Elementos de histología normal y de técnica micrográfica : para uso de estudiantes / por S. Ramón Cajal.

Contributors

Ramón y Cajal, Santiago, 1852-1934.

Publication/Creation

Madrid : Nicolás Moya, 1897.

Persistent URL

https://wellcomecollection.org/works/a7b9geur

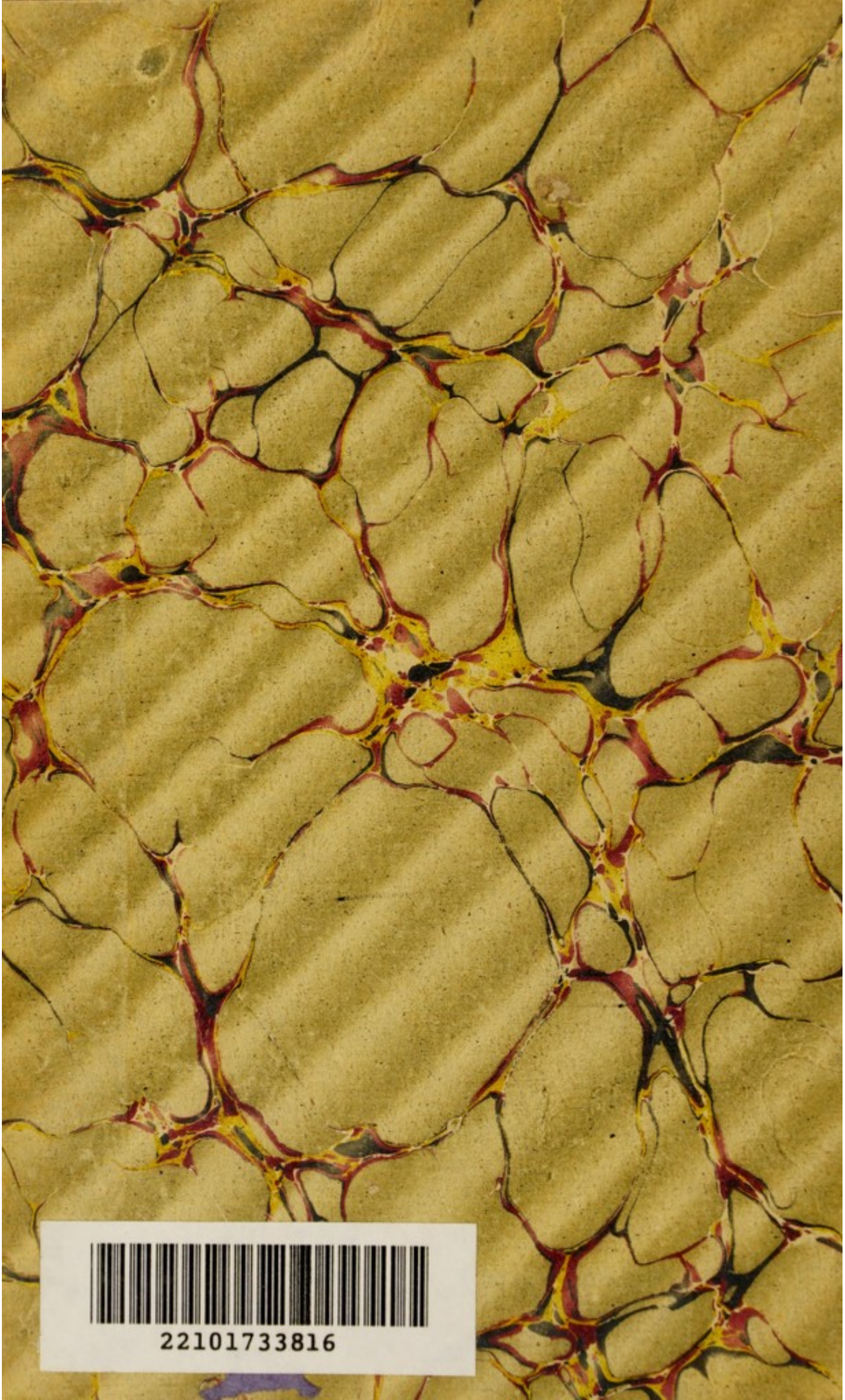
License and attribution

This work has been identified as being free of known restrictions under copyright law, including all related and neighbouring rights and is being made available under the Creative Commons, Public Domain Mark.

You can copy, modify, distribute and perform the work, even for commercial purposes, without asking permission.

wellcome collection

Wellcome Collection
183 Euston Road
London NW1 2BE UK
T +44 (0)20 7611 8722
E library@wellcomecollection.org
https://wellcomecollection.org


22101733816

Med
K8068

Mi Patria - J. J. G.

José Jesús Giraldo

Abril 15 - 1902

Digitized by the Internet Archive
in 2016

https://archive.org/details/b28066303

ELEMENTOS DE HISTOLOGÍA NORMAL

Q mfº 81

ELEMENTOS

DE

HISTOLOGÍA NORMAL

Y DE

TÉCNICA MICROGRÁFICA

PARA USO DE ESTUDIANTES

POR

S. RAMÓN CAJAL

Profesor numerario de Histología y Anatomía patológica en la Universidad de Madrid.

Con 215 grabados intercalados en el texto.

José Jesús Giraldo
Médico-Cirujano

SEGUNDA EDICIÓN

MADRID
IMPRENTA Y LIBRERÍA DE NICOLÁS MOYA
Carretas, 8, y Garcilaso, 6.

1897

Es propiedad del autor.



WELLCOME INSTITUTE LIBRARY
Coll. welMOmec
Call No. QS

PRÓLOGO DE LA PRIMERA EDICIÓN

La presente obrita de HISTOLOGÍA Y TÉCNICA es un resumen, con aquellas reformas exigidas por los progresos de la ciencia, de nuestro MANUAL DE HISTOLOGÍA NORMAL. Hemos creído que un compendio en el cual, dejando á un lado discusiones embarazosas é hipótesis mudables, se presenten condensados tanto los principios de la técnica micrográfica, como los hechos demostrados de estructura de células y tejidos, podría prestar á médicos y alumnos positivos beneficios: á éstos sirviéndoles de guía en los exámenes y trabajos de laboratorio; á aquéllos, cuyas ocupaciones clínicas les hacen recelar de toda obra algo difusa ajena á la patología práctica, recordándoles los datos indispensables para la más fácil interpretación de los fenómenos de fisiología normal y patológica.

En las descripciones de células y tejidos hemos procurado conciliar la concisión con la claridad expositiva, sin renunciar al propósito que todo escritor naturalista debe tener de reflejar lo más exactamente posible la fase actual de la ciencia. Sólo hemos descartado aquellos trabajos modernos no sancionados todavía por la experiencia, ó aquellas inducciones y teorías que, por su carácter filosófico, entran más bien en la esfera de la Biología general.

De todos los tejidos, el nervioso es el que hemos tratado con más latitud, lo que se justifica por la gran impul-

sión que su conocimiento ha recibido en estos últimos años, y por la importancia fisiológica de los recientes progresos. Fieles á nuestro sistema, sólo hemos expuesto los descubrimientos ajenos ó propios que, habiendo sido confirmados por las autoridades más considerables en Neurología, pueden considerarse como adquisiciones definitivas para la Anatomía.

Convencidos de que las descripciones de objetos macroscópicos ó microscópicos no pueden ser claras sin ir acompañadas del objeto mismo ó de su imagen, hemos intercalado en el texto un gran número de grabados, copiados, en su mayor parte, de nuestras preparaciones originales.

Madrid 10 de Junio de 1895.

PRÓLOGO DE LA SEGUNDA EDICIÓN

La benévola acogida dispensada por el público á la primera edición de estos *Elementos*, prueba que estábamos en el buen camino al poner en manos de los estudiantes un libro donde aparecieran resumidos los datos principales de la Anatomía microscópica. En esta *segunda edición* sólo nos toca seguir el plan de la anterior, manteniendo á todo trance el carácter elemental de la obra, sin perjuicio de mejorar y completar el texto con los positivos progresos realizados en los últimos años.

El poco tiempo transcurrido desde la *primera edición* no ha consentido grandes reformas en el contenido científico del texto ; la ciencia histológica avanza lentamente, y en estos dos últimos años no se ha registrado ningún descubrimiento transcendental. No obstante, varios capítulos han sido adicionados con algunos nuevos detalles ; hemos aumentado también el número de figuras, y al final de cada tejido hemos agregado un capítulo de técnica especial, necesario complemento de la general que va al comienzo de la obra.

Madrid 10 de Septiembre de 1897.

José Jesús Géraldo
Médico-Cirujano

PARTE PRIMERA

TÉCNICA GENERAL

CAPÍTULO I

TÉCNICA GENERAL Y SU DIVISIÓN

Instrumentos de observación.— Microscopio simple.

Los recursos prácticos utilizados por el histólogo para la demostración de las partes elementales del organismo, forman la materia de la *técnica histológica*.

En la *técnica general* es preciso distinguir las siguientes partes : 1.°, instrumentos de observación y sus accesorios; 2.°, reactivos; 3.°, métodos histológicos; y 4.°, procedimientos de conservación.

A. — INSTRUMENTOS DE OBSERVACIÓN. — MICROSCOPIO

El *microscopio* es un instrumento óptico que, interpuesto entre el ojo y un objeto próximo, nos hace percibir en éste detalles imposibles de observar á simple vista. Alcánzase este resultado aprovechando la propiedad que poseen las lentes convergentes de producir, en determinadas condiciones, imágenes reales ó virtuales amplificadas.

Si el instrumento amplificante consta de una sola lente ó sistema de lentes, se denomina *microscopio simple;* pero si en él se combinan los poderes amplificantes de dos lentes ó sistemas de lentes, toma la designación de *microscopio compuesto.*

MICROSCOPIO SIMPLE

Para mayor comodidad expositiva, distinguiremos en el microscopio simple : 1.°, el instrumento teórico despojado de todo accesorio; 2.°, el instrumento práctico, es decir, el microscopio simple adicionado de los detalles y disposiciones exigidas por la facilidad y eficacia de la observación.

Microscopio simple esquemático. — Está representado por una lente biconvexa ó plano-convexa dispuesta de tal suerte, que

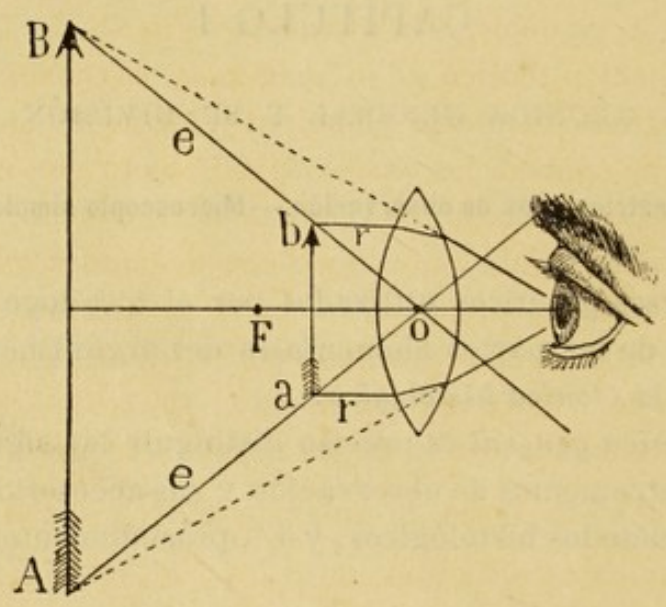


Fig. 1. — Formación de las imágenes en el microscopio simple.

suministra una imágen virtual derecha y más grande que el objeto (1).

Para comprender el mecanismo de esta amplificación, es preciso recordar que las lentes convergentes dan, según las condiciones en que se emplean, dos especies de imágenes amplificadas : *virtuales y derechas* cuando el objeto examinado se sitúa entre la lente y el foco principal de ésta ; *reales é invertidas*

(1) El alumno debe tener presentes, al estudiar lo que sigue, los principios generales de la óptica, y especialmente las propiedades de las lentes y espejos. Nosotros reproduciremos tan sólo aquellas nociones de inmediata aplicación á la teoría y práctica del microscopio.

cuando el objeto se coloca más allá del foco principal. Si el objeto coincide con el foco, los rayos emergen paralelos de la lente y no hay imagen.

En el microscopio simple, el objeto yace entre la lente y su foco principal. Como puede verse en la figura 1, los rayos incidentes *r r*, partidos de las extremidades del objeto *a b*, atraviesan desde luego la lente, aproximándose el eje principal; después se inclinan todavía más en tal sentido, y alcanzan el ojo del observador, quien, en virtud del principio de la proyección ó exteriorización de las impresiones retinianas en la última dirección seguida por los rayos luminosos, percibe una imagen virtual colocada en B A, es decir, á la distancia de la visión distinta.

La construcción teórica de la imagen se logra fácilmente, trazando primeramente el eje principal y luego los ejes secundarios *e e* (1) que enlazan los extremos del objeto con el centro de la lente; á seguida, se dibujan los rayos incidentes *r r*, que, prolongados á través de la lente, donde se desvían según los principios de la refracción, penetran en el ojo del observador. La imagen virtual A B, es proyectada por la retina precisamente en el paraje donde la prolongación hacia el objeto de los ejes secundarios corta la continuación de los rayos incidentes.

La amplificación, ó sea la relación entre *a b* y A B $\left(\frac{A\ B}{a\ b}\right)$ se calcula fácilmente por la fórmula $a = \frac{D}{F}$, en la cual *a* representa el aumento, D la distancia de la lente á la imagen virtual ó distancia de la visión distinta, y F, la longitud focal. Esta fórmula da por supuesto que el objeto está tan cerca del foco principal, que ambas distancias, la frontal y la focal, pueden reputarse idénticas. En realidad, dicha fórmula expresa el máximo de aumento de una lente utilizada como microscopio simple; si se abrevia la distancia del objeto á la lente, la amplificación disminuye y la fórmula no es aplicable, pues da valores excesivamente grandes.

De la fórmula del microscopio simple se infiere que, cuanto

(1) Recuérdese que se llaman ejes secundarios los rayos luminosos que, por pasar por el centro de la lente, no sufren desviación angular á la salida de ésta.

menor sea la distancia focal, mayor será la amplificación, porque el divisor F disminuye, y D, ó la distancia de la visión distinta permanece idéntica (1).

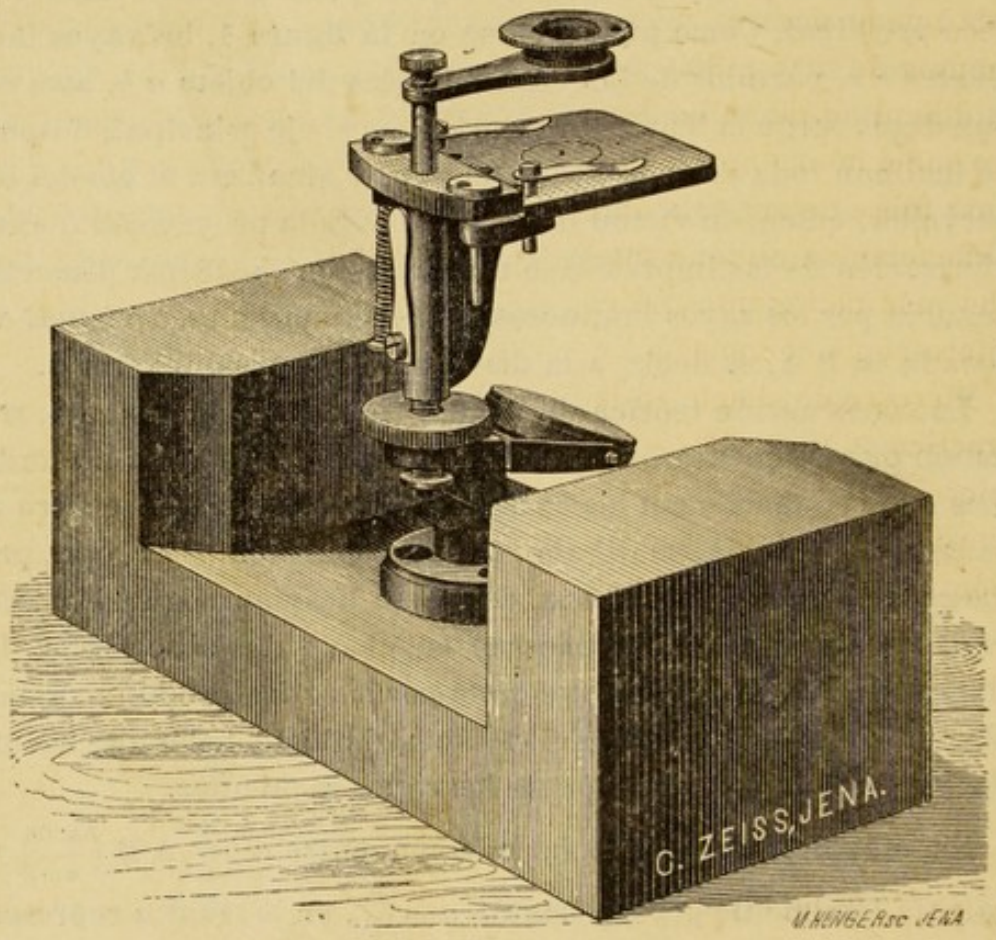


Fig. 2. — Modelo de microscopio simple según Zeiss. El descenso de la lente se opera por tornillo micrométrico.

La distancia focal (que en las lentes biconvexas de vidrio corresponde poco más ó menos al centro de corvadura) disminuye con el radio de la lente. De dos lentes esféricas, la de mayor po-

(1) La fórmula citada es suficientemente exacta ; pero si se desea mayor precisión, debe preferirse la fórmula de Wund : $A = \frac{V - e}{f} + 1$. O sea : aumento (A) igual á la distancia de la visión distinta (V) menos la del ojo á la lente (e) dividida por la distancia focal y añadida de la unidad. Como la distancia de la visión distinta varía bastante (de 16 á 30 centímetros), se comprende que la amplificación sea algo diversa para cada observador.

tencia será la más pequeña ; y, como el radio puede achicarse indefinidamente, resulta que el aumento teórico del microscopio simple es indefinido. Con todo, en la práctica, rara vez puede pasarse de aumentos de 200 á 300, por la dificultad de tallar lentes suficientemente pequeñas; fuera de que esta amplificación se obtiene mucho más fácilmente con el microscopio compuesto.

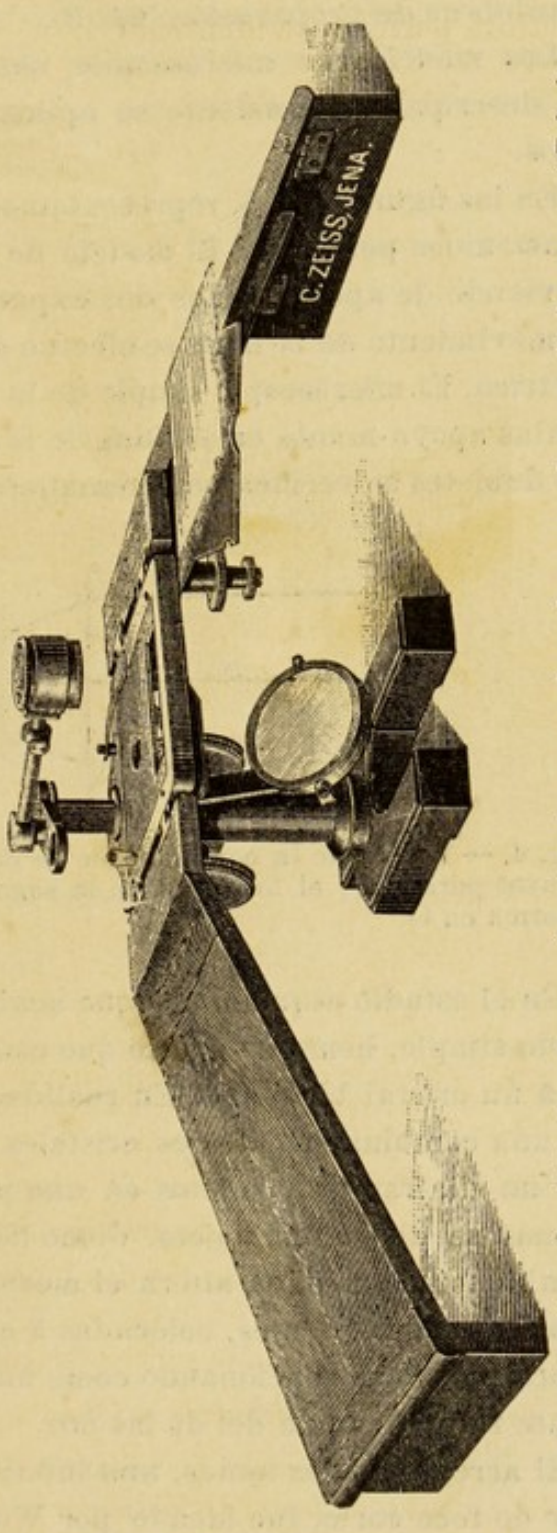


Fig. 3. — Otro modelo de microscopio simple con anchas alas para el apoyo de las manos (Zeiss).

Microscopio simple en la práctica (figs. 2 y 3). — El microscopio simple, dispuesto para la observación, consta substancialmente de un pie macizo de metal, que soporta una columna vertical. De un lado de ésta, arranca una platina ó ménsula horizontal perforada, donde se coloca la preparación destinada al examen. En lo alto de la columna, se ve un anillo ó pinza circular que sirve para sostener las lentes ó dobletes, y este mismo anillo está unido á un prisma que se mueve en el espesor de aquélla, á favor de una cremallera. Para procurar iluminación por transparencia, el pie mantiene un espejo cóncavo ó plano, susceptible de inclinarse en todos sentidos. De los lados de la platina ó de las partes la-

terales del pie, según los distintos modelos, arrancan unas alas ó prolongaciones, cuyo oficio es sostener las manos durante las maniobras de preparación (fig. 3).

