

R F-C/CAL
FACULTAD DE MEDICINA DE MADRID

HISTOGÉNESIS

DE LOS

CENTROS NERVIOSOS

TESIS DEL DOCTORADO

POR

D. CARLOS CALLEJA Y BORJA-TARRIUS

Ayudante de la Facultad de Medicina.

MADRID

IMPRENTA Y LIBRERÍA DE NICOLÁS MOYA

Carretas, 8 y Garcilaso, 6.

1896



BIBLIOTECA DE LA UNIVERSITAT DE BARCELONA



0700678364

*A. S. Góngora como Colaborador
de cariños afecto de*

El Autor



HISTOGÉNESIS DE LOS CENTROS NERVIOSOS

X
FACULTAD DE MEDICINA DE MADRID

HISTOGÉNESIS

DE LOS

CENTROS NERVIOSOS

TESIS DEL DOCTORADO

POR

D. CARLOS CALLEJA Y BORJA-TARRIUS

Ayudante de la Facultad de Medicina.

MADRID

IMPRENTA Y LIBRERÍA DE NICOLÁS MOYA

Carretas, 8 y Garcilaso, 6.

1896



A la memoria de mi padre.

A mi madre.

RESPECTABLE TRIBUNAL :

El punto por mí elegido para tema de este discurso, es el estado actual de los conocimientos acerca de la HISTOGÉNESIS DE LOS CENTROS NERVIOSOS, asunto en el que aún resta mucho por hacer, dada su extrema complejidad y la extraordinaria dificultad en la aplicación de los procedimientos modernos de coloración, á los embriones y fetos de animales. Que el asunto es de suyo interesante, lo dice el que de él se han ocupado investigadores, tales como His, Cajal, Retzius, etc.; de modo que si en este trabajo se notare alguna deficiencia, culpe-seme á mí, que no habré sabido interpretar fielmente lo que se ha escrito sobre esta materia.

He de decir, además, que en la embriología cerebelosa aportaré algún dato, aunque insignificante, de observación personal, que más tarde habré de ampliar, cuando sean más numerosos los datos recogidos de mis preparaciones.

Tanto en éste como en otros trabajos de la misma índole, he sido aconsejado y dirigido por D. Santiago Ramón y Cajal, á quien desde aquí doy las más sinceras gracias.

Para metodizar el estudio de la histogénesis nerviosa, comenzaré por describir primero el desarrollo, en conjunto, de los centros, hasta la época de su diferenciación microscópica, para luego irlos examinando á cada uno en particular.

Sabido es, que el tejido nervioso no viene á representar más que una diferenciación del *ectodermo*, y que se inicia simplemente por

un surco en la hoja externa, cuyo surco ha de convertirse más tarde, por aproximación y fusión de sus bordes, en un conducto (*conducto del epéndimo*). Tal surco se halla tapizado por un epitelio cilíndrico simple, cuyas células están colocadas en una sola capa. Estas células son largas en sentido de su altura, implantadas por uno de sus lados en la denominada *membrana limitante externa ó prima de Hensen*. La cara opuesta es la que más tarde ha de constituir el epéndimo, que ahora recibe la denominación de *membrana limitante interna*.

Cada una de estas células, que pudiéramos llamar *neuro-epiteliales*, poseen núcleo y protoplasma. El núcleo es en estas primeras etapas, relativamente voluminoso, un tanto excéntrico, aproximándose algo á la membrana limitante interna. El protoplasma se encuentra diferenciado en *ectoplasma* y *endoplasma*; aquél, claro, y éste, turbio, en cuyo interior se halla el núcleo.

Obsérvase que entre las células epiteliales hay otras voluminosas, más ó menos redondeadas, algunas de ellas en vías de reproducción kariokinética, que han recibido el nombre de *germinativas* (His). Tales células (fig. 1, A) no se hallan tan sólo en el canal neural, sino que se observan, además, en el cordón ganglionar y en aquella parte de la lámina córnea adyacente, que ha sido denominada *lámina sensorial*.

Volviendo á ocuparnos de las células epiteliales, diremos que se multiplican rápidamente, aunque su modo de división es todavía desconocido, y únicamente lo que puede afirmarse, según His, es que no se ven nunca formas de transición entre las células germinativas y las epiteliales.

A consecuencia de la gran rapidez con que la reproducción se efectúa en estas últimas células, y merced á la compresión que ejercen sobre sí mismas, se alargan, simulando un epitelio estratificado, por colocarse sus núcleos á distintas alturas, debiendo advertir que los que se encuentran situados en zonas más internas, están más próximos entre sí, efecto de la corvadura que experimenta la lámina neural.

Estos dos distintos órdenes de células que estamos describiendo, han de dar origen á distintas clases de elementos; las epiteliales producirán, por sucesivas transformaciones, las células epen-

dimales y las de neuroglia, pasando antes por el estado que His ha llamado *espongioblasto*, mientras que las germinativas, siendo primero *neuroblastos*, llegarán luego á convertirse en células nerviosas.

En la época en que ya la multiplicación de las células epiteliales se hace manifiesta, obsérvase que los cuerpos celulares comienzan á diferenciarse en tres zonas distintas, que han recibido nombres diferentes : una interna ó *capa de las columnas* (fig. 1, B), otra media, donde se encuentran situados á alturas distintas los núcleos (fig. 1, C), y otra externa ó *velo marginal* (fig. 1, D). De estas tres zonas, la media es la más espesa durante algún tiempo.

Por lo que á las células germinativas respecta, debo decir que al final de la cuarta semana de la vida intra-uterina, aumentan extraordinariamente en número, para luego disminuir. Este fenómeno de la disminución en la cantidad de las células germinativas, es en realidad sólo aparente, pues lo que acontece es que muchos de estos elementos comienzan á emigrar á zonas más profundas.

En las células epiteliales, obsérvase que bien pronto su protoplasma se diferencia en dos porciones, una clara de aspecto homogéneo y transparente y otra de estructura más ó menos fibrilar, fácilmente colorable por el carmín. Esta última parte se halla formando un retículo, en el interior de cuyas mallas se encuentra la substancia clara. Pudiera compararse en estos momentos la célula epitelial de los centros nerviosos, como lo hace Déjérine á una célula mucosa, con la que tiene indudable semejanza. La substancia fibrilar del protoplasma rodea al núcleo y se alarga en dos prolongaciones : una basal ó interna con poquísimas y cortas colaterales, y que concurre á formar la membrana limitante interna y otra externa que es la que forma el retículo que contiene la substancia clara.

