch. path. Anat.*, **252**: 734-747.
- KAWAMOTO, K. y KAWASHIMA, S. (1985): Changes of vasopressin- and oxytocin- immunoreactive neurons after hypophysectomy in young and old mice. *Exp. Gerontol.*, **20**: 295-304.
- KAWAMOTO, K. y KAWASHIMA, S. (1987): Regeneration of neurohypophysial hormone-producing neurons in hypophysectomized immature rats. *Brain Res.*, **422**: 106-117.
- KAWASHIMA, S.; HIRANO, T.; MATSUI, T. y TAKEWAKI, K. (1966): Neurosecretion and neurohypophysial hormones in the rat median eminence after total hypophysectomy, with reference to histological and fine structure of the region. *J. Fac. Sci., Univ. Tokyo, IV*, **11**: 11-28.
- KELLY, J. y SWANSON, L.W. (1980): Additional forebrain regions projecting to the posterior pituitary: Preoptic region, bed nucleus of the stria terminalis and zona incerta. *Brain Res.*, **197**: 1-9.
- KISS, J.Z. y MEZEY, E. (1986): Tyrosine hydroxylase in magnocellular neurosecretory neurons. Response to physiological manipulations. *Neuroendocrinology*, **43**: 519-525.
- KIYAMA, H. y EMSON, P.C. (1990): Evidence for the co-expression of oxytocin and vasopressin messenger ribonucleic acids in magnocellular neurosecretory cells: simultaneous demonstration of two neurophysin messenger ribonucleic acids by hybridization histochemistry. *J. Neuroendocrinol.*, **2**: 257-259.
- KLEIN, M.J.; PORTE, A. y STUTINSKY, F. (1969): Comparaison ultrastructurale des noyaux neurosécrétoires hypothalamiques chez le rat normal ou en état de surcharge osmotique. *Bull. Ass. Anat.*, **142**: 1066-1072.
- KNIGGE, K.M. y SCHOCK, D. (1992): Neurons in the rat CNS containing NADP-diaphorase are post-synaptic to CRF. *Neurosci. Res. Comm.*, **10**: 111-113.
- KOIZUMI, K.; ISHIKAWA, T. y BROOKS, C.M. (1964): Control of neurones in the supraoptic nucleus. *J. Neurophysiol.*, **27**: 878-892.

- KRIEG, W.J.S. (1932): The hypothalamus of the albino rat. *J. Comp. Neurol.*, **55**: 10-44.
- KRISCH, B. (1974): Different populations of granules and their distribution in the hypothalamo-neurohypophysial tract of the rat under various experimental conditions. I. Neurohypophysis, nucleus supraopticus and nucleus paraventricularis. *Cell Tissue Res.*, **151**: 117-140.
- KRISCH, B. (1975): Different populations of granules and their distribution in the hypothalamo-neurohypophysial tract of the rat under various experimental conditions. II. The median eminence. *Cell Tissue Res.*, **160**: 231-247.
- LA BELLA, F.S. (1968): Storage and secretion of neurohypophysial hormones. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **46**: 335-345.
- LEDERIS, K. (1964): Fine structure and hormone content of the hypothalamo-neurohypophysial system of the rainbow trout (*Salmo iridens*) exposed to sea water. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **4**: 638-661.
- LEDERIS, K. (1974): Neurosecretion and the functional structure of the neurohypophysis. En: *Handbook of Physiology*. SEc. 7: Endocrinology, vol. IV, Part 1. Knobil y Sawyer eds., pp. 81-102. American Physiological Society, Washington.
- LEFRANC, G. (1966): Etude neurohistologique des noyaux supraoptique et paraventriculaire chez le chat par la technique de triple imprégnation de Golgi. *C.R. Acad. Sci.*, **263**: 976-979.
- LENHOSSEK, M. (1887): Beobachtungen am Gehirn des Menschen. *Anat. Anz.*, **2**: 450-461.
- LEONTOVICH, T. (1969/1970): The neurons of the magnocellular neurosecretory system of the dog's hypothalamus. A Golgi study. *J. Hirnforsch.*, **11**: 499-517.
- LÉRÁNT, C.S.; ZÁBORSZKY, L.; MARTON, J. y PALKOVITS, M. (1975) Quantitative studies on the supraoptic nucleus in the rat. I. Synaptic organization. *Exp. Brain Res.*, **22**: 509-523.
- LEVEQUE, Th.F. (1953): Changes in the neurosecretory cells of the rat hypophysis following ingestion of sodium chloride. *Anat. Rec.*, **117**: 741-758.
- LEWY, F.H. (1924): Infundibuläre Veränderungen beim Diabetes insipidus und die Beziehungen zwischen Tuber cinereum und Hypophyse. *Zbl. ges. Neurol. Psychiat.*, **37**: 398-400.
- LI, Y.W.; HALLIDAY, G.M.; JOH, T.H.; GEFFEN, L.B. y BLESSING, W.W. (1988): Tyrosine hydroxylase-containing neurons in the supraoptic and paraventricular nuclei of the adult human. *Brain Res.*, **461**: 75-86.
- LINDVALL, O. y BJÖRKLUND, A. (1974): The organization of the ascending catecholamine neuron systems in the rat brain as revealed by the glycolic acid fluorescence method. *Acta Physiol. Scand.*, suppl. **412**: 1-48.
- LIVINGSTON, A. (1971): Subcellular aspects of storage and release of neurohypophysial hormones. *J. Endocrinol.*, **49**: 357-372.
- LOO, Y.T. (1931): The forebrain of the opossum, *Didelphis virginiana*. *J. Comp. Neurol.*, **52**: 1-149.
- LUQUI, J.J. y FOX, C.A. (1976): The supraoptic nucleus and the supraopticohypophysial tract in the monkey (*macaca mulatta*). *J. Comp. Neurol.*, **168**: 7-40.
- MAIMAN, R.M. (1930): Über die zentren der Hypophysis cerebri. *Z. ges. Neurol. Psychiat.*, **129**: 666-678.
- MALANDRA, B. (1956): Beobachtungen am neurosekretorischem Zwischenhirn-system der normalen, trächtigen und laktierenden Ratte. *Z. Zellforsch.*, **43**: 594-610.
- MCCABE, J.J.; MORRELL, J.I. y PFAFF, D.W. (1986): In situ hybridization to brain peptide m-RNAs. En: *In situ hybridization in brain*. Uhl G.R. (ed.), pp. 73-95. Plenum Pres, New York.
- MEEKER, R.B.; GREENWOOD, R.S. y HAYWARD, J.N. (1991): Vasopressin mRNA expression in individual magnocellular neuroendocrine cells of the supraoptic and paraventricular nucleus in response to water deprivation. *Neuroendocrinology*, **54**: 236-247.
- MEISTER, B.; VILLAR, M.J.; CECCATELLI, S. y HOKFELT, T. (1990): Localization of chemical messengers in magnocellular neurons of the hypothalamic supraoptic and paraventricular nuclei: an immunohistochemical study using experimental manipulations. *Neuroscience*, **37**: 603-633.
- MEYNERT, T. (1869): Vom Gehirne der Säugetiere. En: *Handbuch der Lehre von den Geweben des Menschen und der Tiere*. Bd. II. Strickers (ed.), pp. 694-808. Wilhelm Engelmann, Leipzig.
- MEZEY, E. y KISS, J.Z. (1991): Coexpression of vasopressin and oxytocin in hypothalamic supraoptic neurons of lactating rats. *Endocrinology*, **129**: 1814-1820.
- MISELIS, R.R. (1981): The efferents projection of the subfornical organ of the rat: a circumventricular organ within a neural network subserving water balance. *Brain Res.*, **230**: 1-23.
- MISELIS, R.R.; SHAPIRO, R.E. y HAND, P.J. (1979): Subfornical organ efferents to neural systems for control of body water. *Science*, **205**: 1022-1025.
- MOLL, J. y DE WIED, D. (1962): Observations on the hypothalamoposthypophysial system of the posterior lobectomized rat. *Gen. Comp. Endocr.*, **2**: 215-228.
- MORRIS, J.F. (1976): Distribution of neurosecretory granules among the anatomical compartments of the neurosecretory process of the pituitary gland. *J. Endocr.*, **68**: 225.
- MORRIS, J.F. y CANNATA, M.A. (1973): Ultrastructural preservation of the dense core of posterior pituitary neurosecretory granules and its implications for hormone release. *J. Endocrinol.*, **57**: 517-529.
- MORRIS, J.F.; NORDMANN, J.J. y DYBALL, R.E.J. (1977): Structure function correlation in mammalian neurosecretion. *Int. Rev. Exp. Pathol.*, **18**: 1-95.
- MORRIS, J.F. y NORDMANN, J.J. (1979): Lysosomal control in neurosecretion: the roles of cellular compartmentation and granule age. *Biol. Cell.*, **36**: 193-200.
- MURAKAMI, M. (1964): Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Nucleus praeropticus der Krote (*Bufo vulgaris formosus*). *Z. Zellforsch.*, **63**: 208-255.