Los modelos de microscopios simples son muy numerosos. La descripción precedente se aplica, no obstante, á casi todos ellos.

En las figuras 2 y 3, representamos dos de estos instrumentos construídos por Zeiss. El modelo de la figura 2 es más pesado, sirviendo de apoya-manos dos expansiones del pie de madera; el movimiento de la lente se efectúa á favor de un tornillo micrométrico. El microscopio simple de la figura 3 posee pie metálico y alas apoya-manos emergidas de la platina; el movimiento de los dobletes se verifica por cremallera.

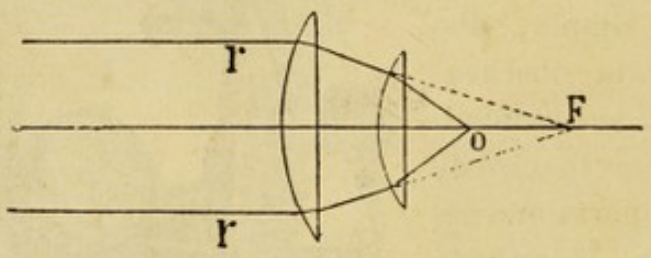


Fig. 4. — Efecto de la combinación de dos lentes en la marcha de dos rayos paralelos; el foco que sin la segunda lente se hallaría en F, se forma en O.

En el estudio esquemático que acabamos de hacer del microscopio simple, hemos supuesto que cada doblete ó lente se reduce á un cristal bicovexo. En realidad no es así; cada doblete es una combinación de dos cristales plano-convexos separados por un diafragma y sujetos en una misma montura. Las caras planas se dirigen al objeto. Como demuestra la figura 4, esta combinación en nada altera el mecanismo de formación de la imagen; las dos lentes, colocadas á corta distancia una de otra, acortan el foco, funcionando como una sola, cuyo poder convergente fuese la suma del de las dos.

El arreglo de dos lentes, una inferior de foco largo, otra superior de foco corto, fue ideado por Wollaston, quien se propuso, entre otras ventajas, la disminución de la aberración de esfericidad (que aumenta con la convexidad de la lente) y la obten-

ción de amplificaciones relativamente grandes con lentes de distancia frontal bastante considerable. Si, en la citada combinación, la lente de foco más corto se pusiera debajo, el espacio destinado á las maniobras de preparación se abreviaría sensiblemente, sin que, por otra parte, ganara nada el poder amplificante.

CAPÍTULO II

MICROSCOPIO COMPUESTO

Teoría del objetivo y del ocular. Doctrina de la visión microscópica según Abbe.

El *microscopio compuesto* consiste esencialmente en un tubo provisto en sus extremos de dos lentes: la superior que por aproximarse al ojo del observador se llama *ocular ;* y la inferior que por dirigirse al objeto toma el nombre de *objetivo*.

MICROSCOPIO COMPUESTO TEÓRICO

Opticamente, el microscopio compuesto funciona combinando los dos casos ó condiciones en que las lentes dan imágenes amplificadas: el objetivo opera como una máquina fotográfica, ó á la manera de un aparato de proyección, es decir, que, por residir el objeto más allá del foco principal, proyecta una imagen real, invertida y amplificada ; y el ocular actúa como un microscopio simple, ó sea formando, de la imagen proyectada por el objetivo, una copia virtual todavía más grande, derecha con relación á aquélla, pero invertida con relación al objeto. Para que el ocular pueda funcionar como microscopio simple, es preciso que reciba la imagen de proyección entre el foco principal y la lente superior.

Conocida la teoría del ocular, pues, como acabamos de decir, no es otra que la del microscopio simple, diremos algo de la del objetivo, órgano fundamental del microscopio compuesto.

Teoría del objetivo. — Cuando el objeto está situado más allá del foco principal de una lente, pero sin llegar al doble de la distancia focal, prodúcese una imagen real invertida, y tanto más amplificada cuanto más cerca del foco principal se halla el ob-

jeto. Si éste se aparta al doble de la distancia focal, la imagen será de tamaño natural.

Para construir la imagen (fig. 5), se trazan, como en la figura 1, el eje principal y los ejes secundarios *e*, *e* ; se tiran luego dos rayos incidentes *r r*, los cuales, después de refractarse en la lente y aproximarse á la perpendicular, se entrecruzan, dibujando una imagen invertida y real. Esta imagen se halla justamente en el paraje en que los ejes secundarios *e e*, después de atravesar la lente, cortan los rayos incidentes invertidos.

La imagen se acrece en tamaño y en distancia de proyección, á medida que el objeto se aproxima al foco. Si el objeto coincide

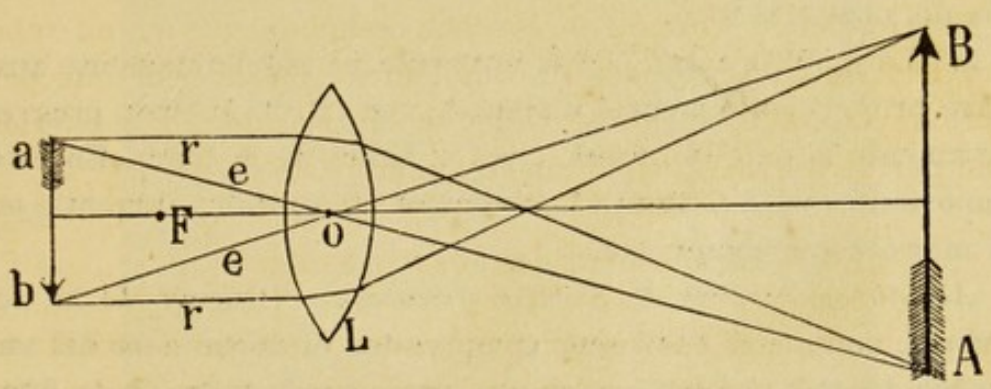


Fig. 5. — Marcha de los rayos luminosos en el objetivo : A, B, imagen ; F, foco ; *e*, ejes secundarios.

con el foco principal, no hay imagen, porque los rayos salen de un modo paralelo de la superficie posterior de la lente.

El aumento se calculará con la fórmula que expresa las relaciones existentes entre el foco, la distancia del objetivo y la de la imagen.

Sea *i* la imagen proyectada, *o* el objeto, D la distancia de la imagen á la lente, *d* la de la lente al objeto, *f* la distancia focal y A el aumento. Tendremos :

$$A = \frac{i}{o} = \frac{D}{d} = \frac{f}{d-f}.$$

Si el objeto se coloca en el doble de la distancia focal, la imagen será de tamaño natural, porque siendo $d = 2f$ el último término de la ecuación, puede reducirse á

$$A = \frac{f}{2f-f} = \frac{f}{f} = 1.$$

El examen de la fig. 5 y la discusión de la fórmula citada nos darán á entender claramente que :

1.° La imagen amplificada es real é invertida.

2.° El aumento es tanto mayor cuanto más pequeña es la distancia focal.

3.° Cuanto más se acerque el objeto al foco, más grande resultará la amplificación, y á mayor distancia se proyectará la imagen.

4.° La imagen podrá acrecer al infinito cualquiera que fuere la distancia focal, con tal de prolongar suficientemente la distancia de proyección, disminuyendo progresivamente la distancia del objeto al foco.

5.° La amplificación podrá acrecentarse indefinidamente aun para proyecciones á corta distancia, con tal de achicar progresivamente la longitud focal, ó sea el radio de la lente. En esta importante regla se funda la obtención de grandes aumentos en el microscopio compuesto.

Acción combinada de objetivo y ocular. — Después de lo expuesto, nada más fácil que comprender el mecanismo del aumento del microscopio compuesto, como puede verse en la figura 6. Del objeto *a b*, proyecta el objetivo (obj.) una imagen real é invertida en *a' b'*, es decir, más allá del foco (F) principal del ocular (oc.). En consecuencia, esta última lente transforma la imagen real aumentada *b' a'* en la virtual y todavía más extensa B A. El observador percibe, pues, la imagen en B A, punto donde los ejes secundarios que pasan por el ocular cortan la prolongación de la última dirección tomada por los emergentes *l p* y *m o*, de un lado, y *k o* y *n i*, de otro.

Del examen de esta figura y de la consideración de las fórmulas antes expuestas, se infieren fácilmente las siguientes proposiciones :

1.° La imagen crece conforme disminuye el foco del objetivo.

2.° La magnitud de la imagen con un mismo objetivo aumenta á medida que disminuye la distancia focal del ocular.

3.° La amplificación total del microscopio crece con el alejamiento del ocular del objetivo, lo que equivale á decir que, cuanto menor sea la distancia entre el objeto y el foco principal

del objetivo, más distante y más grande resultará la imagen proyectada que debe amplificar el ocular.

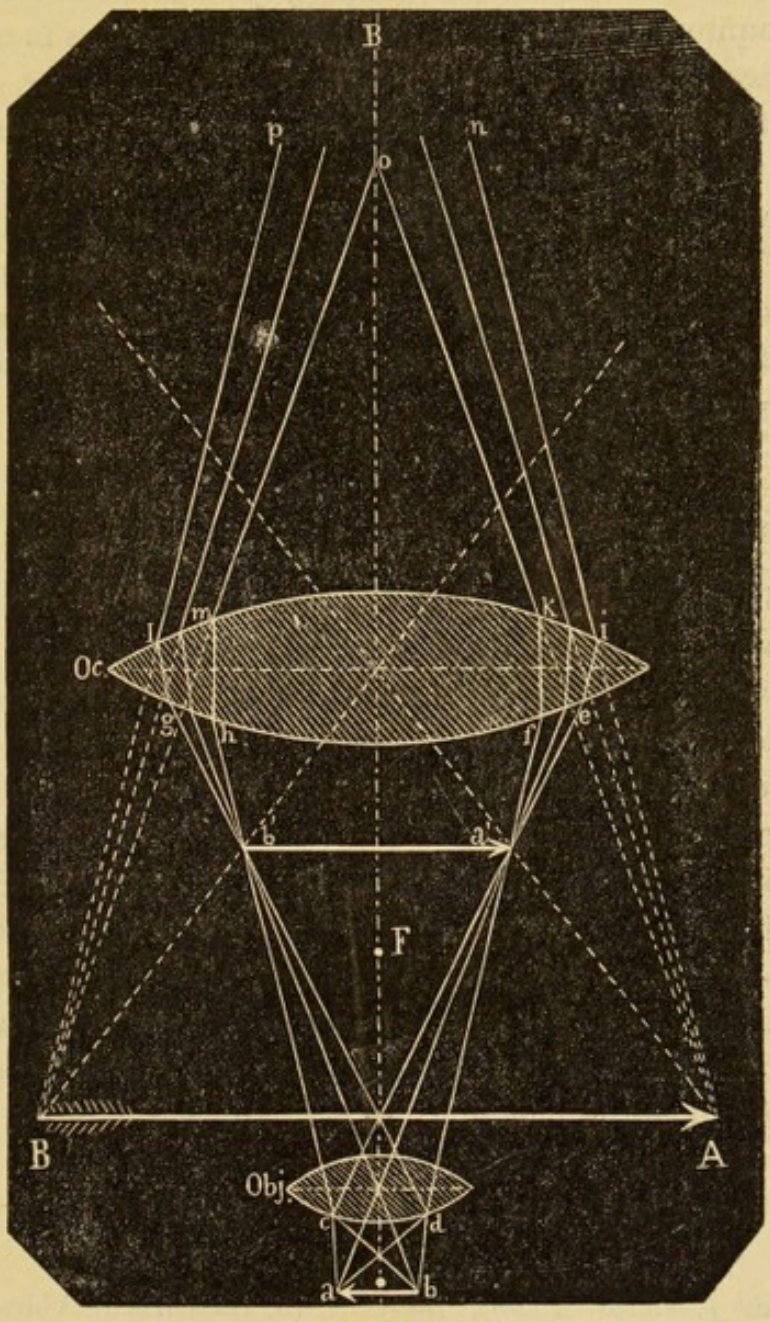


Fig. 6. — Marcha de los rayos y formación de las imágenes en el microscopio compuesto: *Obj.*, objetivo; *Oc.*, ocular; *a b*, objeto microscópico; *b' a'*, imagen real proyectada por el objetivo; A B, imagen virtual engendrada por el ocular.

4.° Teóricamente, todo microscopio podría dar aumentos variables al infinito, con sólo aumentar suficientemente la distan-

cia de proyección, lo que se logra aproximando progresivamente el objeto al foco del objetivo ; pero en la práctica sólo son aprovechables los aumentos obtenidos con objetivos de foco corto, por cuanto solamente éstos suministran imágenes fuertemente amplificadas á distancias relativamente cortas. Por esta razón, se ha dicho, aunque incorrectamente, que el aumento está en razón inversa de la distancia focal del objetivo.

El aumento del microscopio compuesto se obtiene multiplicando el del objetivo por el del ocular, como expresa la fórmula siguiente, que comprende una de las relaciones que sirven para calcular la amplificación del objetivo, junto con la tan conocida del microscopio simple

$$A = \frac{D}{d} \times \frac{D}{F}$$

Es decir, el aumento es igual á la relación entre las distancias de la imagen al objetivo (D) y la del objeto á la lente (d), multiplicada por la relación entre la distancia de la visión distinta (D) y la distancia focal del ocular (F).

Teoría de la visión microscópica de Abbe (1).—En la imagen del microscopio hay que distinguir dos elementos : la imagen dióptrica ó central que da por proyección los contornos y los colores de los objetos, y se rige por los principios anteriormente expuestos ; y los espectros de difracción engendrados por los rayos incidentes al atravesar las finas rayas y asperezas de la preparación. Estos espectros, fundiéndose con el pincel central ó dióptrico en la imagen proyectada, revelan los finos detalles del objeto, de tal suerte que, si por circunstancias especiales, dichos rayos difractados son excluídos de la imagen, el microscopio

(1) *Archiv. f. mikros. Anatom.* Bd. IX, 1873. La teoría de Abbe ha sido confirmada y expuesta por Stephenson : *Experiences à l'appui de la theorie du prof. Abbe sur la vision microscopique*, traducido por van Heurck para su libro *Le microscope*, 4.ª edic., 1891. Crisp ha publicado también un buen resumen : On the influence of Diffraccion in microscopique vision, *Journ. Quek. mik. club.*, 1878. Se leerá también con provecho el estudio que á este interesante punto consagra Francotte en su *Manuel de Technique microscopique*, etc. París 1889.

pierde su poder resolutivo, siendo incapaz de mostrarnos las estrías y otros pormenores delicados de las células y diatómeas.

Abbe ha probado que, si de preparaciones desiguales se admiten, á beneficio de diafragmas especiales, los mismos espectros de difracción, las imágenes aparecerán idénticas ; y al revés, dos preparaciones que contengan rayas iguales, se mostrarán diferentes, con tal de admitir en la formación de la imagen distintos espectros.

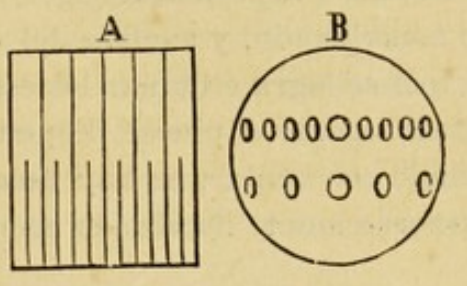


Fig. 7.—A, micrómetro objetivo con dos series de rayas ; B, espectros de difracción que aparecen al examinar dicho micrómetro con un objetivo y sin ocular.

Los espectros de difracción de una preparación con rayas (un micrómetro, por ejemplo, ó una diatómea), pueden observarse fácilmente en el microscopio, quitando el ocular y mirando en el interior del tubo. Suponiendo que las distancias separatorias de las estrías sean iguales, veremos en el centro del tubo el pincel luminoso principal dióptrico, y á los lados y en serie perpendicular á la dirección de las estrías, varios espectros de difracción. Cuanto más próximas y finas las rayas, tanto más separados se hallan los espectros (véase la fig. 7, B).

Las interesantes experiencias de Abbe, se han ejecutado utilizando como preparación un micrómetro provisto de dos series de rayas : anchas en número de 71 por milímetro ; finas en cantidad de 142 por milímetro. Examinado este retículo (fig. 7, B) sin ocular, preséntanse, en consonancia con lo expuesto, además de dos pinceles dióptricos incoloros y centrales, dos líneas de espectros de difracción ; de las cuales, la una, formada por cuatro de éstos, corresponde á las líneas finas, y la otra, constituída por un número doble, proviene de las rayas anchas. Examinando el preparado con el ocular, descúbrense claramente las estrías (fig. 7, A).

Esta primera observación atestigua ya que los espectros de difracción originados por rayas finas, puesto que se desvían mucho más del pincel central que los producidos por rayas an-

chas, exigen, si han de ser recogidos y aprovechados, objetivos de gran ángulo de abertura. Esto explica por qué los objetivos de poca abertura, cualquiera que sea su poder amplificante, son incapaces de mostrar las estrías y detalles demasiado próximos.

Las experiencias siguientes, son altamente demostrativas para la doctrina de Abbe :

Primera experiencia (fig. 8).—Colócase en la platina el retículo mencionado, y encima del objetivo un diafragma lineal, con el que se logra eliminar los espectros de difracción, dejando exclusivamente el pincel dióptrico. En estas condiciones, examinando con ocular, no hay imagen de rayos ; el campo aparece uniformemente iluminado como si no hubiese preparación.

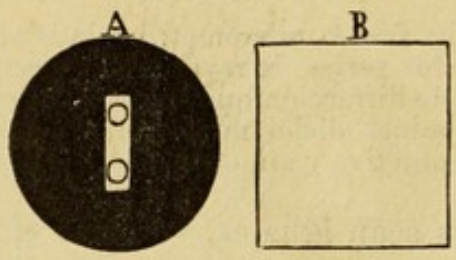


Figura 8.

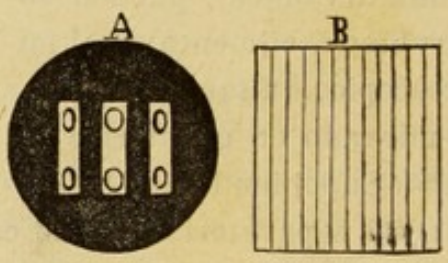


Figura 9.

Segunda experiencia. — Situando en el mismo paraje un diafragma de tres rendijas (fig. 9), de tal modo que sean admitidos á formar la imagen los mismos rayos de difracción de ambos retículos, el examen con ocular nos mostrará iguales las dos series de rayas, habiéndose duplicado las del retículo claro ó superior.

Tercera experiencia. — Si, á favor de otro diafragma (fig. 10) se excluyen los rayos de difracción más próximos al centro de ambos retículos, admitiendo exclusivamente los espectros más laterales, las rayas anchas quedan cuadruplicadas y duplicadas las estrechas.

Cuarta experiencia.—Mediante un diafragma cuadrilongo, se prescinde de los espectros de difracción del retículo estrecho ; se admiten los del ancho, y se conservan los pinceles centrales. El resultado es la desaparición de las rayas finas, y la permanencia de las anchas (fig. 11).

En suma ; las experiencias clásicas de Abbe patentizan : 1.°, que las imágenes de finas rayas y detalles minúsculos, no se de-

ben al pincel luminoso de proyección ó central, sino á los espectros originados en dichas estrías, mediante interferencias de los rayos incidentes que las atraviesan ; 2.°, dado que, cuanto más apretadas están las rayas, más se desvían del pincel central sus espectros, no queda más remedio para lograr el ingreso de éstos en la imagen, que la aplicación de objetivos de grande abertura numérica ; 3.°, que iguales objetos, dan imágenes desiguales, admitiendo distintos espectros de difracción, y, al revés, que objetos distintos, producen imágenes iguales, si son aceptados los mismos espectros ; 4.°, que la imagen dióptrica dibujada por proyección de cada punto del objeto, forma solamente el fondo luminoso, el color y el contorno de las partes relativamente

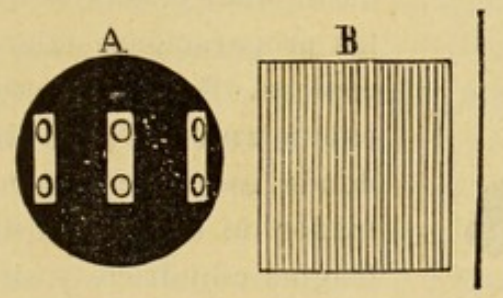


Figura 10.

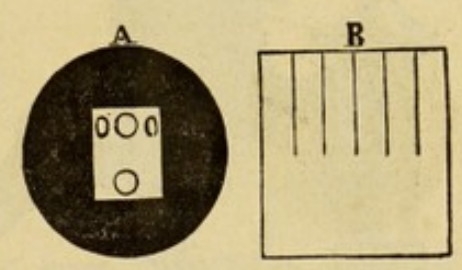


Figura 11.

gruesas de la preparación ; los detalles delicados de ésta, y particularmente las estrías y granulaciones, se deben á los espectros de difracción.

MICROSCOPIO COMPUESTO EN LA PRÁCTICA

El modelo de microscopio, construído por la mayor parte de los fabricantes con destino á los trabajos serios de histología, encierra una porción de disposiciones y mejoras que vamos brevemente á reseñar. Conviene, desde luego, que distingamos en el microscopio compuesto *la parte mecánica y la parte óptica.*

Parte mecánica.—Comprende el pie, la columna, la platina, la pinza y el tubo principal (fig. 12).