De este modo, vienen á constituirse los espongioblastos, primer esbozo de las células endodermales y neuróglícas, espongioblastos que afectan una disposición radiada, poseyendo, como antes se ha dicho, dos prolongaciones, una interna que en conjunto constituye la zona de las columnas, y otra externa, que por su unión for-

ma el llamado velo marginal. Estas prolongaciones externas son un tanto ramificadas (fig. 1, *D*) y sus colaterales se ponen en contacto con las de los espongioblastos vecinos, cuyo contacto hizo que por la imperfección de los métodos de teñido, se tomara como verdadera anastómosis, hasta que la aplicación del procedimiento de impregnación de Golgi, ha hecho ver que no se trata más que de sencillas superposiciones, en las que cada fibrilla conserva su propia independencia. Este entrecruzamiento de fibras,

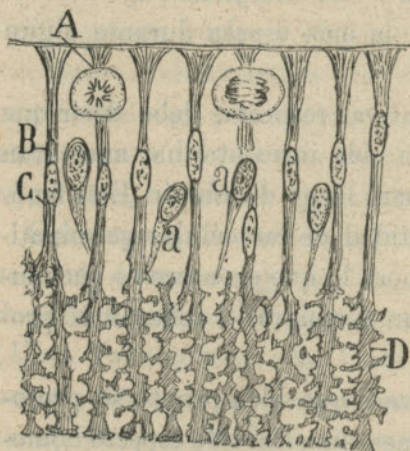


Fig. 1.—Corte esquemático de la pared del surco medular (His). — *A*, células germinales; *B*, epitelio; *C*, núcleo de las células epiteliales primitivas; *D*, porción externa de éstos; *a*, neuroblasto.

hace que se forme una red muy tupida, cuyas mallas son tanto más estrechas, cuanto menos avanzado es el desarrollo. Tal red vendría á constituir para His (1), una especie de filtro que no dejaría pasar á ningún neuroblasto y cuyas mallas servirían al mismo tiempo como de canales conductores preestablecidos, por donde los cilindros-ejes habrían de caminar. Esta hipótesis no tiene valor, desde el momento en que los espacios intersticiales del velo marginal son posteriores á la formación de las fibras nerviosas, según ha visto Cajal en la retina y cerebro, en cuyos órganos la

distribución de los cilindros-ejes, se verifica en una época en la cual las expansiones externas de los espongioblastos, son completamente lisas sin poseer absolutamente ninguna colateral.

Entre las prolongaciones internas, únicamente formadas por la substancia fibrilar del protoplasma, quedan unos espacios que constituyen verdaderos nidos, en el interior de los cuales se hallan alojadas las células germinativas (fig. 1, *A*). Estos nidos, pasando el tiempo, quedan vacíos cuando la multiplicación y transformación de tales células en neuroblastos, las hacen emigrar á

(1) Al final incluimos la bibliografía donde hacemos mención de los trabajos que hemos consultado para escribir este discurso.

capas más profundas. Cuando tal acontece, la capa interna ó sea la de las columnas, disminuye en altura y los cuerpos de los espongioblastos se hacen cada vez más internos, situándose sobre la membrana limitante interna, formando, de esta suerte, la corona epitelial que tapiza el canal del epéndimo.

La serie de transformaciones sucesivas que experimenta la célula germinativa, antes de convertirse en neuroblasto, han sido perfectamente estudiadas por His en los embriones humanos. Al final de la cuarta semana de la vida intra-uterina y cuando ya el espongioblasto está formado, obsérvase que en la parte más interna de la zona de las columnas y próximas á la membrana limitante, yacen células germinativas, cuyo núcleo ostenta las figuras de la reproducción kariokinética; pudiera decirse que con este fenómeno comienza la serie de transformaciones de tales elementos. Obsérvase al mismo tiempo, que el protoplasma se reúne en la extremidad externa de la célula, hasta que se prolonga, afectando entonces el elemento un aspecto más ó menos piriforme, cuya parte más ensanchada, está ocupada por el núcleo, rodeado por una delgadísima capa de un protoplasma claro y transparente. En este momento, la célula en vías de evolución, se aproxima ya por su forma al neuroblasto; sin embargo, todavía se distingue de él, por encontrarse situada en zonas muy internas, por la facilidad extraordinaria con que se colorea el protoplasma y por la riqueza en cromatina de su núcleo, circunstancias todas que la aproximan aun á los elementos germinativos. Todos estos caracteres han hecho que His apellidase á estos corpúsculos, en tal estado de desarrollo, *células de transición*. A medida que la evolución avanza, la prolongación externa va haciéndose más larga, y simultáneamente con este fenómeno, la célula comienza á emigrar situándose en la capa de los cuerpos espongioblásticos. A pesar de poseer ya una larga prolongación, circunstancia que aproxima más estos elementos á los neuroblastos, aún se distinguen de ellos porque su protoplasma sigue siendo fácilmente tingible y su núcleo no ha perdido nada en la riqueza de cromatina.

Una vez que por la emigración de la célula germinativa, el neuroblasto se constituye (fig. 1, *a*), presenta éste caracteres que le individualizan de todos los demás elementos. En efecto, su núcleo

pierde cromatina, es de contorno oval, regular y difícilmente colorable por sus reactivos propios. El protoplasma, que también se tiñe mal, forma una capa apenas perceptible en la mitad interna, mientras que en la externa se alarga en forma de cono, para continuarse en una fibra, la cual ostenta una fina estriación longitudinal. Esta fibra, es la que más tarde ha de constituir el cilindro-eje, ó prolongación funcional de Golgi, de la célula nerviosa. Esta expansión, conforme el desarrollo avanza, ha de ir alargándose, hasta terminar en el órgano ó elemento celular á que está destinada. Según las investigaciones de Cajal, esta fibra posee en su extremidad periférica un espesamiento, que este investigador ha denominado *cono de crecimiento*, el cual en muchos casos se halla erizado de ciertas asperezas, esbozo remoto sin duda alguna, de la arborización terminal del cilindro-eje.