- NEMESTCHER-GANSLER, H. (1965): Zur Ultrastruktur der Hypophysen Zwischenhirnsystem der Ratte. *Z. Zellforsch.*, **67**: 844-862.
- NOJIRI, H.; SATO, M. y URANO, A. (1985): In situ hybridization of the vasopressin mRNA in the rat hypothalamus by use of a synthetic oligonucleotide probe. *Neurosci. Lett.*, **58**: 101.
- NORDMANN, J.J. y MORRIS, J.F. (1984): Method for quantitating the molecular content of a subcellular organelle: Hormone and neurophysin content of newly formed and aged neurosecretory granules. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**: 180-184.
- NORDMANN, J.J.; LOUIS, F. y MORRIS, J.F. (1979): Purification of two structurally and morphologically distinct populations of rat neurohypophysial secretory granules. *Neuroscience*, **4**: 1367-1379.
- NORSTRÖM, A.; HANSSON, H.A. y SJÖSTRAND, J. (1971): Effects of colchicine on axonal transport and ultrastructure of the hypothalamo-neurohypophyseal system of the rat. *Z. Zellforsch.*, **113**: 271-293.
- ORKAND, P.M. y PALAY, S.L. (1967): Effects of treatment with exogenous vasopressin on the structural alterations in the hypothalamo-neurohypophysial system of rats with hereditary diabetes insipidus. *Anat. Rec.*, **157**: 295 (abstract).
- ORTMANN, R. (1950): Morphologisch experimentelle Untersuchungen über das Diencephal hypophysäre System im Verhältniss zum Wasserhaushalt. *Klin. Wochenschr.*, **28**: 449.
- ORTMANN, R. (1951): Über experimentelle Veränderungen der Morphologie des hypophysen Zwischenhirnsystem und die Beziehung der sog. Gomorisubstanz zur Adiuretin. *Z. Zellforsch.*, **36**: 92-140.
- PALACIOS, J.M. y KUCHAR, M.J. (1980): Beta-adrenergic-receptor localization by light microscopic autoradiography. *Science*, **208**: 1378-1380.
- PALACIOS, J.M.; WAMSLEY, J.K. y KUCHAR, M.J. (1981): The distribution of histamine H1-receptors in the rat brain: An autoradiographic study. *Neuroscience*, **6**: 15-37.
- PALAY, S.L. (1955): An electron microscope study of the neurohypophysis in normal hydrated and dehydrated rats. *Anat. Rec.*, **121**: 348.
- PALKOVITS, M.; ZABORSKY, L.; FEMINGER, A.; HERMAN, J.P.; HANYCKSA, B. y SZABO, D. (1980a): Noradrenergic innervation of the rat hypothalamus. Experimental, biochemical and electron microscopic studies. *Brain Res.*, **191**: 161-171.
- PALKOVITS, M.; ZÁBORSZKY, L.; FEMINGER, A.; HERMAN, J.P.; KANYICKSA, B. y SZABO, D. (1980b): Noradrenergic innervation of the rat hypothalamus: Experimental, biochemical and electron microscopic studies. *Brain Res.*, **191**: 161-171.
- PALMER, R.M.J.; FERRIGE, A.G. y MONCADA, S. (1987): Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived releasing factor. *Nature*, **327**: 524-526.
- PARISH, D.C.; RODRÍGUEZ, E.M.; BIRKETT, S.D. y PICKERING, B.T. (1981): Effects of small doses of colchicine on the components of the hypothalamo-neurohypophysial system of the rat. *Cell Tissue Res.*, **220**: 809-827.
- PERLMUTTER, L.S.; TWEEDLE, C.D. y HATTON, G.I. (1984): Neuronal/glial plasticity in the supraoptic dendritic zone: dendritic bundling and double synapse formation at parturition. *Neuroscience*, **13**: 769-779.
- PETERSON, R.P. (1966): Magnocellular neurosecretory centers in the rat hypothalamus. *J. Comp. Neurol.*, **128**: 181-190.
- PICARD, D. y STAHL, A. (1966): La cellule neurosécrétrice chez les vertébrés. *Bull. Assoc. Anat.*, **51**: 1-75.
- PICARD, D. y COTTE, G. (1970): Ultrastructure de l'appareil de Golgi dans la cellule neurosécrétrice du noyau supraoptique du rat. *C.R. Seances S.B. (Abstr.)*, **164**: 584-587.
- PICKERING, B.T., JONES, C.W. y BURFORD, G.D. (1971): Biosynthesis and intraneuronal transport of neurosecretory products in the hypothalamo-neurohypophysial system. En: neurohypophysial hormones Ciba Found. Study Group N° 39. Wolstenhome y Birch (eds.), pp: 58-59. Churchill-Livingstone, Edimburgo.
- PILGRIM, Ch. (1969): Morphologische und funktionelle Untersuchungen zur Neurosekretbildung. Enzimhistochemische, autoradiographische und elektronenmikroskopische Beobachtungem am Ratten unter osmotischer Belastung. *Ergebn. Anat. Entwickl. gesch.*, **41**: 1-79.
- POLENOV, A.L. y GARLOV, P.E. (1971): The hypothalamo-hypophysial system in Acipenseridae. I. Ultrastructural organization of large neurosecretory terminals (Herring bodies) and axoventricular contacts. *Z. Zellforsch.*, **116**: 349-374.
- POLZ-TEJERA, G.; SCHMIDT, J. y KARTEN, H.J. (1975): Autoradiographic localization of alfa-bungarotoxin-binding sites in the central nervous system. *Nature*, **258**: 349-351.
- RACADOT, J. (1957): Neurosécrétion et activité thyroïdienne chez la chatte au cours de la gestation et de l'allaitement. *Ann. Endocr. (Paris)*, **18**: 628-634.
- RAMÓN Y CAJAL, S. (1894): Algunas contribuciones al conocimiento de los ganglios del cerebro. III. Hipófisis. *An. Soc. Esp. Hist. Nat.*, 2 ser., **23**: 195-237.
- RAMÓN Y CAJAL, S. (1911): *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés*. Vol., 2. Maloine, Paris. (Reedición del C.S.I.C. Instituto Cajal, Madrid, 1955).
- RAY, P. y CHOUDHURY, S.R. (1990): Vasopressinergic neurons and the associated blood vessels in the rat anterior hypothalamus: an immunohistochemical study. *Histol. Histopath.*, **5**: 73-82.
- REAVES, T.A. y HAYWARD, J.N. (1979): Immunocytochemical identification of enkephalinergic neurons in the hypothalamic magnocellular preoptic nucleus of the goldfish, *Carassius auratus*. *Cell Tissue Res.*, **200**: 147-151.
- REINHARDT, H.F.; HENNING, L.C.H. y ROHR, H.P. (1969): Morphometrisch-ultrastrukturelle Untersuchungen am Hypophysenhinterlappen der Ratte nach Dehydration. *Z. Zellforsch.*, **102**: 182-192.

