

Roveda, Nicolás

Histología del sistema nervioso y técnica de su preparación: Principales métodos de estudio usados en los laboratorios de C. Golgi y S. Ramón y Cajal

Archivos de Pedagogía y Ciencias Afines

1908, vol. 4, nro. 11, p. 154-203

*Roveda, N. (1908). Histología del sistema nervioso y técnica de su preparación: Principales métodos de estudio usados en los laboratorios de C. Golgi y S. Ramón y Cajal. Archivos de Pedagogía y Ciencias Afines, 4 (11), 154-203. En Memoria Académica. Disponible en:
http://www.memoria.fahce.unlp.edu.ar/art_revistas/pr.2390/pr.2390.pdf*

Información adicional en www.memoria.fahce.unlp.edu.ar



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Histología del sistema nervioso y técnica de su preparación

Principales métodos de estudio usados en los laboratorios de C. Golgi y S. Ramón y Cajal

La fauna nos presenta al hombre como el sér de sistema nervioso más desarrollado; los elementos constitutivos llegan al máximo de diferenciación, obra de la división del trabajo y sus complicadas funciones, manteniendo íntima la asociación que constituye el todo armónico. La parte esencial de los órganos nerviosos en donde se cumplen las funciones específicas, son el tejido nervioso compuesto de elementos característicos: las células nerviosas, las fibras y terminaciones nerviosas y la neuroglia. Las células de neuroglia poseen una función distinta de la de los elementos nerviosos; pero contraen tan estrechos vínculos anatómicos y funcionales con éstos cuyo origen es común, que se las describe con el tejido nervioso.

NEUROGLIA Ó GLIA. — A Virchow corresponde el mérito de haber sido el primero en indicar la existencia de una sustancia fundamental de sostén difundida en los órganos centrales del sistema nervioso y la denominó neuroglia ó glia. Más tarde Golgi, basándose en las íntimas conexiones de la neuroglia con los vasos y con las prolongaciones protoplasmáticas de las células nerviosas, estableció para la neuroglia una función nutritiva de los elementos nerviosos, sirviendo á la vez de sostén. Pedro Ramón opina que los elementos de la neuroglia, además de servir de sustentáculo á las células y fibras nerviosas, son un medio aislador de los conductores nerviosos.

La neuroglia hállase constituida por células y por fibras. Las células de la neuroglia, también llamadas por su forma *células arañas*, tienen un cuerpo celular contorneado por innumerables series de prolongaciones filiformes larguísimas, proyectadas en todas direcciones, que á veces se entrecruzan, pero no se anastomosan entre sí, de donde resulta la formación de un retículo.

Las fibras hállanse en íntima conexión con las células y sus prolongaciones; ellas representan una particular diferencia del citoplasma. De las células de neuroglia, parten á veces prolongaciones que se ponen en íntima relación con los vasos sanguíneos. Elementos neuróglícos se encuentran tanto en la sustancia gris como en la blanca; la única diferencia sustancial estriba en que en la

sustancia blanca dichos elementos tiene la forma de láminas y las prolongaciones son laminares en su origen. En condiciones patológicas, la estructura fina de la neuroglia, no difiere esencialmente de la neuroglia normal. En la descripción especial de los diversos órganos del sistema nervioso central no haremos mención de los elementos neuróglícos dejando desde ya establecido que forman parte constitutiva de todos ellos.

Método de Corrado da Fano. — PARA EL ESTUDIO DE LA FINA ESTRUCTURA DE LOS ELEMENTOS DE LA NEUROGLIA. — *Material de estudio:* Médula espinal del hombre y vertebrados superiores. (Buey, caballo, perro, conejo, pollo, etc.). Bulbo, corteza cerebral, sustancia blanca del cerebelo de los mismos animales. — Material excelente lo da el óptico.

Fijación a). — Pequeños trozos de tejido nervioso se inmergen en el siguiente líquido recientemente preparado, de 24 á 48 horas:

72 partes peridina pura Merck.

28 partes de ácido nítrico al 50 %.

(Mézclase despacio y con precaución ambos líquidos; prodúcese notable desarrollo de calor y muchos vapores).

b) Quitados los trozos del líquido fijador, se lavan en agua corriente durante 6 horas.

c) Luego se pasan por la serie de los alcoholes. Aclarado en aceite de cedro.

Inclusión: en parafina á 52°.

Secciones al micrótopo de 6 á 8 micrones.

• Adhesión al porta con albúmina y agua.

Xilol. — Serie descendente de alcoholes. Agua.

Coloración. — Antes de colorar las secciones se blanquea permaneciendo 15' en:

Sol. acuosa al 0.25 % de permanganato potasio.

Agitadas en agua dest.

Blanqueadas en sol. acuosa de ácido oxálico al 1 %.

Coloración 24 — 48 horas en la hematoxilina fosfotungística de Mallory.

Sol. acuosa de ácido fosfotungístico (Merck) al 1 %, 100 gramos.

Hematoxilina (Grübler), 0.10 cent.

(Disuélvase primero la hematoxilina en un poco de agua caliente y se agrega á la solución del ácido). Servirse de una solución de tres ó cuatro horas.

e) Lavaje en agua dest. Serie ascendente de los alcoholes. Aclarar en Xilol. Montar con bálsamo Canadá.

Fibras nerviosas. — Los nervios tienen un origen esencialmente epitelial. Las fibras nerviosas pueden considerarse como prolongaciones ó continuación de las células nerviosas. Razones de método hacen que se estudien las fibras nerviosas en los nervios periféricos, en los nervios centrales ó sustancia blanca y las axonas en la sustancia gris.

Nervios periféricos. — Son cordones formados por la reunión de fibras nerviosas meduladas y no meduladas, que están entre sí en conexión mediante el tejido conjuntivo.

Fibras nerviosas meduladas. — Constituyen de la fibra nerviosa medulada el eje central ó porción esencial del nervio y diversas

vainas superpuestas. En el centro está el cilindro-eje y en orden concéntrico hacia la periferia, la vaina medular y la vaina de Schwann.

Cilindro eje.— El cilindro-eje es una prolongación de la célula nerviosa y establece una vía de comunicación entre ésta y las terminaciones nerviosas. Cubre al cilindro-eje, envolviéndolo, una finísima película la *vaina perixial de Mauthner*, que vista en una sección transversal, muéstrase como una línea clara que rodea y envuelve al cilindro-eje.

El cilindro-eje es un agregado de finísimas ó tenues fibrillas, que Apathy llamó *neuro-fibrillas*. Es cilíndrico ó en forma de cinta, algo elástico, de aspecto homogéneo ó con estrías longitudinales. Tratando la fibra nerviosa con nitrato de plata y luego exponiéndola á la luz, presenta estrías transversales, claras y oscuras alternadas, sobre todo al nivel de los estrangulamientos de Ranvier: son la *estrias de Fromman*. También allí se observan los ensanchamientos observados por Ranvier y conocidos con el nombre de *ensanchamientos bicónicos Ranvier*. Ambos fenómenos no se refieren á una particular estructura del cilindro-eje sino á los elementos que lo rodean.

Mielina.— La mielina es un elemento accesorio del nervio; fresco éste, contiene la mielina en estado líquido. Su constitución química no está bien determinada; presenta las reacciones de la sustancia grasa. La mielina tiende á derramarse por los tejidos inmediatos si se maltrata la fibra nerviosa y diseminada, en el campo del microscopio se notan unas formas características, masas globulosas de estratos concéntricos; si la vaina de Schwann no se rompe, da lugar á hinchazones ó eminencias globulosas. Envuelve y rodea al cilindro-eje, formándole una vaina protectora, un aparato aislador, llenando el espacio comprendido entre la vaina de Schwann y el cilindro-eje.

Es un aparato de aislamiento de la corriente nerviosa. La mielina es una sustancia líquida, esplendente y la forman entre otras sustancias la lecitina y la cerebrina.

Estrangulaciones anulares de Ranvier.— La mielina está de trecho en trecho interrumpida, limitándose por una extremidad convexa, algo dilatada, mientras que el cilindro-eje atraviesa los diversos segmentos mielínicos, denominados segmentos interalunares. La línea transversal de interrupción de la vaina mielínica, se designa estrangulamiento anular de Ranvier. Estos últimos son tanto más numerosos cuanto más pequeñas son las fibras y más jóvenes los animales, lo mismo que se los observa en mayor número y á más breves intervalos, en las terminaciones nerviosas.

Cruces latinas.— Tratando los nervios con una débil solución de nitrato de plata y sucesiva exposición á la luz, se observan en un campo blanco numerosas cruces negras, en que el tallo ó porción vertical lo forma el cilindro-eje ennegrecido y el horizontal la sustancia cimentante, también obscurecida, que se halla al nivel del estrangulamiento de Ranvier.

Rasgaduras ó incisiones de Schmidt-Lantermann.—No solo está interrumpida la vaina mielínica en sentido transversal, sino que también lo es en un sentido diagonal, oblicuamente á la vaina de Schwann y cilindraxis. Tratada la fibra nerviosa por el ácido ósmico diluído, se observan de trecho en trecho en la vaina mielínica dos líneas oblicuas, claras, simétricas, situadas á ambos lados del cilindraxis, dividiendo el segmento interanular en varias partes y están en relación con los embudos de Golgi.

Técnica.—*Coloración del cilindro-eje.*—Se toma un fragmento de nervio ciático de rana y se estira sobre un pedazo de corcho, fijándolo con espinas de puerco espín. Se inmerge en una solución diluída de bicromato de potasio al 3 %. Allí se lo deja 24 horas y se pasa al colorante picro-carmin dejándolo varios días. Se lava, se dilacera sobre un porta en una gota de glicerina valiéndose del microscopio simple.

Bien dilacerado el nervio se coloca el cubre objeto y se observa al microscopio compuesto.

Cruces latinas y estriás de Fromment.—Para observar las cruces latinas y las estriás de Fromment, la dilaceración del nervio puede verificarse directamente en la solución de nitrato de plata al 0.30 % ó se puede hacer obrar esta solución sobre un nervio entero y dilacerado después. Sirven para tal fin los nervios torácicos del conejo y ratas.

Se fija bien al animalito, se le practica una incisión en la línea media anterior, se levantan los labios de la incisión con el mango de un bisturí separando el tegumento de la pared muscular y quedan al descubierto los nervios torácicos.

Aparecen éstos cual delgados hilos blancos que desde los espacios intercostales pasan á los tegumentos; se los aísla bien, se bañan con agua destilada y luego con bicromato potásico al 3 %. Por la acción del bicromato los nervios se mantienen rígidos y se cortan fragmentos que se transportan á la solución del nitrato de plata y luego se exponen á la luz durante 5 ó 10 minutos. Se lavan con agua destilada y se examinan, sumergidos en este líquido, al microscopio.

Si se desean conservar los preparados se deshidratan, se aclaran y se montan en bálsamo del Canadá.

Aparato neuro-quitinoso de sostén de la mielina.—La neuroqueratina, sustancia córnea especial yacente en el espesor de la vaina mielínica, fué descrita por vez primera por Ewald y Kühne.

Embudos de Golgi.—Las fibras nerviosas periféricas ó nervios, en el espacio comprendido entre el cilindro-eje y la vaina de Schwann y las fibras nerviosas centrales ó sustancia blanca, presentan filamentos sumamente delgados, dispuestos en espirales y elegantes espiras, que giran alrededor del cilindro-eje; dichas espiras se agrandan á la vez que se separan en el sentido longitudinal de la fibra y adoptan la forma de embudos cuyo eje está dispuesto en la dirección de la fibra. Con el vértice del embudo ó ápice del cono, las fibrillas adhieren al cilindro-eje mediante una sustancia ó cemento, y la parte ancha del embudo ó base del cono, se adosa á la cara interna de la vaina de Schwann. Según Mondino, á dicha unión corresponde una estrangulación de Ranvier.

Estas elegantes espiras, llamadas embudos de Golgi, su descu-

bridor, quien las mostró con la *reazione nera*, están formadas de neuro-queratina y son aparatos de sostén de la mielina. La *neuro-queratina*, como el sistema nervioso, derivan de la hoja externa del embrión. Tales embudos son más numerosos en las fibras centrales, las que careciendo de vaina de Schwann, mantienen á la mielina alrededor del cilindro-eje.

En el perro el aparato neuro-quitinoso es muy aparente. Los embudos se mantienen unidos, pero son separables en el campo del microscopio. Si dos embudos se tocan por sus vértices, resulta que adoptan la forma de un reloj de arena; si lo hacen por sus bases, la de un huso; á veces los embudos se suceden manteniéndose á cierta distancia, pero uno dentro del otro, formando á la mielina un armazón continuo.

Fibrillas de G. Sala.—Entre los embudos córneos de Golgi, existe un sistema de filamentos tortuosos, que en algunos casos recorren longitudinalmente próximos á la pared interna de la vaina de Schwann y en otros, pasan en el interior de los embudos formando delicadas trabéculas.

Este sistema de hilos tortuosos establece relaciones de continuidad con los embudos córneos, y cree su descubridor G. Sala, que, con aquéllos, concurren á constituir el aparato neuro-quitinoso de sostén de mielina.

La función del aparato neuro-queratínico ó embudos de Golgi, explica como las fibras centrales ó sustancia blanca, careciendo de membrana de Schwann, pueden, sin esta última, conservar en torno del cilindro-eje la mielina.

TÉCNICA DE SU PREPARACIÓN.— Se tratan fibras nerviosas con bicromato de potasio y pequeña cantidad de ácido ósmico y luego se hace obrar sobre ella una solución de nitrato de plata.

Vaina de Schwann.—La vaina de Schwann ó neurilema, fué descrita en 1839 por su descubridor con cuyo nombre se la designa. Es una membrana transparente, de estructura fibrilar que rodea y envuelve á la fibra nerviosa. El neurilema es levantado de trecho en trecho formando ligeras eminencias hacia el exterior, á causa de existir en su parte interna diversos núcleos alargados con nucleolo manifiesto, y á su alrededor un resto del protoplasma primitivo.

No está definitivamente establecido el modo de comportarse de la vaina de Schwann, al nivel de las estrangulaciones de Ranvier. Según unos se continúa ininterrumpida por encima de ellas; otros creen que se efectúa una introflección para dar margen á la inserción de la vaina de Mauthman y otros que la vaina está seccionada, manteniéndose unida por una sustancia cementante al cilindro-eje.

Vaina de Henle.—Cada fibra nerviosa medulada, está envuelta en todo su trayecto por una vaina de tejido conjuntivo, hacia el interior, revestida por una capa de células endoteliales: es la vaina de Henle.

Nervios.—Las fibras nerviosas se reúnen entre sí mediante tejido conjuntivo y forman paráculos los que, reunidos, dan lugar á los

nervios. El tejido conjuntivo laxo que mantiene unidas las fibras nerviosas entre sí, se denomina *endoneuro*; las láminas más compactas del conjuntivo, que reúnen y envuelven estos fascículos y á los nervios, se llama *perineuro* y se designa con el nombre de *epineuro* al conjuntivo laxo y abundante, conteniendo á veces células adiposas, que se colocan entre los fascículos de las fibras.

Fibras nerviosas amielínicas.—Sinonimia: fibras nerviosas grises, fibras de Remak, pálidas, noduladas, gelatinosas, simpáticas, orgánicas. Las fibras de Remak se hallan en el sistema del gran simpático y entran en pequeña proporción con las meduladas, en la formación de diversos nervios del tronco y de las extremidades. Estas fibras presentan en su exterior estrías longitudinales á causa de hallarse formada por fascículos de tenues fibrillas, que no la recorren manteniéndose entre sí paralelas, sino que formando plexos, se pasan de uno á otro fascículo. La fibra de Remak presenta de trecho en trecho dilatación, hinchazones ó nódulos, conteniendo núcleos ovales, rodeados de protoplasma; la fibra afecta la característica forma de rosario.

Células nerviosas.—Se llaman células nerviosas los elementos fundamentales, provistos de un prolongamiento destinado á comunicarse con fibras nerviosas. Se encuentran en la sustancia gris del eje cerebro-espinal, en los ganglios espinales y simpáticos y aislados en diversos otros tejidos.

Las células nerviosas son el centro de recepción, análisis y síntesis de las impresiones que actúan sobre el organismo; sienten tales excitaciones, las acumulan, las elaboran y las transforman en manifestaciones psíquicas ó motrices, siendo el asiento de las primeras y trasmitiendo las últimas á los órganos destinados al movimiento.

Forma de las células nerviosas.—La forma está á veces subordinada al medio en que yace; así la célula nerviosa permaneciendo entre manojos fibrilares, tal vez sujeta á condiciones mecánicas del desarrollo, adopta por lo común la forma de un huso, ó es completamente irregular por sus múltiples prolongaciones que á la manera de un pulpo emite ó es piriforme, piramidal, elipsoidal, esférica, etc.; la forma de las células nerviosas suele ser constante en las diversas provincias del sistema nervioso.

El volumen de las células nerviosas difiere notablemente según los casos existiendo desde las grandes células motoras de la médula espinal de una talla de 70 y más micromilímetros hasta las más pequeñas, los granos del cerebelo y bulbo olfatorio que solo miden 7 μ .

Jamás se ha sorprendido en el adulto la división celular de un elemento nervioso y si esta fué alguna vez observada, se trataría de hechos patológicos. Muy rara vez se ha visto, por ejemplo, en las células del ganglio plexiforme de las aves y aun en ganglios raquídeos de mamíferos, células nerviosas solitarias con dos gruesos núcleos en su interior y teniendo en cuenta que en el plexiforme citado se observan células bipolares numerosas; se tratará, sin duda, de células que desde el período embrionario se mantuvieron estacio-

narias en tal forma sin ser resultado de la división celular en el individuo adulto.