El fenómeno del crecimiento del cilindro-eje, hasta ponerse en contacto con el elemento á que está destinado, constituye un problema de difícil resolución, puesto que hay que invocar, sin género alguno de duda, ciertas propiedades vitales de la célula, en virtud de las cuales, la prolongación nerviosa marcha en un sentido determinado.

En efecto; His, según ya hemos indicado, cree que esta propiedad dependería, de que las expansiones cilindro-axiales, buscan siempre para abrirse paso, el lugar de menor resistencia, y para explicar esto, es para lo que este sabio, cree que el velo marginal, constituye un filtro para los neuroblastos. Ya hemos dicho más arriba, la razón por la que esta hipótesis no tiene aplicación á este fenómeno, más que en muy limitadas circunstancias.

Cajal propone una teoría ingeniosa para explicar tal fenómeno, basada en las propiedades *quimiotácticas* de los elementos celulares, recientemente estudiadas por Pfeffer, Massart y Bordé, Gabritchewsky, Buchner y Metchnikoff. Admitiendo la sensibilidad quimiotáctica de los neuroblastos, hay que suponerlos dotados de movimientos amiboides, y excitables por las substancias segregadas por ciertas células, bien sean nerviosas, epiteliales ó neurodérmicas. Suponiendo, pues, que el fenómeno de la quimiotaxis sea un hecho, no se producirá de la misma manera para todos los elementos, pues hay que considerar varios casos.

Cuando se trata de elementos, en los que el cuerpo celular es el que se desplaza, y no el cilindro-eje, que queda fijo casi en el mismo sitio, como acontece á los granos del cerebelo, hay que pensar, ó en una quimiotaxia positiva en las regiones á las cuales se dirige el cuerpo celular, ó en una negativa para las substancias segregadas, á nivel de los sitios donde se hallan los cilindros-ejes, lo cual haría que las células huyeran de aquellos, hasta que encontrasen en su camino un obstáculo mecánico, tal como una membrana conjuntiva, un fascículo de substancia blanca, etc.

El crecimiento de los cilindros-ejes de células sensitivas y motoras, es difícil de explicar por esta teoría, merced á las distancias enormes, á que se encuentran los sitios de destino, y hay que invocar la doctrina de His, de los lugares de menor resistencia, siendo únicamente, en las proximidades de los sitios donde se hallan las células que deben recibir la arborización terminal, donde la quimiotaxia comenzaría á obrar.

Si se trata de células cuyas arborizaciones nerviosas y protoplasmáticas tienden á encontrarse, hay que suponer corrientes quimiotácticas positivas, recíprocas y cruzadas; esto explicaría, por qué se ponen en contacto los pies de los conos y bastones, con las expansiones ascendentes de las bipolares, en la retina.

Para aplicar esta hipótesis de Cajal, al crecimiento en sentido divergente de las arborizaciones nerviosas y protoplasmáticas, hay que suponer, que desarrollándose primero el cilindro-eje, una vez llegado á su punto de terminación, y quedando por lo tanto en estado de quimiotaxia indiferente, produciríanse en el polo opuesto, substancias quimiotácticas, que atraerían las expansiones protoplasmáticas, en sentido opuesto á la dirección de la prolongación nerviosa. Esta explicación nos daría cuenta, por ejemplo, del desarrollo de las células de Purkinje del cerebelo.

Ultimamente Cajal ha añadido algunos datos más á esta hipótesis del crecimiento, por acción quimiotáctica, de las expansiones de las células nerviosas. Afirma, desde luego, que la aparición de las expansiones protoplasmáticas de toda célula, se debe á la acción atractiva que realizan, las arborizaciones nerviosas terminales, con las que aquéllas deben mantener relación, ó en otros términos: las arborizaciones nerviosas terminales, preceden siem-

pre á las expansiones protoplasmáticas con quienes se conexionan. Cuando una célula nerviosa, ha de establecer relaciones con varias clases de fibras terminales, las expansiones protoplasmáticas aparecen, según el mismo orden con que se presentan las arborizaciones nerviosas; de suerte, que la morfología celular (es decir, el número, dirección y ramificaciones de los apéndices protoplasmáticos), es función del número, posición, forma y dirección de las ramificaciones nerviosas, á cuya atracción quimiotáctica sucesiva, se somete el protoplasma embrionario. Citemos un ejemplo: en un principio, la célula de Purkinje del cerebelo es piriforme, poseyendo una sola expansión descendente, el cilindro-eje; algún tiempo después, un grano superficial, pasa de la fase indiferente al estado bipolar, cuyas dos expansiones tienen, como es sabido, la representación de ramas nerviosas terminales; desde este momento, estas expansiones polares, atraen el protoplasma de los corpúsculos de Purkinje, y como semejante atracción se verifica en todo el trayecto de la fibra paralela, recién formada, no una, sino toda una serie longitudinal de dichos elementos, dirige hacia los granos apéndices ascendentes. La diferenciación bipolar de un nuevo grano, suscita nuevos brotes protoplasmáticos, y el proceso continúa hasta que han desaparecido los corpúsculos superficiales indiferentes. De lo que se infiere, que las prolongaciones protoplasmáticas más altas, han sido las últimas en formarse, ya que su aparición es la obra de las fibras paralelas más elevadas. Pero mucho antes de que termine la producción de ramas protoplasmáticas, en los corpúsculos de Purkinje, una nueva influencia quimiotáctica se presenta: las fibras musgosas, que acaban de hacer su entrada en la zona de los granos, es decir, por debajo de aquellos elementos: estas fibras atraen ahora los granos bipolares de la capa superficial, los que, descendiendo á través de la capa molecular, no tardan en ponerse en contacto, por debajo de las células de Purkinje, con las arborizaciones musgosas.

Estas influencias quimiotácticas sobre los protoplasmas, sólo las presentarían, según Cajal, las arborizaciones embrionarias de los corpúsculos de cilindro-eje largo; las ramificaciones nerviosas terminales de las células de Golgi (células pequeñas de la capa

molecular del cerebelo, corpúsculos estrellados grandes de la zona de los granos, etc.), en vez de ejercer acción sobre las células, serían, por el contrario, atraídas por los cuerpos de los elementos con quienes deben establecer relación; lo que dependería, de que cuando se diferencia el cilindro-eje de los elementos de Golgi, las células nerviosas han adquirido casi del todo su forma adulta, y perdido toda movilidad amiboide. Así, las *cestas* terminales son disposiciones tardías, y en su formación interviene el cuerpo de las células de Purkinje, atrayendo las fibrillas terminales de los corpúsculos de la capa molecular.