- RENNELS, E.G. (1958): Effects of lactation on the neurohypophysis of the rat. *Texas Rep. Biol. Med.*, **16**:219-231.
- RHODES, C.H.; MORRELL, J.I. y PFAFF, D.W. (1981): Immunohistochemical analysis of magnocellular elements in rat hypothalamus: distribution and numbers of cells containing neurophysin, oxytocin and vasopressin. *J. Comp. Neurol.*, **198**: 45-64.
- RINNE, U.K. (1960): Neurosecretory material around the neurohypophyseal portal vessels in the median eminence of the rat. *Acta Endocrinol.*, **57**: 1-108.
- RIOCH, D.M. (1929): Studies on the diencephalon of carnivora. Part I. The nuclear configuration of the thalamus, epithalamus and hypothalamus of the dog and cat. *J. Comp. Neurol.*, **49**: 1-120.
- ROBERTS, M.M.; ROBINSON, A.G.; FITZSIMMONS, M.D.; GRANT, F.; LEE, W.S. y HOFFMAN, G.E. (1993): c-fos Expression in vasopressin and oxytocin neurons reveals functional heterogeneity within magnocellular neurons. *Neuroendocrinology*, **57**: 388-400.
- ROKAEUS, A.; MELANDER, T.; HOKFELT, T.; LUNDBERG, J.M.; TATEMOTO, K.; CARQUIST, M. y MUTT, V. (1984): A galanin-like peptide in the central nervous system and intestine of the rat. *Neurosci. Lett.*, **47**: 161-166.
- ROTTER, A.; BIRDSALL, N.J.M.; BURGÉN, A.S.V.; FIELD, P.M.; HULME, E. C. y RAISMAN, G. (1979): Muscarinic receptors in central nervous system of the rat. I. Technique for autoradiographic localization of the binding of (3H)propylbenzilyl-choline mustard and its distribution in the forebrain. *Brain Res. Rev.*, **1**: 141-165.
- ROUX, M. (1968): Etude histoautoradiographique du lobe nerveux de l'hypophyse, après injection d'acides aminés marqués chez la sauris albinos. Comunicación al Congreso de Anatomistas de Lengua Francesa. Tours.
- SACHS, H. y TAKABATAKE, Y. (1964): Evidence for a precursor in vasopressin biosynthesis. *Endocrinology*, **75**: 943-948.
- SAKUMOTO, T.; TOHYAMA, M.; SATOH, K.; KIMOTO, Y.; KINUGASA, T.; TANIZAWA, O.; KURACHI, K. y SHIMIZU, N. (1978): Afferent fiber connections from lower brain stem to hypothalamus studied by the horseradish peroxidase method with special reference to noradrenaline innervation. *Exp. Brain Res.*, **31**: 81-94.
- SALM, A.K.; SMITHSON, K.G. y HATTON, G.I. (1985): Lactation-associated redistribution of the glial fibrillary acidic protein within the supraoptic nucleus. An immunocytochemical study. *Cell Tissue Res.*, **242**:9-15.
- SÁNCHEZ, F.; CARRETERO, J.; SÁNCHEZ-FRANCO, F.; JUANES, J.A.; BLANCO, E. y VÁZQUEZ, R. (1989): Immunocytochemical visualization of the vasopressin reactive fibres related to the rat paraventricular and supraoptic nuclei and the median eminence following adrenalectomy and treatment with colchicine. *Quad. Anat. Pract.*, vol. XLV, **1-4**: 25-34.
- SÁNCHEZ, F.; CARRETERO, J.; RIESCO, J.M.; JUANES, J.A.; BLANCO, E.; GIL, J. y VÁZQUEZ, R. (1991a): Efecto de la administración crónica y sistémica de met-enkefalina sobre las neuronas productoras de vasopresina del núcleo supraóptico del hipotálamo de rata. Un estudio inmunocitoquímico-morfométrico. *An. Anat.*, **37**: 221-226.
- SÁNCHEZ, F.; PANZICA, G.C.; VIGLIETTI-PANZICA, C.; ASTE, N.; CARRETERO, J. y VÁZQUEZ, R. (1991b): A comparative analysis of the vasotocin and vasopressin systems in the chicken and rat hypothalamus. An immunocytochemical study. *J. Hirnforsch.*, **32**: 27-37.
- SÁNCHEZ, F.; ALONSO, J.R.; ARÉVALO, R.; CARRETERO, J.; VÁZQUEZ, R. y AIJÓN, J. (1992): Calbindin D-28K- and parvalbumin-reacting neurons in the hypothalamic magnocellular neurosecretory nuclei of the rat. *Brain Res. Bull.*, **28**: 39-46.
- SÁNCHEZ, F.; ALONSO, J.R.; ARÉVALO, R.; BLANCO, E.; AIJÓN, J. y VÁZQUEZ, R. (1993): Coexistence of NADPH-diaphorase with vasopressin and oxytocin in the hypothalamic magnocellular neurosecretory nuclei of the rat. *Cell Tissue Res.* (en prensa).
- SARRAT, R. (1967): Modificaciones de la pars intermedia y posterior de la hipófisis producidas por el hambre y la sed. *An. Anat.*, **16**: 59-98.
- SAWCHENKO, P.E. y SWANSON, L.W. (1980): Immunohistochemical identification of paraventricular hypothalamic neurons which project to the medulla or spinal cord in the rat. *Soc. Neurosci. Abstr.*, **6**: 520.
- SAWCHENKO, P.E. y SWANSON, L.W. (1981): The distribution and cells of origin of some afferents projections to the paraventricular and supraoptic nuclei in the rat. *Soc. Neurosci. Abstr.*, **7**: 325.
- SAWCHENKO, P.E. y SWANSON, L.W. (1982): Immunohistochemical identification of neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus that project to the medulla or the spinal cord in the rat. *J. Comp. Neurol.*, **205**: 260-272.
- SAWCHENKO, P.E.; SWANSON, L.W. y JOSEPH, S.A. (1982): The distribution and cells of origin of ACTH (1-39)-stained varicosities in the paraventricular and supraoptic nuclei. *Brain Res.*, **232**: 365-374.
- SCHARRER, E. (1928): Untersuchungen über das Zwischenhirn der Fische. I. *Zeitschr. vergl. Physiol.*, Bd. **7**, S.1-38.
- SCHARRER, E. (1930) Untersuchungen über das Zwischenhirn der Fische. II. *Zeitschr. vergl. Physiol.*, Bd. **11**, S.767-773.
- SCHARRER, E. (1932): Secretory cells in the midbrain of the european minnow (*phoxinus laevis* L.). *J.Comp.Neurol.*, **55**:573-576.
- SCHARRER, E. (1933) Die Erklärung der Scheinbar pathologischen Zellbinder im Nucleus supraopticus und Nucleus paraventricularis. *Z. Ges. Neurol. Psychiat.*, **145**: 462-470.
- SCHARRER, E. (1936) Vergleichende Untersuchungen über die Zentralen Anteile des Vegetativen Systems. *Z. Anat. Entwickl. Gesch.*, **106**:169-192.
- SCHARRER, E. y SCHARRER, B. (1954): Hormones produced by neurosecretory cells. *Recent. Prog. Hormone Res.*, **10**: 183-240.
- SCOTT, D.E. (1969): Ultrastructural changes in the neural lobe of the hypophysis of the kangaroo rat (*Dipodomys merriani*) following intraperitoneal injection of hypertonic sodium chloride. *Neuroendocrinology.*, **4**:347-367.