El *pie* es el bloque de metal que sirve de sustentáculo al aparato ; su forma suele ser de herradura con la abertura hacia adelante ; su peso y solidez son notables, á fin de dar estabilidad al

conjunto y consentir, sin pérdida del equilibrio, la inclinación horizontal del tubo.

La *columna* es ora simple, ora doble, y en los modelos regulares, puede doblarse en ángulo recto á beneficio de una charnela. Por abajo, fíjase la columna en la porción posterior del pie, y por arriba, soporta el tubo del tornillo micrométrico y la platina.

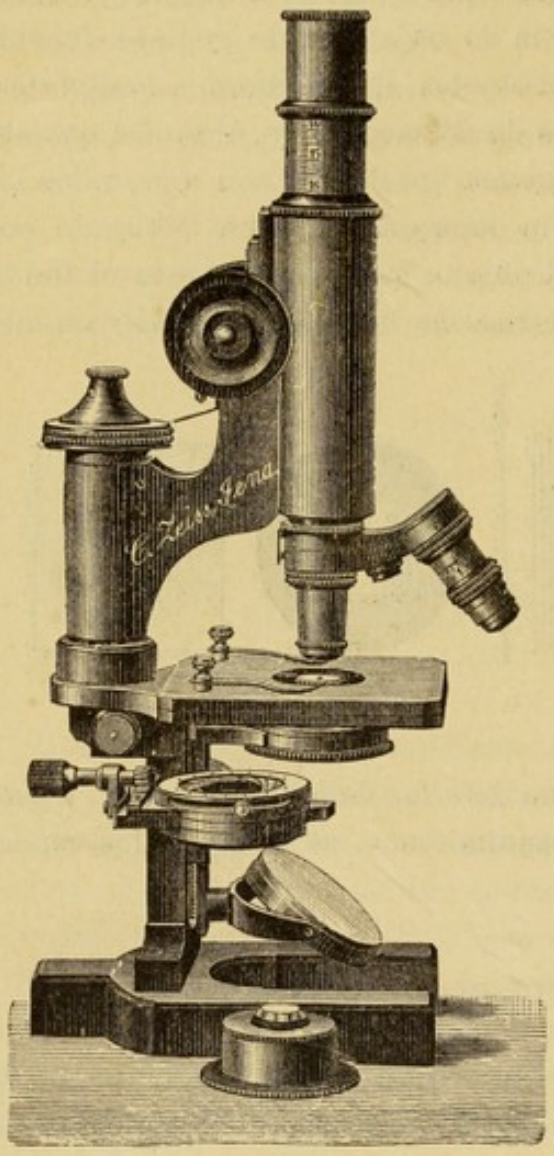


Fig. 12. — Microscopio compuesto de Zeiss. Modelo IV *a*, con cremallera para el descenso rápido del tubo y aparato iluminador Abbe.

La *platina* es una ménsula horizontal de vidrio ó de metal, donde, á beneficio de unas pinzas, se fijan las preparaciones microscópicas. En el centro, existe una perforación donde asoma el concentrador de la luz ó el diafragma cilíndrico, y sirve para dar paso á los rayos emanados del espejo. En los modelos de lujo, la platina suele ser giratoria, y aun movible en dos sentidos perpendiculares, lo que permite un recorrido casi automático de la preparación.

La *columna* es un cilindro que arranca de la parte posterior de la platina, y soporta la pinza ó tubo corto provisto de hendiduras donde desliza el tubo principal del microscopio. En dicha columna se hallan los mecanismos que permiten el descenso rápido ó lento del tubo, y, por consiguiente, el del objetivo. El *movimiento rápido* se verifica, en los modelos económicos, por

simple deslizamiento del tubo en su pinza ; pero, en los más cómodos, se realiza á beneficio de un piñón y una cremallera. El *movimiento lento*, indispensable al minucioso enfocamiento de las preparaciones, se efectúa haciendo girar el botón que corona la columna, y el cual actúa sobre un tornillo micrométrico (figuras 12 y 13).

El *tubo*, órgano muy principal del microscopio, es de latón ennegrecido interiormente, y consta de dos cilindros enchufados, de los cuales el interior puede sacarse para alargar la extensión total del tubo. En el extremo superior entra, por simple deslizamiento, el ocular; en el inferior se monta, por atornillamiento, el objetivo.

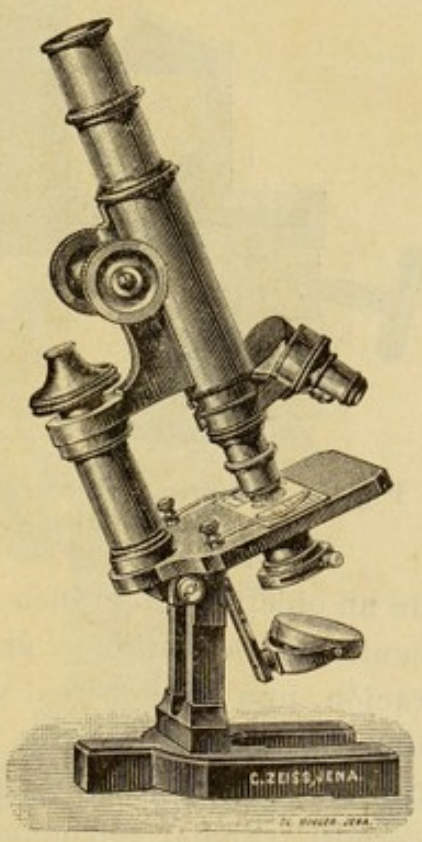


Fig. 13. — Microscopio compuesto de Zeiss. Modelo VI *a*, más económico que el precedente, pues no posee aparato concentrador Abbe.

Parte óptica del microscopio compuesto. — La forman el espejo, los diafragmas, el aparato concentrador de la luz, el objetivo y el ocular.

Espejo.—Es generalmente doble, poseyendo, en una cara, un vidrio azogado plano, y, en la otra, otro cóncavo. Por virtud de su modo de articulación á la columna, el espejo puede moverse en todas direcciones, lo que permite iluminar la preparación ya directa, ya oblícuamente.

Diafragmas. — Hace algunos años, casi todos los modelos de microscopio ofrecían debajo de la platina, y en su centro, un tubo movible, donde se colocaban los diafragmas destinados á reglar la intensidad de la iluminación. La forma de los diafragmas solía ser cilíndrica, terminando en un disco taladrado.

En otros modelos, los diafragmas estaban representados por un disco giratorio horizontal, con agujeros de diverso diámetro, correspondientes al centro de la platina.

Actualmente, los diafragmas forman porte del aparato iluminador, haciéndose uso preferente del llamado *diafragma iris*, órgano que, merced al juego de una manecilla, permite angostar á voluntad el pincel luminoso destinado á la preparación.

Aparato concentrador de la luz (fig. 14). — En las observaciones á grandes aumentos, no suele bastar la luz suministrada por el espejo cóncavo, siendo indispensable la aplicación de sistemas de lentes que concentren poderosamente los rayos emanados del foco luminoso.

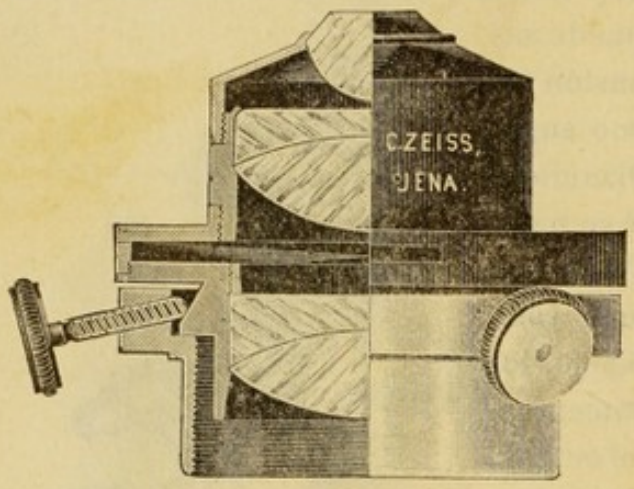


Fig. 14. — Corte del concentrador Abbe acromático.

Entre los concentradores conocidos, el más usado actualmente es el del profesor Abbe (figura 14). Consiste este aparato substancialmente en dos ó tres lentes de gran abertura, sujetas en una misma montura, y las que, á la manera de un objetivo fotográfico de foco muy corto, proyectan en el centro de la platina, y precisamente en el espesor de la preparación, una imagen real muy brillante de la luz que sirve á la iluminación (la llama de una lámpara, por ejemplo). Con diafragmas moderadamente anchos, la claridad es tan grande, que permite trabajar cómodamente aun con los objetivos de foco más corto y de mayor potencia amplificante. Por debajo de las lentes, dicho concentrador lleva un anillo giratorio, donde se instalan los diafragmas discóideos; un piñón y una cremallera permiten ladear estos diafragmas, á fin de obtener la iluminación oblícua. Finalmente, en la parte inferior del aparato hay una prolongación prismática, donde va fijo el espejo reflector.

Pueden sacarse del concentrador Abbe efectos de iluminación muy varios y todos muy útiles en el estudio de las preparaciones. Así, por ejemplo : operando sin diafragma, la preparación aparece tan difusamente iluminada, que no revela sino las par-

tes coloreadas (la cromatina de los núcleos, los microbios teñidos con las anilinas, etc.); pero si la preparación se examina con diafragmas, no sólo amengua la luz, sino que se perciben rigurosamente los contornos de las partes poco ó nada teñidas, ó cuyo índice de refracción apenas discrepa del medio conservador (contornos celulares, rayas de diatómeas, dobles contornos de tubitos, pestañas vibrátiles, etc.).

El concentrador de Abbe ordinariamente usado carece de la corrección cromática; pero existe un modelo, indispensable en microfotografía, perfectamente acromatizado. Los constructores ingleses, Powel y Lealand, venden también excelentes concentradores acromáticos (figura 15).

La abertura del concentrador ordinario permite usar los objetivos apocromáticos fuertes (1,30 y 1,40 de Zeiss); no obstante, el objetivo 1,63 de Zeiss, exige un concentrador especial, cuya obertura guarda correspondencia con la poderosa del objetivo.

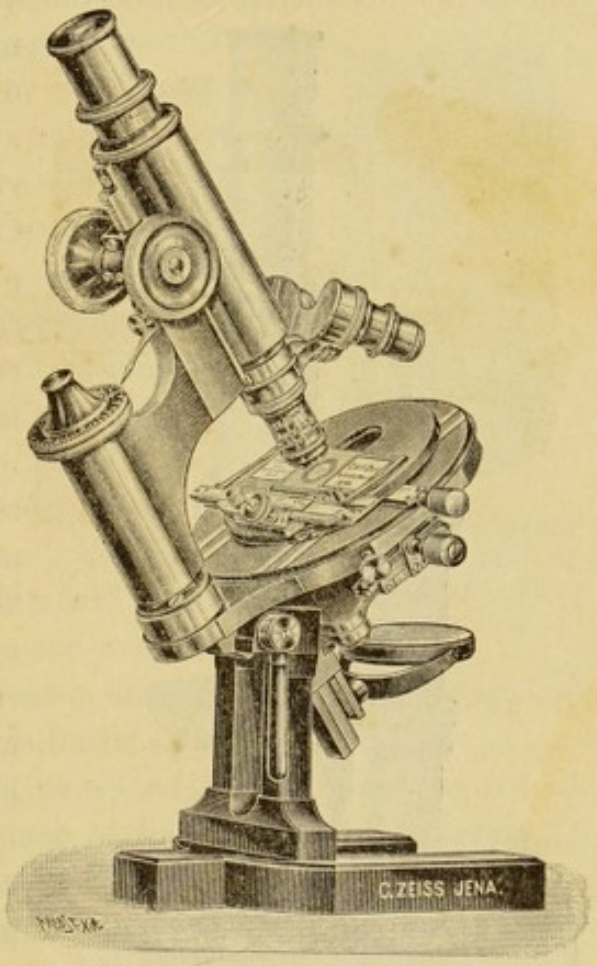


Fig. 15. — Modelo con revólver portaobjetivo, aparato concentrador Abbe y platina movible.

Objetivos. —Son los objetivos los órganos más importantes del microscopio; la bondad de éste depende enteramente de la buena construcción de aquellos.

Antiguamente constaban los objetivos de una sola lente, cuya distancia focal variaba según los aumentos que se querían obtener. Pero desde Cárlos Chevalier (1833), los objetivos se construyen de varias lentes, con la doble mira de corregir la aberración

cromática y de aumentar la distancia frontal: alcánzase así también la ventaja de hacer más fácil la construcción del objetivo, pues se reparte en varias lentes de foco relativamente largo, y, por tanto, fáciles de tallar, la corvadura exagerada de la lente única de foco cortísimo.

En los objetivos que hoy se usan, las diversas lentes constituyen un sistema inseparable, mantenido en una montura de latón de forma cónica, atornillable en el cabo inferior del tubo del microscopio. Cada objetivo contiene ordinariamente tres lentes: la *inferior ó frontal* de foco muy corto; la *media* de foco más largo, y la *superior* todavía menos convergente. Casi siempre la lente media está acromatizada, y la inferior se corrige con la superior, pues en ésta domina el *flint* (materia muy dispersiva) y en aquélla el *crown* (cristal poco dispersivo). Esta combinación de tres lentes, no reza ni con los objetivos de gran potencia, ni con los más débiles; pues aquéllos constan de cuatro lentes y éstos de una sola.

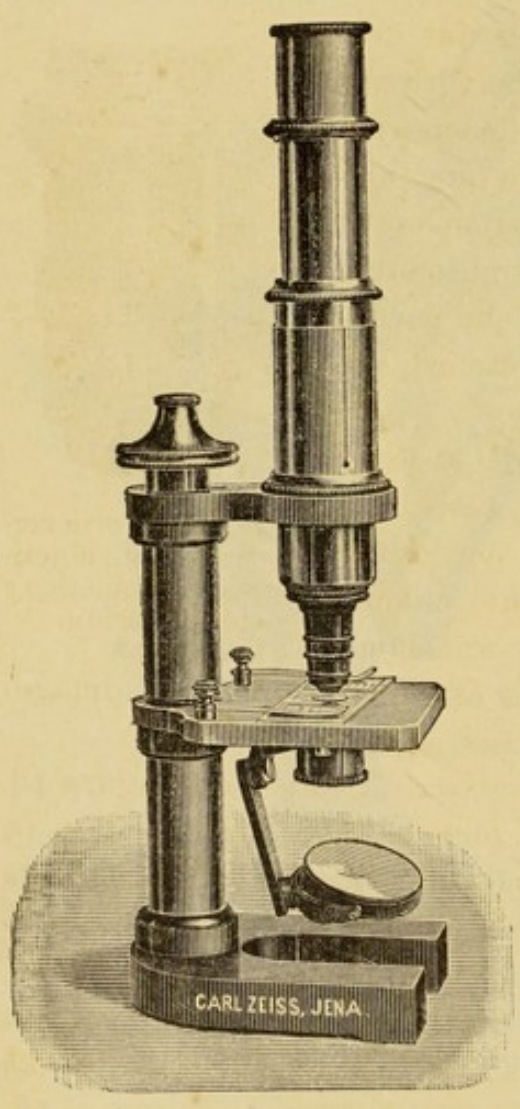


Fig. 16. — Modelo económico de microscopio Zeiss. Contiene un porta-diafragmas cilíndrico y carece de iluminador y de cremallera.

Variedades de objetivos. — Atendiendo á las condiciones de su empleo y al mecanismo de su construcción, los objetivos se dividen en: 1.°, objetivos á seco ú ordinarios; 2.°, objetivos de corrección; 3.°, objetivos de inmersión, y 4.°, objetivos apocromáticos.

Objetivos ordinarios ó á seco.—Son los que, cuando funcionan, tienen la lente inferior ó frontal separada de la preparación por una capa de aire.

Para aumentos medianos son estos objetivos excelentes. Los hay de varios números, según su distancia focal y poder amplificante. Distínguense entre sí, ya por letras (Zeiss), ya por números (Nachet, Verick). Actualmente, va adquiriendo boga una nomenclatura más racional, pues que está basada en la distancia focal y abertura numérica. Así Zeiss, designa uno de sus apocromáticos: *1,30, 2 milímetros*, lo que quiere decir que el objetivo en cuestión posee 1,30 de abertura numérica y 2 milímetros de distancia focal; indicaciones que permiten juzgar *a priori* del poder resolutivo y del aumento.

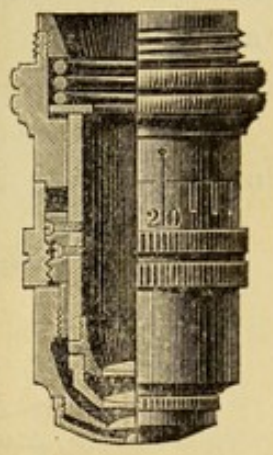


Fig. 17.—Corte vertical de un objetivo apocromático y de corrección.

Objetivos de corrección.— Amici y Ross, independientemente uno de otro, descubrieron que la imagen suministrada por los objetivos á seco es buena solamente cuando la preparación está cubierta por una laminilla de cierto espesor; en cuanto este espesor varía, las imágenes aparecen más ó menos confusas.

Semejante defecto dimana, como puede verse en la figura 18, de que los rayos incidentes más oblícuos (A *a*) de un objeto O, situado en el espesor de un preparado, se desvían mucho más á su llegada al aire, que aquellos cuya dirección es menos inclinada (*e* E). La desviación de los rayos oblícuos es tanto mayor, cuanto más espeso es el cubre-objeto. El ojo del observador, viendo el objeto en la prolongación de los rayos emergentes, no lo referirá á un solo plano, sino á varios, perjudicándose al superponerse las distintas imágenes del punto examinado.

Se evita este defecto de dos modos: ó usando solamente cubre-objetos para cuyo espesor esté corregido el objetivo, ó utilizando ciertos objetivos *llamados de corrección*, en los cuales las lentes superiores pueden, á beneficio de un anillo y una tuerca, separarse en más ó menos cantidad de la lente frontal. Cuanto más

espeso es el cubre-objeto, más deben aproximarse á la frontal las lentes superiores; de este modo los rayos periféricos, que son los más desviados, se refractarán más que los otros y la imagen de todos se dibujará en un mismo punto.

Objetivos de inmersión.—Así se designan los objetivos entre cuya lente frontal y la preparación se interpone un líquido, que en los *objetivos de inmersión ordinarios* es el agua destilada, pero que en los llamados de *inmersión homogénea*, es una substancia de índice de refracción análogo al del crown (1,515), tal como el aceite de cedro más ó menos espesado por evaporación.

Como ya demostró Amici hace muchos años, los objetivos de inmersión son, á igualdad de aumento, mucho más luminosos

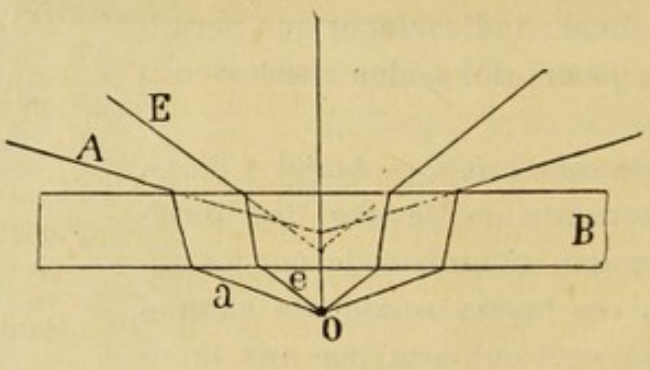


Fig. 18. — Influencia del espesor de la lámina cubre-objetos (B) en la marcha de los rayos luminosos emanados de un punto O de la preparación.

que los ordinarios; porque el líquido interpuesto modera la desviación que los rayos periféricos ó más oblícuos experimentan al emerger de la preparación, permitiendo que sean recogidos por la lente frontal. Poseen además estos objetivos una distancia frontal mayor que los objetivos á seco, lo que permite trabajar con mayor latitud y desahogo.

Las figuras 19 y 20 muestran claramente las ventajas de la inmersión. Los rayos incidentes (fig. 19) llegados del punto *a* de la preparación, al abordar la capa de aire, se desvían tan fuertemente, que no pueden ser recogidos por el objetivo; los que alcancen el aire, bajo un ángulo superior al ángulo límite del cristal al aire, sufrirán la reflexión total; mas si se interpone (figura 20) un líquido de igual índice que el crown, la desviación

desaparece, porque la preparación, la lente frontal y el espacio separatorio, quedan convertidos en un medio casi del todo homogéneo.

Objetivos apocromáticos. — Los objetivos ordinarios, ya funcionen en seco, ya á inmersión, están acromatizados solamente

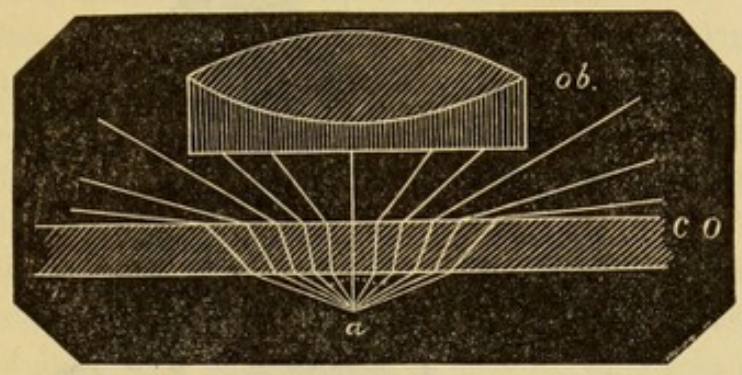


Fig. 19. — Marcha de los rayos luminosos emanados de un punto en los objetivos á seco : *ob.*, lente frontal del objetivo ; *co.*, cubre-objeto.

para dos rayos del espectro : el rojo y el azul ; lo que se logra, como es sabido, combinando cristales de *crown* (cristal poco dispersivo) con lentes de *flint* (muy dispersivo).