Strasser recientemente, y casi al mismo tiempo que Cajal, ha dado á conocer otra teoría sobre la marcha de los cilindros-ejes, durante la época de su crecimiento. Este autor propone una explicación del fenómeno, basada en propiedades electro-motoras de las células. Según tal investigador, un estado de electrización negativa del miotomo, por ejemplo, influiría y excitaría al neuroblasto, electrizando positivamente su polo externo, ó sea el sitio donde toma origen el cilindro-eje. De esta suerte explicaríase, que las expansiones nerviosas de las células motoras, fueran á buscar las placas musculares, en virtud de una mayor diferencia de potencial eléctrica. La hipótesis de Strasser no puede aceptarse, porque no nos da cuenta más que de la dirección, que en conjunto seguirían los grupos celulares, pero no el por qué un determinado elemento nervioso, se alarga mediante su cilindro-eje, hasta ponerse en contacto con una fibra muscular, una epitelial, otra nerviosa, etc., lo cual queda mejor explicado por la teoría de Cajal.

Por todo lo que llevamos dicho, puede deducirse que el neuroblasto es el primer esbozo de la célula nerviosa adulta, y que ya para constituirse en tal célula, no le falta más que la aparición de las expansiones protoplasmáticas.

Estas expansiones, no comienzan hasta que el cilindro-eje se halla definitivamente formado, como lo han demostrado His, von Lenhossek y Cajal. Obsérvase que, á menudo del polo opuesto de la célula, al que sirve de origen á la prolongación nerviosa, se desarrolla una expansión corta, más ó menos recta y más recia que el cilindro-eje, cuya expansión no representa más que el primer esbozo de la arborización protoplasmática ulterior, ó simple-

mente una primera rama protoplasmática. No siempre las cosas pasan así, pues muy á menudo se observa que los primeros trazos de estas prolongaciones, están representados por una serie de excrescencias más ó menos numerosas, de aspecto espinoso, que toman su origen, bien en el cuerpo mismo de la célula, en cuyo caso ésta presenta un contorno áspero é irregular, ó bien en el mismo punto de arranque de la expansión cilindro-axil. De todas suertes, obsérvase que tales excrescencias, remota idea de las ramas protoplasmáticas, se hallan provistas á menudo, en su extremidad libre ó extra-celular, de una varicosidad.

Tanto los cilindros-ejes como las prolongaciones protoplasmáticas embrionarias, están provistas en su trayecto, á distancias irregulares, de espesamientos, que unas veces son redondeados y otras ovalares, más numerosas cuanto más temprana es la etapa evolutiva, en la que estudiemos tales particularidades. Estos espesamientos ó varicosidades, ya descritos por varios autores, encontraríanse, según A. Thomas, en los puntos de futura división de las ramas protoplasmáticas, y á nivel de los sitios de emergencia de las colaterales de los cilindros-ejes.

Respecto al desarrollo de las colaterales de las expansiones nerviosas, podemos decir que comienzan á iniciarse, después que las protoplasmáticas se hallan formadas, ó al mismo tiempo que se están formando. Estas colaterales, en sus primeros tiempos, no están constituídas más que por una prolongación corta, que nace en ángulo recto de la fibra nerviosa, y rematada en su cabo libre por una varicosidad de tamaño variable.

En la transformación del neuroblasto en célula nerviosa, la textura íntima del elemento sufre algunas modificaciones que merecen conocerse, y que muy ligeramente vamos á bosquejar. Obsérvase, que avanzando el desarrollo, el núcleo se hace voluminoso, poseyendo en su interior granulaciones, que por los medios ordinarios de coloración, tales como el carmín, hematoxilina, etc., se tiñen mal, apareciendo poco distintas. Este núcleo, que es claro y regular, se halla rodeado de un protoplasma con prolongaciones más ó menos delgadas y más ó menos numerosas, que se colorea con cierta relativa facilidad por el ácido ósmico, tomando con este reactivo el aspecto de una emulsión de albúmina, ligeramente te-

ñida en pardo. En este estado, no es raro observar en el protoplasma vacuolas que varían en número y tamaño. Etapas más avanzadas en el desarrollo, nos muestran al protoplasma con granulaciones grandes y numerosas, que más tarde han de cambiarse por un aspecto ligeramente estriado, hasta que por fin se hace francamente fibrilar, última fase en la evolución de la textura íntima de la célula nerviosa, en la que ya se observa entre la malla de estas fibrillas, negadas por algunos autores, tales como von Lenhossek, la existencia de los grumos ó husos cromáticos, demostrados por Nissl, Schäffer, etc.

Con esto queda terminado lo que pudiéramos llamar ojeada general á la histogénesis de los centros nerviosos, y vamos á comenzar ya con el estudio por separado de la evolución en cada centro en particular, comenzando por la histogénesis de la

Médula espinal.

Del desarrollo celular de este centro se han ocupado varios autores, valiéndose para su estudio de diversas especies animales; His y Lachi lo han hecho en los mamíferos, Cajal en las aves, principalmente en el pollo, y Retzius en los embriones de los ofidios, particularmente en el *tropidonotus natrix*.

Ya en la época de la diferenciación y constitución de los neuroblastos, en el momento en que la emigración de estos elementos ha empezado á efectuarse, según lo hace notar His, la médula se halla constituida microscópicamente por dos clases de elementos que se diferencian por su situación respectiva. Unos de ellos se colocan en la parte más interna ó central, rodean al conducto del epéndimo y son las denominadas células epiteliales (figura 2, A). Los otros son más excéntricos y constituyen los neuroblastos (fig. 2, B, a, h), que han de llegar á ser, con el tiempo, las células nerviosas definitivas.

Debemos decir que, respecto á la embriología medular desde el punto de vista microscópico, aún falta mucho por hacer, puesto que no se conoce más que la manera de desarrollarse de un corto número de elementos celulares, y de cierta cantidad de fibras nerviosas, dada la extraordinaria dificultad que la aplicación del mé-

todo de impregnación argéntica tiene en los embriones de animales. De todas suertes, vamos á pasar revista á lo que en el día se conoce de este asunto. Y para metodizar un poco su estudio, describiremos primero el desarrollo de las células grises, para luego hacernos cargo del desenvolvimiento de la substancia blanca.