- SEGAL, M.; DUDAI, Y. y AMSTERDAM, A. (1978): Distribution of an alfa-bungarotoxin binding cholinergic nicotinic receptor in rat brain. *Brain Res.*, **148**: 105-119.
- SHERLOCK, D.A.; FIELD, P.M. y RAISMAN, G. (1975): Retrograde transport of horseradish peroxidase in the magnocellular neurosecretory system of the rat. *Brain Res.*, **88**: 403-414.
- SILVER, J. y BILLAR, R.B. (1976): An autoradiographic analysis of (3H) alfa-bungarotoxin distribution in the rat brain after interventricular injection. *J. Cell Biol.*, **71**: 956-963.
- SILVERMAN, A.L.; HOFFMAN, D.L. y ZIMMERMAN, E.A. (1981): The descending afferent connections of the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Brain Res. Bull.*, **6**: 47-61.
- SILVERMAN, A.J. y ZIMMERMAN, E.A. (1983): Magnocellular neurosecretory system. *Ann. Rev. Neurosci.*, **6**: 357-380.
- SLADEK, C.D. y ARMSTROG, W.E. (1985): Osmotic control of vasopressin release. *Trends Neurosci.*, **8**: 166-169.
- SLOPER, J.C. (1955): The application of nerve histochemical and isotope technique for the localization of protein-bond cysteine for the study of hypothalamic neurosecretion in normal and pathological conditions. *Internationales Symposium über Neurosekretion*, **2**: 20.
- SLOPER, J.C. (1972): The validity of current concepts of hypothalamo-neurohypophyseal neurosecretion. En: *Progress in Brain Research*. Vol. 38. Topics in Neuroendocrinology. J. Ariens Kappers y J.D. Schade (Eds.). pp. 123-143. Elsevier, Amsterdam.
- SOFRONIEW, M.V. (1985): Vasopressin, oxytocin and their related neurophysins. En: *Handbook of chemical Neuroanatomy*, 4 (I). Björklund, A. y Hökfelt, T. (eds.). pp. 93-165. Elsevier, Amsterdam.
- SOFRONIEW, M.V.; WEINDL, A.; SCHINKO, I. y WETZSTEIN, R. (1979): The distribution of vasopressin-, oxytocin- and neurophysin-producing neurons in the guinea pig brain. I. The classical hypothalamo-neurohypophyseal system. *Cell Tissue Res.*, **196**: 367-384.
- SPEIDEL, C.C. (1919) Gland cells of internal secretion in the spinal cord of skates. Department of Marine Biol., Carnegie Inst. Washington, Publ. **281**, pp. 1-31.
- SPEIDEL, C.C. (1922) Further comparative studies in other fishes of cells that are homologous to the large irregular glandular cells in the spinal cord of the skates. *J. Comp. Neurol.*, **34**: 303-317.
- STOLL, C.J. y VOORN, P. (1985): The distribution of hypothalamic and extrahypothalamic vasotocinergic cells and fibers in the brain of a lizard, *Gekko gekko*: presence of a sex difference. *J. Comp. Neurol.*, **239**: 193-204.
- STUTINSKY, F. (1951): La neurohypophyse du rat au cours de la gestation. *C.R. Ass. Anat.*, **36**: 92-140.
- STUTINSKY, F. (1952): Sur l'origine diencephalique des hormones dites posthypophysaires. *C.H. Soc. Biol.*, **146**: 1691.
- STUTINSKY, F. (1953): La neurosecretion au cours de la gestation et le post-partum chez la rate. *Ann. Endocrinol.*, **14**: 722-731.
- STUTINSKY, F.S. (1970): Hypothalamic Neurosecretion. En: *The Hypothalamus*. Ed. Martini, L., Motta, M. y Fraschini, F. pp: 45-67. Academic Press. New York.
- SWANSON, L.W. y HARTMAN, B.K. (1980): Biochemical specificity in central pathways related to peripheral and intracerebral homeostatic functions. *Neurosci. Lett.*, **16**: 55-60.
- SWANSON, L.W. y SAWCHENKO, P.E. (1983): Hypothalamic integration: Organization of the paraventricular and supraoptic nuclei. *Ann. Rev. Neurosci.*, **6**: 269-324.
- SUAREZ, I.; BODEGA, G.; RUBIO, M. y FERNÁNDEZ, B. (1991): Sexual dimorphism in the distribution of glial fibrillary acidic protein in supraoptic nucleus of the hamster. *J. Anat.*, **178**: 79-82.
- TAKAGI, H.; SHIOSAKA, S.; TOHYAMA, M.; SENBA, E. y SAKONAKA, M. (1980): Ascending components of the medial forebrain bundle from the lower brain stem in the rat, with special reference to raphe and catecholamine cell groups. A study by the HRP method. *Brain Res.*, **193**: 315-337.
- TENNYSON, V.M.; HOU-YU, A.; NILAVER, G.; ZIMMERMAN, E.A. (1985): Immunocytochemical studies of vasotocin and mesotocin in the hypothalamo-hypophysial system of the chicken. *Cell Tissue Res.*, **239**: 279-291.
- TERRIER, CH.; CHABOT, J.G.; PAUTRAT, G.; JEANDEL, L.; GRAY, D.; LUTZ-BUCHER, B.; ZINGG, H.H. Y MOREL, G. (1991): Arginine-vasopressin in anterior pituitary cells: In situ hybridization of mRNA and ultrastructural localization of immunoreactivity. *Neuroendocrinology*, **54**: 303-311.
- THEODOSIS, D.T. (1985): Oxytocin-immunoreactive terminals synapse on oxytocin neurones in the supraoptic nucleus. *Nature*, **313**: 682-683
- Theodosis, D.T. y POULAIN, D.A. (1987): Oxytocin-secreting neurones: a physiological model for structural plasticity in the adult mammalian brain. *Trends Neurosci.*, **10**: 426-430.
- THEODOSIS, D.T.; CHAPMAN, D.B.; MONTAGNESE, C.; POULAIN, D.A. y MORRIS, J.F. (1986a): Structural plasticity in the hypothalamic supraoptic nucleus at lactation affects oxytocin-, but not vasopressin secreting neurones. *Neuroscience*, **17**: 661-678.
- THEODOSIS, D.T.; MONTAGNESE, C.; RODRÍGUEZ, F.; VINCENT, J.D. y POULAIN, D.A. (1986b): Oxytocin induces morphological plasticity in the adult hypothalamo-neurohypophysial system. *Nature*, **322**: 738-740.
- THEODOSIS, D.T.; POULAIN, D.A.; MONTAGNESE, C. y VINCENT, J.D. (1988): Neuronal-glial and synaptic plasticity in the adult oxytocinergic system. En: *Neurosecretion: Cellular aspects of the production and release of neuropeptides*. Pickering, B.T.; Wakerley, J.B. y Summerlee, A.J.S. (eds.), pp. 157-166. Plenum Press. New York and London.
- TRIBOLLET, E. (1992): Vasopressin and oxytocin receptors in the rat brain. En: *Handbook of Chemical Neuroanatomy*, Vol. 11: Neuropeptide receptors in the CNS. A. Björklund, T. Hökfelt y M.J. Kuhar (eds). pp: 289-320. Elsevier. Amsterdam.