Respecto de si las células están ó no en conexión directa entre sí, dos escuelas se dividen la manera de pensar tal problema y sus más excelsos representantes S. RAMÓN Y CAJAL sostenedor de la teoría del neurón, que establece la independencia de las células y sus prolongaciones entre sí y CAMILO GOLGI que admite la existencia de una red nerviosa difusa entre los cilindro-ejes de diversos grupos celulares, expusieron los argumentos en pro y en contra de sus doctrinas, con motivo de la distribución del Premio Nöbel en Estocolmo en 1906, donde el lector estudioso podrá enterarse de todos los detalles y formar opinión con la lectura de los magistrales discursos que á ese respecto pronunciaron.

Método de elección.—Reacción negra de Golgi. Impregnación argéntica de Cajal. Donaggio-Nitsl, etc.

Reacción negra. Método de Golgi.—*Material de estudio.*—Se matan gatitos recién nacidos; con una tijera se incide á lo largo de la sutura sagital, y á los lados el reborde de la calota craneana.

Con cuidado se sacan las meníngeas y se extrae el encéfalo. Con una navaja de afeitar se cortan trozos de caras paralelas de corteza cerebral y cerebelosa y se separan los bulbos olfativos. Los trozos deben tener un espesor de 3, 4 ó 5 milímetros.

1^{er} día: Se colocan los trozos en:

Bicromato de potasio 4 partes

Acido ósmico (1 % en H²O) 1 parte.

Se dejan cuatro días en esta solución y luego un día en:

5^o día: Sol. nitrato plata en H²O al 1 %.

Procúrese, al pasar de la 1^a solución á la 2^a, usar al principio poca solución, pues la enturbia; en seguida se tira la solución turbia y se la reemplaza por otra limpia. En la solución de nitrato de plata pueden permanecer diversos días.

6^o día: se pasan los trozos y permanecerán media hora en alcohol á 90°.

Luego: 1/2 hora en alcohol á 90°.

2 » en » absoluto.

En un trozo de madera de los utilizados para tal fin, se adhiere el preparado de la siguiente manera: se moja el madero en éter sulfúrico y el preparado también, sacado del alcohol absoluto. Se deja caer sobre el madero una gota de celoidina, se pega la sustancia cerebral y se sumerge con otra gota de celoidina que se deja caer sobre el preparado. Para endurecer la celoidina se sumerge el trozo de madera en un baño de cloroforno, para que los vapores actúen sobre la celoidina y el todo cubierto con una pequeña campana de vidrio. A los veinte minutos la celoidina está dura y se puede retirar trozo y madero. La sección se practica al micró-tomo con la navaja *a*. Los cortes deben ser relativamente gruesos. Se mantiene la navaja oblicua en el micró-tomo; se empapa en alcohol á 80° la lámina y con un pincel se empapa de la misma sustancia y sucesivamente el trozo de cerebro ó cerebello.

Las secciones se reciben en alcohol á 80°.

Se dejan 5 minutos en alcohol á 95°.

» » » » » absoluto.

Se pasan ligeramente en guayacol I'. Luego al aceite de cedro.

Allí pueden permanecer todo el tiempo que se quiera.

Para montar la sección al porta objeto, se la pasa con la espátula con cuidado y se deja caer sobre la sección una gota de aceite de cedro, usado para inmersión. No se coloca el cubre-objeto. A los quince días se puede dejar caer sobre el preparado nueva gota de aceite de cedro.

Se montan estas secciones en porta-objetos de madera con una preparación cuadrangular en el medio. Se coloca el preparado sobre un cubre-objeto, de más superficie que el cuadrado á que se adapta y se pega en los bordes del cubre con bálsamo de Canadá á la madera. El corte en un principio descansa sobre el vidrio hasta endurecerse el aceite de cedro, esto es, por varios días; después se invierte y sírvele el cubre de tapa resguardando al preparado de la tierra para que en un descuido no lo rompa el objetivo del microscopio.

Mediante el método de Golgi se verifica una reacción química, por la cual la célula nerviosa y sus más finas ramificaciones, aparecen coloreadas de negro.

Estructura de las células nerviosas.—La célula nerviosa posee un núcleo grande vesicular, con su correspondiente nucleolo. En torno del núcleo existe una pequeña zona granulosa, tal vez residuo del protoplasma primitivo. Al hablar de la estructura de las células nerviosas, merecen especial descripción el aparato reticular endocelular, la substancia tigróide de Nissl y su estructura finamente fibrilar.

Aparato reticular endocelular de Golgi.—En el interior de las células nerviosas de los ganglios espinales, de la médula espinal, de la corteza cerebral, de las células de Purkinje del cerebelo, etc. Golgi descubrió con su método, un aparato característico en torno del núcleo formado por delgados filamentos dispuestos en red, ricamente anastomosados y dejando siempre una zona libre entre su límite periférico y la superficie exterior de la célula. En las diversas categorías de células presenta aspecto diverso, siendo especial, fino y complejo, con tendencia á la formación de diversos lóbulos en las células de los ganglios espinales. Forman este aparato en el embrión escasos filamentos, que aumentan y se complican con el crecimiento. Se pensó que el retículo endocelular descrito representase una vía nerviosa; otros creyeron que constituyese una red canalicular dentro de la que circulara plasma nutritivo; pero tales teorías carecen de fundamento. Se ignora qué oficio desempeña el aparato reticular endo-celular nervioso.

Método para evidenciar el aparato reticular endo-celular.—Método de Golgi modificado por Veratti. Previamente librados de partes adyacentes, se toman ganglios espinales de hombre, perro, gato, caballo, conejo, etc. y se inmergen en una:

Solución de bicromato potasio	5 %	60	partes
» » ácido ósmico	1 %	20	»
» » cloruro platino	1 %	10 á 20	»
Agua c. s. hasta llegar á		100	cc.

Allí se los deja de 12 á 15 días hasta 1 mes y aun más.
Se pasan luego á una:

Solución de bicromato potasio..... 5 ‰ $\frac{2}{3}$ partes
» acuosa saturada acetato cobre. $\frac{1}{3}$ »

Allí permanecerán uno ó dos días según hayan estado en la anterior solución menos ó más tiempo. La mezcla del bicromato potásico y del acetato de cobre forman en precipitado y se filtra. Si después de filtrada la mezcla persiste el precipitado, se calienta nuevamente la solución y desaparece.

Después se inmergen en una:

Solución de nitrato de plata 1 ‰

Allí deberán permanecer 7 ú 8 días. (También permanencia prolongada).

Se pasan, sucesivamente, los cortes:

Por una hora en alcohol..... á 70°
» » » » » 95°
» tres horas » » absoluto

Se fijan, después, al madero con unas gotas de celoidina y se endurece hasta formar película con vapores de cloroformo debajo de una pequeña campana de vidrio. Se inmerge con su madero en alcohol á 50°. Sección al micrótopo. Lámina *a* oblicua. Se reciben las secciones en alcohol absoluto.

De allí son pasadas al alcohol absoluto renovado.

Aceite de cedro líquido.

Se adapta al porte cubriendo la sección con aceite de cedro denso.

Método de Kopch:

Solución ácido ósmico 2 ‰..... 5 días
Lavado en agua corriente... .. 2 horas

Alcohol 50, 60, 70, 80, 90, 95.

» absoluto.

Xilol.

Parafina.

Bálsamo del Canadá.

Red pericelular ó superficial de las células nerviosas. —

Golgi describió una red constituida por delicados filamentos homogéneos, de mallas angostas, situada en la superficie externa de las grandes células nerviosas, que se prolonga aun más allá del cuerpo celular, á lo largo de las más gruesas prolongaciones protoplasmáticas. Según este sabio, la red pericelular sería un aparato aislador y á la vez un enrejado ó malla protectores del elemento nervioso; estaría constituido por neuro-queratina. Nissl y Bethe afirman que la red pericelular está formada por finas arborizaciones nerviosas. Cajal y otros piensan que las citadas redes son un retículo fibrinoso ó proteico que diversos reactivos han motivado su coagulación.

TÉCNICA. — Modificación de Cajal á su fórmula 12 para evidenciar la red pericelular de Golgi y el retículo endocelular del último autor.

Fórmula 12. — Se colocan piezas de tejido nervioso durante 2 ó 3 horas en

Acetona.....	75 partes
Agua destilada.....	25 »

Pasaje por 24 horas al acetona pura (50 cc.) á la que se agregan 5 gotas de amoníaco.

Lavado por algunos minutos en agua destilada.

Nitrato de plata 1 1/2 % durante 5 días (estufa á 35°).

Breve lavado de las piezas.

Pasajes sucesivos análogos á la impregnación argéntica al alcohol amoniacal.

Modificación. - Una mezcla de partes iguales de acetona y formalina como fijador de las piezas.

Lavado prolongado en agua destilada.

Permanencia en el alcohol amoniacal por 24 horas.

Nitrato de plata al 4 % 5 días (estufa á 35°).

Pasajes comunes sucesivos.

Sustancia tigreide de Nissl. — Nissl, usando las sustancias colorantes de anilina, especialmente el azul de metileno, describió en las células nerviosas la existencia de granos que dan á éstas un aspecto atigrado y que fueron llamados: cuerpos ó corpúsculos de Nissl, grumos cromáticos, sustancia tigreide, gránulos tigreides, etc. La sustancia celular que se colora, se designa cromatófila y la que no, cromatófoba. Si se colorea intensamente el núcleo, las células son llamadas cariocromas. Si lo es el cuerpo celular somatocroma. Las células somatocromas se subdividen en: *Sticromas*, si la sustancia cromática se dispone regularmente en series á la manera de bastoncillos. *Arquiocromas* si los granos se disponen formando red. *Criocromas* si forman granulaciones aisladas ó en block. *Arquisticocromas* si la sustancia tigreide está dispuesta parte formando una red y otra bastoncillos. El significado fisiológico dado á la sustancia tigreide, es que se trata de un material de reserva acumulado; Golgi opina que las figuras obtenidas con el método de Nissl, son groseras apariencias de finas particularidades que otros métodos ponen de manifiesto.

Método de Nissl, al azul de metileno, para la coloración de las células nerviosas. — MATERIAL DE ESTUDIO. — Se toma un segmento de médula espinal de vaca, en su ensanchamiento cervical ó lumbar; con cuidado se separan las meningeas y con una navaja de afeitar se cortan segmentos transversales de un espesor de 5 mm. Se regularizan con la navaja los bordes, una vez que el trozo haya permanecido algunas horas en el alcohol para su endurecimiento. Para la fácil penetración de los líquidos en que se inmerge, conviene practicar una semi-sección medular, practicándose un corte medio antero-posterior; así, el trozo queda reducido á una figura irregularmente cúbica, de 5 mm. de espesor en todas partes.

El trozo se inmerge.

24 horas en alcohol á 95°

24 » » » absoluto.

24 » » » aceite de cedro.

Inclusión en parafina.

Secciones de 4 á 6 μ al micrótopo.

Xilol — Serie de los alcoholes. Agua dest.

Coloración. — Se inmergen las secciones en la sustancia colorante, cuya fórmula es la que sigue:

El vasito que debe contener el color, es introducido de antemano, al baño maría, en H²O común que está hirviendo. Cuando hierve el agua, se ponen las secciones en la sustancia colorante y permanecen allí 10 minutos. Se extraen, se limpian con un trapo debajo del porta objeto en toda su extensión y encima en torno de la sección, para quitar casi toda la sustancia colorante, adherida al vidrio.

Color: Azul de metileno	3.75 partes.
Jabón de Venecia	1.75 »
Agua destilada	1000 gramos. (solución)

Se decolora y clasifica el preparado pasando las secciones en:

Alcohol á 95°	90 partes.
Aceite de anilina	10 »

De allí se pasa al alcohol absoluto — xilol — Bálsamo del Canadá.

Prolongamientos protoplasmáticos. — *Sinonimia.* — Prolongamientos protoplasmáticos, ramificados dendríticos, celulípetos, etc.

Toda célula nerviosa posee una prolongación destinada á ponerse en comunicación con fibras nerviosas: es el prolongamiento nervioso. — Posee además (éstas comúnmente en mayor número) una, dos, tres, hasta veinte y aún más prolongaciones, que parten del cuerpo celular y dan lugar á la clasificación de las células nerviosas: apolares, monopolares, bi-tri-tetra-multipolares. A semejanza de la ramificación vegetal, los prolongamientos protoplasmáticos á cierta distancia del cuerpo celular, dicotómicamente se dividen y subdividen en ángulo agudo, hasta formar ramificaciones finas y abundantes, verificándolo de un modo similar en las diversas categorías de células. No existen anastómosis directas de los prolongamientos protoplasmáticos de una célula con otra, de manera á constituir un sistema de fibrillas, medio de unión de las células entre sí.

El rol primordial de los prolongamientos protoplasmáticos es el de presidir á la nutrición de la célula; lo revela el hecho observado de que las lejanas prolongaciones terminan en una expansión en contacto con la pia madre; otras veces lo hacen en la pared de los vasos ó en células de neuroglia que á su vez entran en relación con vasos nutricios. Las células nerviosas desprovistas de prolongamientos protoplasmáticos tienen el cuerpo celular rodeado de una red capilar sanguínea. La estructura de los prolongamientos protoplasmáticos es análoga á la del cuerpo celular; esto importa establecer que además del rol nutritivo asignado á los primeros, comparten de las propiedades especiales del segundo.

Método de elección. — Reacción negra de Golgi.

Prolongamiento nervioso. — *Sinonimia.* — Prolongamiento nervioso-axón-cilindro-eje, prolongamiento de Deiters.

Deiters, en 1865, demostró que el prolongamiento nervioso de las células se continúa directamente con el cilindro-eje de una fibra ner-

viosa; de ahí el nombre de prolongamiento de Deiters. Delicados métodos de investigación determinaron las leyes de la ramificación del prolongamiento nervioso.

En la diversas categorías de células de las distintas provincias del sistema nervioso, obsérvase que el prolongamiento nervioso nace siempre en un mismo punto del cuerpo celular, siguiendo determinada dirección, manteniéndose en un principio, único y rectilíneo y después de recorrer un corto trayecto, se encurva y emite ramas purísimas que parten del axón siempre en ángulo recto, las que en unión con otras análogas procedentes de otras células, forman en la sustancia gris, la llamada red nerviosa difusa. En las células piramidales de la corteza cerebral, el axón nace en la base de la célula, en su parte media, dirigiéndose en sentido inverso del tallo.

En las células de Purkinje un axón fino, delicado, parte del cuerpo celular en su polo inferior, siguiendo un trayecto descendente. En las células á cesto del cerebelo, el axón parte de un cono implantado en el cuerpo celular; es extremadamente fino en su nacimiento y durante algún trayecto; luego se espesa progresivamente hasta tener un diámetro veinte y aun treinta veces mayor que el tenue filamento axil del comienzo y emite las colaterales que van á formar los nidos ó cestas, tan conocidas, en torno del soma de las células de Purkinje.

El método de Nissl diferencia bien el prolongamiento nervioso de los protoplasmáticos, presentándose el axón en forma de cono, estriado longitudinalmente, revelando una estructura fibrilar, cuyas fibrillas se ha comprobado que están en relación con las del retículo fibrilar endo-celular y que no contraen vínculo alguno con las fibras del aparato endo-celular de Golgi. Por la manera de comportarse el axón, Golgi distingue dos tipos de células nerviosas, así descritas por dicho autor:

« *Células del 1^{er} tipo.* — Células ganglionares cuyo prolongamiento nervioso suministra escasos filamentos laterales y directamente « se transforma en el cilinderaxis de una fibra medulada ».

« *Células del 2^o tipo.* — Células ganglionares cuyo prolongamiento nervioso, subdividiéndose complicadamente, pierde su propia individualidad y pasa totalmente á formar una red nerviosa extendida á « todos los estratos de la sustancia gris, la red nerviosa difusa de « Golgi ».

Los partidarios de la doctrina neuronal, niegan la existencia de la red nerviosa difusa. El cilindro-eje es el resultado del crecimiento de la expansión principal de un neuroblasto ó célula nerviosa primitiva que es de forma bipolar en tal estado.

Retículo neuro-fibrilar de las células nerviosas. — Mediante el método de RAMÓN Y CAJAL, de DONAGGIO, etc. las células nerviosas presentan no solo en su cuerpo celular sino en sus prolongamientos, una estructura claramente fibrilar. Se nota que el prolongamiento al llegar á la célula nerviosa se desfibra, por así decirlo, entrelazándose ó quizás continuándose con otras análogas

que recorren la porción periférica del soma de la célula nerviosa y se extienden hasta los prolongamientos protoplasmáticos.

Se ignora la relación entre el aparato reticular de Golgi, el retículo neuro-fibrilar y los cuerpos de Nissl. El retículo neuro-fibrilar no es fijo ni estable; está demostrado que tales fibrillas son finas y delicadas al estado de actividad, haciéndose gigantesca y robustas cuando las células nerviosas se hallan en un reposo funcional, ya debido al frío del invierno ó á causa de influencias patológicas, tales como la rabia, anemia, etc. Dicho armazón neuro-fibrilar es susceptible, pues, de experimentar transformaciones bajo causas diversas, no tratándose en rigor de simples hilos conductores de la actividad nerviosa.