Células radiculares y del cordón antero-lateral. — Sabido es que en el estado adulto, las células radiculares se hallan caracteriza-

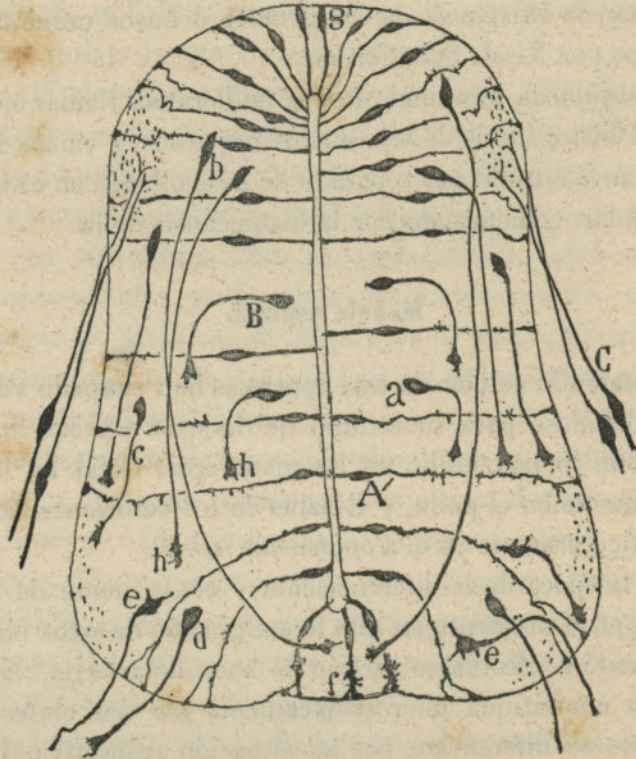


Fig. 2.—Corte transversal de la médula espinal del pollo, al tercer día de la incubación (Cajal).—A, células epiteliales; B, neuroblastos; C, raíces posteriores; a, neuroblasto muy joven; b, neuroblasto comisural; c, neuroblasto de los cordones; d, neuroblasto radicular; e, neuroblasto radicular con rudimentos de expansiones protoplasmáticas; h, cono de crecimiento.

das, por estar situadas en la parte antero-externa del asta anterior, por su extraordinario volumen, por poseer un cilindro-eje recio que no suele dar ninguna colateral en su trayecto medular, entrando á formar parte de la raíz motriz del par raquidiano correspondiente, y últimamente, porque sus expansiones protoplasmáticas se disponen en tres manojos, que pueden distinguirse en externo,

posterior é interno; este último se entrecruza con el que procede de células del otro lado de la médula, y vienen á formar lo que Cajal ha llamado *comisura protoplasmática*.

Respecto á la histogénesis de estos elementos y de las células del cordón antero-lateral, debemos advertir que son los corpúsculos que más tempranamente se desarrollan, tanto que, como ha indicado Cajal y confirmado más tarde von Lenhossek y Retzius, cuando las demás células de la médula se hallan en la fase de neuroblasto, las radicales y las del cordón antero-lateral se encuentran casi completamente desarrolladas, pudiéndose deducir de este hecho una ley de precedencia para los elementos de la parte anterior de la médula (1).

Comienzan á impregnarse estos elementos en los embriones de pollo, al tercer día de incubación, y entonces se observa que aparecen situados aún entre las células epiteliales, poseyendo una expansión nerviosa corta, que termina por un voluminoso cono de crecimiento, afectando los más jóvenes una forma de arco, cuya concavidad mira hacia la parte interna. Es curioso el hecho de que en esta época poseen estos corpúsculos una prolongación corta, en el polo opuesto al de implantación del rudimentario cilindro-eje, es decir, una prolongación realmente endodermal, destinada á atrofiarse y á ser sustituida por el primer esbozo de las expansiones protoplasmáticas, constituido por la aparición en el contorno de la célula de espinas lisas difíciles de apreciar (fig. 2, e).

Avanzando en el desarrollo, puede observarse que las células radicales, como lo ha visto Cajal en el pollo al cuarto día de incubación, están ya provistas de ramas protoplasmáticas, al principio lisas, más tarde ramificadas, debiendo hacer constar que, á pesar de esta ramificación, conservan las células una forma alargada, simulando un huso, que recuerda aún la fase neuroblástica. Esta disposición en huso es más pronunciada en las células cuyo cilindro-eje se continúa con fibras del cordón antero-lateral. Por último, hacia el fin del quinto día de la incubación, tanto las radicales como las del cordón antero-lateral, se hallan ya comple-

(1) En general, cabe afirmar que lo primero que se desarrolla es el arco excitomotor, es decir, las células motrices, las sensitivas y sus enlaces, mediante colaterales; las células y vías de asociación aparecen mucho más tarde.

tamente formadas, ostentando todos los caracteres de elementos adultos.

Retzius ha confirmado lo que llevamos expuesto en los embriones de los ofidios, debiendo citar como hecho curioso, el de que la expansión protoplasmática externa, representación del manajo externo de los mamíferos y aves, alcanza pronto una extensión extraordinaria, distinguiéndose por su grosor y por suministrar una serie de colaterales cortas, casi paralelas, que se dirigen hacia la periferia de la médula, donde se terminan por un engrosamiento.

Células comisurales.—Estos elementos, en el estado de completo desarrollo, se caracterizan por ser menores de tamaño y poseer menor número de expansiones protoplasmáticas. Yacen estas células en diversos sitios de la substancia gris de la médula, y emiten un cilindro-eje que va á buscar la parte anterior, cruza de un lado á otro la comisura blanca y, por último, se continúa con una fibra longitudinal del cordón antero-lateral del lado opuesto.

En el tercer día de la incubación en el pollo (Cajal), comienzan á observarse estas células en la parte más posterior de la médula, ostentando caracteres de neuroblastos típicos, notándose desde luego que los elementos más embrionarios se hallan situados en las zonas más posteriores (fig. 2, *b*). Del mismo modo que las radicales, estas células poseen una expansión endodermal muy corta, y su cilindro-eje, que en esta época tiene poca longitud, se halla provisto del cono de crecimiento, describiendo en su trayecto una curva de concavidad interna, para tomar una dirección marcadamente antero-posterior. Algunas veces se observa que el cilindro-eje se divide en dos, para suministrar una fibra á la comisura blanca anterior, y otra al cordón lateral inmediato; en este caso, cada una de estas fibras posee su correspondiente cono de crecimiento.