- TRIBOLLET, E. y DREIFUSS, J.J. (1981): Localization of neurones projecting to the hypothalamic paraventricular nucleus area of the rat: A horseradish peroxidase study. *Neuroscience*, **6**: 1315-1328.
- TWEEDLE, C.D. y HATTON, G.I. (1976): Ultrastructural comparisons of neurons of supraoptic and circularis nuclei in normal and dehydrated rats. *Brain Res. Bull.*, **1**: 103-121.
- TWEEDLE, C.D. y HATTON, G.I. (1984): Synapse formation and disappearance in adult rat supraoptic nucleus during different hydration states. *Brain Res.*, **309**: 373-376.
- UGRUMOV, M.L. (1973): Electron microscopic study of large distension of neurosecretory fibers (Herring bodies) in the posterior lobe of the hypophysis of intact rats. *Anat. Histol. Embryol.*, **64**: 73-79.
- UGRUMOV, M.L. y BELENKY, M.A. (1974): Electron microscope investigation of the large swellings of neurosecretory fibers (the Herring bodies) with numerous polymorphic inclusions. *Acad. Nauk. CCP*, **16**: 426-432.
- UHL, G.R. y REPERT, S.M. (1986): Suprachiasmatic nucleus vasopressin messenger RNA: circadian variation in normal and Brattleboro rats. *Science*, **232**: 390-393.
- UHL, G.R.; ZINGG, H.H. y HABENER, J.F. (1985): Vasopressin mRNA in situ hybridization: localization and regulation studied with oligonucleotide cDNA probes in normal and Brattleboro rat hypothalamus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**: 5555.
- UNGERSTEDT, U. (1971): Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiol. Scand., Suppl.* **367**: 1-48.
- URIÉN, L.M. (1992): Interrrelaciones entre el órgano vasculoso de la lámina terminal y el núcleo supraóptico del hipotálamo. Estudio experimental en la rata. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca.
- VAN LEEUWEN, F.W. y SWAAB, D.F. (1977): Specific immunoelectron microscopic localization of vasopressin and oxytocin in the neurohypophysis of the rat. *Cell Tissue Res.*, **177**: 493-501.
- VANDESANDE, F. y DIERICKX, K. (1975): Identification of the vasopressin producing and oxytocin producing neurons in the hypothalamic magnocellular neurosecretory system of the rat. *Cell Tissue Res.*, **164**: 153-162.
- VÁZQUEZ, R. (1970a): El cuadro neurosecretor de la coneja grávida y lactante. *An. Anat.*, **19**: 227-246.
- VÁZQUEZ, R. (1970b): Estado de la neurosecreción durante la gravidez, parto y post-partum del cobaya. *An. Anat.*, **19**: 247-266.
- VÁZQUEZ, R. (1972): Interés del estudio de la neurosecreción con diversas técnicas. *An. Anat.*, **21**: 189-198.
- VÁZQUEZ, R. (1976): Efectos de la administración de colchicina y posterior exposición a frío en las neuronas del núcleo supraóptico de ratas. *An. Anat.*, **25**: 557-578.
- VÁZQUEZ, R. y AMAT, P. (1976): Ultraestructura de los cuerpos de Herring en el lóbulo posterior de la hipófisis. *Actas del IX Congreso Nacional de la Sociedad Anatómica Española*. pp: 33-34.
- VÁZQUEZ, R. y AMAT, P. (1978): The ultrastructure of the Herring bodies in rats subjected to different experimental conditions. *Cell Tissue Res.*, **189**: 41-51.
- VÁZQUEZ, R. y LANCHO, J.L. (1973): Estudio de la neurosecreción y de la morfología tiroidea en la rata blanca sometida a hambre y sed. *An. Anat.*, **22**: 609-625.
- VÁZQUEZ, R. y PALOMERO, G. (1970): Neurosecreción y stress en el cobaya. *An. Anat.*, **19**: 81-97.
- VÁZQUEZ, R. y PALOMERO, G. (1975): Respuesta neurosecretora ante el descenso de temperatura. *An. Anat.*, **24**: 179-190.
- VÁZQUEZ, R.; RIESCO, J.M.; MARTÍN, A. y PÉREZ, E. (1980): Efectos de la glibenclamida sobre el núcleo supraóptico de la rata. *Endocrinología*, **27**: 11-19.
- VÁZQUEZ, R.; CARRETERO, J.; DOMÍNGUEZ, F. y RIESCO, J.M. (1987): Morphology of the neural lobe of the hypophysis in rats treated with furosemide. I. Neurosecretory axons. *Acta Anat.*, **128**: 147-153.
- VÁZQUEZ, R.; SÁNCHEZ, F.; CARRETERO, J.; CARBAJO, S. y CARVAJAL, J.C. (1988): Detalle morfológico de liberación hormonal en una neurona magnocelular del núcleo supraóptico de rata. *An. Anat.*, **34**: 109-113.
- VIGLIETTI-PANZICA, C. y PANZICA, G.C. (1981): The hypothalamic magnocellular system in the domestic fowl. A Golgi and electron microscopic study. *Cell Tissue Res.*, **215**: 113-131.
- VIGLIETTI-PANZICA, C. (1986): Immunohistochemical study of the distribution of vasotocin reacting neurons in the avian diencephalon. *J. Hirnforsch.*, **27**: 559-566.
- WALLACE, R.B. (1986): Oligonucleotide probes for the discrimination of RNAs that differ by a single nucleotide. En: *DNA probes: Application in genetic and infectious disease and cancer*. Lerman L St (ed), pp: 127-131. Cold Spring Harbor, New York.
- WHITNALL, M.H.; GAINER, H.; COX, B. y MOLINEAUX, G.J. (1983): Dynorphin-A-(1-8) is contained within vasopressin neurosecretory vesicles in rat pituitary. *Science*, **222**: 1137-1139.
- WIEGAND, S.J. y PRICE, J.L. (1980): Cells of origin the afferent fibers to the median eminence in the rat. *J. Comp. Neurol.*, **192**: 1-19.
- WINKLER, C. y PORTER, A. (1914): An anatomical guide to experimental researches on the cat's brain. Versluys, Amsterdam.
- WOLFSON, B.; MANNING, R.W.; DAVIS, L.G.; ARENTZEN, R. y BALDINO, F. (1985): Colocalization of corticotropin-releasing factor and vasopressin mRNA in neurones after adrenalectomy. *Nature*, **315**: 59-61.
- WOLTER, R. (1956): Mesure de l'activité sécrétoire des cellules du noyau supra-optique dans diverses conditions expérimentales. *Arch. Biol. (Liège)*, **67**: 555-569.