Empero, recientemente, el profesor Abbe, de Jena, en colabo-

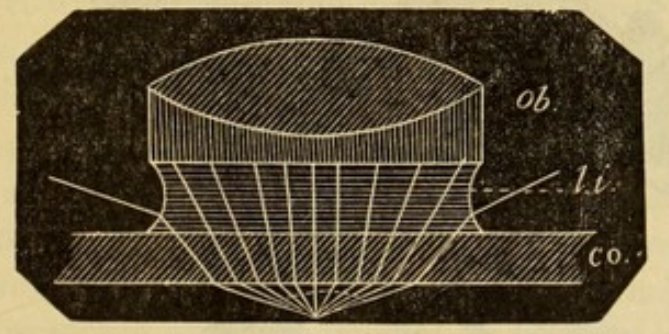


Fig. 20. — Marcha de los rayos emanados de la preparación en un objetivo de inmersión homogénea : *ob.*, objetivo ; *co.*, cubre-objeto ; *li*, líquido de inmersión. (Tomadas de Ellenberger).

ración con las casas Schott y Zeiss, ha inventado unos vidrios más ventajosos que los antiguos *crown* y *flint* para el logro de la corrección cromática de las lentes. Los objetivos construídos con estos cristales han recibido la denominación de *apocromáticos;* en ellos coinciden en un punto del eje tres rayos del espec-

tro, de lo que resulta casi absolutamente eliminado el espectro llamado secundario de los objetivoss comunes. La imagen es más

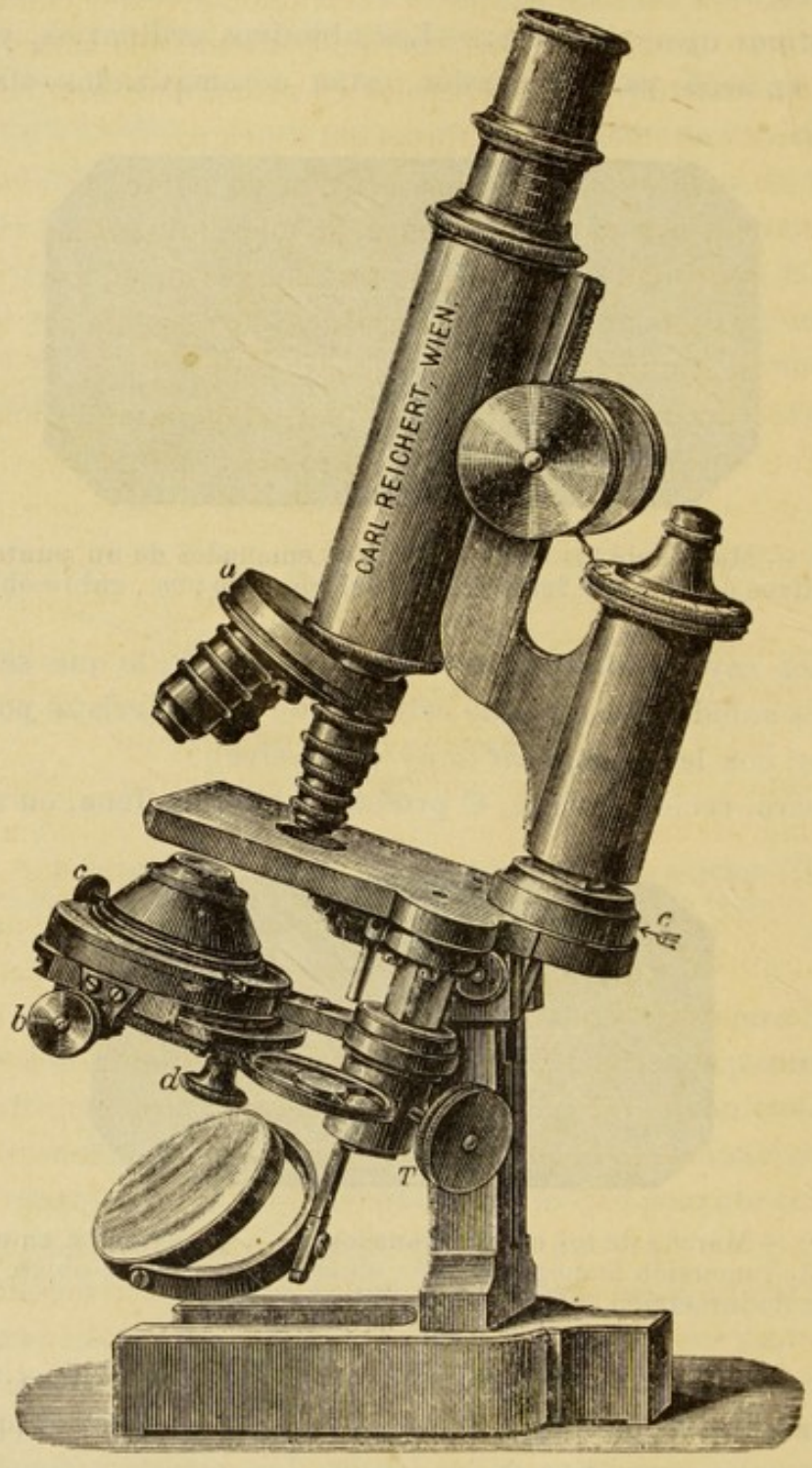


Fig. 21. — Microscopio modelo II, *b*, de Reichert, provisto del iluminador Abbe y del revólver porta-objetivo.

pura y luminosa, y los colores de los objetos se muestran con gran fidelidad.

Otra ventaja consiste en que la aberración de esfericidad, que en los objetivos ordinarios se corrige para un solo color (intermedio del amarillo y verde), en los apocromáticos está corregida para dos ondulaciones distintas del espectro.

Como más adelante tendremos ocasión de notar, los objetivos apocromáticos son excelentes para la microfotografía, ya que, merced á la coincidencia focal de tres colores (rojo, azul y violado), la imagen actínica ó fotográfica corresponde al mismo plano que la luminosa.

Objetivos de gran ángulo. — Las experiencias de Abbe han puesto fuera de duda, que el poder resolutivo del microscopio es función del ángulo de abertura del objetivo (véase más adelante el concepto de abertura). De aquí la necesidad de construir objetivos en donde todos los factores concurran al aprovechamiento los rayos más desviados emergidos de la preparación, entre los cuales figuran los espectros de difracción producidos por las finas rayas y demás pormenores del objetivo examinado.

Bajo este aspecto, puede considerarse el objetivo 1,63 de abertura numérica construído por Zeiss, con arreglo á los cálculos de Abbe, como el último esfuerzo de la óptica moderna. Es de inmersión, pero no en el aceite de cedro, sino en un líquido de índice más alto aún (1,65), el *monobromuro de naftalina*. La lente frontal es de *flint*, cuyo índice llega á 1,72. Su poder resolvente es notable y superior á todo lo que hasta hoy habíase logrado, como atestiguan las experiencias microfotográficas de van Heurck. Mas, desgraciadamente (y esto limita mucho su empleo), el conveniente aprovechamiento de su total ángulo de abertura numérica, exige el empleo de un concentrador luminoso especial, cuya lente superior es de *flint* muy refringente, así como el uso de porta-objetos y cubre-objetos tallados en un *flint* de 1,72 de índice. Además, con él no pueden examinarse las preparaciones ordinarias, siendo preciso usar, como vehículo conservador, el mismo monobromuro de naftalina.

CAPITULO III

CONTINUACIÓN DE LA PARTE ÓPTICA DEL MICROSCOPIO COMPUESTO

Propiedades de los objetivos.—Oculares.

Poder definidor del objetivo. — Es la cualidad que tienen los objetivos bien corregidos de las aberraciones cromática y de esfericidad, de traducir con limpieza y corrección el contorno de los objetos microscópicos.

Como es sabido, la aberración de esfericidad se explica por los físicos, considerando que toda lente está formada de una serie de prismas cuyas facetas poseen una inclinación tanto mayor, cuanto más próximos se hallan á la periferia (1). Los rayos incidentes que atraviesen las regiones centrales de la lente (correspondientes á un prisma de caras poco inclinadas) se desviarán mucho menos que los que crucen las regiones periféricas, formándose, en consecuencia, y en distintos puntos del eje principal, una serie de focos del mismo objeto.

La aberración de esfericidad se corrige en los objetivos de dos modos: mediante diafragmas que eliminan los rayos marginales, y combinando las lentes de tal suerte que la aberración de esfericidad de las unas se oponga á la de las otras.

La *aberración cromática* de las lentes es consecuencia de la propiedad que tienen los prismas de descomponer la luz blanca en sus siete colores elementales (la lente es un conjunto de prismas). La desigual refrangibilidad de los rayos del espectro (los violados se inclinan más y constituyen foco delante de los amarillos y rojos) da lugar á que las imágenes reales producidas por

(1) Véase la teoría del prisma en los *Tratados de óptica*.

las lentes aparezcan faltas de limpieza y con los contornos irisados.

La aberración cromática ó de refrangibilidad, se corrige como ya expusimos, reuniendo una lente convergente de *crown-glas* (silicato de potasa y cal) con otra divergente de *flint-glas* (silicato de plomo y potasa). El *crown* y el *flint* tienen un índice de refracción semejante, pero un poder dispersivo diferente. Se concibe, pues, que si emparejamos una lente convergente del cristal poco dispersivo (*crown*) con otra divergente (pero menos divergente que la otra convergente) del cristal muy dispersivo (*flint*), la luz descompuesta al pasar por la primera lente, se recompondrá en la segunda, sin que desaparezca del todo la convergencia.

Todo objetivo está corregido, por lo menos, para dos rayos del espectro (rojo y azul); en los apocromáticos, la coincidencia focal se extiende á tres colores.

Poder penetrante. — El poder de penetración ó profundidad focal es la propiedad que ciertos objetivos poseen de presentar perfectamente detallados, y en una misma posición del enfoque, varios planos del espesor de una preparación.

La fuerza de penetración de un objetivo está en razón inversa de la abertura numérica, como ha demostrado Abbe, quien ha establecido la fórmula $\frac{1}{a}$, es decir, que la unidad de penetración se divide por la abertura numérica (a). Así, cuando menos aumente y resuelva un objetivo, mayor será su profundidad focal.

Angulo de abertura. — Es uno de los factores más importantes de la construcción del objetivo, porque, como veremos luego, con la amplitud de este ángulo se relaciona el poder de resolución.

El ángulo de abertura de un objetivo es el formado por los rayos extremos de un objeto que concurren á proyectar la imagen. Es preciso distinguir dos aberturas: la *geométrica* y la *numérica*.

La *geométrica* corresponde á la definición indicada, y puede fácilmente medirse por varios procedimientos, entre otros, por el siguiente, debido á Amici : Se comienza por quitar del microscopio el espejo, el concentrador y el ocular; se baja luego el ob-

jetivo hasta insinuar su lente frontal en el agujero de la platina; en seguida se colocan en la mesa, á los lados del pie del microscopio, dos papeles ó dos objetos brillantes que se irán separando hasta que sus imágenes comiencen á desaparecer dentro del objetivo. Ahora no hay sino tomar en un papel la distancia de separación de los objetos y la altura del objetivo, y trazar un ángulo que reuna dichas tres partes. Este ángulo será la abertura geométrica. Poséenlo de modo exclusivo los objetivos á seco, y rara vez pasa de 80°.

La determinación del ángulo de abertura puede hacerse también por otros medios, tales como la tabla de Stephenson, y el apertómetro de Abbe.

La *abertura numérica* es un concepto introducido recientemente en la óptica por Abbe; puede expresarse diciendo, que es la capacidad que tiene un objetivo de utilizar, para la formación de la imagen, un número más ó menos considerable de los rayos luminosos que recibe.

Se recordará que, al tratar de los objetivos de inmersión, hemos dicho que en éstos entraban dos especies de rayos luminosos : los que serían recibidos del objetivo, aunque éste trabajase en seco, dada la amplitud de su ángulo de abertura, y aquellos más oblícuos que ingresan en la lente frontal merced á la influencia del líquido de inmersión. Estos dos factores luminosos entran en la abertura numérica en la relación que marca la fórmula siguiente, establecida por Abbe : $a = n \sin u$, es decir, la abertura numérica (a) es igual al índice de refracción del líquido de inmersión (n), multiplicado por la mitad del seno del ángulo de abertura ($\sin u$).

En general, y para un sistema cualquiera, la abertura geométrica estará en razón inversa de la distancia focal; así, de dos lentes de igual superficie, pero de las que una tenga la distancia focal de 4 y la otra de 2 milímetros, esta última será la de mayor abertura geométrica.

La abertura numérica crece, á igualdad de ángulo, con el índice de refracción del líquido ; así, de dos objetivos de foco idéntico, el que funcione por inmersión en el aceite de cedro poseerá mayor abertura numérica que el que opere en el agua.

Poder de resolver. — Es la cualidad de que gozan los objetivos de hacer ver finas rayas, contrastes ligeros de índice de refracción y detalles delicados de estructura de los objetos microscópicos.

No es lo mismo *aumentar* que *resolver*. El aumento se relaciona con la brevedad focal del objetivo, y se determina por la fórmula más atrás citada; pero la resolución, si bien exige como una de sus condiciones la cortedad de la distancia focal, depende muy principalmente de la cuantía de la abertura numérica. Se concibe bien, por tanto, que los esfuerzos de los ópticos tiendan á producir objetivos en los cuales, aprovechando, ya cristales de alto índice, ya el gran poder refringente de ciertos líquidos de inmersión, la abertura numérica alcance todo el posible desarrollo. Ya dijimos más atrás que en esta vía el último paso habíalo dado Zeiss con la construcción de su objetivo de abertura numérica 1,63, á inmersión en el monobromuro de naftalina. La aplicación de un líquido de inmersión de índice más poderoso, tal como el ioduro de metilo (1,743) ó los medios arsenicales, podría acrecer todavía la abertura numérica y, en consecuencia, el poder resolutivo del microscopio.

El poder resolvente de un objetivo aumenta en la luz monocromática, y particularmente en la representada por las ondulaciones más breves del espectro (azul, violado, ultraviolado).

Abbe ha hallado la fórmula siguiente :

$\delta = \frac{\lambda}{2\alpha}$, en la cual δ expresa el detalle mínimo á resolver ó la menor distancia visible entre dos rayas, λ, la longitud de onda, y 2α el doble de la abertura numérica (1).

Así, para los rayos violados cuya longitud de onda es de 0,4861 μ, δ será igual á $\frac{0{,}4861\ \mu}{2\ \alpha}$, mientras que para los rayos verdes (raya E), δ será igual á $\frac{0{,}5269\ \mu}{2\ \alpha}$.

Se ve, pues, que δ, ó el más pequeño detalle perceptible, será más diminuto iluminando la preparación con la luz azul ó vio-

(1) Esto se entiende para la iluminación oblícua ; en la iluminación central la fórmula es : $\delta = \frac{\lambda}{\alpha}$.

lada, que con la amarilla ó amarillo-verdosa (luz que domina en la blanca).

A favor de la fórmula citada, podemos averiguar el número de espacios ó de fracciones correspondientes al milímetro que cabría resolver con un objetivo de abertura numérica conocida y con una luz de longitud de onda determinada. Supongamos que utilizamos la luz química (longitud de onda 0,4000 μ), el objetivo 1,40 abertura numérica, y que en lugar de δ, con arreglo á lo indicado, ponemos el milímetro en fracciones de diezmilésimas. Tendremos 10.000 diezmil, divididas por $\frac{0{,}4000\ \mu}{2{,}80}$; lo que nos dará el número de rayas que dicho objetivo resolvería en la extensión del milímetro.

La fórmula de Abbe marca la dirección de los posibles progresos en la capacidad resolvente del microscopio. Si δ, ó el detalle á resolver es igual á $\frac{\lambda}{2\alpha}$, está claro, como ha dicho Czapski (1), que no hay sino dos caminos para disminuir la dimensión de δ : ó aumentar el divisor 2α (abertura numérica), ó disminuir en lo posible el dividendo λ, utilizando las ondas más breves del espectro (onda violada). La abertura numérica se compone de dos factores : el ángulo de abertura y el índice de refracción del líquido ($a = n \sin u$); ahora bien, el ángulo de abertura ha llegado á su límite práctico en los objetivos apocromáticos poderosos, y el progreso se ha de realizar descubriendo substancias de un índice de refracción más elevado que las conocidas.

En suma; los avances en la potencia de resolución del objetivo podrán lograrse de dos modos : 1.°, usando líquidos de inmersión de índice elevado; 2.°, trabajando con luz violada. Ambas condiciones exigirán que los constructores inventen objetivos *ad hoc*, corregidos esférica y cromáticamente para las ondulaciones más breves, pero todavía visibles, del espectro.

Oculares (fig. 22).—El ocular es un tubo corto que consta de dos lentes y un diafragma intermedio. Estas lentes son plano-convexas, con la convexidad vuelta al objetivo. La lente más próxima

(1) *S. Czapski :* Die voraussichtlichen Grenzen der Leistungsfähigkeit des Mikroskops. *Zeitschr. f. wissenschafl. Mikroskopie*, etc. Bd. VIII, 1891.

al observador se llama *ocular* propiamente dicho, mientras que la inferior toma el nombre de *lente del campo*. El oficio de esta última, es concentrar la luz destinada á formar la imagen real del objetivo, para que la lente superior ejerza su acción sobre todo el campo luminoso. La lente del campo no coadyuva, pues, al aumento (antes al contrario, disminuye algo la base del cono de proyección del objetivo); actúa solamente dilatando la extensión observable de la imagen.

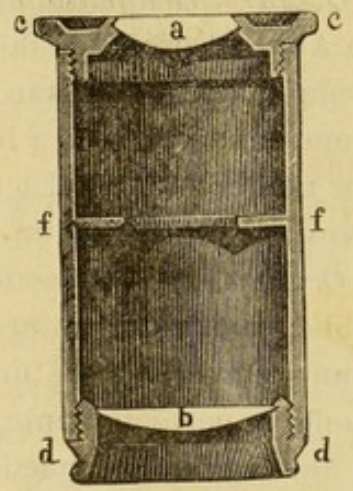


Fig. 22. — Corte vertical del ocular: *a*, ocular propiamente dicho; *b*, lente del campo; *f*, diafragma.

El papel desempeñado por la lente del campo se demuestra examinando sin ella una preparación: nótase que la zona visible de la imagen es muy estrecha, no permitiéndonos juzgar del conjunto de ésta, sino á beneficio de movimientos de la preparación. La iluminación misma disminuye notablemente.

La imagen real proyectada por el objetivo es recibida un poco por encima del foco de la lente superior. Se concibe fácilmente, después de lo expuesto más atrás, que cuanto más corta sea la distancia focal de la lente superior, mayor será la amplificación. Los fabricantes construyen varios números de oculares, cuyo aumento varía desde dos á doce veces ó más.

La nomenclatura de los oculares suele ser arbitraria (números ó letras), no guardando ninguna relación con el aumento. Recientemente, Zeiss ha adoptado, para designar sus oculares de compensación, la base racional del número de veces que estas lentes multiplican la imagen engendrada por el objetivo. Así, el ocular 8, aumenta ocho veces la imagen de proyección ó del objetivo.

Oculares ortoscópicos. — El ocular ordinario, llamado también de Huyghens, no es acromático, ni necesita serlo para las observaciones comunes. Pero en los trabajos micro-fotográficos convienen á veces oculares perfectamente acromatizados, los cua-

les, construídos primeramente por Kelner, llevan el nombre de oculares *ortoscópicos*.

Oculares micrométricos. — Son aquellos que, además de las lentes superior é inferior, encierran un micrómetro, es decir, un disco de cristal con finas rayas. Más adelante trataremos de su uso.

Oculares compensadores. — Construídos según las indicaciones de Abbe al propósito de corregir ciertos defectos de los objetivos apocromáticos, constan de dos lentes próximas: una superior, plano-convexa, y otra inferior, biconvexa. Dichos oculares, cuyos números van del 1 al 18, sólo deben emplearse con los objetivos apocromáticos de Zeiss.

Oculares de proyección. — Ideados asimismo por el profesor Abbe, son unos oculares compuestos de una lente del campo plano-convexa, y de un ocular ó *proyector* biconvexo más pequeño y perfectamente acromático. Encima del proyector yace el diafragma, que puede apartarse más ó menos de aquél.

Estos oculares están corregidos para proyectar, á distancias de 50 á 100 centímetros, imágenes reales sumamente puras, tan ventajosas para la demostración práctica ante una clase numerosa, como para la microfotografía. Esto no ocurre con los oculares ordinarios (de Huyghens y de compensación), cuyas imágenes sólo son correctas en proyecciones á cortísimas distancias.

Zeiss tiene á la venta una serie de oculares de proyección, cada uno de los cuales lleva por nombre el número de veces que amplía la imagen del objetivo. El tamaño de la imagen proyectada por el ocular (que actúa, no como los oculares ordinarios, sino como un nuevo objetivo flojo, pues da una segunda imagen real de otra real), se obtendrá fácilmente dividiendo la distancia existente entre la imagen y el ocular por la longitud focal del objetivo, y multiplicando el cociente por el número del ocular. Sea, por ejemplo, 3 milímetros la distancia focal del objetivo, 600 milímetros la de proyección de la imagen, y 4 el número del ocular, tendremos: $A = \frac{600}{3} \times 4 = 800$. Por lo demás, esta regla sólo es suficientemente exacta para los grandes aumentos.

CAPITULO IV

ACCESORIOS DEL MICROSCOPIO

Cámaras claras. — Microfotografía.

A tres medios puede recurrir el micrógrafo para obtener reproducciones de las imágenes del microscopio : al dibujo directo, á la cámara clara y la microfotografía.