Hay que advertir que en esta época del desarrollo son muy pocos los cilindros-ejes de las células comisurales, que han llegado á desenvolverse tanto que alcancen la comisura blanca anterior, sino que se observa que la generalidad termina en sus proximidades.

En el quinto día de la incubación, puede verse ya algún adelanto en el desarrollo de los elementos que estamos describiendo.

En efecto, á pesar de conservar todavía una figura más ó menos fusiforme (fig. 3, *D*), recuerdo de la fase neuroblástica, algunas células ostentan en las partes laterales del cuerpo apéndices cortísimos, primer diseño de ramas protoplasmáticas. Respecto á los cilindros-ejes, su desarrollo ha avanzado también, y ya podemos ver que muchos de ellos han alcanzado la comisura blanca, la han atravesado, y llegan á la región del cordón anterior del lado opuesto.

En este mismo período es cuando comienzan á aparecer las células motrices de la raíz posterior (fig. 3, *C*), elementos que han

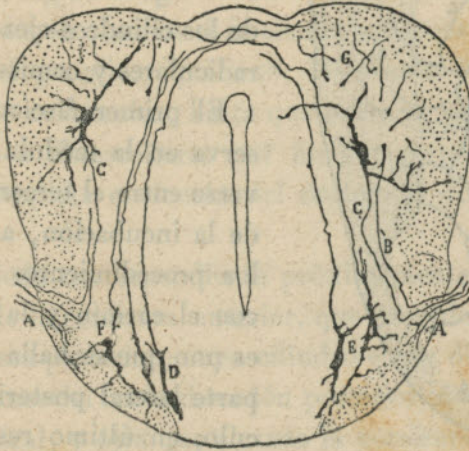


Fig. 3.—Corte transversal de la médula espinal del pollo, al quinto día de la incubación (Cajal).—*A*, raíz posterior; *B*, cilindro-eje que forma parte de la raíz posterior; *C*, células motrices de la raíz posterior; *D*, células comisurales embrionarias; *E*, células comisurales más desarrolladas; *G*, fibras colaterales de la substancia blanca en vías de crecimiento.

sido primeramente señalados por Cajal, y posteriormente confirmados por von Lenhossek.

Hacia el octavo día, el número de elementos comisurales ha aumentado de un modo extraordinario, conservando aún muchos de ellos su aspecto fusiforme (fig. 3, *E*), notándose además en algunos, que la expansión endimensional es la que ha dado origen á la primera rama protoplasmática, de la cual han de nacer las primeras ramillas de la arborización secundaria; es digno de notarse, que en muchos elementos, el cuerpo celular se halla aún completamente libre de expansiones de este género.

En este período se encuentran ya casi completamente descen-

vueltas, en su mayor parte, las células que Cajal ha denominado *pluricordonaes* (fig. 4, E). Otro tanto puede decirse que ocurre con las células que dan origen á una fibra nerviosa para un solo cordón ó *células de los cordones* (fig. 4, B, D).

Substancia blanca. — Las fibras que componen esta substancia, comienzan á aparecer entre el tercero y cuarto día de incubación en el pollo. Claro está que aquí no hemos de hablar más que de las fibras centripetas y de la sucesiva aparición de las colaterales de los diversos manojos que componen la médula, puesto que de las fibras centrifugas ya hemos indicado algo al hablar del crecimiento de los cilindros-ejes de las células radicales y comisurales.

El primer fascículo que se observa en la médula, y que puede verse entre el tercero y cuarto día de la incubación, aun empleando los procedimientos de coloración con el carmín y la hematoxilina, es uno que se halla situado en la parte lateral posterior. Este fascículo, en último resultado, no se halla formado más que por las prolongaciones centrales de las células bipolares de los ganglios raquidianos (fig. 2, C). Debemos advertir, como hecho notable y digno de ser observado, que en estos períodos no se aprecia la llegada de ninguna fibrilla procedente de este fascículo á la substancia gris embrionaria.

Respecto á las colaterales de la substancia blanca, hay que decir, que las primeras que se ven aparecer, hacia fines del quinto día de la incubación, son las del cordón anterior, especialmente las de la porción más interna. En esta época son muy cortas, rectas y terminadas por un engrosamiento, provisto á menudo de algunas espinas diminutas y divergentes. Estas colaterales ostentan



Fig. 4. — Corte transversal de la región posterior y lateral de la médula del pollo, al octavo día de la incubación (Cajal). — A, célula cuyo cilindro-eje va á la comisura anterior; B, D, células de los cordones; G, célula cuya expansión ependimal está ramificada; E, célula pluricordonal.

algunas ramificaciones terminales en el sexto día, las cuales penetran en lo profundo de la substancia gris. En el séptimo día, el alargamiento es muy manifiesto, hallándose de característico en esta etapa la existencia de algunas fibrillas que, procedentes del cordón anterior, cruzan la comisura blanca y van á terminarse por una arborización varicosa en el asta anterior del lado opuesto. Durante este mismo período comienzan á verse algunas, aunque escasas, colaterales del cordón posterior, principalmente las procedentes de la parte más interna de dicho cordón.

Por lo que al desarrollo de las raíces posteriores respecta, debemos decir que, según hemos indicado más adelante, entre el tercero y cuarto día se observa el fascículo, compuesto por las fibras procedentes del ganglio raquidiano. Pero estas fibras se hallan desprovistas de colaterales, hasta que entre el séptimo y octavo día comienzan á desarrollarse por finas y cortas ramitas, para terminar su completa evolución del décimo al duodécimo día de la incubación.

En un período correspondiente próximamente al octavo día, nacen fibras de la comisura anterior, que proceden de células situadas en el asta posterior, cuyo cilindro-eje se divide en dos ramas, una que marcha hacia el cordón posterior, á continuarse con una fibra vertical, y otra que alcanza la comisura anterior, para terminarse en los días sucesivos en el cordón lateral del lado opuesto.

El desarrollo completo de todas las fibras de la substancia blanca, no se termina hasta un período comprendido, en el pollo, entre el noveno y décimo día de la incubación, en el cual se constituye de modo definitivo la comisura gris por el entrecruzamiento de fibras procedentes del cordón posterior y del antero-lateral.