En el lagarto, que se entorpece por el frío del invierno, en tal estado observó TELLO, que las fibras endocelulares nerviosas se reunen entre sí formando colosales cordones y en la primavera se desfibran nuevamente en finísimos hilos.

Métodos de estudio del retículo neuro-fibrilar. — RAMÓN Y CAJAL (Impregnación argéntica), DONAGGIO, etc. Bellísimas preparaciones en las que puede verse una estructura fibrilar muy simple en el interior de las células nerviosas ganglionares, donde el axón se desfibra para formar un glomérulo neuro-fibrilar; se logran aplicando el método de Cajal al estudio de los ganglios en la hirudínea (sanguijuelas).

Procedimiento. — Se toma una sanguijuela y con tijera se la secciona en trozos de medio centímetro, mediante cortes transversales.

Fijación: 24 horas en alcohol á 95°..... 50 gr.
amoníaco..... 3 gotas

2 1/2 días en nitrato de plata, 5 %.

Permanencia en el termóstato á 37° durante los 2 1/2 días.

24 horas en	{	Acido pirogálico.....	1 gr.
		Formol.....	10 »
		Alcohol.....	10 »
		Agua dest.....	100 »

Un día en alcohol absoluto.

» » » alcohol absoluto aa.

» » » Éter sulfúrico, 20 gr.

Dos días en celoidina líq.

Un » » celoidina densa.

Inclusión en celoidina.

Pases comunes de las secciones.

Técnica. — *1er método de Donaggio.* — 1. Trozos de tejidos de un espesor de 2 á 3 mm, son fijados en una solución acuosa saturada de bicloruro de mercurio durante 24 horas.

El exceso de sublimado se elimina con agua yódica, la que se prepara vertiendo gotas de tintura de yodo en agua destilada (XV gotas en 100 cc de H²O) ó mejor, preparando una solución

saturada de yodo en agua. Se deja actuar el agua yódica, renovada cuando esté descolorida durante 24 horas. Dos trozos deberán descansar por sus bordes en el fondo del recipiente.

2. Lavaje de 2 á 3 horas en agua destilada. Inmersión en piridina por 48 horas. A las 24 horas se cambia la piridina.

3. Coloración de los trozos de tejido. Adheridos por uno de sus bordes con parafina á un trozo de corcho se suspenden en el líquido colorante 48 horas, renovándose el color después de un día.

Solución acuosa de tionina 1 por 10.000 ó 15.000.

4. Inmersión sucesiva por 24 horas de los trozos aun adheridos al corcho, en una solución acuosa de molibdato al 4 % con agregado de ácido clorhídrico. (Una gota para cada gramo de molibdato). Lavaje en agua destilada renovada por 12 horas. Pasa-je por la serie de alcoholes. Inclusión en parafina.

2º método de Donaggio. — Tiene este método de común, con el anterior, los dos primeros pasajes; después de la inmersión en piridina se lavan los trozos en agua destilada, renovada repetidas veces por 24 horas (teniendo especial cuidado que en el recipiente en que por última vez se inmergen los trozos, no haya vestigio de piridina).

Inmersión en la solución de molibdato ya indicada. (Los trozos deben apoyarse por sus bordes en el fondo del recipiente).

Lavaje en agua destilada—5 á 10 minutos—y ulteriormente los trozos serán tratados cual lo fueron en los pasajes 3 y 4 del método 1º.

Contribuye, aunque no siempre, á producir la imagen más nítida, una ulterior inmersión en la solución común de molibdato, como se hace para las secciones de los trozos tratados á la «Ehrlich-Bethe».

Para lograr con más facilidad los pases necesarios, pueden pegarse las secciones al porta-objeto mediante agua destilada al frío, dejándolas secar de un modo completo. Librados los cortes de la parafina mediante xilol, se pasan al alcohol absoluto, luego alcohol común y agua destilada. (Esta última debe renovarse dos ó tres veces en 5 minutos). Por fin, se inmergen en la solución de molibdato por 15 á 20 minutos. Se lavan con cuidado en agua destilada, cambiada repetidas veces durante los 15 minutos; se pasan por la serie de los alcoholes, luego en xilol y se montan con bálsamo neutro de Grübler.

3er método de Donaggio. Tercer método ó principal. — Sirve para la médula, bulbo, protuberancia, ganglios espinales y simpáticos, para el retículo fibrilar endo-celular y para las fibrillas largas.

Fijación y endurecimiento. — 1. Trozos de un espesor de 5 mm. se inmergen en piridina durante 5 ó 6 días; esta sustancia debe ser cambiada por lo menos una vez.

2. Inmersión en agua destilada, 24 horas (12 horas si los trozos son pequeños). Después de algunas horas se regularizan los bordes de las piezas, reduciéndolas á un grosor de 2 á 3 mm. El agua debe ser cambiada con frecuencia, hasta que los trozos hayan cedido la piridina; este lavaje debe ser hecho con cuidado. Prac-

ticado el lavaje se transportan las piezas á un nuevo recipiente conteniendo agua destilada para quitar todo vestigio de piridina.

3. Inmersión de los trozos por 24 horas en una solución acuosa de molibdato de amonio al 4 % á la que se agrega ácido clorhídrico puro. (Una gota para cada gramo de molibdato). Para que la penetración se verifique, conviene que los pedazos no apoyen sus extensas superficies en el fondo del recipiente, sino sus bordes. Después de 12 horas, es conveniente cambiar de situación á los trozos. (La solución de molibdato debe ser de reciente preparación). Al ser agregado el HCl, se forma un precipitado, que se desvanece agitando el líquido.

En los días calurosos, es necesario añadir el HCl á soluciones más fuertes (8 % de molibdato, por lo menos, porque en verano este ácido no provoca la formación del precipitado en las soluciones débiles) para rebajar luego la solución de molibdato al 4 %. Conviene refrescar la solución antes de agregar el HCl, con agua corriente. El HCl, debe agregarse poco antes de la inmersión de las piezas.

Para conseguir una solución límpida y completa, conviene no reducir á polvo al molibdato, sino colocarlo en fragmentos en el agua y agitarlo; jamás debe emplearse el calor para facilitar la disolución.

4. Previo lavaje en agua renovada una ó dos veces en 2 á 4 minutos, se verifican los comunes pasajes para la inclusión en parafina (alcohol común 6 horas. Absoluto 12 horas; este último se cambia una vez). En la estación calurosa se inmerge en alcohol absoluto solo por una ó dos horas. Luego en xilol por 8 ó 10 horas (renuévase el xilol una vez); xilol y parafina por 6 horas. La parafina á 45° por un tiempo mayor ó menor, según el tamaño del trozo. En la estación calurosa se inmergen las piezas después de haber permanecido en parafina á 45°, en parafina á 50°. Conviene no pasar en la inclusión parafínica la temperatura de 52°.

Coloración. — Las primeras secciones, siendo las peores se tiran. El espesor de las secciones debe ser de 3 á 7 μ . Se adhieren las secciones al porta-objeto con agua destilada y en un mismo vidrio pueden pegarse secciones de un espesor diverso. Se las deja secar al calor y á una temperatura de 35° á 40°; hay que dejar descubiertas las secciones. Con suavidad, utilizando un pincelito mórbido, se pasa sobre las secciones y luego se les transporta al agua. La inmersión de las secciones en el agua debe ser relativamente rápida; salvo casos especiales, no debe pasar de un minuto; por lo común bastan de 15 á 30 segundos y aún menos. La práctica personal precisará estas pequeñas variaciones de tiempo.

Del agua, se pasan las secciones á una solución acuosa de tionina al uno por diez mil. Conviene que la tionina no haya sido preparada desde mucho tiempo atrás; la solución debe hacerse en frío. Hay que asegurarse de que la tionina se haya disuelto; es sabido que la tionina se disuelve difícilmente en agua fría, aún en gran cantidad de agua. La coloración se realiza en frío, sin intervención de una técnica especial y se verifica pasando espontáneamente por diversas fases. Estas fases, para la médula espinal, son: la sección toma un color azulado leve y difuso en las sustancias blanca y gris;

(1ª faz); luego más ó menos lentamente, cambia la coloración haciéndose más intensa en la sustancia gris y asume un tinte vivo violáceo (2ª faz).

Si en este instante se observan las secciones en el microscopio á mediano aumento, se notan las células de la sustancia gris delineadas con un tinte rojo-violáceo, sobre un fondo azul. Permaneciendo las secciones aun en el colorante, se diferencia claramente la sustancia blanca de la gris; la coloración de la sustancia gris toma un tinte violeta rojizo, mientras que la sustancia blanca cede la coloración y no conserva más que un difuso color azulado. En esta faz, la coloración aparece al microscopio, nítida en las fibrillas; el núcleo está completamente descolorido. Es esta la 3ª faz en que el color del preparado alcanza su mejor punto. Las tres fases se suceden más ó menos rápidamente; se realizan más pronto en verano que en invierno; pueden durar desde 3 á 5 minutos hasta 20 y aun 30 minutos. Pero es inútil fijar límite de tiempo; la marcha de las fases es tan evidente, que representa un segundo criterio directivo.

Realizada la coloración pueden seguirse dos procedimientos: *a*) se practican los pases comunes para incluir el preparado en bálamo (Procedimiento *a*); *b*) se pasan nuevamente las secciones al molibdato antes de incluirlas en bálamo (Procedimiento *b*). *Procedimiento a.*) — Se practican los pases comunes para incluir las secciones en bálamo, y estos mismos pases representan un medio para la ulterior diferenciación del retículo fibrilar endocelular.

Desde el color las secciones se pasan al agua destilada por algunos segundos, luego al alcohol común y se realiza una diferencia clara entre las substancias blanca y gris, lo mismo que entre los elementos celulares nerviosos y el tejido restante. Aun en este caso, no puede fijarse límite de tiempo; la inmersión en alcohol común puede durar desde pocos segundos hasta algún minuto. La práctica forma al ojo en la distinción del mejor tono; por lo general una indicación, la dá el hecho de que los cortes no ceden color.

Los cortes pasados á un nuevo alcohol común, deshidratados en alcohol absoluto, aclaradas en xilol, librados del exceso de xilol con papel de filtro, se montan en el porta-objeto utilizando bálamo neutro de Grübler.

Procedimiento b.) — El autor sigue este segundo procedimiento en el mayor número de casos. Pasadas los cortes del agua destilada al alcohol común en el modo indicado para el procedimiento *a*) se pasan de nuevo del alcohol al agua destilada, permaneciendo allí tan solo el tiempo necesario para ceder el alcohol; se cambia dos ó tres veces el agua para que no conserve vestigio de alcohol, pues éste, en contacto con el molibdato enturbia las secciones.

Del agua las secciones se pasan á la solución de molibdato obtenida con el procedimiento ya indicado. En esta solución las secciones permanecen desde 15 hasta 30 minutos; luego son lavadas en agua destilada por 15 á 20 minutos, renovando el agua tres ó cuatro veces, ó mejor pasando las secciones por distintos recipientes conte-

niendo agua destilada. Luego se pasan al alcohol común, al alcohol absoluto, xilol y se montan en bálsamo neutro de Canadá.

Con la práctica se pueden verificar rápidos pasajes del alcohol al agua y viceversa del agua al alcohol, cuando la diferenciación se efectúa lentamente. La diferencia entre ambos procedimientos estriba en que las secciones tratadas por el procedimiento *a*) ofrecen un contraste elegantísimo entre la coloración electiva de la fibrilla violeta rojiza y el fondo de un color azul claro; en *b*) falta el contraste, porque el fondo es de color rosa pero en cambio los hilos se nos aparecen con una nitidez superior.

4º Método de Donaggio. — Sirve para cerebro, cerebelo, retículo fibrilar, endocelular y fibrillas largas.

Se prepara una mezcla uniendo lentamente 72 partes de piridina con 28 partes de una solución acuosa de ácido nítrico al 50 %/o. Es necesario proceder lentamente, porque se desarrollan vapores y excesivo calor. Para ser usado el líquido debe estar frío.

Las piezas de 2 á 3 milímetros se inmergen en dicha mezcla 24 horas; luego se pasan á la piridina pura donde se las deja 36 horas. Se pasan después al agua destilada siguiendo la norma 2ª, 3ª y 4ª del método 3º.

La manera de tratar los cortes es semejante al descrito en el método 3º, exceptuando las diferencias siguientes:

Para la corteza cerebral es preferible pegar los cortes al portaobjeto con agua destilada fría en lugar del calor (algunos cortes podrán pegarse al calor). Para otras regiones, en particular para el cerebelo, conviene usar dos series de secciones, unas pegadas con calor y otras al frío. Después de la coloración de las secciones, debe preferirse en los ulteriores pases, el procedimiento *b*, del método 3º ó sea la inmersión de las secciones en molibdato, con esta particularidad para la corteza cerebelosa y cerebral, que el paso del agua al alcohol y de éste nuevamente al agua, debe ser rápido, más de lo que lo fué en el método 3º; para la protuberancia, bulbo y médula rigen las mismas reglas que en el 3er método. Para las observaciones utilízase la luz muy viva. Si la diferenciación es incompleta, el núcleo puede presentar una leve coloración y puede hallarse una banda clara entre la periferia del núcleo, y lo que Donaggio ha llamado círculo perinuclear, ó sea el retículo dentro alrededor del núcleo. El tejido restante adopta una débil coloración azul pálida (procedimiento *a*) completamente diferente de la coloración de la fibrilla ó un color rosado (procedimiento *b*).

5º Método de Donaggio. — Sirve para el retículo fibrilar endocelular, fibrillas largas, gránulos, medula, bulbo, protuberancia y núcleos grises del cerebelo y ganglios.

Fijación de trozos de 2 á 3 mm. en sublimado por 24 horas. Tratamiento con agua yódica obtenida vertiendo 15 gotas de tintura de yodo en 100 cc. de agua destilada. Se dejará actuar el agua yódica durante 24 horas, mudándola cuando decolora; las piezas deben apoyarse por sus bordes en el fondo del recipiente.

Lavaje de 2 á 3 horas en agua destilada; luego en piridina por 48

horas. (Cambio de la piridina á las 24 horas). Practicada la inmersión en piridina, los pases sucesivos son idénticos á los señalados en el 3^{er} método. A partir del pase 2 ó sea inmersión en agua destilada, etc., hasta el 3 y el 4 y aun para la coloración de las secciones, se procede de la misma manera que la indicada en el método 3^o con algunas diferencias, debidas á la coloración de los gránulos. En las secciones sumergidas en tionina, se obtiene primero, un color azulado leve y difuso; obsérvase una acentuación del color en los núcleos neuróglícos y una leve coloración de los gránulos; esta se hace más visible mientras se vá colorando el tejido que lo circunda y el retículo fibrilar los que comienzan á tener un color rosáceo. Mientras tanto se diferencia la sustancia gris de la blanca y más tarde fibrillas y gránulos se presentan coloreados; los gránulos tienen un tinte azul claro y las fibrillas un tinte violeta rojizo, de manera que presentan un contraste visible. En este punto si se dejan los cortes en el colorante, los gránulos empaliden hasta decolorarse mientras que las fibrillas poseen siempre un tinte rosa.

Para fijar la coloración en el punto en que los colores subsistan á un tiempo, se vigila el momento en que la sustancia gris empieza á diferenciarse de la blanca, observando las secciones al microscopio. La faz útil de coloración contemporánea es más bien larga y fácilmente precisable. Ocurrida la coloración, las secciones deben ulteriormente ser tratadas según el procedimiento *a*, del método 3^o. Si se desea obtener la coloración aislada, aunque no completa del retículo fibrilar endocelular y de las fibrillas largas, se continúa la inmersión de los cortes en el color, hasta la decoloración de los gránulos y se tratan según el procedimiento *b*, del método 3^o.

6^o Método de Donaggio.—Donaggio no recomienda á su 6^o método.

7^o Método de Donaggio.—Sirve para el retículo pericelular de todo el eje cerebro-espinal.

1. Fijación y endurecimiento de las piezas de 2 á 3 mm. en sublimado Heidenhaim por 24 horas. Agua yódica (como en el método 5^o) por 24 horas. Agua destilada por 2 á 3 horas.

2. Pase á la piridina por 36 á 48 horas (la piridina debe cambiarse por lo menos una vez).

3. Lavado con agua destilada por 24 horas (el agua se cambia varias veces; conviene regularizar con una navaja las irregularidades de las piezas); inmersión en la solución de molibdato (al 4 0/0 con agregado de una gota de HCl para cada gramo de molibdato), por 24 horas.

4. Lavado en agua destilada por 30 minutos á una hora y nuevo pase á la piridina de 36 á 48 horas (cambiándola una vez).

5. Coloración en solución acuosa de tionina al 1 por 10.000 ó 15.000 durante 24 horas; las piezas no deben tocar el fondo, sino que deben suspenderse en el líquido colorante; se pegan con parafina á un pedazo de corcho, rápidamente porque la parafina se evapora (se vuelven á poner en piridina y luego al calor); después de 24 horas se renueva la sustancia colorante.

6. Los trozos aun adheridos al corcho se inmergen en la ya indicada solución de molibdato durante 24 horas.

7. Lavado en agua destilada, renovada varias veces por 24 horas y pase en la serie de los alcoholes (donde parte del color es cedido), luego el xilol para la inclusión en parafina.

Las secciones de 5 á 15 μ , según los fines deseados, se libran de la parafina y se montan en bálsamo.

Si el trozo es delgado, la coloración se verifica aún en las partes profundas. A veces en las primeras secciones se observa una coloración difusa, pero bien pronto se localiza en el retículo pericelular. Las células de los ganglios espinales no presentan retículo pericelular; con el método 6º permanecen descoloridas; con el método 7º presentan coloración del retículo endocelular.