Dibujo directo. — Exige hábito de copiar del natural y gustos estéticos que no siempre concurren, desgraciadamente, en los dedicados á las ciencias naturales. El material lo forman lápices Faber de números distintos, colores á la acuarela y papel marquilla ó cartulina. Sólo el trazo de lápiz reproduce suavemente el vago contorno de las células y el incierto graneado de los protoplasmas. La pluma es menos fiel y muy dada á la dureza; no obstante, nos será imprescindible cuando queramos (lo que se hace diariamente en la ilustración de los libros histológicos), convertir un dibujo á mano en una fotozincografía destinada á la impresión con el texto. Esta clase de dibujos debe ejecutarse con tinta china bien negra, y con pluma fina, como la que emplean los litógrafos. Así y todo, conviene que la reproducción fotozincográfica encomendada al grabador sea de menor tamaño que el dibujo, á fin de obtener mayor finura y disimular la irregularidad de las líneas.

Si se desea obtener en el dibujo original un modelado de fino grano, semejante al de las litografías, se usará un papel especial, graneado, en el cual se trabaja con lápices grasos litográficos. Los fondos de líneas paralelas ó cruzadas se lograrán fácilmente dibujando en el papel xilotipo, muy usado actualmente para los grabados de las ilustraciones. Los diseños en papel xilotipo, ó en el de grano, tienen la ventaja de poderse transformar fácilmente en bloques fotozincográficos de impresión. El micró-

grafo no debe ignorar todos estos procedimientos que le serán imprescindibles en sus publicaciones científicas.

Cámaras claras.—Son aparatos cuyo objeto es la proyección de la imagen microscópica sobre el papel en que se diseña; de tal suerte, que el observador percibe al mismo tiempo, la preparación, el papel y el lápiz, y le es muy fácil trazar el contorno de las células y marcar las dimensiones y distancias relativas.

Existen muchos modelos de cámaras claras; pero nosotros indicaremos solamente los usados más comunmente.

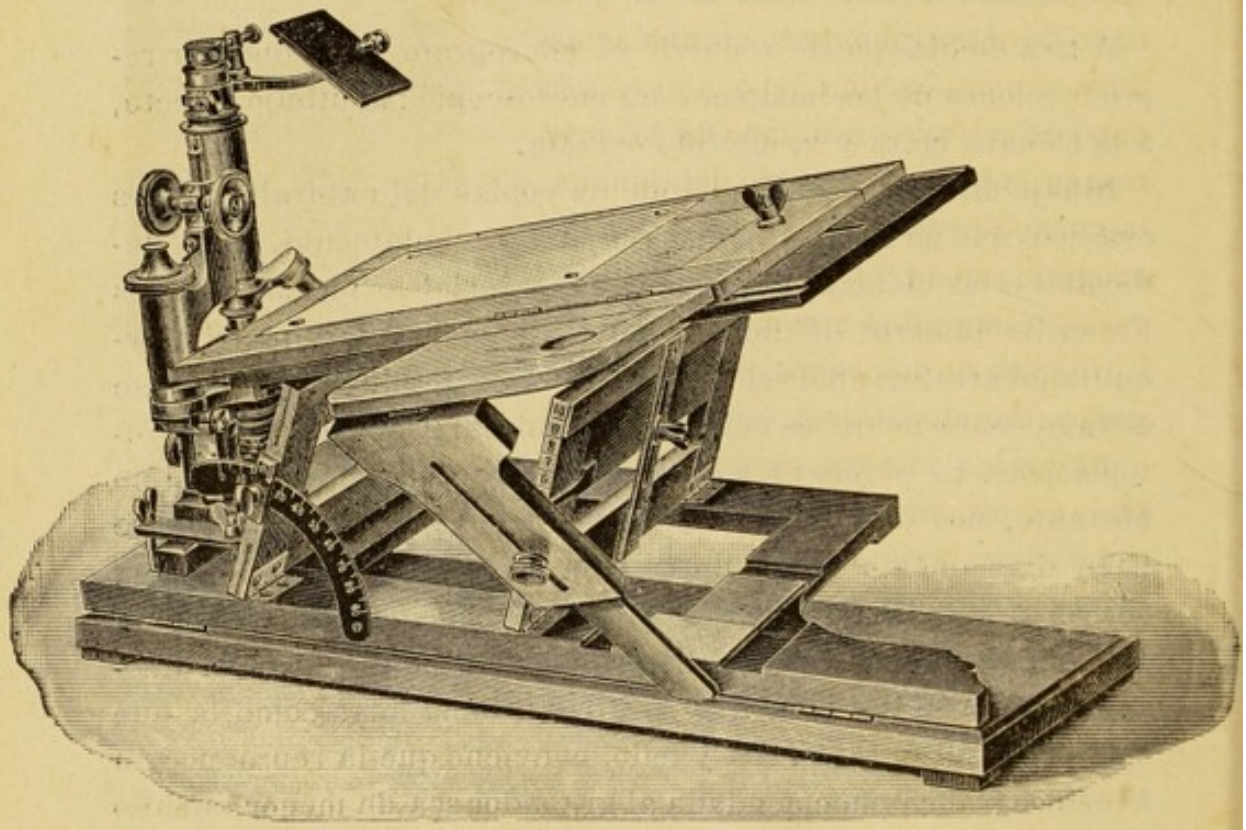


Fig. 23. — Pupitre de Bernhard para dibujar con la cámara clara.

Cámara clara de Nachet (fig. 24). — Trátase de un paralepípedo de cristal alojado en una caja metálica que se coloca encima del ocular. La figura muestra claramente la marcha de los rayos luminosos, y da idea del mecanismo. El rayo R, procedente del papel y del lápiz, situados á un lado del microscopio, aborda el paralepípedo, sufre en M una primera reflexión total, una segunda en N, y se hace, finalmente, vertical, penetrando en el ojo en la misma dirección que el rayo O emanado

del microscopio. Este último rayo no experimenta ninguna desviación, gracias á que, en la cara correspondiente del paralepípedo, se halla pegado con bálsamo un pequeño prisma, que transforma este paraje en un cristal de superficies paralelas. El observador ve reunidos en el interior mismo del microscopio la preparación, el lápiz, el papel y la mano que dibuja.

Cámara de Abbe. — Consta esencialmente de dos partes : un espejo plano situado lateralmente (fig. 25, E) y un cubo de cristal montado en una armadura situada encima del ocular (A). El cubo de cristal se compone de dos prismas pegados con bálsamo del Canadá ; la cara adherente de uno de ellos está azogada, menos en el centro, donde el espejito tiene una perforación para el libre paso de los rayos luminosos llegados del microscopio.

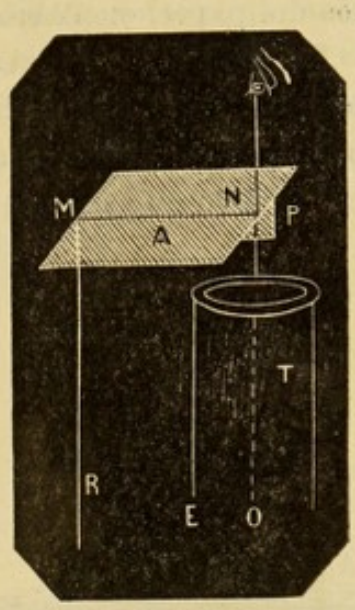


Fig. 24. — Esquema de la cámara de Nachet : T, tubo del microscopio ; A, el paralepípedo de cristal ; R, rayo que llega del papel ; O, rayo emanado del microscopio.

El mecanismo aparece claramente en la figura 25. Los rayos *r*, emanados del papel y lápiz, son reflejados primeramente en el espejo plano E, y después en la diagonal azogada del cubo (*c*), en donde adquieren curso vertical, marchando confundidos y en igual dirección que los rayos del microscopio (*m*). Estos pasan sin desviación por la perforación de la capa azogada del sistema de prismas, y el observador ve en la platina las imágenes de la preparación, del lápiz y del papel.

Para graduar bien la intensidad luminosa de la imagen del papel, se colocan en el paraje por donde los rayos de éste penetran en el cubo de cristal, vidrios ahumados ó de colores obscuros.

Cámara de Zeiss (fig. 27). — Semejante en su disposición á la de Nachet, consta de dos prismas, situados de tal modo, que los rayos luminosos que llegan del papel, después de sufrir una primera reflexión total en el prisma externo y otra en el interno,

adquieren la misma dirección que los emanados del microscopio. La armadura del aparato posee, en el punto correspondiente al ocular, un agujero cuya mitad externa está ocupada por el prisma interno, y cuya mitad interna queda libre para el tránsito directo de los rayos del microscopio, que penetran, unidos á los del papel, en la misma pupila del observador.

En la figura 23 reproducimos un pupitre de dibujar muy cómodo imaginado por Bernhard y construído por Zeiss. Merced á un ingenioso mecanismo la mesita de dibujar puede alzarse é inclinarse lo que se desee.

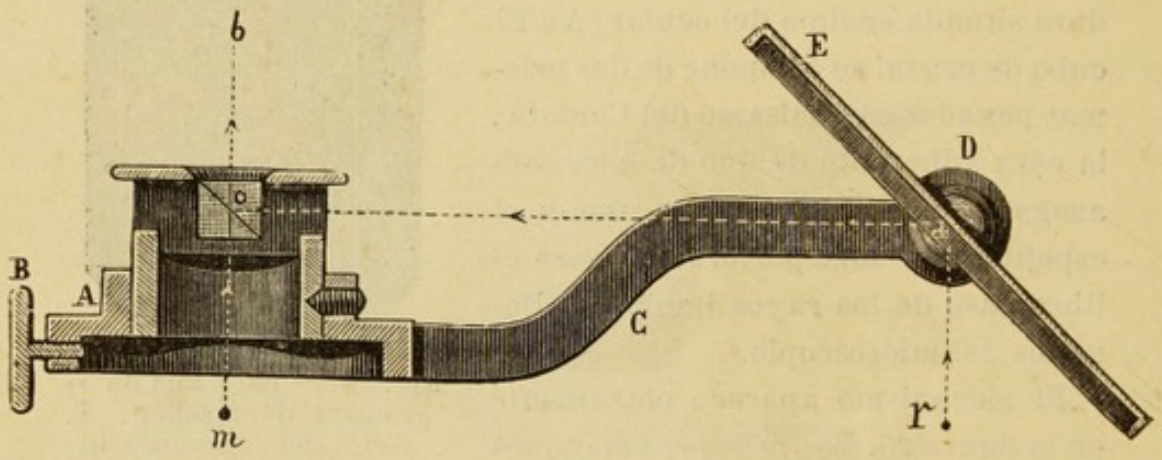


Fig. 25. — Marcha de los rayos luminosos en la cámara clara de Abbe: *r*, rayo emanado del papel; *m*, rayo llegado del microscopio; E, espejo; *c*, cubo de cristal.

Microfotografía.—La práctica microfotográfica exige el material siguiente: microscopio susceptible de inclinarse, objetivos apocromáticos y oculares de proyección, una cámara obscura fotográfica, un concentrador acromático, luz de petróleo, eléctrica ó solar (conducida ésta mediante un heliostato) y, finalmente, placas sensibles al gelatino-bromuro de plata con los demás accesorios de fotografía.

Microscopio.—Puede servir todo modelo susceptible de inclinarse. Si se desea obtener pruebas microfotográficas de corto aumento, será preciso usar un modelo especial (modelo microfotográfico de Zeiss, por ejemplo) que permita montar objetivos de foco muy largo (75 ó más milímetros). El pie del microscopio se fija, á beneficio de una barra y un tornillo, á una mesa ó al ban-

co especial que acompaña á los grandes aparatos microfotográficos (fig. 29). Si la proyección de la imagen se verifica á corta distancia, el enfocamiento durante el examen de aquélla en el cristal esmerilado se efectúa con la mano; pero en las proyecciones muy distantes será preciso enfocar mediante una larga palanca unida al tornillo micrométrico. Esta varilla no falta nunca en los aparatos microfotográficos *ad hoc*; su ausencia limita la microfotografía á la obtención de pruebas de corta amplificación.

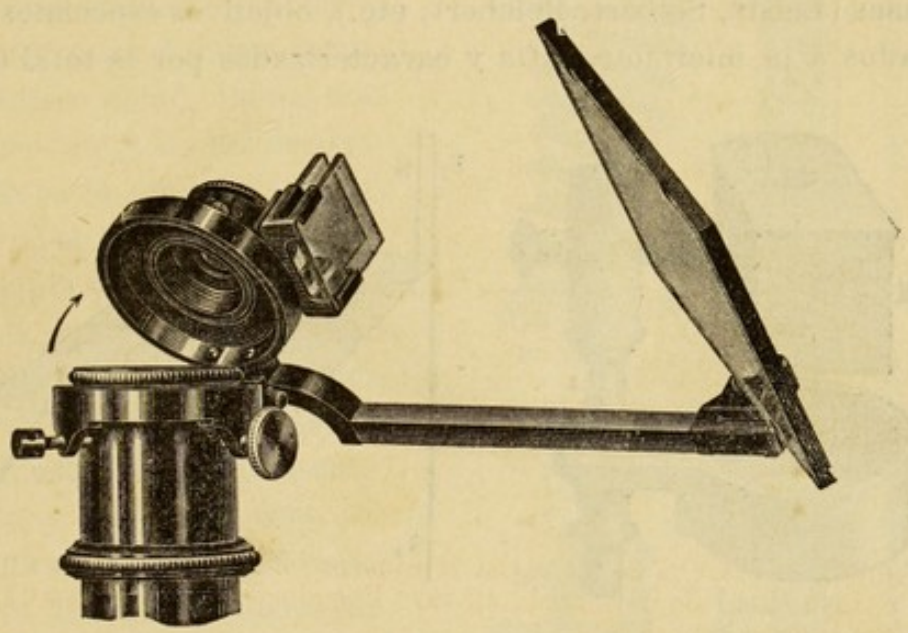


Fig. 26. — Cámara clara de Abbe, vista en posición oblicua para que se observe su modo de montaje sobre el ocular.

Objetivos y oculares. — Hace algunos años, se trabajaba preferentemente sin ocular y con un objetivo común, cuya imagen era proyectada dentro de la cámara obscura. En algunos casos, lográbanse por este método buenas microfotografías. El éxito dependía del empleo de objetivos *casualmente* corregidos del defecto llamado *diferencia focal*. Con los objetivos bien corregidos para la observación ordinaria, los resultados eran detestables; lo que dimanaba de dos causas: 1.° De que casi todos los objetivos comunes poseen diferencia focal, es decir, que en sus imágenes no coinciden en foco los rayos violetas (que son químicamente los más actínicos) con los rayos más luminosos (rojo, ama-

rillo y verde); así es que al examinar la placa revelada, no se encuentran en ella los detalles de la imagen proyectada en el cristal esmerilado (el foco químico se halla delante del óptico). 2.° Los objetivos comunes están corregidos para dar el máximo de detalle en proyección á corta distancia, poco más ó menos al nivel del diafragma del ocular; por tanto, toda proyección á 40 ó 50 centímetros, es ópticamente mala.

En vista de estos inconvenientes, que hacían casi imposible la fotografía á grandes aumentos, se han construído por diversas casas (Leistz, Seibert, Reichert, etc.), objetivos especiales destinados á la microfotografía y caracterizados por la total ausen-

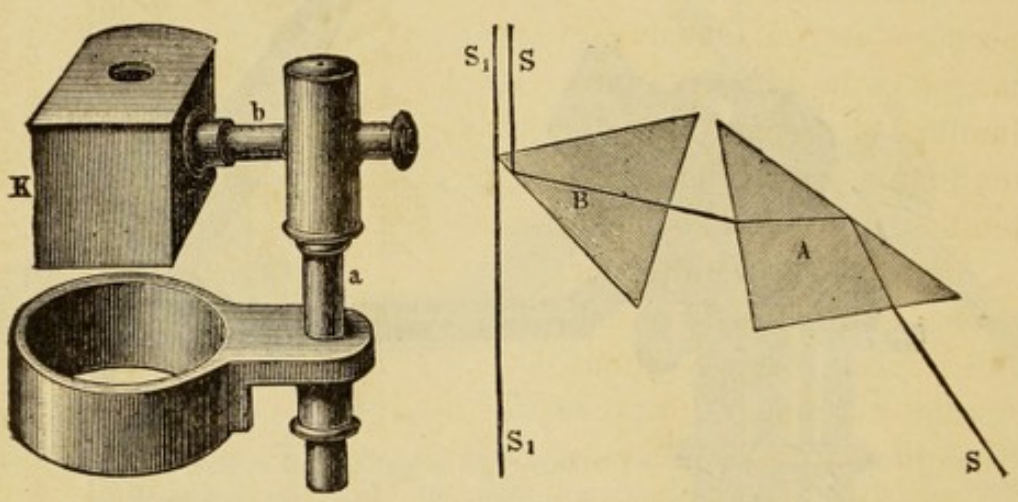


Fig. 27. — Cámara clara de Zeiss : á la izquierda se ve el aparato completo ; á la derecha, su esquema : S, rayo dimanado del papel ; S_1, rayo llegado del microscopio.

cia de diferencia focal. Pero á todos hacen ventaja los apocromáticos de Zeiss, los cuales, como ya expusimos más atrás, dan imágenes donde coinciden focalmente los rayos violados, verdes y rojos. Estos objetivos deben usarse con los oculares de proyección, lentes expresamente construídas para dar excelentes proyecciones, á largas distancias, de la imagen microscópica.

Luz y concentrador luminoso. — Si se quiere fotografiar á cortos aumentos (de 50 á 300 diámetros), nos bastará, como fuente luminosa, un buen mechero de petróleo ó de gas (mechero Auer, por ejemplo). La linterna de proyección de tres mechas será igualmente muy útil. Pero el empleo de objetivos de inmersión

homogénea, y las proyecciones á larga distancia, exigen el uso de la luz eléctrica ú oxhídrica, y, mejor que todas, la solar.

En todo caso, debajo de la platina del microscopio se instalará un concentrador acromático, destinado á proyectar, en el espesor mismo de la preparación, una imagen muy pura del foco luminoso (disco solar, llama del mechero, etc.). La luz de esta imagen es la que sirve para iluminar el preparado, y dar una limpia proyección de sus detalles. Semejante requisito, ya mencionado por Moitessier, y sobre el que insisten Koch, Van Heurck, Zeiss, Neuhaus, Pfeiffer y Fränckel, etc., es absolutamente preciso para el logro de buenos clichés de bacterias y de texturas celulares.

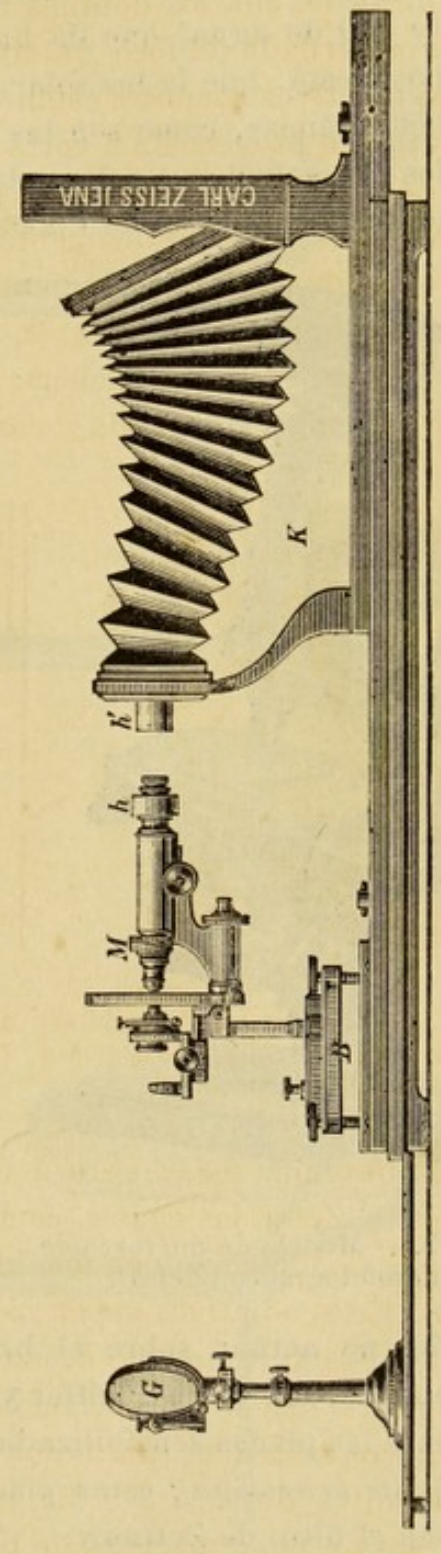


Fig. 28. —Pequeño aparato microfotográfico de Zeiss : G, lente concentradora de la luz ; K, cámara obscura ; B, pieza que sirve para mantener á la altura conveniente el microscopio.

Con los objetivos apocromáticos y oculares de proyección, no es absolutamente precisa la luz monocromática ; no obstante, algunos microfotógrafos la juzgan útil, á fin de aumentar el poder de resolución del microscopio. Se obtiene esta luz, haciendo pasar los rayos luminosos, antes de su entrada en el concentrador, por una cuba vertical de vidrio, llena de una solución colorante, que puede

ser el sulfato de cobre amoniacal (color azul), ó el filtro de Zettnow (14 de solución de ácido crómico, 160 de nitrato de cobre y 250 de agua) que da un color verde intenso.

Dicho se está, que la luz solar, usada en exposiciones que no sean instantáneas, como son las que se obtienen con los rayos filtrados por soluciones coloreadas, debe manejarse con un heliostato, por ejemplo, el de Plazmowski, que, siendo uno de los mejores, es, al mismo tiempo, uno de los más económicos.