Finalmente, para terminar lo que á la médula se refiere, hemos de indicar que las colaterales que más tarde aparecen son las que nacen de la parte más lateral del cordón posterior.

Cerebelo.

Es este centro uno de los que más han llamado la atención de los histólogos, por las profundas transformaciones que experimenta en su desarrollo. De aquí el que pueda decirse que las opinio-

nes de los investigadores han sido numerosas, debido á las dificultades con que se ha tropezado en este asunto.

El cerebelo embrionario difiere desde luego del adulto, por poseer una zona más, que se halla situada en la parte más superficial, sobre la capa molecular, zona que tiene la importante particularidad de que, conforme el desarrollo va avanzando, disminuye en espesor, hasta desaparecer por completo en el animal adulto, hecho que ha llamado la atención de investigadores tales como Schwalbe, Obersteiner, Löwe, Lahouse, Vignal, Bellonci y Stefani, Cajal, P. Ramón y Lugaro.

Así, pues, en el cerebelo embrionario hemos de estudiar tres principales estratos ó capas, que son de fuera adentro : 1.º, zona de los granos superficiales ; 2.º, zona molecular ; y 3.º, zona de los granos profundos.

ZONA DE LOS GRANOS SUPERFICIALES. — Según la opinión de Vignal, esta capa no estaría formada más que por la extravasación de leucocitos, procedentes de los vasos de la pía-madre, opinión que no tiene sólido punto de apoyo, puesto que en las preparaciones que se han teñido con el carmín, los elementos no ostentan en sus núcleos las particularidades que caracterizan el núcleo de los leucocitos.

Tanto Schwalbe, como Obersteiner, piensan que los elementos de esta zona se hallan destinados á transformarse en substancias conectivas de sostén, opinión que no es admisible, puesto que se funda en el parecer erróneo de que los elementos neuróglícos son capaces de producir substancias conjuntivas amorfas.

Nosotros nos hemos valido, tanto para el estudio de esta zona, como para el de las otras dos, de mamíferos recién nacidos, tales como el conejo, gato y perro, empleando como método de coloración el de la impregnación doble de Cajal, ya conocido de todos los que á esta clase de estudios se dedican.

Desde luego puede observarse en las preparaciones teñidas por el cromato de plata, que esta capa se halla formada por dos subzonas : una más superficial (fig. 5, *A*), llamada por Cajal de las células epitelioides, y otra más profunda (fig. 5, *B*) ó de las células bipolares horizontales.

La primera de estas dos sub-zonas es difícilísima de impregnar,

siguiendo el método de Golgi; sin embargo, de vez en cuando observábase que se encuentran en ella una serie de corpúsculos pequeñísimos (fig. 5, *a*) de cuerpo ovoideo, que se prolonga en su porción externa en una expansión, que muy á menudo llega hasta la misma superficie cerebelosa. Lugaro ha observado que á veces esta expansión no es única, sino que suelen presentarse dos ó tres. Este mismo histólogo ha podido ver, que entre estos elementos existen otros que poseen cuerpo globoso, envían una prolongación corta á la superficie, emitiendo por su lado profundo otra ú otras

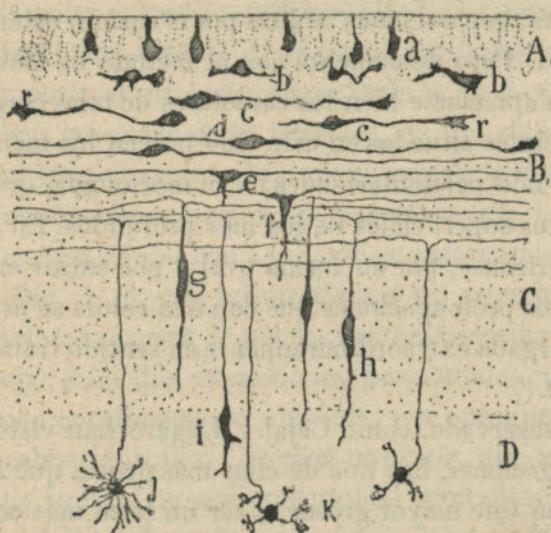


Fig. 5.—Desarrollo de los granos del cerebelo (Cajal). — A, Capa de las células indiferentes; B, capa de las células horizontales; C, capa molecular; D, capa de los granos; *a*, células epiteliales; *b, c, d, e, f*, bipolares horizontales; *g, h, i*, bipolares verticales; *j*, grano con exceso de prolongaciones; *K*, grano adulto.

de las cuales parten tenues fibrillas, que se insinúan entre los elementos bipolares de la sub-zona profunda, y llegan hasta la capa molecular. Cree Lugaro que tales corpúsculos son formas jóvenes de las células de neuroglia, fundándose en el hecho de haber observado que algunas de estas células enviaban una prolongación que se insertaba en vasos de la pía-madre. No creemos nosotros que se trate de elementos neuróglícos, pues en estos períodos que estamos describiendo, dichas células no han llegado aún á la zona molecular; así es, que nada tiene de extraño que, á pesar de repe-

tidas impregnaciones, no hayamos conseguido colorear ninguno de estos elementos, por más que no neguemos por esto su existencia, pero no con el carácter de elemento neuróglíco.

Respecto á las células *epitelioides*, descritas por Cajal, pensamos con éste que no se trata más que de elementos epiteliales ectodérmicos, que quizá más tarde hayan de constituirse en alguno de los corpúsculos del cerebelo adulto, cuyas fases de transformación nos son desconocidas en el día.

La segunda subzona (fig. 5, *B*), la más profunda, ó sea la de las células bipolares horizontales, está constituida por elementos que ya en las preparaciones teñidas por el carmín ostentan una forma alargada. Pero únicamente con el método de Golgi, es con el que pueden apreciarse bien los caracteres de tales corpúsculos. No todas las células situadas en este sitio poseen los mismos caracteres, exhibiendo particularidades en su morfología, que diferencian los elementos superficiales de los más profundos. En efecto, aquéllos caracterízanse, por su forma oval y por emitir en sentido divergente, dos prolongaciones que dan á la célula su aspecto propio bipolar, alargada extraordinariamente en sentido transversal (figura 5, *c* y *d*).