Con el método 7º, en las células de la médula espinal, especialmente del perro, se observa, aunque no en todos los elementos, la presencia en el interior de cada malla de la red pericelular, de aquel aparato ó red constituido por finísimos hilos irradiantes de la masa central que descubrió Donaggio en 1901 dándole el nombre de «raggiera».

8º *Método de Donaggio*. — Sirve para la coloración contemporánea del retículo endocelular de las fibrillas largas y del retículo pericelular.

Sirve para la médula y el bulbo. El autor tiene aún poca práctica en este método. Puede emplearse tanto para la coloración del retículo endocelular, como para el pericelular.

a) Para la coloración del retículo endocelular se aplica el método 3º hasta el momento en que los trozos deberían ser pasados al alcohol para la inclusión. En lugar de pasarlos al alcohol, se inmergen de nuevo en piridina por 2 días (la piridina debe cambiarse después de un día).

Luego, adheridas las piezas al corcho, se coloran de nuevo en la solución de tionina al 1 por 10.000 ó 15.000 por dos días (después de un día se cambia la sustancia colorante). De la solución de tionina donde se ha efectuado la coloración del retículo pericelular, se pasan á la ya indicada solución de molibdato por 24 horas; luego al agua destilada, cambiada varias veces, de 12 á 24 horas; por la serie de los alcoholes, xilol y parafina. Quitada la parafina á las secciones, se mantienen en bálsamo neutro con cubre-objeto. Si se quiere obrar ulteriormente sobre las secciones con el molibdato, se adhieren estas al porta-objeto con agua destilada y se procede como está descrito en otra parte.

b) Si el método se inicia con la coloración del retículo pericelular, se aplica el método 7º hasta el punto en que los trozos son lavados antes de la inmersión en el alcohol. Este lavaje indicado en el N° 7 del método 7º debe reducirse á 5 ó 10 minutos; luego las piezas suspendidas de un fragmento de corcho se coloran en la solución de tionina por 2 días (cambiando la solución después de un día); se inmergen luego en la solución de molibdato durante un día, después lavado en agua destilada, frecuentemente renovada por un día; deshidratación por los alcoholes, xilol y parafina. Para las secciones se procede como se indicó antes.

Coloración de los cilindro-ejes. — Los procedimientos á usarse son

iguales á los usados para evidenciar el retículo fibrilar endocelular. La coloración de los cilindraxos en los centros nerviosos, resulta con los preparados según los métodos 3º y 5º; ellos son netamente diferenciados y presentan una estructura fibrilar. La coloración de los cilindro-eyes en los nervios, se obtiene igualmente con la coloración de los cortes según el método 3º y 5º.

Los cortes se adhieren al porta-objeto.

La coloración completa según el método 2º da resultados, pero la coloración es incompleta y desigual, por lo tanto es preferible dar el color á las secciones. El mejor material se obtiene de la médula espinal de perros y conejos.

Terminaciones nerviosas. — *Placa motriz terminal de Rouget.*

— Los elementos musculares, bajo la acción ó estímulo nervioso, cumplen su actividad específica, esto es, se contraen. Veamos el elenco de los aparatos con que los nervios distribuyen sus elementos terminales en los músculos.

La clásica *placa motriz* terminal de Rouget era, hasta estos últimos años, la única descrita; hoy ha aumentado el número de aparatos nerviosos terminales conocidos con la aplicación de delicados métodos de investigaciones histológicas. Al músculo llegan fibras nerviosas motoras, sensitivas y sensitivo-motoras. Las últimas son los representantes anatómicos del órgano del sentido muscular. Los nervios penetran en los músculos, se ramifican dando lugar á fibras cada vez más finas, atraviesan el perimysio, recorren el endomysio y por fin llega á cada fibra muscular estriada una fibrilla nerviosa la que en correspondencia ó en su punto de encuentro forma la terminación motriz.

Apathy sostiene que la placa nerviosa terminal, corresponde al punto de llegada de la fibrilla nerviosa al músculo y que de ella parten otras finísimas fibrillas nerviosas que forman la verdadera red nerviosa periférica terminal. Ruffini creyó confirmada la teoría de Apathy, pues demostró que de algunas placas nerviosas partía una fibrilla, que llamó *ultra terminal*. La *placa motriz terminal* es propia de los mamíferos, aves, reptiles y peces, siendo distinta su forma en los diversos animales. Cada fibra muscular está en relación con una fibra nerviosa y en el punto de penetración de ésta, en aquélla se halla la *placa motriz terminal*; en el campo del microscopio puede presentarse la *placa motriz* de plano, inclinada ó perfilada.

KOLLIKER sostenía que la *placa motriz* se halla dispuesta por fuera del sarcolema (*epilema*); ROUGET y otros al contrario, establecen que la arborización terminal del nervio, ó sea la *placa*, se halla situada debajo del sarcolema (*hipolema*) en una fosita excavada en la propia sustancia muscular.

Antes de llegar á la fibra muscular, el tubo nervioso, grueso por lo común, pierde la mielina, luego se despoja de la vaina de Schwann y la vaina de Henle se expande sobre la fibra muscular; la fibra después de ofrecer un cuello muy angosto, designado *cuello preterminal*, se ramifica engendrando un grupo de ramas cortas, espesas, nacidas comúnmente en ángulos muy abiertos.

De esta arborización las subdivisiones que son finas en su comienzo, se presentan luego cual expansiones achatadas, irregulares, que se mantienen esparcidas en un espacio limitado, en medio de una sustancia granulosa y encerrando tres clases de núcleos, provenientes: de la vaina de Henle, continuación de la Schwann y los últimos de la misma sustancia granulosa. Antes de un completo desarrollo, la placa motriz tiene el aspecto y forma de un grano de cebada.

Material de estudio. Métodos de elección.—(Véase huso neuro-muscular).—Aparato reticular en la fibra muscular estriada. Se ha comprobado que el cilindro-eje está formado por un agregado de fibrillas de sorprendente finura, que Apathy llamó neuro-fibrillas.

Apathy sostiene que las fibras nerviosas no terminan en la superficie de las fibras musculares, sino que sus divisiones penetran en el espesor de la misma fibra y dan lugar á la formación de una red de mallas poligonales, constituida por neuro-fibrillas. Esto lo comprobó solo en pocos invertebrados. (Método de Apathy).

Si en las fibras musculares estriadas existe un aparato reticular, pero no de sustancia nerviosa, constituido por filamentos entre sí anastomosados, puesto de manifiesto por la reacción negra de Golgi, semejante al aparato reticular que este autor descubrió en las células nerviosas. Tal aparato está situado en el sarcoplasma, en los intersticios entre las columnitas musculares, formando una serie de retículos planos transversales, reunidos por filamentos longitudinales. Fué estudiado por VERATTI, CAJAL, FUSARI y SÁNCHEZ, pero no existen hipótesis fundadas acerca de su significado funcional.

Método de estudio.—Reacción negra: inclusión en parafina.

Método de Apathy.—*Coloración de las neuro-fibrillas.*—Muy inconstante este método, solo da resultado en los invertebrados. (Lumbricus, Aulastoma, Hirudo, Cangrejo, etc.) Los trozos deben ser tan pequeños como sea posible. (A lo sumo de un espesor de 3 á 4 milímetros).

Debe emplearse el cloruro de oro amarillo y debe usarse mientras siga amarilla la solución (1 ‰); si palidece se añade más solución y de ésta, debe emplearse, por lo menos, 10 veces el volumen del objeto.

Coloración en fresco (pro-aurificación).—Trozos pequeños de tejido fresco se inmergen por 2 horas (por lo menos) en una solución de cloruro de oro amarillo al 1 ‰. Sin lavaje previo, se pasan las piezas á una solución de ácido fórmico al 1 ‰ durante 24 horas. Al colocarlas en esta solución se exponen directamente al sol de manera que dé por todas partes. Si al cabo de una hora el líquido se ha oscurecido y por lo tanto absorbe luz debe mudarse, teniendo cuidado de mover el trozo. Puede lavarse ó no en agua.

Inclusión en goma ó en glicerina concentrada. (Al efectuar la reducción del oro á la acción de la luz, conviene poner por detrás del tubo que contiene la solución, un reflector cualquiera, p. ej.: una hoja de papel.

DORADO PREVIA FIJACIÓN (Port-aurificación).—Fijación en sublimado 8 á 12 horas, ó en alcohol sublimado por 16 á 24 horas.

Eliminación del sublimado por el procedimiento ordinario (alcohol yodado) durante 6 á 8 horas renovando el líquido.

Alcohol absoluto hasta el siguiente día.

Nueva eliminación del sublimado en solución alcohólica (absoluto) de yodo ó yoduro de potasio. (Yoduro potasio, 5 gr. Yodo, 2 gr. 50 cent. Alcohol abs., 500 gr.)

El trozo debe quedar amarillo.

Eliminación del yodo por el alcohol absoluto.

Inclusión en parafina (con cloroformo) ó en celoidina.

Pegados los cortes al porta-objetos se ponen en agua destilada donde permanecerán á lo sumo 6 horas; ó bien, lavados en agua, inmersión por un minuto en la solución de ácido fórmico y lavar otra vez en agua.

Acción del cloruro de oro por 24 horas.

Lavaje rápido en agua destilada.

Inmersión de los cortes en la solución de ácido fórmico.

Exposición directa de las piezas al sol, con una iluminación tan potente como sea posible y á temperatura baja.

A las 24 horas se quita el precipitado de oro del cristal; se lava rápidamente en agua y se monta en bálsamo, glicerina ó goma.

Husos neuro-muscular. — Fueron por vez primera descritos por KERSCHNER y RUFFINI.

Los husos neuro-musculares están formados por fibras nerviosas y musculares y son aparatos nerviosos terminales, sensitivo-motores. En los réptiles forma el huso una sola fibra y en los anfibios, aves y mamíferos está constituido por un fascículo de fibras musculares. Llegan al huso neuro-muscular diversas fibras nerviosas, que pierden primero su vaina de Henle la que se adosa é incorpora á la vaina del huso; luego abandonan la mielina y hasta la membrana de Schwann, desparramándose solo el cilindro-eje en una extensión grande de la fibra muscular, que suele ser más delgada que las comunes; la grande extensión que ocupa el elemento nervioso en la fibra ó en los manojos de fibras, ponen de manifiesto el predominio nervioso sobre el muscular. En el huso neuro-muscular se ven terminaciones sensitivas en forma de gruesos anillos, irregularmente apilados, de color intenso, ó bien formando espiras ó ramas tortuosas y variadas semejante á flores: son las *terminaciones florales de Ruffini*.

A veces una fibra llamada ultra-terminal sale de una placa motriz terminal y va á formar el *huso neuro-muscular*. Los husos neuro-musculares son, con toda probabilidad, los órganos del sentido muscular y funcionan como dinamómetros isotónicos, esto es, indican á los centros el grado de contracción activa del músculo ó sino el de relajación intensa efecto de la acción del músculo antagonico.

Material de estudio. — Lagartijas, Lagartos, Caimanes, Cocodrilos.

Método de elección. — Método de Ruffini. Método de Ehrlich. Impregnación argéntica de Cajal.

Corpúsculos de Golgi. — En la zona de transición entre músculos y tendones, Golgi descubrió terminaciones sensitivas que deno-

minó órganos músculo-tendinosos conocidos comúnmente con el nombre de corpúsculos de Golgi.

Los corpúsculos de Golgi son fusiformes ó cilíndricos dando inserción por una de sus extremidades á varias fibras musculares y continuándose con la otra entre los fascículos tendinosos. Tienen desde 70 hasta 120 μ de ancho y una longitud que oscila entre 300 y 800 micromilímetros. Llegan y penetran en el corpúsculo una, dos ó más fibras nerviosas y lo hacen por una de sus extremidades ó bien por un costado del pequeño órgano. La vaina de Henle, en la proximidad del órgano, se expande á la manera de un embudo, lo envuelve y se confunde con él, pues el órgano músculo tendinoso, tratado con nitrato de plata, deja ver un revestimiento endotelial de células poligonales con un núcleo oval.

Las fibras nerviosas al penetrar en el corpúsculo, se mantienen durante algún trayecto meduladas, originando ramas de segundo y tercer orden; luego pierden su vaina mielínica y el desnudo cilinderaxis al llegar á la periferia mediante múltiples subdivisiones constituye finas redes ó plexos; dichas redes se mantienen aisladas ó se entremezclan las unas con las otras.

Ruffini ha encontrado en los órganos músculo-tendinosos, corpúsculos de Pacini modificados, terminando algunas fibras nerviosas. Los corpúsculos de Golgi funcionan como dinamómetros isométricos, esto es, miden la tensión muscular y Catáneo demostró experimentalmente que son fibras sensitivas las que inervan estos corpúsculos; seccionando las raíces posteriores de los nervios espinales degeneran estos órganos, mientras que se mantienen inalterados con la sola sección de las raíces anteriores.

Técnica de su preparación. — Material de estudio.—Músculos rectos y oblicuos del globo ocular, con porción tendinosa.—Método de Ruffini.

MÉTODO DE RUFFINI PARA TERMINACIONES NERVIOSAS EN LOS MÚSCULOS.—Procúrense lagartijas, lagartos, caimanes ó cocodrilos. Extraídas las vísceras y sacado el cuero se cortan en pequeños trozos.

I. Trozos de tejido, de 3 á 5mm de espesor se inmergen en una solución de ácido fórmico puro (20 B°) al 25 o/o. Según el tamaño, deberán permanecer de 10 á 15 minutos.

La inmersión de los trozos deberá hacerse de una sola vez y durante la permanencia en la solución conviene separar los tejidos usando al efecto dos agujas para facilitar y ayudar la penetración del líquido en los tejidos. El líquido no deberá usarse en cantidad excesiva.

II. Se retiran á un tiempo los pedazos de tejidos de la solución ácida y se depositan sobre un pedazo de tela limpia, plegada en cuatro y se cubren con un ángulo de la misma tela, de manera que abandonen, lo más que sea posible, la solución de que estaban impregnados.

III. Se pasan después á una solución de cloruro de oro al 1 por 100. También en este caso, el líquido no debe usarse en cantidad excedente y los trozos deben agitarse con frecuencia. Evítese en

absoluto tocar los trozos con instrumentos de fierro; es necesario disponer de pinzas de hueso ó mejor aun de marfil. Durante la inmersión en esta solución áurica, es preferible cubrir el recipiente que contiene los tejidos con una campanilla de vidrio de color oscuro. Deben permanecer allí á lo sumo 20 minutos. Se extraen luego los fragmentos de tejidos, utilizando en este caso pinzas de hueso y se trazan como en el 2º tiempo.

IV. Pasar los tejidos á una solución de ácido fórmico al 25 %/o. El líquido debe sobrepasar solo de algunos milímetros la superficie de la masa de los trozos. La cápsula en la cual se vuelven á colocar, debe poseer una tapa esmerilada. En esta solución deberán permanecer 24 horas en la obscuridad más absoluta.

V. Transcurrido este tiempo, los trozos se tratan como en el segundo tiempo y se pasan á la glicerina purísima. Allí se dejan por lo menos 8 días, teniendo el frasquito sobre la mesa de trabajo ó en otro sitio, pero expuesto á la acción de la luz.

Después de haber permanecido los tejidos 24 horas en glicerina, pueden hacerse preparados; pero es conveniente dejarlos un tiempo mayor.

En la glicerina los trozos pueden permanecer meses y años y esto siempre á favor de la nitidez del preparado.

Terminaciones nerviosas en los pelos.—*Pelos tactiles.*—La especie humana está desprovista de pelos tactiles, cual órganos diferenciados aptos para la percepción táctil, como se observan en diversos mamíferos (rata, gato, conejo, etc.).

Los pelos tactiles poseen una innervación abundante, cuyas fibras proceden del plexo sub-papilar. Por lo general llegan á dichos pelos diversas fibrillas en un haz común y debajo de la glándula sebácea rodean al fólículo formando un anillo nervioso, desde donde parten numerosas fibrillas longitudinales que terminan en unos corpúsculos especiales situados debajo del bulbo. Se denominan corpúsculos de Merkel ó meniscos tactiles, terminaciones nerviosas en forma de copa que están en relación con las células de Merkel, corpúsculos claros, grandes, en que los meniscos á semejanza de un cáliz abrazan la porción inferior. Los meniscos tactiles están formados por ricas redes de filamentos nerviosos finos y delicados.

Los corpúsculos de Merkel de los mamíferos son numerosos en la vaina externa de la raíz de los pelos tactiles.

Pelos humanos.—Las arborizaciones terminales nerviosas en los pelos humanos, no han sido bien estudiadas. Solo TELLO, aplicando el método de Cajal al estudio de las pestañas humanas, ha observado que estas presentan debajo de la glándula sebácea una porción estrecha, donde van á terminar las fibras nerviosas que llegan á ellas procedentes del plexo subpapilar. Diversos troncos nerviosos, de uno á cinco, abordan el estrangulamiento de la pestaña y allí forman un anillo nervioso, de donde parten fibrillas que terminan, ya arborizadas, ya formando collar ó anillo, ó bien en una masa ú oவில்lo colocada al lado del pelo en cuyo interior existe un fino plexo nervioso y que se denomina corpúsculo lateral.

Material de estudio. — Hocico de rata. — Pestañas humanas.