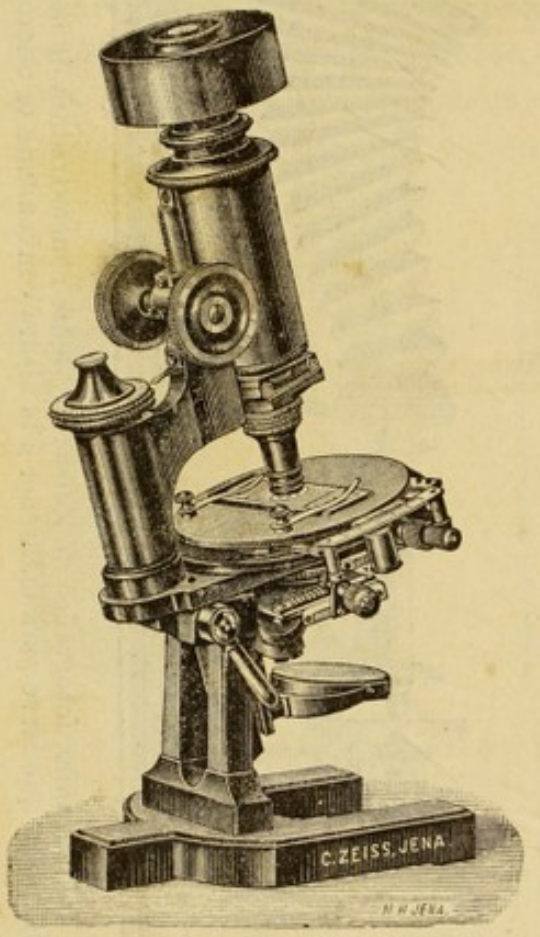


Fig. 29. — Modelo de microscopio microfotográfico (Zeiss).

Placas fotográficas. — Convienen las más sensibles, pues permiten exposiciones relativamente cortas, aun con la luz de petróleo. Las placas Lumière, marca azul, son excelentes á este objeto.

Recientemente, han sido introducidas en el comercio las placas llamadas *isocromáticas*, fabricadas según los principios establecidos por el Dr. Vogel. Este sabio ha descubierto, que si se mezcla á la película de gelatino-bromuro de plata un color de anilina soluble, la placa resulta especialmente sensible al color complementario; aunque éste sea de aquellos que, como el rojo, el amarillo y verde, no actúan sobre el bromuro de plata ordinario. El Dr. Neuhaus, así como Pfeiffer y Fränckel, recomiendan especialmente las placas sensibilizadas para el verde mediante una solución de *eritrosina;* estas placas son indispensables cuando se utiliza el filtro de Zettnow.

Los filtros coloreados, así como las placas isocromáticas, aprovechan especialmente cuando se trabaja con objetivos ordina-

rios provistos de foco químico. Se comprende que, en tales

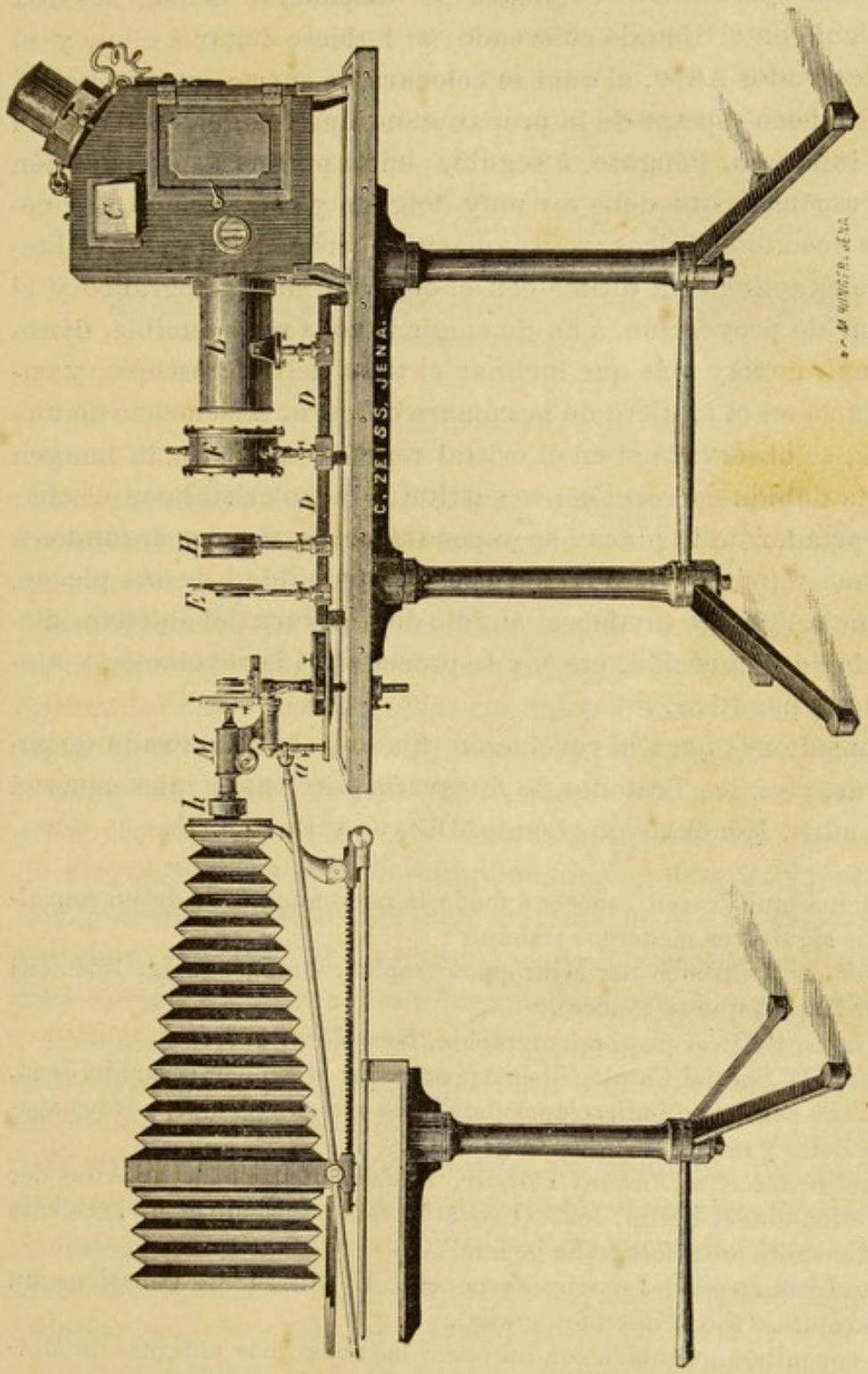


Fig. 30. — Gran aparato microfotográfico de Zeiss, dispuesto para la iluminación con luz eléctrica ó la luz del magnesio.

condiciones, las imágenes deben ser bastante puras, dado que están formadas de una sola especie de ondulación; por

tanto, la imagen química y la óptica son una misma cosa.

Modus operandi. — Comienza por disponerse la luz, la cuba vertical con el líquido coloreado (si hubiese lugar á ello), y el concentrador Abbe, el cual se colocará de suerte que proyecte, en el mismo espesor de la preparación, una imagen correcta del foco luminoso. Póngase, á seguida, en la platina la preparación microscópica, que debe ser muy delgada y estar teñida con colores poco fotogénicos (rosa, amarillo, verde, pardo, etc.); luego se examina esta última con el objetivo microfotográfico y el ocular de proyección, á fin de elegir la zona reproducible, fijada la cual, no hay más que inclinar el tubo del microscopio, y enchufarlo en el agujero de la cámara obscura. A beneficio de una lente, se observará si en el cristal raspado se dibuja la imagen con la debida corrección ; se sustituirá dicho cristal con el chasis portador de la placa ; se expondrá desde algunos segundos á algunos minutos (en relación con la sensibilidad de las placas, potencia del foco luminoso, ángulo de abertura del objetivo, distancia de proyección, etc.), y se procederá á la revelación y fijado de la negativa.

Consúltense para la revelación, fijado, refuerzo, tirada de positivas, etc., los Tratados de fotografía corrientes, tales como el de Audra, Monckhoven, Londe, Dillaye y Burton (1).

(1) Los que deseen conocer á fondo la microfotografía, deben consultar los siguientes modernos trabajos :

Neuhaus, Lehrbuch der Mikrophotographie. Braunschweig, 1890. (El mejor tratado que se conoce).

Pringle, Pratical photomicrographie. New-York, 1890.

Zeiss(R), Special-Catalog über Apparate für Mikrophotographie. Jena, 1888. (Se contienen indicaciones detalladas acerca del empleo de los aparatos Zeiss y microfotografía en general).

Carl Fränckel u. Richard Pfeiffer, Mikrophotographischer Atlas der Bakterienkunde. Berlín, 1892. (Este atlas está precedido de un excelente estudio sobre microfotografía general).

Henri van Heurck, Le microscope, etc. 4.ª edit., 1891. (Contiene un buen capítulo sobre microfotografía).

Se consultarán también con provecho las obras más antiguas de Moitessier, Stein, Gerlach, Benecke, etc.

CAPITULO V

CONTINUACIÓN DE LOS ACCESORIOS DEL MICROSCOPIO

Micrómetros, aparatos numeradores, aparato de polarización, microespectroscopio.

A. — Micrómetros

Dos problemas debe resolver á menudo el micrógrafo : 1.° La determinación del aumento del microscopio. 2.° La averiguación del tamaño real de un elemento microscópico.

Determinación del poder amplificante del microscopio. — Todos los fabricantes acompañan sus microscopios de una tabla, donde figuran los aumentos obtenidos con tal combinación de ocular y objetivo ; pero como no siempre esta determinación es exacta, ni aun siéndolo, es valedera para todas las longitudes del tubo del microscopio, conviene que el micrógrafo conozca los medios de averiguar por sí el poder amplificante del microscopio. En rigor, pudiera utilizarse el método matemático (ya expuesto anteriormente al tratar de la fórmula del microscopio compuesto), pero es mucho más sencillo y breve el método experimental.

Este método exige el empleo : de un pequeño instrumento llamado *micrómetro objetivo*, de la *cámara clara*, y de una *regla dividida en milímetros*.

El micrómetro objetivo es un disco de cristal que lleva grabadas con diamante rayas cuyos intervalos, de antemano determinados por el constructor, valen una centésima de milímetro. Este disco está fijo sobre un porta-objetos metálico, en uno de cuyos lados se lee el valor de las divisiones.

He aquí cómo se procede á la determinación de la amplificación del microscopio ; se comienza por enfocar, como si fuera una preparación, el micrómetro objetivo, de modo que las rayas

aparezcan netamente; luego se monta la cámara clara sobre el ocular ; y, en la mesa, pero á la distancia de la visión distinta (25 ó 30 centímetros), se coloca una regla dividida en milímetros. En estas condiciones, nada más fácil que ver á un tiempo, á beneficio de la cámara clara, las rayas de la regla y las del micrómetro. Suponiendo que cada intervalo de las divisiones del micrómetro vale una centésima, la cual aumentada por el microscopio se ha hecho tan grande que ocupa tres divisiones de la regla, la amplificación será de 300 veces, puesto que una centésima ocupa la extensión de tres milímetros.

Determinación del tamaño de un objeto microscópico. — Para resolver este problema, es preciso aplicar, además del micrómetro objetivo, otro micrómetro que, por situarse en el ocular del microscopio, toma el nombre de *micrómetro ocular*. Este consiste en una rodaja de cristal con divisiones, cuyo valor suele ser de una décima de milímetro, aunque, en realidad, podría ser cualquiera. Colócase dicha rodaja encima del diafragma del ocular, de modo que las rayas estén enfocadas con la lente superior.

La determinación de la dimensión de un objeto abarca dos operaciones : 1.°, averiguar el valor de las rayas del micrómetro ocular por comparación con las del objetivo; 2.°, sustituído el micrómetro objetivo por la preparación, cotejar el objeto mensurable con las divisiones del micrómetro ocular.

Para efectuar la primera operación, no hay más que examinar el micrómetro objetivo á través del ocular micrométrico; con un poco de atención, se notará en seguida cuántas rayas del micrómetro ocular igualan una ó varias del micrómetro objetivo. Supongamos que una división del micrómetro objetivo es aumentada de tal suerte, que abarca dos rayas del ocular micrométrico; puesto que conocemos el valor real de las líneas de aquél (una centésima), concluímos que, para tal combinación de ocular y objetivo, cada raya del micrómetro ocular vale media centésima, ó sean 5 milésimas.

Hecha esta determinación, pasamos á la operación segunda, que consiste en sustituir el micrómetro objetivo por una preparación, manteniendo en su lugar el ocular micrométrico. Demos

ahora por supuesto que una de las células, cuya talla deseamos medir, llena dos divisiones del micrómetro ocular; valiendo cada una de éstas (según determinamos anteriormente) 5 milésimas, es claro que el corpúsculo en cuestión alcanza un diámetro de 10 milésimas.

Por lo expuesto, se ve claramente que el micrómetro ocular desempeña aquí el oficio de un término de comparación intermediario (cuyo valor se fija por el micrómetro objetivo), pero indispensable, por ser imposible medir directamente el objeto microscópico con el micrómetro objetivo.

No hay necesidad de valorar á cada momento las divisiones del micrómetro ocular con las del objetivo; bastará que esta operación se haya efectuado una sola vez para cada combinación de objetivo y ocular, conservando las cifras halladas y anotando la longitud del tubo. De este modo, el micrómetro ocular será sólo utilizado.

Algunos constructores de microscopios nos ahorran hasta la previa operación antes citada, puesto que entregan, con sus modelos de microscopio, una tabla donde figuran los valores que, para cada combinación de objetivo y ocular, tienen las rayas del micrómetro ocular.

Existen otros micrómetros más complicados, tales como el micrómetro objetivo de tornillo de Schieck y el micrómetro ocular de tornillo; pero la descripción de estos aparatos, por otra parte innecesarios, traspasaría los límites en que deseamos encerrarnos.

B. — Aparato numerador de glóbulos

El más sencillo de los instrumentos utilizados para contar el número de corpúsculos suspendidos en un líquido, es el llamado *hematímetro de Hayem*, adoptado también por Thoma en Alemania (fig. 31).

Se trata de un porta-objetos de cristal (O), una de cuyas caras ofrece una excavación de un quinto de milímetro de profundidad. Esta cavidad se cubre con una laminilla plana, con lo que queda circunscrito un espacio ó célula de un quinto de milíme-

tro de espesor (D). En la pared inferior de la célula se han tra-

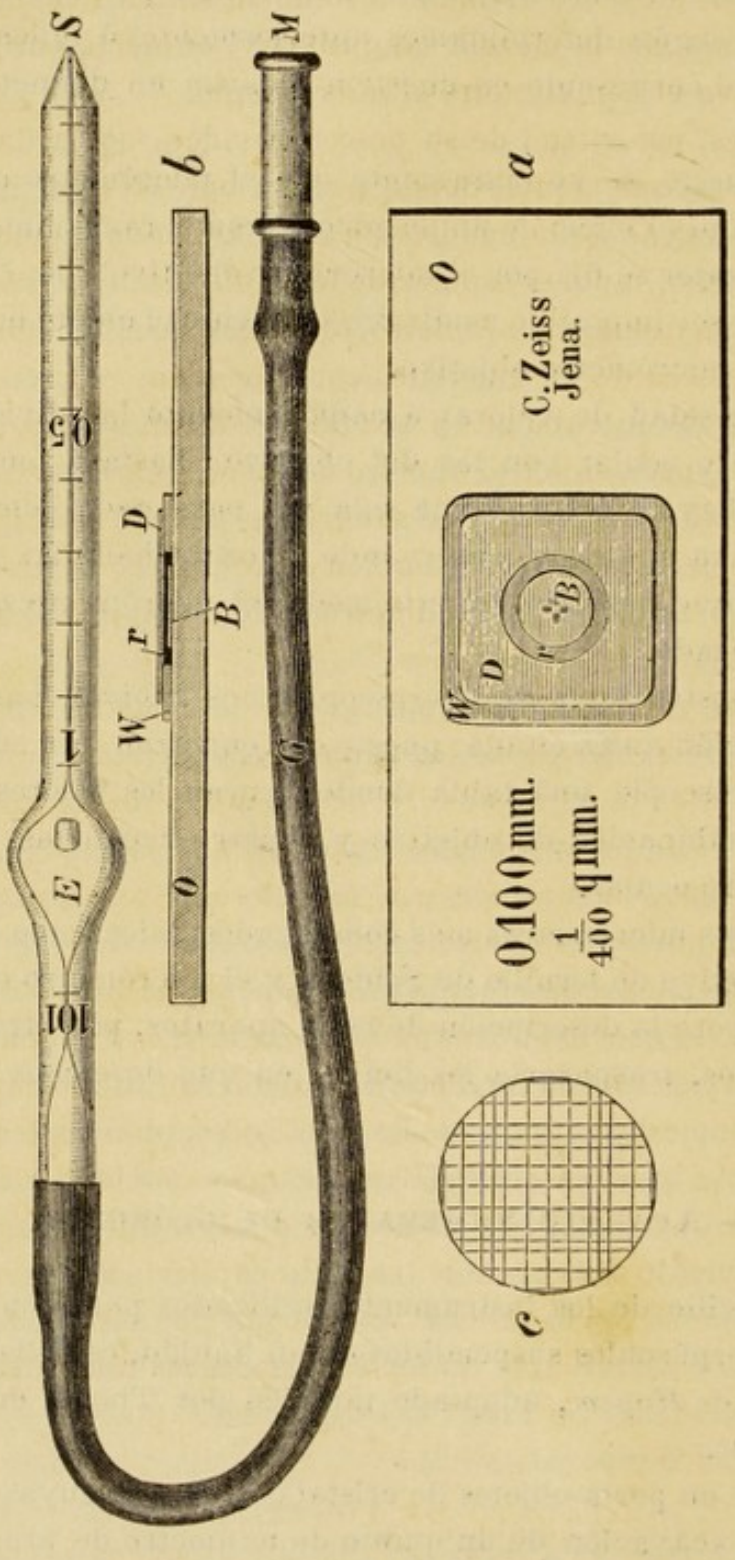


Fig. 31. — Aparato numerador de los glóbulos, según Thoma. — O, porta-objetos con la célula calibrada (B); S, mezclador de la sangre; E, cavidad ampliada del mezclador; W, célula vista en sección; C, cuadrícula de la célula vista al microscopio.

zado cuadritos, cuyos lados miden igualmente un quinto de milímetro.

Para utilizar el hematímetro, se comienza por diluir la sangre al 1 por 100 con un suero artificial ó solución salina inofensiva ; se llena la célula con la mezcla sanguínea y, cubierta por la laminilla, se lleva el hematímetro al microscopio.

Los hematíes, por virtud de su peso específico, no tardan en caer en el suelo de la célula, donde podrán enfocarse al mismo tiempo que las rayas de la cuadrícula (C). Midiendo, como más atrás hemos dicho, tanto el espesor de la célula como los lados de la cuadrícula un quinto de milímetro, está claro que los hematíes, contados en el área de un cuadrito, corresponden, en realidad, á la capacidad de un cubo que posea facetas de un quinto de milímetro. Ahora, para saber el número de corpúsculos que se contienen en un milímetro cúbico de sangre, es preciso multiplicar los hematíes contados por 125 (relación entre el cubo de un quinto de milímetro de lado y el milímetro cúbico), y después por 100 título de la dilución sanguínea.

En el antiguo modelo de Hayem no existían cuadrículas rayadas en la pared inferior de la célula ; y para saber que los hematíes se contaban en un cuadro de un quinto de milímetro, se utilizaba un micrómetro ocular cuadriculado, á cuyos espacios se daba, por comparación con un micrómetro objetivo, el valor de un quinto de milímetro.

La mezcla de sangre se efectúa en una pequeña probeta calibrada. Cuando la cantidad destinada al examen es mínima, hay que aprovechar el mezclador Potain, es decir, un tubito capilar, en cuyo término existe una ampolla (S). Este capilar está de tal suerte calibrado, que la ampolla (E) posee una capacidad cien veces mayor que el tubito fino yacente por debajo. Para usarlo, se llena primeramente de sangre el trayecto capilar ; luego se aspira suero artificial hasta rellenar la ampolla ; se agita la mezcla resultante del líquido, y se sopla sobre la célula calibrada una gota.

C. — Aparato de polarización

El aparato de polarización consta de dos piezas separadas : el *analizador* que se monta sobre el ocular, y el *polarizador* que

se fija debajo de la platina, en el paraje donde se colocan los diafragmas del concentrador. Tanto el *polarizador* como el *analizador*, encierran un prisma de Nicol, ó sea un paralepípedo de espato de Islandia, seccioando según la línea que junta los ángulos obtusos, y cuyas mitades se han reunido en su posición natural con bálsamo del Canadá. Como es bien sabido, el espato de Islandia es birefringente, ó, en otros términos, goza de la propiedad de producir dos imágenes de un sólo objeto luminoso. Siempre que un rayo penetra en el espato oblícuamente con relación á la sección principal (plano que contiene el eje ó línea que une los vértices de los ángulos obtusos del cristal), prodúcense dos rayos refractados : uno llamado *ordinario*, que se des-

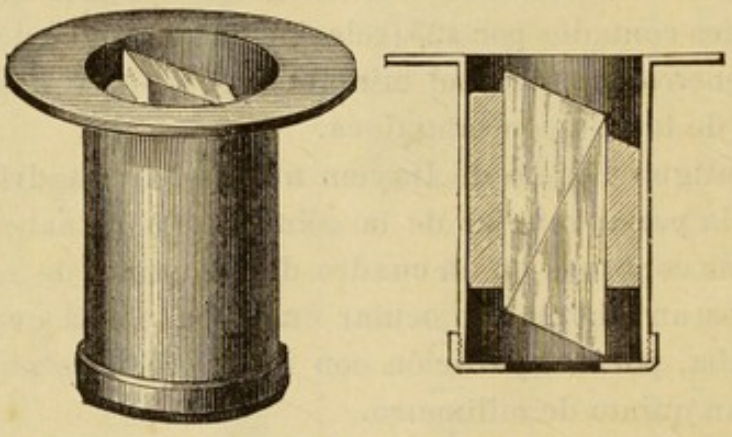


Fig. 32. — Polarizador. La figura de la derecha representa un corte vertical del aparato y muestra el prisma de nicol ; la figura de la izquierda representa el nicol en su montura.

vía fuertemente ; otro calificado de *extraordinario*, que se inclina mucho menos. El primero, emerge vibrando en todos sentidos ; el extraordinario, sale *polarizado*, es decir, vibrando solamente en un plano paralelo á la sección principal.