- YOUNG, W.S.III. y KUHAR, M.J. (1979): A new method for receptor autoradiography: (3H) opioid receptors in rat brain. *Brain Res.*, **179**: 255-270.
- YOUNG, W.S.III. y KUHAR, M.J. (1980a): Noradrenergic alfa1 and alfa2 receptors: Light microscopic autoradiographic localization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**: 1696-1700.
- YOUNG, W.S.III. y KUHAR, M.J. (1980b): Radiohistochemical localization of benzodiazepine receptors in rat brain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **212**: 337-346.
- YOUNG, W.S.; MEZEY, E. y SIEGEL, R.E. (1986): Vasopressin and oxytocin mRNAs in adrenalectomized and Brattleboro rats: analysis by quantitative in situ hybridization histochemistry. *Mol. Brain Res.*, **387**:231.
- ZACKS, M.G. y SHAPIRO, B.I. (1965): The neurosecretory processes in hypothalamic nuclei in hydrated and dehydrated rats and pigeons. *Arch. Anat. Micr. Porph. Exp.*, **54**: 313-318.
- ZAMBRANO, D. y DE ROBERTIS, E. (1966): The secretory cycle of supraoptic neurons in the rat. *Z.Zellforsch.*, **73**: 414-431.
- ZAMBRANO, D. y DE ROBERTIS, E. (1968): The ultrastructural changes in the neurohypophysis after destruction of paraventricular nuclei in normal and castrated rats. *Z. Zellforsch.*, **88**: 496-510.
- ZAMBRANO, D. y MORDOCH, J. (1966): Neurosecretory activity in supraoptic nucleus of normal rats. *Z. Zellforsch.*, **73**: 405-413.