Método de elección. — Insuficientes los métodos del cloruro de oro y azul de metileno para la preparación de las finas redes constitutivas de los meniscos táctiles se recurre á la impregnación argéntica de Cajal.

Corpúsculos de Vater-Pacini. — Hacia la misma época é independientemente el uno del otro, Vater en Alemania y Pacini en Italia, estudiaron estas terminaciones nerviosas: de allí el nombre de Corpúsculos de Vater-Pacini.

En las aves, adosada á la cara posterior del espacio interóseo tibio-peroneo, se encuentra una cinta blanco-anacarada, angosta, pero de varios centímetros de longitud, que está constituida por un verdadero rosario de estos órganos, que allí toman el nombre de Corpúsculos de Herbst.

En el meso-recto del gato existen á la manera de un racimo, un grupo formado por 10 ó 15 de estas terminaciones; se hallan también en el tejido conjuntivo del páncreas del mismo animal.

En el hombre hallamos corpúsculos de Pacini en la parte inferior del dermis, en el tejido conjuntivo de la palma de la mano; en el periostio, desparramados á lo largo de los vasos, en la dura madre, en el clítoris de la mujer y en otros tejidos.

Los corpúsculos de Pacini son de forma oval alargada, de aspecto anacarado y constan de dos porciones distintas: la fibra nerviosa y su involucro. La fibra nerviosa penetra en una extremidad del eje mayor del corpúsculo, atraviesa sus membranas envolventes sufriendo diversas curvas y luego se dirige en línea recta pasando más allá del centro y termina en un ensanchamiento á la manera de una clava ó botón. Rodeando la fibra nerviosa en su porción central, se halla un estrato de células con núcleo oval, difícilmente coloreables.

La porción exterior, protectora, es laminar y está formada por una multitud de laminillas conjuntivas dispuestas concéntricamente y en cuya cara interna se aplica un endotelio, conteniendo entre las diversas cápsulas superpuestas un líquido claro, seroso, que se derrama al rasgarse el involucro, dejando al corpúsculo arrugado y contraído.

Retzius ha observado de una manera especial de terminación de la fibra nerviosa en el corpúsculo; en la porción intra-capsular, dicha fibra enviaba diversas propagaciones laterales constituidas por delgados filamentos que llevaban en el extremo un botoncito semejante á la cabeza de un alfiler. Los corpúsculos de Pacini son visibles á simple vista, pues miden desde un milímetro de largo los más grandes hasta 60 μ los pequeños.

DOGIEL halló en el pico del pato y ganso unos corpúsculos de Pacini, en que la fibra nerviosa apenas entrada en la porción central, se divide en dos ó tres ramas que se separan y recorren aisladamente para terminar en un engrosamiento ó botón. En otros corpúsculos se vió que junto á la fibra nerviosa central se insinúa otra fibra también nerviosa, que tras un breve recorrido rectilíneo, casi paralelo á

la fibra central, envía finísimas prolongaciones envolviendo en un plexo más ó menos complicado al eje central. (1)

TÉCNICA DE SU PREPARACIÓN. — *Material de estudio.* — Corpúsculos de Herbst del pollo — Meso-recto del gato — Piel de las extremidades falángicas.

Métodos á usar. — Ruffini — Cajal — Reazione nera — Inyecciones endo-arteriales con soluciones saturadas de azul de metileno, etc.

Corpúsculos de Krause. — Los corpúsculos de Krause son terminaciones nerviosas periféricas, más simples y menos voluminosas que los corpúsculos pacinianos y se los halla en la conjuntiva y en los órganos genitales externos. Obsérvanse dos variedades: *a*) una simple, formada por una cápsula ovoidea conjuntiva, llevando una masa granulosa interior y en su centro existe una fibra nerviosa desnuda de sus capas de revestimiento que termina libre, llevando una dilatación ó espesamiento en su porción terminal; *b*) una compleja, que abunda en los órganos genitales externos, cuya fibra nerviosa aferente una vez llegada á la materia granulosa central, se dicotomiza y ramifica abundantemente terminando sus finas ramas con extremidades libres y engrosadas.

Material de estudio. — Conjuntiva y piel de los órganos genitales. (Prepucio de niño).

Métodos. — Análogos á los corpúsculos de Pacini.

Método de Ehrlich. — El método de Ehrlich da resultados excelentes en la coloración del sistema nervioso periférico; da una idea de conjunto de las terminaciones periféricas. Poco puede usarse para el estudio del sistema nervioso central el método al azul de metileno, á causa de que la impregnación sólo se verifica en las capas superficiales.

TÉCNICA DE LAS PREPARACIONES. — Úsese azul de metileno (Gübler) que lleva escrito en el rótulo «n. Ehrlich»; se pesa un gramo de esta substancia. En un matraz de vidrio, sobre una tela metálica, se calientan 200 gramos de agua destilada á la que se añade 1 gramo 40 centigramos de sal común; se agita el matraz de tarde en tarde hasta su disolución completa. (Solución fisiológica de cloruro de sodio al 7 ‰). El agua no debe hervir, sino que á la temperatura de 60° á 65° se añade el gramo de azul de metileno; se agita, calentándolo suavemente hasta su completa disolución. Se retira de la llama y se cubre el matraz con un tapón de algodón.

Si se calienta mucho la solución se pone violeta y si la dilución se verificó en frío, se precipita el azul á los pocos días, lo que ocurre también, si es muy viejo el azul. Llegamos, pues, á obtener la fórmula siguiente:

(1) No está aún determinada la función de los corpúsculos de Pacini; se le atribuye la de receptor térmico.

Solución fisiológica de cloruro de sodio 7 ‰ 200 gramos.
Azul de metileno (nach Ehrlich)..... I »

Es esta la llamada solución fundamental.

Tomando 20 cc. de la mencionada solución, podremos, añadiendo las cantidades de solución fisiológica de cloruro de sodio más abajo indicadas, obtener diluciones de la solución fundamental.

$\frac{1}{2}$ Solución fundamental 20 cc.

Es esta la solución utilizada para inyecciones en los mamíferos. Luego podremos obtener:

	$\frac{1}{4}$	40 cc.
	$\frac{1}{8}$	80 cc.
	$\frac{1}{12}$	120 cc.
La solución	$\frac{1}{12}$ es la usada en inyecciones en ranas.	
	$\frac{1}{15}$	150 cc.
La solución	$\frac{1}{15}$ es usada para preparar terminaciones nerviosas.	
	$\frac{1}{20}$	200 cc.
	$\frac{1}{100}$	1000 cc.

Preparada la solución fundamental, se la deja 24 horas y sino se forman en ella precipitados, se preparan con ella otras diluciones $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$, $\frac{1}{12}$, $\frac{1}{15}$, etc.

La fijación de las piezas se verifica en una solución acuosa de molibdato de amoníaco del 5 al 8 ‰. Preferible 6 á 7 ‰ en las ranas y mamíferos.

Aplicación de los métodos á diversos animales. — *Ranas.* (Preparación de las terminaciones nerviosas en los músculos). Vivas ó con destrucción de la médula, se las clava por sus extremidades en una plancha de corcho, por el dorso. Se practica un ojal en la piel de 3 á 4 mm. sobre el pubis, entre los pliegues de flexión del muslo sobre el abdomen. Mediante una jeringa se inyecta por el ojal abierto debajo de la piel hacia el abdomen de uno y otro lado y luego hacia ambas extremidades, la solución de azul expofeso preparada, de manera que quede, por así decirlo, embolsada la mayor cantidad de líquido que inyectarse pueda. Una parte de la solución refluirá por el ojal.

Para las ranas y animales de sangre fría la solución usada es de $\frac{1}{12}$, esto es, á 20 cc. de la solución fundamental se añaden 100 cc. de solución fisiológica (cloruro de sodio) al 7 ‰.

Verificada la inyección del colorante se deja á la rana así por 20 ó 25 minutos. Luego se procede á levantar la piel del muslo, se secciona por ambas inserciones, al sartorio, se disecciona este músculo por ser el más cómodo, se lleva sobre un porta al microscopio, para observar si la coloración llegó á su verdadero punto, siendo coloreados los filetes nerviosos y las terminaciones nerviosas.

Se preparan luego, colgajos diversos de músculos que sean delgados y se van colocando en una cápsula de porcelana conteniendo:

Molibdato de amoníaco al 6 ‰ (solución acuosa). Allí se dejan 24

horas. Después se procede á un lavaje con agua corriente durante dos horas. Se colocan los cortes entre dos portas, aplastándolos suavemente y se observan al microscopio; si ellos son gruesos, con una tijera curva se adelgazan levantándoles colgajos pequeños.

Se inmerge en alcohol fuerte, que se renueva durante 20 minutos (si débil se destiñe el preparado).

Xilol. Resina Damar. Cubre-objeto.

Verme. (Preparación del sistema nervioso).—Animal de estudio: *Ascaris megalocéfalo*. (Huésped parasitario del intestino del caballo). Utilizando una aguja fina, con una jeringa Pravaz, se inyecta desde la cabeza en la cavidad del cuerpo, hasta llenarle completamente, las disoluciones siguientes de azul de metileno:

$$\frac{1}{20} \text{ o/o} \quad \frac{1}{50} \text{ o/o} \quad \frac{1}{100} \text{ o/o}$$

ó bien se inyecta en el sistema excretor las soluciones:

$$\frac{1}{2} \quad \frac{1}{8} \quad \frac{1}{10}$$

El líquido inyectado ó sustancia colorante, debe tener una temperatura de 37° y que esté vivo el áscaris. Practicada la inyección, se coloca al verme en el termóstato á 37° dejándolo allí, en el caso de la inyección en la cavidad 1, 2 ó 3 horas y cuando fué inyectado el conducto excretor, de 2 á 5 horas. En el interior del termóstato debe existir vapor de agua para que se conserve el ascáride con vida y con tal fin se abandona un algodón empapado en solución fisiológica (cloruro de sodio 7 o/o) ó bien se inmerge en esta solución al verme, pues sin agua no vive.

Se lo corta en pequeños trozos, de un centímetro de longitud y de un espesor muy reducido.

Se fija en molibdato de amoníaco 6 ó 7 o/o durante 24 horas.

Se lava en agua destilada por 2 ó 3 horas.

Alcohol absoluto. Xilol. Resina Damar.

Se aplasta el preparado y se lo conserva entre dos cubre-objetos.

Mamíferos. Se inyecta la solución fundamental en una vena (yugular interna) ó por las gruesas arterias que marchan é irrigan la región á estudiarse.

En la preparación de la retina, se la expande luego de practicada la inyección en su totalidad y así se la conserva. (Véase retina).

Para la preparación de los plexos nerviosos de un asa intestinal, se inyectará la sustancia colorante en la aorta torácica hacia abajo, en cantidad suficiente para dar al intestino un tinte azul de mediana intensidad; se separan las asas y se las coloca en una cámara húmeda expuesta al aire.

Órganos del tacto. Corpúsculos de Meissner.—Los corpúsculos de Meissner son los órganos esenciales del tacto; fueron descubiertos en 1852 por Meissner. Estos corpúsculos son peculiares del hombre y de los monos. Su forma es oval, muy alargada y presenta estrías gruesas transversales formadas por largos núcleos dispuestos perpendicularmente al eje de la papila. Su longitud oscila entre 60 y 200 μ ; su ancho de 20 á 60 μ .

El dermis presenta dos categorías de papilas ó elevaciones irregularmente cónicas: las vasculares y las nerviosas. Estas últimas son las poseedoras de estos corpúsculos que se mantienen ocupando su cúspide ó vértice y son muy numerosas en la yema de los dedos formando las líneas papilares; de allí la sensibilidad exquisita del tacto en esta región. La fibra nerviosa antes de penetrar en el corpúsculo pierde sus vainas mielínica y de Schwann; pero á veces, conservándose medulada lo penetra, da varios giros y entonces se despoja de sus túnicas, se ramifica su cilinderaxis terminando, según unos, en finas extremidades libres, ó en las células del corpúsculo según otros.

Los corpúsculos de Meissner pueden estar constituidos por un sólo lóbulo y son simples ó están formados por dos ó más lóbulos, semejantes entre sí. A los simples inerva una sola fibra nerviosa y dos ó más reciben los compuestos.

Material de estudio.—Piel de la yema de los dedos, humana ó de monos.

Método de elección.—Método de Ruffini.

Organo del gusto.—**Cálices gustativos.**—El órgano del gusto está constituido por los botones ó cálices gustativos. Denominanse papilas de la lengua, las prominencias de diversas formas, que presenta la superficie libre de la mucosa lingual. Tres son las especies de papilas que existen en el hombre, diferentes en su volumen y que por su forma toman el nombre de filiformes, fungiformes y caliciformes. Merecen también ser citadas las papilas foliáceas, consistentes en una serie de ocho ó diez repliegues transversales, perpendiculares al borde de la lengua y situadas delante del pilar anterior, en la extremidad de la V lingual.

Los aparatos terminales de los nervios gustativos, esto es, los botones ó gemas gustativas, residen especialmente en la superficie de la lengua, en las papilas caliciformes y son escasas en las fungiformes; se les halla también en el paladar blando, próximos á la uvula y en la epiglotis. Existe en algunos animales, especialmente en el conejo, un órgano particular, que es asiento de un gran número de botones gustativos; es la papila foliácea.

La papila foliácea del conejo está situada en el margen lateral de la cara posterior de la lengua, á la altura de los últimos grandes molares. En estado fresco no es muy visible y aparente; pero es puesta de relieve, dejando caer sobre ella un fino chorro de agua y sobre todo, después de haber permanecido en los líquidos fijadores. La papila foliácea del conejo tiene la forma de un óvalo, cuyo gran diámetro, que es antero posterior, mide nueve milímetros de extensión y el pequeño transversal, cuatro. Dicho óvalo presenta, á la manera de las cuerdas de una lira ó harpa, unos veinte repliegues paralelos, transversalmente colocados.

La lengua es inervada por el nervio lingual, rama del trigémino y el glosio-faríngeo; hállanse en su trayecto células nerviosas aisladas ó reunidas en pequeños ganglios, cuyo número aumenta en las finas terminaciones. Hacia atrás de la papila foliácea se advierte aún á simple vista, abundante arborización sanguínea y ramas nerviosas,

que entran ó salen de este órgano. Los botones, cálices, cebollas ó cuerpos gustativos son órganos de naturaleza nerviosa.

Ramas del glosó-faríngeo terminan en numerosos fascículos de fibras, debajo del epitelio, constituyendo tupidos plexos nerviosos, uniéndose con fascículos laterales que se le incorporan; de estos plexos se destacan las fibrillas destinadas al epitelio y á los cálices gustativos.

Los botones ó cálices gustativos son de forma ovoidea, ocupan las partes laterales de la papila y su extremo llega á la superficie libre; allí el epitelio deja de ser continuo, se interrumpe, formando el llamado poro gustativo.

El poro gustativo es una depresión circundada de cilios ó pestañas. Concurren á la formación de los botones gustativos dos clases de células epiteliales: las células de sostén y las células ciliadas ó neuro-epiteliales. Las células ciliadas ó neuro epiteliales son fusiformes, su núcleo es relativamente grande; sus extremos protoplasmáticos son adelgazados y las extremidades periféricas de todas ellas forman con su punta las pestañas del poro gustativo. Estos elementos en su porción profunda, suelen ser bifurcados y se hallan en relación con una fibra nerviosa. Comparación acertada fué la que se estableció entre un botón ó cáliz gustativo y una cebolla; reproduce esta hortaliza la forma y estructura de cada cáliz, visto en el microscopio.

Es la papila foliácea del conejo que sirve para la preparación histológica de los botones ó cálices gustativos.

Preparación de los cálices gustativos. — *Material de estudio.* — Se disecciona la papila foliácea del conejo, arrastrando en el corte ligera capa muscular subyacente. Se la extiende sobre una laminilla de corcho estirándola y dejándola clavada en sus bordes, mediante finas espigas de puerco espín.

Método común. — Fijación: formalina en solución fisiológica (Cloruro de sodio 0.7 ‰), 5 en 45.

Lavado de la pieza, 24 horas. Deshidratación. Aceite de cedro. Inclusión en parafina.

Coloración: Hematoxilina y eosina.

Método tricrómico de Ramón y Cajal de coloración. — Fijación: se inmerge la papila foliácea del conejo previamente colocada en la laminilla de corcho, en líquido de Flemming (24 horas). Durante este tiempo la papila por la acción del ácido ósmico, se ha ennegrecido, manteniéndose dura y rígida; se le saca del corcho y con unas tijeras se regularizan los bordes, dejándole la forma de un rectángulo.

Líquido de Flemming (fórmula)

Acido crómico 10 ‰.....	15 partes
» acético.....	10 »
Agua destilada.....	95 »

3 partes de este líquido.

2 » de solución de ácido ósmico 1 ‰.

NOTA.—El ácido ósmico se agrega en el momento de inmergir los trozos.

Lavado del corte : en cestillas de alambre adecuadas á este fin, se deja la pieza en agua corriente 24 horas.

Se deshidrata por los alcoholes.

Se aclara en aceite de cedro.

La inclusión se hace en parafina.

Cortes microtómicos de un espesor de cinco micromilímetros.

Con albúmina se fijan las secciones al porta-objetos y se dejan unas horas en el termóstato á 37°.

Decoloración del preparado : como ha sido fijada la pieza en Flemming, conviene decolorar las secciones, sumergiéndolas un minuto en :

Permanganato de potasio.....	0.25 cent.
Agua destilada	58 cmc.