Hemos observado, como Cajal y Lugaro han visto, que de las dos prolongaciones, hay una de ellas más gruesa que la otra, coincidiendo con este mayor grosor el ser un poco más corta. Este fenómeno nos ha hecho pensar en lo que Cajal indica, esto es, que quizá se trate, como acontece en los ganglios raquidianos, de la reproducción transitoria de un tipo de bipolaridad, común á muchas células en la fase neuroblástica. Semejante fenómeno de atavismo morfológico, resulta probable si tenemos en cuenta que de las dos citadas ramas, una de ellas aparece provista de un voluminoso cono de crecimiento, orlado de espinas; mientras que la otra exhibe tan sólo una pequeña varicosidad, de forma más ó menos redondeada.

Hemos de hacer notar, además, que en varias preparaciones hemos observado la existencia de pequeñas ramúsculas, situadas precisamente en el punto de arranque de una de las expansiones. Estas ramillas, que se hallan muy cerca del cuerpo celular, están destinadas á absorberse, puesto que si se observan elementos si-

tuados profundamente, se verá que el comienzo de las dos expansiones es liso.

En las células que yacen en sitios más hondos, puede verse que las prolongaciones son más largas, tanto que en nuestras preparaciones nos ha sido muy difícil seguirlas, y al mismo tiempo se observa que ambas expansiones son ya del mismo grosor.

Los elementos situados en los límites de esta capa con la molecular, que son los más adelantados en evolución, poseen ciertos caracteres que marcan un tránsito entre estas células, y otras que se hallan en la zona molecular. Obsérvase que el cuerpo de las bipolares horizontales se hace excéntrico (fig. 5, *e*) y parece dirigirse hacia la profundidad; además de la parte más inferior, sale una prolongación, corta al principio, que se insinúa en el espesor de la capa molecular; las expansiones laterales, en esta etapa, son muy finas y ofrecen todo el aspecto de prolongaciones nerviosas. Estados más avanzados de evolución en elementos más hondos, nos muestran al cuerpo celular con un manifiesto alargamiento en sentido vertical (fig. 5, *f*), y al mismo tiempo un estrechamiento en su parte superior, á manera de puente protoplasmático que uniera la célula bipolar á las dos expansiones horizontales, que en este período parecen continuarse en una sola, por aproximación y fusión de sus cabos centrales. Creemos nosotros, que más bien de fusión, se trate aquí de un estiramiento del protoplasma de la célula bipolar, debido á la emigración hacia zonas más profundas del cuerpo del elemento nervioso, quedando las expansiones laterales en el mismo sitio en que comenzaron á desarrollarse. Pudiéramos decir que ésta es la última fase de transformación de la célula bipolar horizontal, en bipolar vertical, la cual, ingresando en la capa molecular, será la que ha de dar origen, emigrando aún más profundamente á los granos definitivos.

ZONA MOLECULAR.—Hállase formada la zona molecular en el gato y conejo recién nacido (de dos á quince días) por fibras y células: aquellas son longitudinales procedentes de los granos, ya adultos, ya en vías de evolución, otras arciformes que son cilindros-ejes de las células estrelladas que yacen en esta capa, otras descendentes y otras neuróglícas (fibras de Bergman); las células se hallan representadas: 1.º, por las bipolares verticales que ya hemos

indicado ; 2.º, por células estrelladas (células de las cestas terminales) ; y 3.º, por las células de Purkinje.

Bipolares verticales.—Estos elementos distingúense, desde luego, por su aspecto fusiforme (fig. 5, *g*) alargadas en sentido vertical. Poseen un núcleo visible, pues en las preparaciones teñidas con el cromato de plata, aparece de color pardo castaña, rodeado por una delgada capa protoplasmática. De los dos polos del elemento, nacen dos prolongaciones, una inferior más gruesa, la cual en las células situadas más superficialmente termina adelgazándose por una finísima punta en el espesor mismo de la zona molecular, mientras que en las más profundas esta expansión llega hasta la capa de los granos profundos (fig. 5, *h*), donde se termina por una pequeña arborización (fig. 5, *i*). La prolongación ascendente, que es mucho más fina que la descendente, sube hasta el estrato de los granos superficiales y allí se termina uniéndose perpendicularmente á una de las fibrillas paralelas que en sentido horizontal cruzan la laminilla cerebelosa.

Bien claro se ve por esta descripción que, la bipolar vertical no es más que una transformación de las horizontales por emigración del cuerpo celular á parajes más hondos (1).

(1) Schaper (Einige kristische Bemerkungen zu Lugaro's Aufsatz : Ueber die Histogenese der Körner des Kleinhirnrinde. *Anat. Anzeiger* 1895, n.º 13) en un trabajo aparecido después de la lectura de la presente Tesis, dirige algunas críticas á la doctrina de Lugaro, sobre la histogénesis de los granos. Acepta desde luego el modo evolutivo, descubierto por Cajal y confirmado por Lugaro ; pero añade que de los llamados granos superficiales, proceden no solamente los granos adultos sino todos los corpúsculos nerviosos y neuróglícos del cerebelo. La zona granulosa superficial, la situada encima de los elementos horizontales, estaría constituida por corpúsculos indiferentes (Mantelzone de His), capaces de evolucionar, tanto hacia la neuroglia, como hacia los neuroblastos de His : en cuanto á los elementos horizontales, representarían ya genuínas células nerviosas en evolución.

Las nuevas observaciones hechas por Cajal y por nosotros en el cerebelo embrionario, refuerzan este modo de ver de Schaper. En realidad la inmensa mayoría de los granos superficiales, y todos los corpúsculos horizontales, representan granos en distintas fases evolutivas ; pero también es muy probable, como ya hizo presente Cajal en uno de sus primeros trabajos del cerebelo, que algunos de los citados granos, ó células indiferentes, estén destinados á formar los elementos estrellados de la capa molecular. Desgraciadamente las fases de transición de estos elementos, son dificilísimas de estudiar, á causa de la extremada rareza con que se impregnan en el cerebelo embrionario. En cuanto á las células de Golgi, hállanse perfectamente diferenciadas en los animales recién nacidos, y no es posible comprobar su procedencia periférica. En opinión de Cajal, la zona de los corpúsculos indiferentes alberga acaso exclusivamente, dos clases de células gérmenes, capa-