El prisma de Nicol realiza una ingeniosa disposición para excluir el rayo ordinario y dejar paso franco al extraordinario ó polarizado. En efecto, merced á la capa de bálsamo separatoria de las dos mitades de cristal, el rayo ordinario, que llega al medio resinoso con un ángulo mayor de 69° (ángulo límite entre el espato y bálsamo), sufre la reflexión total, siendo absorbido por la armadura metálica ennegrecida ; mientras el extraordinario, que alcanza el bálsamo bajo una inclinación menor

que el ángulo límite, pasa á lo largo de todo el prisma de Nicol, pudiendo aisladamente aprovecharse para la iluminación del microscopio.

Colocados el analizador y el polarizador en sus sitios respectivos, y haciendo girar el primero de modo que los planos de polarización de ambos nicols sean paralelos, el observador verá el campo iluminado como de ordinario ; mas si se mueve el analizador hasta que los planos de polarización se crucen en ángulo de 90°, el campo se torna completamente obscuro. Esta es la posición en que el aparato se utiliza para la determinación de si un objeto microscópico es monorefringente (*isótropo*) ó birefringente (*anisótropo*). Si dicho objeto es monorefringente, el campo permanece obscuro ; pero si es birefringente, la luz se restablece. Ciertas partes aparecen coloreadas de vivos matices. Situando encima del polarizador delgadas láminas de mica, se acrecienta la sensibilidad del aparato.

En histología puede prestar buenos servicios el aparato de polarización, ayudando á reconocer la existencia de substancias birefringentes en el seno de ciertos tejidos. Tal sucede, por ejemplo, con la fibra muscular estriada, cuya banda obscura y líneas de Krause aparecen construídas de una materia *anisótropa*.

Pero las aplicaciones más importantes del aparato de polarización se refieren al análisis de las rocas, al reconocimiento de cristales microscópicos, al de los productos orgánicos, etc. Todos los cristales del sistema cúbico son monorefringentes, y birefringentes los del sistema romboédrico.

D. — Microespectroscopio

El modelo que más se emplea es el de Sorby, modificado por Zeiss. Consta de dos partes : una inferior que no es más que un ocular entre cuyas dos lentes (del campo y ocular propiamente dicha), existe una rendija de labios aproximables á favor de un tornillo exterior ; otra superior que contiene una combinación de prismas de visión derecha, destinados á descomponer la luz llegada del microscopio á través de la hendidura susodicha (figura 33).

Como es muy conveniente comparar entre sí dos espectros, el de la preparación con el de una substancia cualquiera, la mitad de la rendija citada lleva debajo un pequeño prisma de reflexión total que, al paso que interrumpe una parte del pincel luminoso emanado del microscopio, da acceso á un rayo lateral insinuado á través de una abertura parietal del instrumento. De esta manera, el ojo del observador contempla juntos dos espectros, el de la preparación, más el de la luz extraña al micros-

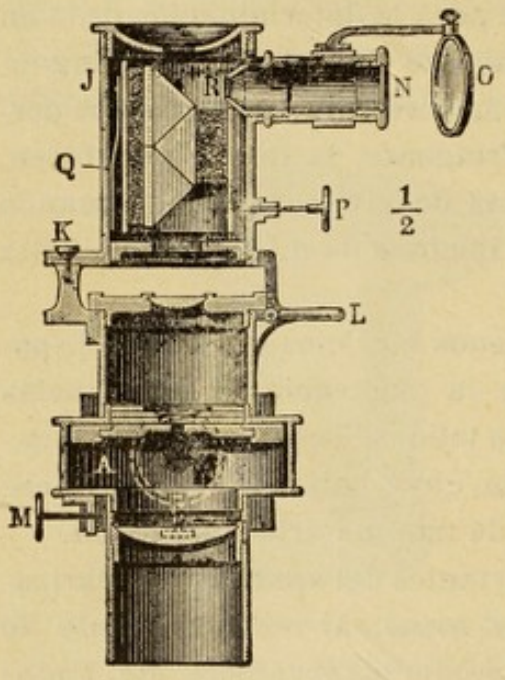


Fig. 33. — Microespectroscopio de Sorby construído por Zeiss.

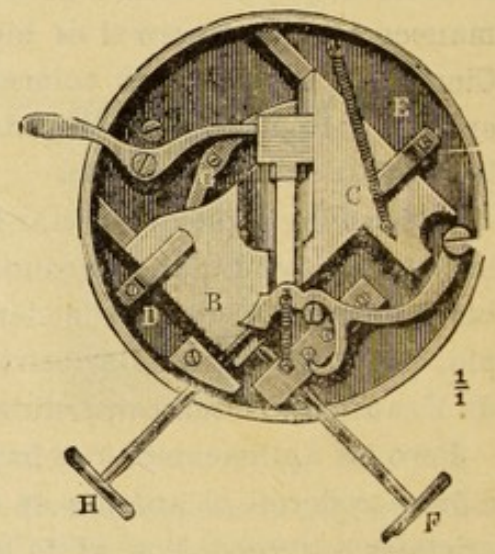


Fig. 34. — Detalles del aparato destinado á estrechar la hendidura del microespectroscopio.

copio, tamizada ó no, según convenga, por alguna substancia coloreada cuyas propiedades espectroscópicas se desean confrontar.

Cuando se quiere observar el espectro de algún elemento microscópico, se comienza por disminuir la rendija hasta tocar los contornos aparentes del objeto. El espectro se extiende perpendicularmente al segmento de la hendidura ocupada por los corpúsculos coloreados.

Zeiss añade al espectroscopio de Sorby, como puede verse en la fig. 33, N, un tubo lateral portador de una escala que, á bene-

ficio de un sistema de lentes, es proyectada sobre el espectro. Esta escala da las longitudes de onda (en fracción de micromilésimas) de cada color espectral, y sirve para fijar la posición de las bandas de absorción engendradas por las substancias ú objetos examinados.

CAPITULO VI

OBJETOS É INSTRUMENTOS NECESARIOS EN LOS TRABAJOS MICROGRÁFICOS

Porta y cubre-objetos. — Luz. — Microtomos. — Cámaras húmedas y calientes. — Objetos de prueba.

Porta y cubre-objetos.— Los *porta-objetos* son láminas de cristal de 75 milímetros de largo por unos 25 de ancho, cortadas de un cristal exento de estrías y burbujas, que sirven para el montaje de las preparaciones microscópicas.

Los *cubre-objetos*, llamados también *laminillas*, son unos cristales delgadísimos, de un diámetro variable entre 15 y 30 milímetros, destinados á cubrir las preparaciones microscópicas, á fin de hacerlas planas y protegerlas de los cuerpos extraños.

Se comprende bien que el tamaño y delgadez de los porta y cubre-objetos, deben ser muy variables para adaptarse á las distintas dimensiones de los preparados.

Luz para la iluminación del microscopio. — La mejor es la dimanada de las nubes blancas ó de una pared clara iluminada por el sol. Serán muy provechosas también, sobre todo cuando se trabaja con fuertes aumentos, la llama blanca de una lámpara de petróleo (mecha cilíndrica y ancha) ó la brillante luz del gas que arde en el mechero Auer, el cual posee una rejilla de amianto, ó de diversos óxidos metálicos que la llama pone incandescentes.

Las lámparas fabricadas *ad hoc*, como las de Swif, Collins, Vighley y la reciente de Kochs-Wolz, son, á nuestro juicio, muy inferiores á un buen quinqué de petróleo.

Microtomos. — El examen microscópico de los tejidos supone, como condición indispensable, la transparencia de las preparaciones, la cual sólo puede lograrse de una de dos maneras: ó diso-

ciando el tejido en sus elementos componentes, ó reduciéndolo á cortes sumamente delgados.

El cumplimiento de esta última condición, es difícil empeño cuando se corta á mano libre, porque las secciones son desiguales, pequeñas y casi nunca inferiores á 5 centésimas de milímetro de espesor. De aquí la necesidad de ciertos aparatos, llamados microtomos, cuyo oficio es la ejecución casi automática de cortes finos, extensos y regulares de un órgano ó tejido.

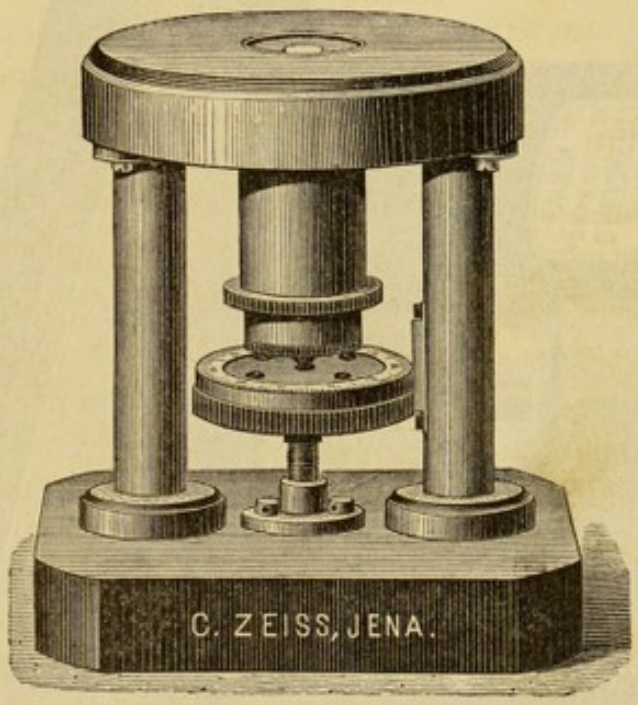


Fig. 35. — Microtomo de Ranvier perfeccionado por Zeiss.

Numerosísimos son en la actualidad los modelos de microtomos aplicados en los laboratorios. A pesar de la diversidad de principios en que su construcción se funda, pueden estos instrumentos clasificarse, considerando el mecanismo en virtud del cual asciende el objeto seccionable, en dos grupos : *microtomos de tornillo* y *microtomos de deslizamiento.*

Microtomos de tornillo.—El más sencillo de los microtomos de esta especie es el llamado de Ranvier. Consiste en un tubo coronado en un extremo por una plataforma ; en el otro, hay una tuerca donde se mueve un tornillo micrométrico vertical. El movimiento del tornillo empuja la pieza seccionable, que se fija

dentro del cilindro mediante un relleno de pedazos de médula de sauco. La navaja se desliza de plano sobre la plataforma, cortando la parte que sobresale del objeto.

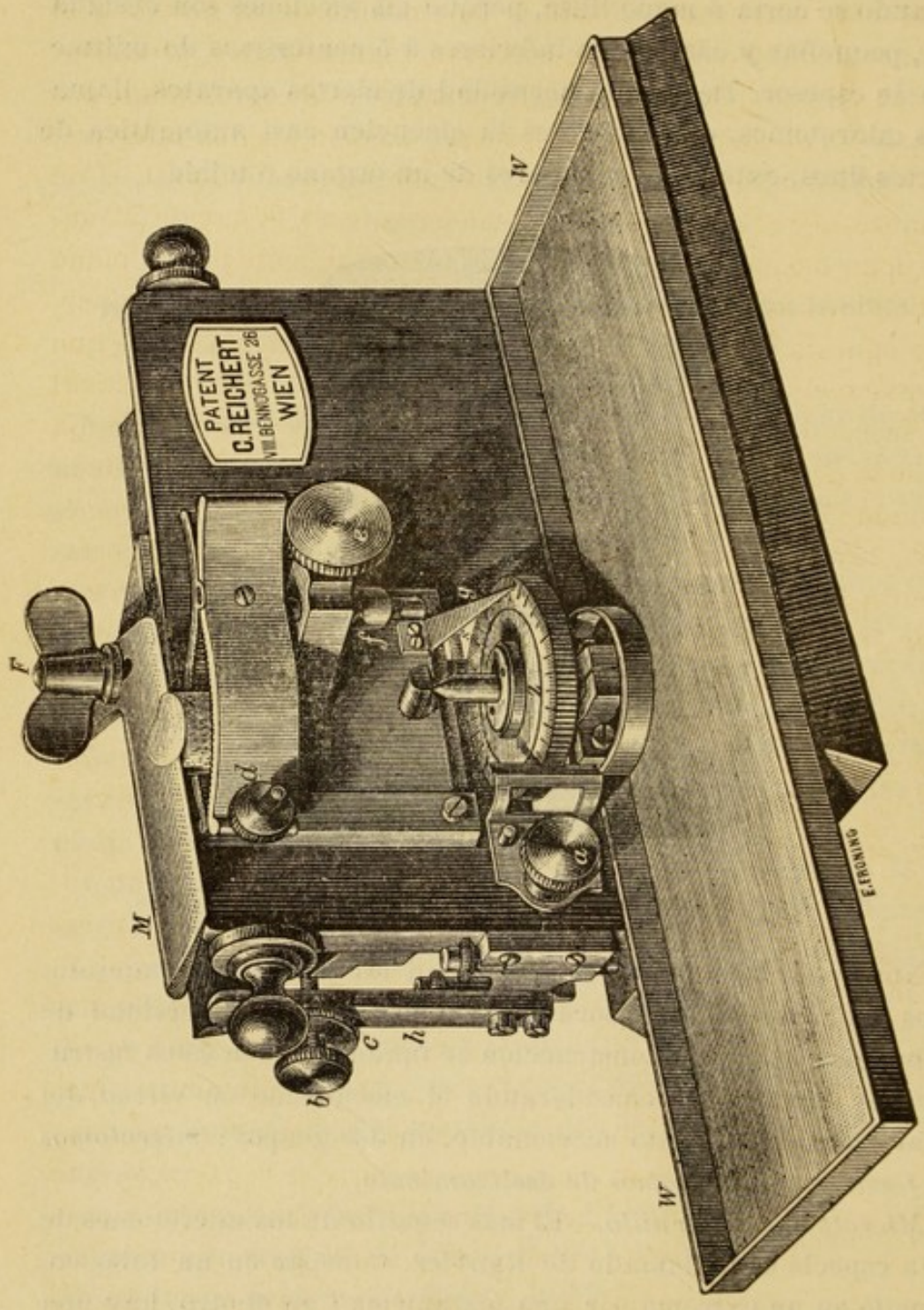


Fig. 36. — Microtomo automático de Reichert.

Este microtomo está hoy casi del todo abandonado. Ciertos fabricantes, Zeiss, por ejemplo, han perfeccionado este aparato,

añadiéndole un pie y un tornillo micrométrico con rueda graduada para apreciar el espesor de los cortes (fig. 35).

Los microtomos de tornillo empleados actualmente, son aparatos más complicados, donde el movimiento de la navaja y el ascenso del objeto se operan con gran regularidad y precisión. El tipo de estos microtomos perfeccionados está representado por el *aparato de Reichert* (fig. 36), á cuyo modelo pueden referirse, con variantes poco importantes, los microtomos de Rivet, el de Schanze, el de Becker, etc. En dicho microtomo, la navaja (M) sujeta á un bloque de metal, resbala horizontalmente por un plano inclinado situado en la cara no visible en la figura. En la superficie opuesta de la lámina vertical se halla una pinza (*d*) que mantiene el objeto seccionable, y una pieza aplanada y vertical (*f*), susceptible de resbalar de arriba á abajo, y á la cual se fija la pinza porta-objeto. Finalmente, cerca del pie, se ve una rueda dentada (Z), continuada inferiormente con un tornillo micrométrico, cuyos movimientos hacen subir la pieza vertical y el porta-objetos. En esta rueda se han trazado divisiones cuyo valor, con relación al ascenso de la pieza seccionable, es de tres μ. Añadamos aún que el bloque portador de la navaja, al deslizarse hacia adelante, choca con una palanca angular articulada que, á su vez, engranando en la rueda, hace girar ésta y el tornillo micrométrico ; de este modo, con el mismo impulso impreso á la navaja se efectúa el corte y el ascenso de una nueva porción de la pieza seccionable. Recientemente, Reichert ha añadido un volante y una manivela, á fin de mover con más comodidad y regularidad el bloque portador de la navaja.

Becker, de Gottinga, construye un microtomo de tornillo singularmente perfeccionado y propio para conseguir cortes de varios centímetros de extensión (fig. 37). El movimiento del bloque portador de la navaja es automático, realizándose mediante la rueda E, asociada á un sistema de correas y palancas que hacen girar el tornillo micrométrico A. La pinza porta-piezas aparece protegida por un cilindro muy ancho B, continuado hacia arriba, á favor de un anillo de cautchouc, con la cubeta D. Esta disposición permite cortar en el alcohol ó en un líquido cualquiera, sin temor de manchar las partes inferiores del apa-

rato. Finalmente, la navaja C, de gran peso y longitud, lleva aneja una palanca sólida F, destinada á evitar las pequeñas inflexiones que sufre aquélla durante las maniobras del corte.

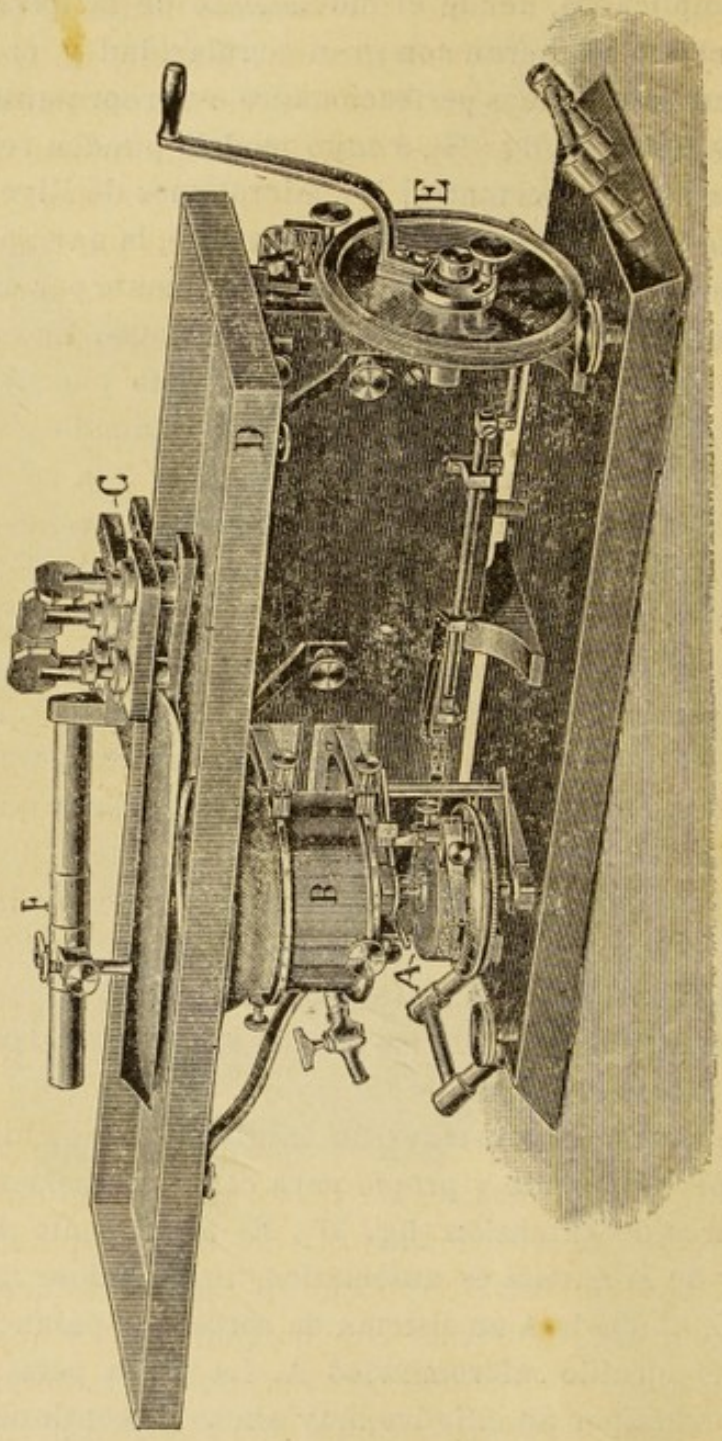


Fig. 37. — Gran microtomo automático de Becker para cortar en el alcohol: A, rueda y tornillo micrométrico; B, reservorio protector de la pinza; C, pieza porta-navaja.

El microtomo de Becker, es sin duda el más perfecto, pero también el más caro que se conoce. Construye también este fabricante otros modelos más pequeños, y por tanto más económi-

cos. Los más recientes poseen las resbaladeras de cristal, lo que evita el engrase y la consiguiente suciedad del instrumento.

Microtomos por deslizamiento.—El tipo de estos microtomos es el de *Thoma-Jung* (fig. 38), que actualmente fabrican también, con algunas variantes de construcción, Becker, de Gottinga, Leitz, de Vetzlar, Reichert, de Viena, y Verick, en París.