El corte se impregna fuertemente con el permanganato y se lo decolora y blanquea, pasándolo en seguida al agua destilada, acidulada con unas gotas de ácido sulfuroso.

Coloración. — Método del Dr. Cajal (tricrómico).

1° Los cortes se sumergen durante 5 ó 10 minutos en una solución saturada de rojo magenta (Fucsina básico).

2° Lavado rápido y abundante en agua.

3° Coloración por 5 á 10 minutos en la solución :

Agua saturada de ácido pícrico... ..	100 gr.
Carmín de índigo (solución).....	0 36 cent.

De allí se pasan los preparados al agua acidulada con ácido acético (2 á 3 gotas para un pocillo porcelana). Lavaje.

Deshidratación rápida en alcohol absoluto.

Xilol. Bálsamo del Canadá.

Método de coloración de Weigert. — Se logran bellos preparados con el método de Weigert, utilizado para la coloración del tejido conjuntivo.

Ya montada en el porta la sección con albúmina glicerizada, se hacen los siguientes pases :

Xilol. Alcoholes. Agua.

Coloración :

Líquido A :	Hematoxilina	1 gr.
	Alcohol 95°.....	100 cc.
Líquido B :	Sol. percloruro hierro ofjs.....	4 cmc.
	Acido clorhídrico ofjs.....	1 »
	Agua dest.....	95 »

Mézclase en el momento de usarse, partes iguales del líquido A y B.

Coloración por 10 minutos.

Lavaje rápido en agua.

Se pasa al líquido siguiente :

Sol. sat. de ácido pícrico.....	100 cc.
» 1 % de fushina ácida en agua.....	10 »

Allí se deja 3 ó 4 minutos.

Lavaje breve en agua. Alcohol á 90°.

Xilol carbólico. Bálsamo del Canadá.

Órgano del olfato. (Sinneszellen). — En la mucosa especial que reviste la parte más alta de la bóveda nasal, existen células que presentan relaciones de continuidad con fibrillas nerviosas. Son células sensitivas (sinneszellen) con gran cantidad de protoplasma, bipolares y de núcleo redondo. De sus dos prolongaciones la más corta se dirige hacia la superficie libre de la mucosa olfativa donde termina en varias ramificaciones finas y la larga prolongación ó inferior, da origen á las fibras que se dirigen hacia el bulbo olfativo. Este prolongamiento central está desprovisto de mielina.

Bulbo olfativo. — De forma oval, de color gris amarillento, de consistencia blanda, de 8^{mm}, de longitud y 3 de anchura, es en el bulbo olfativo donde terminan las fibras miélicas provenientes de las células sensitivas de la mucosa nasal.

Forman el bulbo olfativo las siguientes capas:

- 1^a Plexo olfativo superficial.
- 2^a Zona de los glomérulos olfativos.
- 3^a Zona plexiforme periférica.
- 4^a Células mitrales.
- 5^a Zona plexiforme central.
- 6^a Sustancia blanca.
- 7^a Zona endimpial.

Glomérulos olfativos. — En el bulbo olfativo, subyacente á un plexo fibroso periférico, hállanse colocadas unas masas de hebras, con su forma característica de ovillo y dispuestas sin orden en dos ó más filas, designadas glomérulos olfativos. Fué Golgi, quien por primera vez, estableció que las fibras olfativas van á terminar arborizándose, á los glomérulos olfativos y que á la vez allí arriban fibras nerviosas, también ricamente arborizadas de axones de células profundas.

Los glomérulos hállanse constituidos por finas y delicadas arborizaciones nerviosas, entre sí enmarañadas, procedentes no de una fibra sino de haces de fibrillas olfativas y en zonas limítrofes á los glomérulos terminan en forma de pinceles ó plumeros axones de células ganglionares del bulbo olfativo.

Células mitrales. — Los pinceles ó plumeros que terminan en las proximidades de los glomérulos, son prolongaciones protoplasmáticas de unas células voluminosas en forma de mitra llamadas células mitrales, cuyo axón robusto marcha hacia atrás para formar la raíz externa olfativa.

Raíz externa del bulbo olfativo. — Cordón de sustancia blanca que naciendo en el pedículo del bulbo olfativo que se dirige hacia la cara inferior del lóbulo frontal y se insinúa en la circunvolución del hipocampo.

Método de elección. — Reacción negra de Golgi.

Órgano de la visión: retina. — La retina es el órgano periférico de la visión; es un ganglio lameliforme que reviste la superficie interna del ojo, de un espesor cuya media es de 0,3^{mm} y de un color rojo, debido á la presencia de la púrpura retiniana. La por-

ción sensible á la luz, solo se estiende hasta la línea llamada *ora serrata*, desde el ingreso del nervio óptico.

Exceptuando la fosita central, en cuya estructura no entran los bastoncillos, pues solo posee conos, la arquitectura retiniana resulta de la superposición de fuera adentro de las capas siguientes:

- 1ª Zona pigmentaria.
- 2ª Bastoncillos y conos.
- 3ª Cuerpo de las células visuales.
- 4ª Plexiforme externa.
- 5ª Células horizontales.
- 6ª Células bipolares.
- 7ª Células amacrinas.
- 8ª Plexiforme interno.
- 9ª Células ganglionares.
- 10ª Fibras del nervio óptico.

Zona pigmentaria.—Consta la zona pigmentaria de elementos epiteliales alargados, generalmente regulares en su forma de prismas exagonales y dispuestos en una sola capa. La parte interna de las células está pigmentada. De este pigmento carecen los albinos.

Conos y bastoncillos.—Largos y cilíndricos los bastones, cónicos los conos, están dispuestos en una sola serie ó empalizada y son prolongaciones de células situadas en capas inferiores: las células visuales. Los bastones tienen una longitud media de 60μ y un espesor de 2 á $2\frac{1}{2} \mu$; su límite inferior lo forma la membrana limitante externa, donde se implantan perpendicularmente; el número de bastoncillos excede al de los conos. Los bastoncillos se dividen en dos partes: un segmento externo y otro interno, siendo el primero brillante y de color rojo debido á la púrpura retiniana y el segundo más pequeño. En el punto de unión de ambos segmentos, se halla un cuerpo elipsoide llamado elipsoide del bastoncillo.

Los conos son elementos de una longitud media de 30μ ; su forma tiene la figura de una botella; menos numerosos que los bastones, solo en la *fovea centralis* donde solo se hallan conos, tienen como los bastones dos segmentos: uno externo y otro interno y también un elipsoide del cono ó aparato filamentosos. Bajo la acción de la luz se encoge el segmento interno de los conos.

Cuerpo de las células visuales (Granulosa externa).—Forman este estrato los cuerpos celulares de los conos y bastones, dispuestos en hilera irregulares.

Tanto el cuerpo de los conos como el de los bastones, posee un núcleo oval y emiten dos prolongaciones, la una ascendente que va hacia la limitante externa y termina ya en el cono ó ya en el bastón. En cuanto á la prolongación descendente de ambos se dirige á la zona plexiforme externa; la del cono termina extendiéndose á la manera de un pedestal, designado pie del cono, de donde irradian fibrillas horizontales libres; la del bastoncillo fenece en una dilatación esférica ú ovoidea.

Zona plexiforme externa.— A formar esta capa concurren los pies de los conos, las esférulas de los bastones y los penachos que envían las células horizontales y las bipolares, cuya descripción sigue.

Células horizontales.— Así denominadas por Cajal por su principal dirección; su forma es estrellada, sus prolongamientos protoplasmáticos son horizontales y van á terminar debajo de los pies de los conos y sirven para extender á la vecindad el impulso visual percibido en un sitio determinado de la retina.

Células bipolares.— Las células bipolares están destinadas unas para los conos y otras para los bastones. Por su rama ascendente forman un penacho que está en relación con varios conos ó bastoncillos y por su rama descendente con las dentritas de las células ganglionares.

Células amacrinas.— Llamadas también espongioblastos son células cuyo cuerpo es periforme y de una abundante ramificación dendrídica, dirigida horizontalmente en uno ó dos estratos ó bien desaparramadas de una manera difusa por toda la zona plexiforme.

Zona plexiforme interna.— Está formada por intrincadas arborizaciones procedentes de las células precedentes y cuyo fin es el de multiplicar los contactos.

Células ganglionares.— La agudeza visual está en razón directa del aumento de las células ganglionares. Estas células son análogas á las células nerviosas centrales del sistema nervioso, forman un solo estrato y su prolongamiento nervioso marcha en una dirección horizontal en la capa siguiente.

Estrato de las fibras nerviosas.— Las fibras axones de las células ganglionares van á formar al nervio óptico. Existen fibras centrifugas, inversas de las precedentes que atraviesan la zona plexiforme y terminan en las proximidades de las células amacrinas.

Técnica de la preparación de la retina. — *Método común.* — Fragmentos de retina sola ó con la coroides se fijan en :

Sol. sat. bicloruro mercurio.....	50 gr.
Alcohol á 95º.....	25 »
Acido acético.....	4 ó 5 »

Lavado de las piezas durante 24 horas.

24 horas en alcohol á 70º añadiéndole tintura de yodo hasta tomar el color del vino Marsala.

24 horas en alcohol á 80º y tintura de yodo.

» » » 90º

» » » 95º

» » » absoluto.

Aceite cedro. Inclusión en parafina. Sección. Pases comunes: Xilol. Deshidratación por los alcoholes. Agua. Coloración. Hematoxilina y Eosina. Deshidratación. Xilol. Bálsamo del Canadá.

Coloración de la retina por el azul de metileno (según Dogiel). — Enucleado el ojo de un animal de sangre caliente, se lo corta inmediatamente en dos ó más porciones. Se retira con todo cuidado la retina en colgajos, sola ó con la zona pigmentaria y los restos de humor vítreo que la

adhieren y se la extiende con la cara externa hacia arriba, sobre anchos porta-objetos

Se deposita entonces sobre la retina ó sobre el porta que la sostiene en los bordes del fragmento, algunas gotas de una solución azul de metileno al $\frac{1}{6}$, $\frac{1}{8}$ o/o. Al cabo de 5 minutos se le transporta sobre un extenso cubre-objeto bien limpio, dando vuelta al preparado de suerte que la cara interna queda hacia arriba; se retiran las porciones de cuerpo vítreo aun adherentes con una tijera curva y se vuelve á colorear el trozo con pocas gotas de la solución de azul de metileno citada.

Se cubre y aplasta ligeramente el trozo con otro cubre y el todo se coloca en el termóstato.

De tarde en tarde se vigila la coloración, bajo el microscopio y cuando esté al punto deseado, se retiran. Generalmente se requiere una permanencia en el colorante de 30 á 40 minutos.

Las piezas se pasan al fijador con el cubre ó solas y se les deja 24 horas. (Molibdato amoniaco, 7 ú 8 o/o).

Lavado con agua corriente, dos horas.

Alcohol fuerte, renovado (20 minutos).

Xilol. Resina Damar. Cubre-objeto.

Organo de la audición. -- El aparato encargado de la percepción y análisis de los sonidos, reside en el caracol; colocado en el peñasco del temporal, es un tubo que se enrosca en espiral á semejanza de un caracol, rodeando en el hombre, dos veces y media su eje, llamado columela. En el caracol se verifica la distribución periférica del nervio coclear, nervio de la audición. La base de la columela está situada en la porción antero-inferior del conducto auditivo, cribado de orificios (criba espiroide); por allí penetran las fibrillas del coclear que van á un pequeño ganglio (Ganglio de Corti).

La lámina curva ó tubo espiral del caracol es doble; cada conducto espiroide se llama rampa. Dos son, pues, las rampas: una vestibular y otra timpánica que en el vértice del caracol comunican entre sí. La rampa vestibular termina en el vestíbulo y la timpánica en la ventana redonda. Un tabique óseo en la porción próxima al eje ó columela y membranoso en la distal, divide ó separa ambas rampas; la porción membranosa designase membrana basilar. La membrana de Reissner es un tabique membranoso muy fino que divide la rampa vestibular en dos conductos, de los cuales el adyacente á la membrana basilar contiene el órgano de Corti. El órgano espiral ú órgano de Corti, recibe las ramas terminales del nervio coclear y es el punto en que se hallan especiales y diferenciadas terminaciones para la percepción auditiva. Descansa sobre la membrana basilar un túnel prismático, el túnel de Corti, formado por dos series de pilares: internos y externos. Estos elementos están incurvados en forma de S é inclinados de tal modo, que sus extremidades superiores se ponen en contacto formando el arco espiral ó túnel mencionado.

Externamente á los pilares se halla una capa epitelial compuesta de las células de Deiters ó de sostén y las células ciliadas ó corpúsculos acústicos de cuerpo celular grueso, terminado hacia arriba por un mechón de pelos ó pestañas. Internamente á los pilares, existe otra capa epitelial con las células ciliadas internas y algunas células

de sostén. El ganglio espiral, situado próximo á la columela, posee células bipolares cuyas ramas periféricas penetrando entre las dos hojas de la lámina espiral ósea, van á la membrana basilar é ingresan en el órgano de Corti. Existiendo dos clases de células ciliadas, las internas poco numerosas, reciben fibras terminales en forma de un penacho de fibrillas varicosas y las externas situadas más allá del túnel, reciben fibras que son muy abundantes por ser las células ciliadas externas también numerosas y dichas fibras antes de arborizarse debajo de las células pasan por el túnel de Corti. Las ramas internas de las células bipolares del ganglio espiral reuniéndose van á formar al nervio coclear, rama del acústico, 8º par, que finalmente ingresa en el bulbo raquídeo para terminar en dos ganglios principales que son el foco ventral ó anterior y el ganglio lateral ó tubérculo acústico.

Medula espinal.—La medula espinal humana está alojada en el canal raquídeo y se extiende desde el cuello del bulbo hasta la segunda lumbar, vértice del cono terminal, donde sigue el grueso manojito de nervios llamado cola de caballo. La medula dorsal es blanca, cilíndrica, con dos hinchazones en el sitio en que arrancan los nervios para las extremidades superiores (engrosamiento cervical ó braquial) y para las inferiores (lumbar ó crural), situado el cervical entre la 3ª cervical y 2ª dorsal y el lumbar entre la 9ª dorsal y 1ª lumbar. La longitud media de la medula dorsal es de 43 cms. y su peso de 28 gramos.

Sustancia gris. — Al revés de lo que se observa en el cerebro, un corte transversal medular deja ver la sustancia gris en su porción central y la blanca en la periférica. La sustancia gris tiene la forma que recuerda á la letra *H* y en algunos segmentos medulares semeja una mariposa. Se la considera constituida por dos pares de astas, dirigidas en opuesta dirección y unidas por su base.

El espesor de la sustancia blanca guarda cierta relación con la mayor ó menor cantidad de sustancia gris subyacente, siendo alterada esta relación por la presencia de las vías exógenas, esto es, el haz piramidal y las vías sensitivas ascendentes, quienes conservan su volumen, en aumento de abajo arriba y que guardan completa independencia con la masa de sustancia gris que está á su lado.

Astas anteriores.—Dos mitades simétricas, derecha é izquierda, forman á la sustancia gris medular; ambas se hallan unidas por un puente transversal llamado comisura gris en cuyo centro está el canal del epéndimo; delante de éste vése á la comisura blanca que ya aparece en el fondo del surco medio anterior. Una línea imaginaria que pasase por el canal del epéndimo, dividiría cada mitad de la sustancia gris en dos partes, designadas astas anteriores y posteriores.

El asta anterior se dirige hacia delante y afuera; su contorno es irregular, festoneado y con diversos picos; es más amplia que la posterior, siendo mayor su área de extensión. Las células que encierra tienen por lo común, la forma estrellada, triangular ó fusiforme.

Son células radiculares aquellas cuyo axón se incorpora á las raíces medulares anteriores y funiculares ó cordonales; las cuyo axón ingresa y se incorpora á uno de los cordones medulares.

Las células nerviosas en sección transversal, aparecen en las astas anteriores formando grupos, pléyade ó constelaciones; y en sección longitudinal, dichas células en planos superpuestos, constituyen columnas en los diversos segmentos de la médula espinal. Existe cierto orden ó distribución en los diversos segmentos de las columnas de células nerviosas contenidas en la sustancia gris, sobre todo en las astas anteriores y en un corte transversal, obsérvanse con constancia los siguientes nidos celulares:

- a) Foco antero-interno ó comisural.
- b) Foco antero-externo á veces doble (interno y externo) ocupado por las células motoras y llamado foco motor. En el foco motor se hallan las células motrices de gran talla.
- c) Foco pósterio externo, próximo al cordón lateral, designado foco cordonal.

Raíces anteriores. — Las células motrices del foco motor, interno y externo, envían su axón á los diversos haces radiculares que por diversas vías atraviesan el espesor del cordón antero-lateral para converger, incorporarse y formar las raíces anteriores; dichos axones antes de ingresar en la sustancia blanca, emiten colaterales y ya en ella se recubren de vaina miélnica. Las raíces anteriores emergen del surco lateral anterior de la médula espinal, situado á dos ó tres milímetros por fuera del surco mediano anterior.

Fascículo piramidal cruzado. — Proviene de la corteza cerebral del lado opuesto (zona rolándica); sufre una decusación ó entrecruzamiento de sus fibras en la porción inferior del bulbo, se sitúa en la parte posterior é interna del cordón lateral y termina en las células de los cuernos anteriores del mismo lado.

Fascículo piramidal directo ó anterior. — Corre á lo largo del surco anterior de la médula espinal, no sufre en el bulbo el entrecruzamiento de sus fibras, así es que éstas provienen de la corteza cerebral del mismo lado.