Correspondencia: Prof. Dr. R. Vázquez
Dpto. Anatomía e Histología Humanas
Facultad de Medicina.
Avda Campo Charro s/n.
37007 Salamanca. España
Fax: 923-294559

Index

SARRAT, R.; NIETO, J.L.: Introduction	115
MARÍN, F.: Education and microscopic investigation in morphology before and afterwards of <i>Ley de Reforma Universitaria</i>	119
JIMÉNEZ-CASTELLANOS, J.: The importance of Applicative Anatomy in relation to the clinical practice of Medicine	123
HENRIQUEZ-PINO, J.A.; DIDIO, L.J.A.; BEZERRA, A.J.C.: Términos anatómicos utilizados por Cervantes en su novela <i>El ingenioso Hidalgo Don Quijote de la Mancha</i>	129
SMITH-ÁGREDA, J.M.; FERNÁNDEZ-ORTEGA, I.; SMITH-FERNÁNDEZ, V.: An analysis of Michelangelo's creation of Adan based on functional antomy	135
AMAT, P.; PASTOR, F.E.; BLÁZQUEZ, J.L.; ÁLVAREZ-MORUJO, A.J.; TORANZO, D.; PELÁEZ, B.; SÁNCHEZ, A.; AMAT-PERAL, G.: Open synapses in the hypothalamic arcuate nucleus of estrogen treated rats	143
COSTA, J.; CANALS, M.; RUANO, D.: Lens and zonula anatomy by means scanning electron microscopy	153
KRSTIĆ, R.: A Didactic drawing in morphological sciencies is a form of scientific research	161
REINOSO, F.: Some considerations of the anatomy of the sleep	165
RODRÍGUEZ, S.: Morphotography of the endocrine kidney. (An approach to renal function through structure)	183
SANDOVAL, J.: Some fundamentals and parameters for evaluating in the evolutive comparative anatomy and remarks on certain adaptative variations in the equine phylogeny (<i>perissodactyla</i>)	189
SMITH, V.; FERRES, E.; CALATAYUD, M.: Informatic treatment for area measurement of morphology images	199
SOLER, J.; LÓPEZ-SOLER, M.; SARREBOLA, F.: Wallerian cardiac projection after right estelectomy in the cat. A study in the vetricles	203
VÁZQUEZ, R.; SÁNCHEZ, F.; RIESCO, J.M.; BLANCO, E.; JUANES, J.A.; ARÉVALO, R.; RUBIO, M.; CARRETERO, J.: Review: contributions of the morphological techniques to the knowledge of the supraoptic nucleus	211

NORMAS DE PUBLICACION

La revista ANALES DE ANATOMIA es una publicación que edita trabajos originales de Ciencias Morfológicas. Éstos deberán ser inéditos y no podrán ser presentados simultáneamente en otras publicaciones.