Ambas vías son motoras.

Comisura blanca. — Está situada delante del epéndimo y en el fondo del surco medio anterior. Proviene de la reunión y entrecruzamiento de los axones provenientes de las células comisurales del asta anterior.

Astas posteriores. — Presentan para su estudio:

Columna de Clarke. — La columna de Clarke vista en sección transversal, está formada por un grupo ó pléyade celular, anidadas en la parte interna de la base del cuerno posterior. De forma redonda ú oval, con límites bien netos que la separan del tejido circunvecino, los elementos celulares en superposición de planos, muestran en una sección longitudinal de la médula, un acúmulo cilíndrico, una verdadera columna. Es propia la columna de Clarke de la porción dorsal de la médula, extendiéndose desde el 8º nervio cervical hasta el 3º lumbar.

Fascículo cerebeloso directo ó de Flechsig.— Las células nerviosas de la columna de Clarke, son de dos clases: focales y tangenciales. Las primeras son características de este núcleo; su forma es redonda, están provistas de numerosas prolongaciones protoplasmáticas ramificadas y ellas son el origen del fascículo cerebeloso directo ó de Flechsig.

El haz de Flechsig ocupa una situación periférica en el cordón lateral, por fuera del fascículo piramidal cruzado. Es una vía larga; llegado al bulbo, sigue el cuerpo restiforme, el pedúnculo cerebeloso inferior, para terminar en el cerebelo.

Foco interno de la base del asta posterior.— En las regiones cervical superior y lumbar inferior, donde no existe la columna de Clarke, existen una pléyade de células triangulares que se designan foco basal interno del asta posterior.

Núcleo intersticial.— En las proximidades del cordón lateral, siempre en el asta posterior, se halla entre los diversos fascículos de sustancia blanca un grupo de células que forman al núcleo intersticial.

Vértice del asta posterior.— Ocupan esta área de sustancia gris numerosas células nerviosas, triangulares ó estrelladas que envían sus axones hacia un manojito del cordón lateral, designado también cordón del asta posterior.

Sustancia gelatinosa de Rolando.— La sustancia de Rolando, en un corte medular transversal, aparece atravesada por varios haces de fibrillas, de las cuales dos ó tres gruesos manojos que la cruzan en su tercio interno se designan haces sensitivo-motores.

La sustancia de Rolando está constituida por numerosas células fúniculares muy pequeñas cuyo prolongamiento nervioso va al cordón del asta posterior.

La sustancia de Rolando ocupa la porción más externa adyacente al vértice del asta posterior.

Células marginales.— La sustancia de Rolando está circundada por una fila de gruesas células fusiformes próximas al cordón posterior; sus axones se incorporan al manojito del asta posterior.

Raíces posteriores.— Las células nerviosas de los ganglios raquídeos, poseen un axón único, que después de haber recorrido algún trayecto, se bifurca luego en forma de T. Uno de los filamentos de bifurcación va á la periferia, á la piel, mucosas, etc., y el otro, que es interno, se dirige hacia atrás para constituir una fibra de las raíces posteriores y penetrar en el surco colateral posterior de la médula espinal. En el espesor del cordón posterior, desde una estrangulación da dos ramas, de igual ó distinto grosor, de las cuales una es ascendente y otra descendente.

Cordones de Goll y de Burdach.— La división de las fibras sensitivas de las raíces posteriores, se verifica á su ingreso en la sustancia blanca y lo hacen en Y incurvándose ligeramente ambos brazos para hacerse verticales. Las diversas fibras ó raíces posteriores, van penetrando una encima de otra, todas ellas presentando su ramificación dicotómica, en series superpuestas y sucesivas. La rama descendente de cualquier segmento medular, puede arribar á las porciones inferior-

res de la médula dorsal. En las ramas ascendentes existen dos clases de fibrillas: unas son vías largas y suben hasta el bulbo á los núcleos de Goll y de Burdach, y otras las vías cortas se incurvan y desparraman en las astas posteriores de los distintos segmentos medulares. Ambas ramas, ascendente y descendente, emiten en su trayecto vertical gran número de colaterales, más numerosas cuanto más cerca está á su punto de bifurcación.

De los diversos ganglios espinales escalonados á los costados de la médula dorsal, llegan sucesivamente las fibras respectivas á la sustancia blanca; sus ramas ascendentes derivantes van tomando colocación en el cordón posterior, ocupando una porción tanto más externa cuanto más alto está el ganglio de procedencia, ley llamada de Kahler, así formulada: «en el cordón posterior las ramas ascendentes ocupan planos tanto más externos cuanto más alto se halla el ganglio sensitivo de que proceden. El cordón de Goll está constituido por las ramas ascendentes, largas y delgadas, de la porción lumbar y dorsal inferior de la médula y transmiten las sensaciones percibidas en las extremidades inferiores y parte inferior del tronco. Forman al cordón de Burdach las ramas sensitivas ascendentes de la porción cervical y dorsal superior medular que sirven de vía á la transmisión de las sensaciones percibidas en la parte superior del tronco, extremidades superiores y cuello.

Fibras comisurales posteriores. — Se describen en la porción posterior medular tres manojos de fibras, que en un corte transversal aparecen atravesando el campo desde una á otra asta posterior y son:

Arciforme posterior aplicado al cordón de Burdach.

Manojo medio de dirección transversal; cruza la columna de Clarke.

Fascículo anterior situado inmediatamente por detrás del epéndimo.

Topografía de los cordones medulares. — La sustancia blanca circunda á la gris; el surco mediano anterior y el posterior dividen á la médula dorsal en dos mitades: derecha é izquierda. Cada mitad se subdivide á su vez, por la salida de las raíces anteriores y posteriores, en tres secciones, llamadas cordón lateral, anterior y posterior. La parte interna del cordón posterior la forma el *cordón de Goll*; la externa del mismo, el *cordón de Burdach*. El cordón antero-lateral está formado por la reunión ó sistema de fibras siguientes:

Via piramidal directa. (Situada en el cordón anterior en el fondo del surco anterior).

Via piramidal cruzada. (Se halla en el espesor del cordón lateral adyacente al posterior).

Via cerebelosa ascendente. (Hechsigt) (Por fuera del fascículo piramidal cruzado).

Fascículo de Gower. (Vía colocada por delante de la precedente).

Manojo del asta posterior. (Cajal) (Por dentro del fascículo piramidal lateral, adyacente al asta posterior).

Zona marginal de Lissauer. (Finas fibras situadas detrás de la sustancia de Rolando, junto á la entrada de las raíces posteriores).

Manojo de las fibras comisurales. (Cajal) Porción interna del cordón anterior por fuera y debajo de la vía piramidal directa.

Métodos de elección. — (Para la fina estructura de la médula espinal). *Métodos:* Cajal (nitrato de plata reducido). Golgi. Erlich. Weiger Pal. Donaggio, etc.

MATERIAL DE ESTUDIO. — Médula dorsal de gatos, conejos, perros, etc., recién nacidos. (Procúrese evitar estiramientos al extraer la médula).

Método de S. R. Cajal. — (Nitrato de plata reducido). Trozos de médula espinal de 3 á 4 mm. de longitud, seccionados transversalmente y tomados al nivel del ensanchamiento cervical ó lumbar, arrastrando consigo á los ganglios espinales adyacentes si posible fuera, con su medio de unión las raíces posteriores; se colocan en:

Fijación:

Alcohol á 95°	50 gramos.
Amoniaco liq.	2 ó 3 gotas.

ó bien solo en:

Alcohol á 95°	50 gramos.
---------------	------------

El alcohol amoniacoal pone bien de manifiesto las neurofibrillas tiñéndolas uniformemente, pues en el solo alcohol preséntanse granuladas.

Los trozos permanecen en el líquido fijador 24 horas.

De allí se pasan á una:

Solución de nitrato de plata al 1.50 c/o. Se inmergen 3 ó 4 trozos en unos 150 gr. de solución y se colocan en un termóstato á la temperatura de 36° dejando á los tejidos fijados en alcohol amoniacoal durante 5 días, mientras que aquellos que solo lo fueron en alcohol permanecerán 6 días.

Se lavan ligeramente en agua destilada para pasarlos á la solución:

Acido pirogálico	1 gr.
Formol	10 gr.
Agua dest.	100 gr.

Se dejan 24 horas.

Lavaje rápido en agua destilada y se pasan:

Alcohol á 95° un día.

Alcohol rectificado.	} partes iguales. . . un día.
Eter sulfúrico	

Celoidina densa 20 gr.

Alcohol 95°	} aa	2 días.
Eter sulfúrico		

Celoidina densa 50 gr. 1 día.

Inclusión de celoidina. Finos cortes al micrótopo. Pasaje de las secciones: Alcohol 95°. Alcohol absoluto. Esencia de orégano. Xilol. Bálsamo del Canadá.

Las preparaciones aparecen teñidas en café ó rojo intenso y transparente; las fibras de negro.

Entre las ventajas que el proceder argéntico de Cajal tiene sobre los métodos de Golgi y de Ehrlich está la de poder impregnar bien las fibras nerviosas, hasta en cadáveres de 3 á 5 días, mientras que los primeros exigen la perfecta frescura de las piezas.

Como regla general se establece que ninguna pieza destinada á un pasaje por el ácido pirogálico, tenga un espesor mayor de dos milímetros. Para evitar la retracción de las piezas sometidas al alcohol á 95° ó absoluto, conviene pasarlas por dos alcoholes sucesivos; por 12 o 24 horas en alcohol á 66° (2 partes de alcohol absoluto y una de agua destilada) y el resto en el alcohol fuerte. Recuérdese que al fijar las piezas en alcoholes distintos, si se usa el alcohol amoniaco (3 á 4 gotas por cada 50 cc.) el amoniaco se adicionará al primer fijador.

Bulbo raquídeo.—(Médula oblongada).—El bulbo raquídeo está situado entre la médula espinal y la protuberancia anular; parte alojado en el cráneo y parte en el canal raquídeo. De forma cilíndrico, de dirección casi vertical, tiene una longitud aproximada de 30 milímetros y una anchura media de 16. Se describen en él cuatro caras: anterior, posterior y laterales, una base y un vértice.

Estructura interna.—*Sección transversal del vértice ó zona de fusión de las médulas espinal y oblongada.* Los cordones de Goll y de Burdach adquieren á este nivel un grosor considerable y motivan una dislocación de las astas posteriores, desviándolas lateralmente; estas se alargan y adelgazan en esta zona y su base es invadida por haces derivantes del cordón de Burdach. El vértice del asta posterior y la sustancia de Rolando se ensanchan notablemente. La vía piramidal cruzada aumenta de espesor y se aproxima á la línea media.

Del foco motor de las raíces anteriores parte el 1^{er} nervio cervical y en el foco postero-lateral toma nacimiento el *espinal inferior*, cuyas fibras en dirección hacia atrás y afuera, luego de atravesar el cordón lateral, hacen su aparición al exterior de la médula al nivel de este cordón.

Sección transversal del bulbo, al nivel del entrecruzamiento de las pirámides.—En esta altura del bulbo raquídeo adquiere gran desarrollo el cordón del asta posterior y desde el cordón de Burdach, se desvían manojos de sustancia blanca, que penetrando en la porción central del cuerno posterior, lo amputan y separan en dos porciones, una basal y otra apical. Es la porción apical de forma regularmente esférica; la constituyen la sustancia de Rolando, zona marginal de Lissauer y las células centrales del vértice del asta y toda ella atravesada longitudinalmente por las colaterales sensitivas y la raíz descendente sensitiva del trigémino.

Por delante de la porción basal están los manojos cruzados de la vía piramidal; es la porción basal del asta posterior de forma irregular; comunica con la comisura posterior y la cercan por fuera multitud de manojos provenientes de la división del cordón del asta posterior. Ya comienzan á aparecer las células ganglionares en el espesor de los cordones posteriores que luego á mayor altura, haciéndose más numerosos, constituirán los núcleos de Goll y de Bur-

dach. Los cordones de Goll y de Burdach se hallan por detrás de la porción basal.

Existen dos núcleos de sustancia gris: uno interno, llamado núcleo redondo interno del cordón de Burdach y otro llamado núcleo externo que está cerca del ganglio de Burdach.

En la porción superficial del cordón de Burdach se halla sustancia gris distribuida irregularmente en forma de arco, que haciéndose en zonas superiores más manifiesta constituirá el foco accesorio del ganglio de Burdach.

En el corte anterior al nivel de la fusión de ambas médulas, vemos á la vía motriz lateral aumentar de espesor y aproximarse á la línea media; en este corte se la vé cruzar la línea media amputando de paso al asta anterior en su base. El entrecruzamiento de la vía motriz lateral se verifica mediante el pase sucesivo de gruesos manojos fibrilares que se aproximan á la línea media perpendicularmente y luego se inclinan haciéndose verticales una vez en el cordón anterior del otro lado, cordones estos que aumentan considerablemente con la incorporación de este grueso haz. Las células nerviosas del asta anterior se agrupan en tres focos: anterior, póstero-externo y látero externo. El foco anterior da origen al primer par cervical y el póstero-externo al nervio espinal.

El cordón posterior disminuye en su grosor; causado por la terminación de sus fibras en los ganglios de Goll y de Burdach.

Sección transversal del bulbo al nivel del entrecruzamiento sensitivo ó sea en la región de los núcleos de Goll y de Burdach. — Esta sección del bulbo corresponde á la decusación sensitiva y región de los núcleos de Goll y Burdach. Persiste el canal central, no habiéndose aún hecho hendidura para constituir el suelo del 4º ventrículo.

El foco de Goll aparece primero, esto es, en planos más inferiores que el de Burdach. Ambos núcleos en este corte bulbar, son una expansión gris, que á la manera de golfo penetran desde la porción basal amplia del asta posterior, hacia los cordones posteriores, de manera que un pedículo los liga á dicha base. El núcleo de Goll corresponde en la superficie exterior del bulbo á la pirámide ó clava posterior y el de Burdach al tubérculo cuneiforme. La porción apical del asta posterior forma un núcleo redondo, que lleva consigo la sustancia de Rolando.

De los núcleos de Goll y de Burdach nacen *las fibras arciformes, internas*, horizontales al principio, las que, describiendo arcos de concavidad interna pasan por la sustancia gris central, de allí á la comisura anterior, donde se cruzan á la porción medular del otro (decusación sensitiva) para hacerse allí longitudinales; son estas vías sensitivas, que marchan por detrás de la vía piramidal y se continúan con la vía sensitiva general de la protuberancia y pedúnculos cerebrales designada *cinta de Reil ó lemnisco interno*.

Además de las fibras arciformes interiores ya citadas, merecen mencionarse las *fibras arciformes externas*; son estas fibras que, naciendo en la sustancia blanca del cordón de Burdach, recorren el margen ó periferia medular, se dirigen hacia adelante, costean por fuera de

las pirámides, se insinúan en la cisura medular anterior para incorporarse á la vía sensitiva.

Del asta anterior invadida por una multitud de hacecillos de sustancia blanca, sólo quedan en este corte bulbar, un *foco interno*, formado exclusivamente por células motoras, lugar de nacimiento del 1^{er} par cervical y del nervio espinal y un foco externo donde por fuera y por detrás, en toda la porción del cordón lateral, se observan haces verticales de sustancia blanca y masas grises que forman especie de redes: es el comienzo de la *sustancia reticular gris*.

El cordón lateral disminuye en su grosor, colocándose al lado de la sustancia de Rolando; en cambio crecen las fibras que cercan el vértice del asta posterior, esto es, las raíces sensitivas del trigémino.

Sólo haremos mención, por fin, de los pequeños núcleos grises desparramados en este corte medular, algunos de ellos estudiados en el corte siguiente: Núcleo interno del asta anterior — Núcleo externo de la misma — Núcleo del cordón lateral — Núcleo arciforme — Foco de Clarke — Ganglio post-piramidal — Núcleo del hipogloso.

Sección transversal del bulbo al nivel del tercio inferior de la oliva. — El canal central se parte hacia atrás; ya no existe la pared posterior del epéndimo y la anterior se expande de manera á constituir el piso ó suelo del cuarto ventrículo.

Una lámina de sustancia gris plegada verticalmente y cerrada por delante y afuera aparece en este corte bulbar en el cordón antero-lateral, constituyendo un núcleo gris de suma importancia: es la oliva bulbar. En el hombre la oliva es muy grande, pues este núcleo guarda relación con el volumen del cerebelo y por su porción central penetran numerosas fibras. Una capa fibrilar rodea á la oliva bulbar y forman la *cápsula olivar*. La *para-oliva-interna* es un núcleo gris situado por delante y adentro de la oliva bulbar.

El *núcleo arciforme* es un foco gris que está detrás de la vía motriz; detrás de la oliva están los *núcleos del cordón lateral* y el *ambiguo*.

En toda la sección longitudinal del bulbo en que pueda observarse la oliva bulbar, hállase hacia la parte posterior, rayando el suelo del 4^o ventrículo el *núcleo del hipogloso* constituido por células nerviosas de gran talla. Las fibras, al salir de este foco, marchan hacia delante, pasan entre la oliva bulbar y la para oliva y emergen luego en el surco colateral anterior.

En la región posterior y lateral, hallamos el *foco descendente del 10^o y 9^o par*.

El foco motor vago espinal, el ganglio del cordón de Goll y el ganglio del cordón de Burdach, á causa de la desaparición de la pared posterior del canal central, se colocan en el mismo orden en el suelo del 4^o ventrículo. Las fibras longitudinales conservan análoga disposición en este corte bulbar, que en el precedente, con el agregado de la aparición de un nuevo manojito, el cuerpo restiforme ó pedúnculo cerebeloso inferior, formado por la reunión de las fibras del manojito cerebeloso de Flechsig y de las fibras de la oliva bulbar. En

cuanto á las horizontales, se observan las arciformes externas, internas y las olivares ó arciformes intermedias.

Por fin, la *sustancia blanca reticular*, cuyos límites le forman por dentro el rafe, por fuera ambas olivas y raíces del hipogloso, por detrás el foco del hipogloso y por delante la vía piramidal y la sustancia reticular gris hacia afuera.

Sección transversal del bulbo en su límite superior ó sea en la zona de transición bulbo-protuberancial. — Este corte bulbar nos muestra cómo el bulbo se ha aplanado y alargado transversalmente y el suelo del 4º ventrículo abarcado una gran extensión.

Los focos ó núcleos de sustancias gris visibles son:

La oliva bulbar muy pequeña. La sustancia gelatinosa del trigémino y el núcleo ambiguo. De los nuevos núcleos ó focos incorporados en este corte bulbar, tenemos el foco del facial por dentro de la raíz descendente del trigémino. El núcleo ventral del acústico, de donde emerge el nervio coclear. El ganglio lateral ó tubérculo acústico que resalta en el piso del 4º ventrículo y de él nacen las barbas del *calamus scriptorius*. El ganglio de Deiters, punto inicial del nervio vestibular. La vía sensitiva que va entre las olivas. La piramidal delante de la anterior. El fascículo longitudinal posterior que camina hacia el dorso á lo largo del rafe.

La sustancia reticular gris va por fuera de esta zona.

Entre las fibras horizontales hay que citar el nervio facial, el nervio coclear y el nervio vestibular; por fin, unas fibras transversales llamadas cuerpo trapezoide que toman su origen en los ganglios cocleares y constituyen una vía acústica.

Método de Weiger-Pal. — (Estudio de los cordones degenerados). — *Material de estudio:* Bulbo de un hemiplégico antiguo.

- | | | |
|-------|--------------------------------------|--|
| I. | Endurecimiento en líquido de Müller. | — (Permanencia de I ó 2 meses hasta 2 años). |
| II. | Alcohol á 70° | 24 horas. |
| III. | » » 80° | » |
| IV. | » » 90° | » |
| V. | » » 95° | » |
| VI. | » absoluto | » |
| VII. | Alcohol absoluto | } aa. » |
| | Eter sulfúrico . . . | |
| VIII. | Celoidina 20 gr. | } 6 días. |
| | Alcohol abs. | |
| | Eter sulf. 10 gs. | |
| IX. | Celoidina densa | 6 » |

Inclusión en celoidina densa. — a) Con papel pergamino se construye una cajita de papel.

Con un pincel se pinta por dentro á la cajita con éter sulfúrico.

Los trozos son mojados en éter sulfúrico inmergidos en la celoidina, convenientemente colocados. Si se utiliza alguna aguja para colocar bien los trozos, empátese antes en éter sulfúrico para que no queden burbujas de aire en la celoidina.

b) En un vasito se coloca cloroformo y para que los vapores lleguen á la cajita conteniendo la celoidina y trozos, sobre un $\frac{1}{2}$ porta-objeto encima

del vasito de loza conteniendo el cloroformo, se coloca la cajita y todo se cubre con una campana de vidrio.

Conviene atravesar con un alfiler la cajita de papel para su contención.

En la campana permanece la celoidina de 12 á 24 horas hasta su completo endurecimiento.

Se saca del cartucho de papel, se vuelca un poco de cloroformo que se deposita encima y con una navaja de afeitar se cortan los trozos incluso en celoidina solidificada. Se colocan en:

Alcohol á 70° y allí se dejan todo el tiempo que se quiera.

Con unas gotas de celoidina se adhieren á un trozo de madera. Antes se empapa la madera y el trozo de tejido en éter sulfúrico, luego se dejan caer varias gotas de celoidina en el trozo de madera, se aplica el tejido cubriéndolo con más celoidina. (Igual á la reazione nera). Se colocan, ya montados en la madera, los trozos, en un vasito conteniendo cloroformo y se cubre con una campana de vidrio. Allí permanecen algún tiempo hasta endurecerse; luego madero y tejido se abandonan en un frasco con alcohol á 50° y allí se los deja hasta verificar las secciones con el micrótopo.

La sección se verifica con la lámina A, (blanda) inclinada; con un grueso pincel se empapa de alcohol á 50° navaja y trozo y se reciben las secciones en ese mismo alcohol de 50°.

Se pasan en seguida las secciones á una solución de bicromato de potasio al 3 % y se las deja 24 horas.

Nuevo pasaje por 24 horas á la siguiente solución:

Hematoxilina	I gr.
Disuélvase en: Alcohol	10 »
Añádase: Agua destilada	90 »

y solución saturada de carbonato litina de 2 á 7 cc.

Transcurrido un día en esta inmersión, se hace un pasaje muy rápido de las secciones al:

Permanganato de potasio	I gr.
Agua destilada	200 »

Se diferencian luego la substancia blanca de la gris en:

Acido oxálico	aa.
Sulfito de potasio	I gr.
Agua destilada	200 »

Alcohol absoluto — Esencia cedro — Xilol — Bálsamo del Canadá.

El método de Weiger-Pal, da unas imágenes muy claras; la sustancia medular se tiñe de un color azul negro intenso; las porciones degeneradas permanecen pálidas en toda la región de las fibras nerviosas destruidas.

Método de Marchi. — Acabamos de describir el método clásico (Weiger-Pal) para el estudio de las fibras ya degeneradas y á su lado expondremos el método de Marchi, excelente para el estudio de las degeneraciones secundarias, motivadas para la ablación ó destrucción de la sustancia gris ó por la sección de los cordones medulados, siempre que la muerte haya ocurrido en un plazo de 10 á 20 días desde que se produjo la lesión.

Las piezas son colocadas en bicromato de potasio al 3 % durante 8 días. Tomando luego fragmentos pequeños como sea posible, se pasan sin lavarlos á: Líquido de Müller 2 partes — Acido ósmico 1 % 1 parte. Permanencia de 5 á 8 días.

Lavaje de las piezas durante algunos días.

Celoidina — Pases comunes.

Examinados los cortes al microscopio, presentan las fibras sanas, teñidas de gris ó moreno pálido y las en vía de degeneración exhiben gotas negras grasientas á lo largo de sus fibras.

Corteza cerebral. — La corteza ó manto cerebral, es plegada en el hombre (girocéfalo) y aunque presenta diferencias estructurales en diversas regiones puede, sin embargo, reducirse su arquitectura con un tipo fundamental. Forman la corteza gris las capas concéntricas, sin límites de demarcación que siguen:

1^a *Capa plexiforme* (Stratum zonal — Estrato molecular). — Escasas células nerviosas en esta región y entre ellas células pequeñas y medianas de breve cilindro-eje y las células horizontales dotadas de largas dendritas horizontales en que una robusta representa al axón que se dirige á larga distancia, siempre horizontal, emitiendo á su paso colaterales. El resto de fibras de esta región lo constituyen dendritas procedentes de células de los pisos inferiores y terminaciones de ramas exógenas, el todo formando intrincado plexo.

2^a *Capa de las pequeñas pirámides.* — En esta capa hallamos acumulados numerosos elementos celulares cuyo cuerpo es piramidal ó en forma de cono; desde la porción superior de esta parte una robusta prolongación protoplasmática que, al penetrar en la capa plexiforme, se divide y forma un plumero de fibras; de las partes laterales del soma brotan, á la manera de raíz, diversas expansiones laterales que se dicotomizan luego. De la porción central inferior del cuerpo celular, se desprende un delicado y bien manifiesto axón que se dirige hacia la sustancia blanca subyacente, emitiendo á su paso diversas colaterales.

3^a *Capa de las células piramidales medianas y gigantes.* — Menos numerosas que las precedentes, estas células poseen igual forma que las anteriores descritas, sólo que son de mayor tamaño y su cilindro eje es robusto y descendente.

4^a *Capa de las células polimorfas.* — Las células de esta región son fusiformes, provistas de un cilindro eje descendente y expansión dendrítica manifiesta y estrelladas de corto axón descendente.

Material de estudio. — Corteza cerebral de gatitos recién nacidos. — Método de Golgi (Reacción negra).

Corteza cerebelosa. — El cerebelo es un órgano elipsoide de gran eje transversal, aplastado de arriba abajo y que ocupa las fosas occipitales inferiores. Sus dimensiones medias son: en el gran diámetro transversal, 10 cents.; antero posterior medio, 3 1/2 cents., y á los lados 5 á 6 cents., y su mayor espesor es de 4 á 5 centímetros. Su peso medio es de 140 gramos. La superficie del cerebelo está surcada por depresiones curvilineas, paralelas entre sí

y concéntricas á la gran circunferencia, la cual afecta la forma de un corazón de naípe.

Estructura de la corteza cerebelar.—La sustancia gris cortical del cerebelo tiene un espesor de 1 á 1,5 mm de espesor y está formada por la superposición de afuera adentro de las tres zonas siguientes: capa molecular, zona de las células de Purkinje y capa granulosa interna.

Capa molecular.—(Sinonimia: granulosa externa, capa externa, capa superficial, zona plexiforme, capa de las células de cesta de Retzius, etc.)

Las células nerviosas que se hallan en esta zona son:

Células de cesta, así llamadas, porque su cilindro eje recorre horizontalmente cierto trayecto y abandona fibras descendentes que circunda el cuerpo de las gruesas células de Purkinje, formándole una especie de cesta ó de nidos.

Células estrelladas externas que poseen un cilindro-eje descendente y corto.

Llenan, además, á esta zona, dentritas y fibras que más adelante mencionaremos.

Células de Purkinje.—Son células nerviosas de gran tamaño (35 á 65 μ) colocadas en hilera una tras otra formando serie; tienen un cuerpo celular piriforme, con núcleo voluminoso y nucleolos. El cilindro eje nace de su porción inferior y de lo alto emergen los prolongamientos protoplasmáticos, que en hermosa arborización dentrítica penetran en la capa plexiforme, dispuestas en un solo plano, cual verja primorosamente labrada, de bordes circulares festoneados, terminados en punta.

Este ramaje frondoso dispuesto en lámina, ha sido comparado por los autores al ramaje de un pino; con los setos de acacia que circundan los jardines; á los macizos de hiedra que enraman una pared.

La orientación en un plano de las células de Purkinje y perpendicular á la dirección longitudinal de las circunvoluciones cerebelosas, hacen que se las observe de plano, en toda su superficie cuando el corte es vertical ó perpendicular á la circunvolución y cuando la sección es paralela, se ven dichas células de perfil ó en una sola línea.

El axón de las células de Purkinje sigue un trayecto descendente y emite colaterales en ángulo recto, las cuales se dirijen hacia afuera, de éstas algunas son de curso recurrente y van á terminar en plexo en el cuerpo y ramas de las mismas células que preceden.

Zona granulosa.—Existen en la capa de los granos las células de axón bifurcado, llamadas también neuronas enanas ó pequeños granos.

Poseen tres prolongaciones protoplasmáticas que siguiendo un corto trayecto, termina luego, mediante un pincel de finas ramificaciones; el cilindro-eje es ascendente, penetra en la zona plexiforme, se bifurca en dos ramas perpendiculares al eje que las origina, esto es, en forma de T y siguen un curso exactamente paralelo á la circunvolución cerebelar. Multitud de estas fibras, paralelas entre sí,

recorren largos trayectos, reposando sobre las ramas de las células de Purkinje que encuentran alineadas en su trayecto.

La zona granulosa contiene, además, los corpúsculos de Golgi; son células gruesas, de cilindro-eje descendente que emite colaterales numerosas que forman plexos; células fusiformes horizontales y células fusiformes de cilindro-eje extenso.

Debemos, por fin, mencionar á dos clases de fibras que, procediendo de la sustancia blanca, invaden las zonas granulosa y molecular: son las fibras musgosas y las fibras trepadoras

Las fibras musgosas toman tal designación por poseer sus fibrillas terminales y de trecho en trecho las mismas gruesas fibras espesamientos con ramúnculos semejantes al musgo de los árboles. Se dirigen á la capa de los granos poniéndose en contacto con los elementos de esa zona.

Las fibras trepadoras, descubiertas por Cajal en su arborización terminal se aplican como yedra al cuerpo y á las ramas de las células de Purkinje.

Método de estudio.—Golgi (Reacción negra), Cajal (Método Nitrato de plata reducido).

Ganglios espinales y sensitivos.—Los ganglios espinales son acúmulos de células nerviosas, que existen escalonados á lo largo y á ambos lados de la médula dorsal, en el trayecto de las raíces posteriores antes de unirse á las anteriores. Están colocados por pares á un mismo nivel, uno para cada raíz posterior. Las células nerviosas adultas de los ganglios espinales son monopolares, de cuerpo celular voluminoso (40 á 70 μ) con núcleo vesicular y nucleolo; su único axón robusto, al nivel de un estrangulamiento de Ranvier se divide perpendicularmente en forma de *T* enviando una rama hacia la médula donde forma una raíz posterior y la otra rama se dirige hacia los órganos periféricos (piel, mucosa, etc.) A las células nerviosas una cápsula las rodea, formada de tejido conjuntivo de células aplanadas.

Las células de los ganglios espinales de los peces son bipolares y lo propio ocurre con los embriones de los vertebrados superiores. En los peces las células tienen un cuerpo de forma oval de cuyos opuestos polos parten dos prolongamientos nerviosos que revistiéndose luego de las vainas mielínicas y de Schwann se transforma en una fibra nerviosa.

En los vertebrados superiores, durante el período embrionario, las células de los ganglios espinales son bipolares; más tarde la célula está aplicada á la fibra, de la que se separa sucesivamente hasta que se realiza la bifurcación de la fibra á cierta distancia del cuerpo celular ya de una manera definitiva.

En el ganglio plexiforme del vago de los pollos situado muy bajo, dentro de la cavidad torácica antes de emerger el recurrente, la mayoría de sus células son bipolares y en el hombre adulto, en este mismo ganglio se hallan, aunque raras, células bipolares en un todo semejantes á las del período embrionario. Es particularmente en el interior de las células nerviosas de los ganglios espinales que,

aplicando finas reacciones de especial método, se advierte un aparato característico en torno del núcleo, constituido por delicados filamentos en forma de elegante red, entre sí anastomosados, conservando siempre un espacio entre el límite periférico y la superficie exterior de la célula. Es el aparato reticular endo-celular de Golgi, cuya función se desconoce.

Se llaman células fenestradas á elementos nerviosos varios de los ganglios que se observan en el estado normal y patológico y cuya característica es la de presentar numerosas asas gruesas, desde la forma de un simple ojal, situado en el punto de emergencia del cilindro-eje, hasta la de un retículo complicado, asas que salen y terminan en el protoplasma de las células ganglionares.

En el ganglio plexiforme del vago de los ancianos mayores de sesenta años se observan numerosas células fenestradas. Son frecuentes también en los ganglios de los perros rabiosos, donde las observó Cajal por vez primera.

Se llaman *bolas* á expansiones de esta forma, que emergen del cuerpo celular ó de la porción glomerular del axón; nacen finos filamentos que terminan en un globo final ó en una serie continuada de bolas. Numerosas células de los ganglios están munidas de estas expansiones, cuyo fin se desconoce. Los ganglios simpáticos son masas grises ovoideos, unidos en cadenas y en su estructura presentan una sustancia gris propia, fibras aferentes y los nervios viscerales eferentes.

La sustancia gris está formada por tres variedades de células. Células voluminosas con prolongaciones protoplasmáticas cortas, que terminan debajo de la cápsula envolvente formando un glomérulo; á veces se observa la fusión de dos y aun tres glomérulos de células distintas. Células con dendritas muy largas y desprovistas de prolongaciones protoplasmáticas cortas. Por último un tipo mixto, con sus dendritas largas divergentes y fibras cortas endo-capsulares.

Método del Dr. Veratti. — a) Método de Cajal hasta obtener los cortes mediante el nitrato de plata reducido. Dichos cortes se adhieren al porta con albúmina glicerinada.

b) Xilol. Alcohol absoluto 95°, 90°, 80°, 70°. Agua dest.

c) Se varían los preparados por el Método Cajal en:

Hiposulfito de sodio.....	3 gr.
Sulfocianuro de amonio.....	3 »
Agua.....	100 »

A 10 cc. de esta solución se añaden en el momento de usarla unas gotas de solución de cloruro de sodio al 1 por 100.

Se inmerge el preparado desde 10 minutos hasta una hora, esto es, que el color café se transforme en un color gris violáceo.

d) Desde allí se pasa al:

$\frac{1}{2}$ por 1000 de permanganato de potasio.

1 » 1000 de ácido sulfúrico.

Pocos minutos (5') hasta que observado á la luz se advierte que del color gris pasa al color caoba.

e) Se decolora en agua (30 cm.) con ácido sulfuroso pocas gotas (2 ó 3).

Allí se deja hasta decoloración, que el color caoba desaparezca.

f) Coloración en carmín-alumbre (24 horas y aun más).

g) Agua dest. Deshidratación por los alcoholes. Xilol. Bálsamo del Canadá.

DR. NICOLÁS ROVEDA,

Ex-interno del Laboratorio dirigido por el profesor
Santiago Ramón y Cajal.

Ex-asistente honorario del Laboratorio dirigido
por el profesor Camilo Golgi.