Los trabajos, con un máximo de 10 folios, a doble espacio, por una cara debidamente mecanografiados, serán enviados, por duplicado, al Director de ANALES DE ANATOMIA, Departamento de Ciencias Morfológicas, Facultad de Medicina, calle Domingo Miral, s/n, 3ª planta, 50.009 Zaragoza. La Revista admite manuscritos en español e inglés.

El conjunto del trabajo se presentará según el siguiente orden: página identificativa del trabajo, resumen en castellano y palabras clave, resumen en inglés y palabras clave, texto ordenado en sus correspondientes apartados, bibliografía. Al final del trabajo, se hará constar la dirección postal del primer firmante. Todas las hojas irán numeradas correlativamente en el ángulo superior derecho.

En la primera hoja se indicarán los siguientes datos y en ese orden: título del artículo, traducción del título al inglés, iniciales y apellidos de los autores, centro donde se ha realizado el trabajo y, en su caso, universidad a la que pertenece. No se harán constar los cargos académicos de los firmantes.

La iconografía irá numerada de manera correlativa y conjunta como figuras. Sólo se aceptarán fotografías en blanco y negro, exigiéndose la adecuada calidad y en número que no exceda de tres planchas de composición. Éstas estarán compuestas por láminas enteras de 23 x 15 cms, dejando el espacio necesario para incluir en las mismas las leyendas correspondientes.

Los gráficos se dibujarán con tinta china u otras técnicas de impresión fuerte y clara. Las tablas se presentarán en hoja aparte, admitiéndose una solá tabla por hoja. En ambos casos se tendrá en cuenta el tamaño de los números y letras para su correcta lectura una vez compuesta la revista.

La bibliografía se dispondrá ordenando las citas por orden alfabético de autores, de acuerdo con el siguiente ejemplo: OSMAN, D.I. y PIONEN, L. (1987): The Mammalian tubuli... Anat. Rec. **192**: 1-18. Cuando se trate de libros: WILLIAMS, R.H. (1974): Endocrinology, 524-526. B. Saunders Co. Philadelphia.

El Comité de Redacción acusará recibo de los trabajos enviados a ANALES DE ANATOMIA e informará a los autores acerca de la aceptación de los originales o de las modificaciones que juzgue necesario introducir para su publicación. El autor firmante en primer lugar recibirá separatas de su trabajo libres de todo gasto. En caso de no ser aceptadas para su publicación, las colaboraciones serán devueltas a sus autores.

El autor firmante en primer lugar recibirá unas pruebas impresas del artículo para su corrección, que deberá devolver una vez revisadas al Director de la revista en el plazo de siete días. La redacción de la Revista podrá aconsejar en su caso la reducción del número de autores, cuando el contenido y la metodología del trabajo lo requiera.



Índice

SARRAT, R.; NIETO, J.L.: Presentación	115
MARÍN, F.: La docencia y la investigación microscópica en morfología antes y después de la Ley de Reforma Universitaria (LRU)	119
JIMÉNEZ CASTELLANOS, J.: Importancia aplicativa de la anatomía con vistas a la clínica	123
HENRÍQUEZ-PINO, J.A.; DIDIO, L.J.A.; BEZERRA, A.J.C.: Cervantes' anatomical terms in his poem the ingenious gentleman Don Quixote de la Mancha	129
SMITH-ÁGREDA, J.M.; FERNÁNDEZ-ORTEGA, I.; SMITH-FERNÁNDEZ, V.: Un análisis de la creación de Adán de Miguel Ángel basada en la anatomía funcional	135
AMAT, P.; PASTOR, F.E.; BLÁZQUEZ, J.L.; ÁLVAREZ-MORUJO, A.J.; TORANZO, D.; PELÁEZ, B.; SÁNCHEZ, A.; AMAT-PERAL, G.: Sinapsis abiertas en el núcleo arcuato del hipotálamo de ratas tratadas con estrógenos	143
COSTA, J.; CANALS, M.; RUANO, D.: Anatomía del cristalino y su zónula mediante microscopía electrónica de barrido	153
KRSTIĆ, R.: El dibujo didáctico en las disciplinas morfológicas es una forma de investigación científica	161
REINOSO, F.: Algunas consideraciones sobre la anatomía del sueño	165
RODRÍGUEZ, S.: Morfotopografía del riñón endocrino. (Una aproximación a la función renal a través de la estructura)	183
SANDOVAL, J.: Algunos aspectos y parámetros de estimación en anatomía comparada evolutiva y anotaciones sobre ciertas modificaciones adaptativas en la filogenia de los équidos (orden <i>perissodactyla</i>)	189
SMITH, V.; FERRES, E.; CALATA YUD, M.: Técnica informática de medición del área de estudio en imágenes morfológicas	199
SOLER, J.; LÓPEZ-SOLER, M.; ARREBOLA, F.: Proyección walleriana cardíaca tras estelectomías derechas en el gato. Análisis de los ventrículos	203
VÁZQUEZ, R.; SÁNCHEZ, F.; RIESCO, J.M.; BLANCO, E.; JUANES, J.A.; ARÉVALO, R.; RUBIO, M.; CARRETERO, J.: Revisión: aportaciones de las técnicas morfológicas al conocimiento del núcleo supraóptico	211