A la manera del modelo antes descrito, el microtomo de Thoma consta de pie sólido cuadrilongo y lámina vertical, en una de cuyas caras se ve una resbaladera ó carril para el bloque conductor de la navaja. Pero lo que da carácter á estos microtomos, es el mecanismo de ascenso de la pinza porta-objetos. En

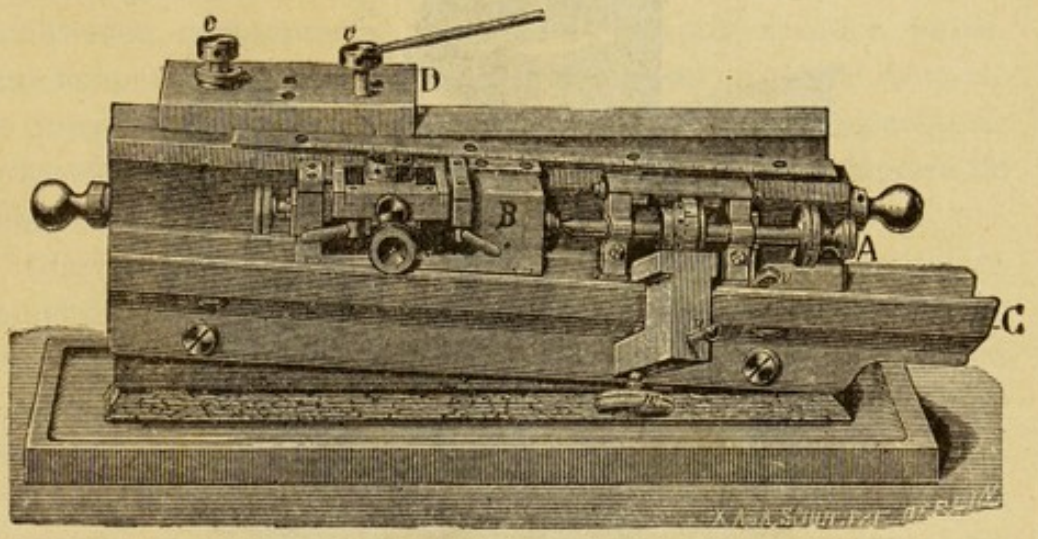


Fig. 38. — Microtomo por deslizamiento. Modelo Thoma Jung: A, tornillo micrométrico; B, bloque portador del porta-piezas; C, plano inclinado; D, pieza sobre la que se fija la navaja.

una de las caras del soporte vertical, aparece un plano metálico inclinado en dos sentidos, es decir, formando ángulo con la horizontal y con el soporte vertical citado. En este plano inclinado se mueven dos piezas; un bloque que mantiene una pinza porta-objetos capaz de toda suerte de movimientos; y una pieza pesada, susceptible de ser sujeta á la resbaladera, sobre la cual se desliza impulsada por un tornillo micrométrico horizontal. Como la pieza porta-objetos asciende al resbalar, la navaja puede cortar sucesivamente nuevas capas de la pieza seccionable. El tanto de ascenso del porta-objetos puede determinarse

fácilmente consultando el tambor en que remata hacia atrás el tornillo micrométrico, tambor que, á favor de una combinación ingeniosa, permite dividir la vuelta en fracciones hasta de una μ.

Hay otros tipos de microtomos que desvían algo de los anteriores; tales son : el *automático de Minot*, el *de palanca de la Sociedad de Cambridge*, y otros varios. Estos microtomos, de alta precisión, y perfectamente automáticos, se emplean exclusivamente para obtener series de cortes con las piezas englobadas en parafina.

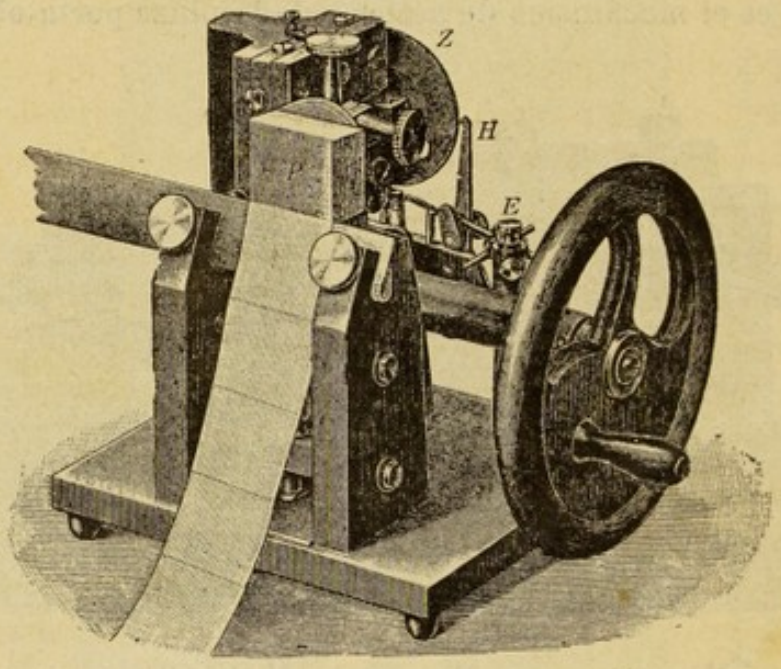


Fig. 39. — Microtomo automático de Minot para practicar secciones en parafina : P, parafina ; Z, rueda dentada unida al tornillo micrométrico.

El *microtomo de Minot*, que es uno de los más sólidos y perfectos, no debe faltar en ningún buen laboratorio de micrografía (fig. 39). La navaja está fija, y el movimiento de vaivén, indispensable al porta-piezas, así como la sucesiva impulsión de éste para ofrecer nuevas capas al filo, está reglado por un mecanismo muy semejante al de las máquinas de coser. Al bloque donde se sujeta la navaja puede fijarse, como se ve en la figura 39, una larga cinta donde se recoge la serie de cortes.

Microtomo de congelación. — En cualquiera de los microtomos

citados, puede realizarse la congelación de las piezas seccionables, con sólo trocar la pinza porta-piezas ordinaria por una cajita especial, construída de madera y coronada por una plataforma de zinc. En esta plataforma se deposita, lubrificado en solución espesa de goma, el objeto destinado á la congelación. En dicha cajita, y con ayuda de un pulverizador, se hace penetrar un chorro de éter, el cual, evaporándose casi instantáneamente, roba calor al objeto y determina su solidificación. Los cortes se recogen en agua alcoholizada ó en solución de sal común; luego se fijan en alcohol fuerte y coloran convenientemente.

Más expeditivo que el éter es el *cloruro de metilo*, con el que se obtienen, rápidamente, sin necesidad de pulverizador, bajísimas temperaturas. Esta substancia se guarda en sólidas botellas de cobre, de las cuales, y á beneficio de un aparato especial de irrigación anejo al mismo reservorio, se trasiega á la cámara de congelación del microtomo.

Advertencias sobre los microtomos.—1.° Cuando no se quiera comprar más que un microtomo, debe darse la preferencia á los universales, es decir, á los que sirven para cortar en parafina y celoidina (modelos de Thoma-Jung, Reichert, Schanze, Becker, etc.).

2.° En estos modelos téngase en cuenta que la dimensión de los cortes guarda relación con la longitud del microtomo: así, con microtomos cortos, donde la navaja no tiene campo de excursión, es imposible hacer secciones extensas (por ejemplo, de un globo ocular entero).

3.° La pinza porta-piezas debe permitir toda clase de movimientos. La forma de pinza más aceptable es la llamada del *laboratorio de Nápoles*, adoptada hoy por casi todos los constructores.

4.° El éxito de la microtomía depende, en general, de dos condiciones: de un perfecto endurecimiento y encastramiento (en celoidina, parafina, etc.) de la pieza; y de que la navaja esté bien afilada, para lo cual el principiante deberá acostumbrarse á repasarla sobre la piedra fina y en la correa cuantas veces necesite ejercitar el microtomo.

5.° La navaja debe cortar todo lo oblícuamente posible, como serrando, aprovechando al efecto casi todo el filo del instrumento.

6.° El bloque conductor de la navaja, en los microtomos por deslizamiento, ha de ser pesado con relación á la misma, á fin de que no cabecee ú oscile al imprimirle movimiento con la mano. Hé aquí por qué los pequeños modelos de microtomo son de difícil manejo.

Objetos de prueba.—Con el fin de poner de manifiesto las cualidades del microscopio, y especialmente su poder resolutivo, se han empleado objetos que exhiben finísimas estrías. Entre ellos deben contarse ciertas *diatómeas*, tales como el *Pleurosigma angulatum* y el *Amphipleura pellucida*, así como la placa de Nobert, es decir, un porta-objetos de cristal sobre cuyo centro aparece adherido un cubre-objetos, en el cual se han trazado con diamante finísimas líneas paralelas. Estas divisiones se disponen por grupos, de los que el último (grupo 19) contiene rayas tan finas, que se necesitan 4430 de ellas para llenar un milímetro.

Recientemente, Abbe ha ideado otro objeto de prueba, propio para determinar hasta qué punto el objetivo se halla corregido de las aberraciomes cromática y esférica y cuál es el espesor del cubre-objetos que conviene para un objetivo y una longitud dada del tubo del microscopio. Consiste dicho aparatito en un porta-objetos donde, á favor del bálsamo del Canadá, se han fijado seis cubre-objetos de espesor diverso y azogados por su cara adherente. Sobre la superficie metálica han sido trazadas con diamante seis bandas de líneas sumamente finas.

Cámaras húmedas. — Son aparatos consagrados á evitar la desecación de las preparaciones microscópicas, bien durante la observación, bien durante las diversas operaciones de fijado, teñido, etc., de los elementos anatómicos. Existen dos tipos de cámaras húmedas, la llamada *de porta-objeto* y *la de campana*.

Cámara húmeda porta-objetos (fig. 40).—Se trata de una lámina de cristal en cuyo centro ha sido esculpido un surco circular. Su empleo es el siguiente : se pone en el surco una gota de agua y en el área rodeada por aquél la preparación viva cuyos elementos deseamos estudiar; el todo se cubre con una laminilla

que puede cementarse al porta-objetos. La evaporación del agua en la cámara de aire que circunda la preparación evita la desecación de ésta.

Si á la cámara de aire circular se hacen llegar dos tubitos destinados á conducir un gas cualquiera, tendremos la *cámara de gases* que hemos representado en la figura 40.

Cámara húmeda de campana.—Se emplea para mantener húmedos los preparados microscópicos ínterin dura su teñido. Consiste en un recipiente semilleno de agua, del que sobresale un apoyo de cristal, donde se mantienen las preparaciones. El todo se cierra con una campana de cristal, con lo que el aire interior se satura de humedad, impidiendo la desecación de los objetos.

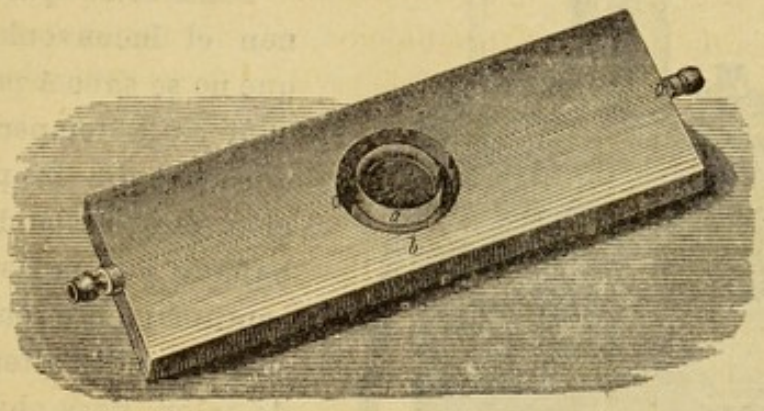


Fig. 40. — Cámara húmeda y para gases.

Cámara húmeda de Strasburger. — Extremadamente simple, pues se reduce á un recorte anular de papel de filtro mojado y adosado al centro de un porta-objetos. En el hueco circuído por el papel se sitúa el preparado, y encima se adapta el cubre-objetos, que adhiere fácilmente al papel chupón.

Cámaras calientes. — Son aparatos extremadamente simples, cuyo fin es mantener la preparación, durante el examen micrográfico, á una temperatura de 37 á 40°. Estos aparatos son indispensables para la observación de las células vivas de los animales de sangre caliente, y se emplean asociados á la cámara húmeda porta-objetos.

Casi todos los modelos de cámara caliente, se reducen á una caja metálica, de paredes huecas, que se coloca en la platina del

microscopio, y por cuyo interior circula agua caliente. En las cámaras antiguas, como la de Ranvier, el agua sube á la cavidad parietal de la caja, desde un recipiente calentado con la lámpara de alcohol; pero en los nuevos aparatos el agua se calienta con mecheros de gas, manteniéndose una temperatura de 39° con ayuda de un termoregulador de mercurio ó de membrana de caoutchouc, exactamente lo mismo que en las estufas de incubación ó de vegetación de microbios.

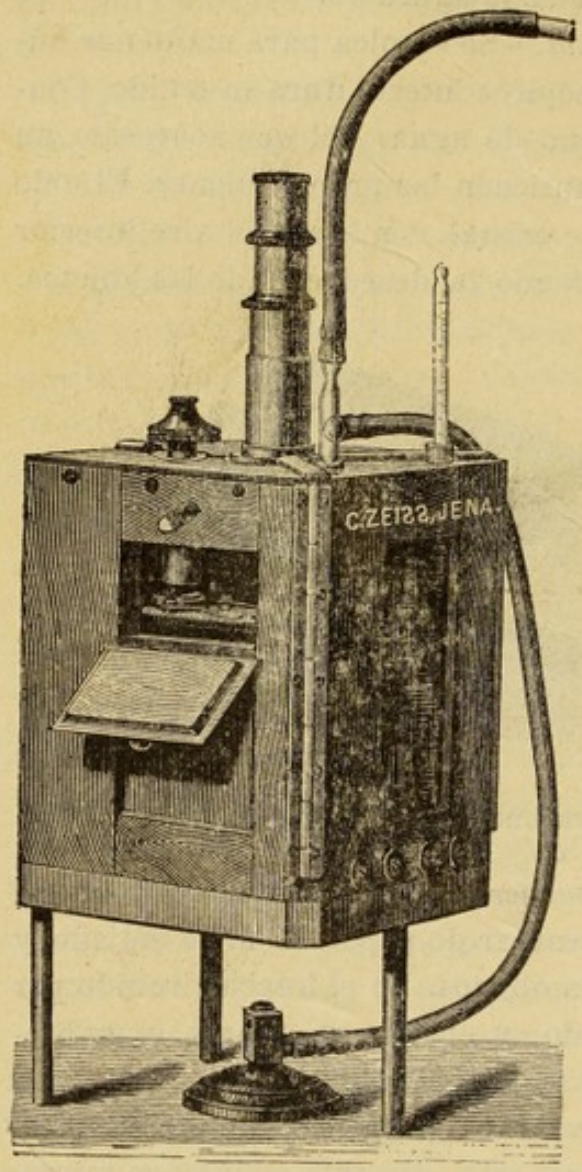


Fig. 41. — Cámara caliente de Pfeiffer.

Todos estos aparatos tienen el inconveniente de que no se sabe á punto fijo cuál es la temperatura á que se halla la preparación, pues hallándose ésta bañada por capas de aire continuamente renovadas, sufre grandes alternativas de calor. Para obviar este defecto, Zeiss construye una cámara caliente que abarca la casi totalidad del microscopio (fig. 41). Este aparato, llamado *cámara de Pfeiffer*, es una caja cúbica de madera, cuyo suelo, formado por una lámina metálica, se calienta directamente con un mechero de gas. El hueco está lleno de aire y aloja el microscopio y la preparación. Las paredes de la caja muestran varias aberturas, una adelante protegida por un cristal por donde penetra la luz, y dos laterales para que las manos del observador puedan manejar el preparado. En lo alto asoman el tubo del micros-

copio y el tornillo micrométrico. Un termo-regulador de mercurio mantiene la constancia de la temperatura.

El afán de hacer llegar bien íntimamente el calor al preparado, ha movido á Ranvier á sumergir directamente en agua el microscopio. Es difícil evitar que la acción del líquido estropee el instrumento; así, el procedimiento de Ranvier ha sido poco imitado.

CAPITULO VII

B. — REACTIVOS

Definición y clasificación de los reactivos. Reactivos indurantes, fijadores, aclaradores, opacantes, aisladores y alterantes.

En histología califícanse de *reactivos* todas las substancias capaces de imprimir en los tejidos modificaciones físicas ó químicas por cuya virtud pueda venirse en conocimiento de la estructura y relaciones de los elementos anatómicos.

La importancia de los reactivos histológicos se echa de ver considerando que no basta el microscopio para que el observador pueda apreciar la morfologia y demás propiedades de las células. Existen tejidos, tales como el conectivo, el corneal, el nervioso, el endotelial, etc., cuyos elementos, ora por su total ausencia de color, ora por el escaso contraste de los índices de refracción de sus partes integrantes, preséntanse al micrógrafo bajo la máscara de una homogeneidad que oculta texturas complicadas, solamente denunciables por la virtud reveladora de los reactivos colorantes.

Este singular poder revelador de los reactivos manifiéstase de una de las tres siguientes maneras : 1.ª, cambiando la relación de los índices de refracción de células y substancias intercelulares; 2.ª, fijando en ciertas partes de los tejidos un color que rechazan las demás; 3.ª, destruyendo determinadas materias para dar resalte á otras que se manifiestan refractarias.

Clasificación de los reactivos. — Para clasificar los reactivos, no debe adoptarse una base *puramente química*, pues que nada nos ilustraría tocante al modo de acción de los mismos; es mucho más ventajoso distribuir los reactivos atendiendo á la *modificación que engendran* en las masas orgánicas, y por cuya vir-

tud son útiles en las indagaciones citológicas é histológicas. Caso que un reactivo ejerza dos ó más acciones, se incluirá en el grupo correspondiente á su virtud predominante. Hé aquí la clasificación.

LOS REACTIVOS OBRAN:

- Coagulando los albuminoides de los tejidos
  - indurantes: alcohol, bicromato de potasa, formol, etc.
  - fijadores: bicloruro de mercurio, etc.; mezcla de Flemming.
- Cambiando los índices de refracción
  - aclarantes: esencias, bálsamos.
  - opacantes: agua, alcohol, éter, etc.
- Disolviendo ciertas partes de los tejidos
  - aisladores: alcohol al tercio; potasa al 40 por 100; ácido nítrico al cuarto, etc.
  - alterantes ó ablandantes: ácido hidroclórico al cuarto; ácido pícrico á saturación; ácido nítrico, etc.
- Colorando ciertos elementos
  - colorantes sin descomposición: carmín; hematoxilina; colores de anilina, etc.
  - colorantes con descomposición: cloruro de oro; nitrato de plata; ácido ósmico; cromato argéntico, etc.
- Conservando inalterables los elementos
  - inofensivos: solución salina débil; humor aqüeo, plasma sanguíneo.
  - conservadores: glicerina; bálsamo del Canadá, etc.

REACTIVOS INDURANTES

Los reactivos indurantes son los agentes de que se sirve el micrógrafo para acrecentar la consistencia de los tejidos destinados á ser reducidos á finos cortes microtómicos.

El mecanismo más general de acción de tales substancias es la coagulación de las materias protéicas intra ó extra-celulares; no deja de intervenir también la sustracción del agua (acción del alcohol) y la formación, en presencia del reactivo, de compuestos sólidos, cuya consistencia se añade á la del tejido. Los reactivos

más útiles de este grupo son : el alcohol, el bicloruro de mercurio, el bicromato de potasa, etc.

Alcohol. — Elíjase, al objeto de indurar, el alcohol absoluto ó, por lo menos, de 40° (Cartier). Las piezas deben ser de pequeño tamaño, y permanecerán de dos á tres días en el líquido, el cual será abundante y se renovará dos ó tres veces.

Bicromato de potasa. — Las soluciones de bicromato de potasa al 3 ó 4 por 100, renovadas tres ó cuatro veces durante un mes ó dos, indurán perfectamente los centros nerviosos. La induración se termina por inmersión de las piezas durante algunos días en alcohol fuerte.

Usanse mucho también el líquido de Müller y el de Erlicki :

Líquido de Müller	Agua destilada	100
	Bicromato de potasa	2,5
	Sulfato de sosa	1
Líquido de Erlicki	Bicromato de potasa	2,5
	Sulfato de cobre	0,5
	Agua	100

Acido crómico.—Ha caído algo en desuso como indurante ante el favor creciente del bicromato de potasa. Su acción es muy enérgica, por lo que debe comenzarse por soluciones al 1 por 500 para terminar, al cabo de cuatro ó cinco semanas, y después de renovar el líquido varias veces, por soluciones al 1 por 100.

Tiene este reactivo la desventaja de rebajar notablemente la afinidad que, para con determinadas substancias colorantes, posee la cromatina nuclear.

El ácido ósmico, el bicloruro de mercurio, el cloruro de paladio, el bicloruro de platino, poseen asimismo propiedades indurantes.

Formol. — Hoyer, During, Lachi, Dell Isola, etc., han recomendado para la induración de tejidos, y particularmente del nervioso, una solución acuosa de formol ó formalina al 10 por 100. Tiene el formol la ventaja de endurecer bien y de no mermar la afinidad de los núcleos para las materias tintóreas.

FIJADORES

Así se designan los agentes que fijan y conservan la forma y estructura de las células vivas. Los reactivos más usados de este grupo son : el ácido ósmico, el alcohol absoluto, el bicloruro de mercurio, la mezcla de Flemming, etc.

Acido ósmico al 1 por 100. — En este líquido deben permanecer las piezas, según su espesor, desde algunos minutos á varias horas. Los elementos más alterables, tales como los glóbulos sanguíneos y tubos nerviosos, conservan fielmente su forma una vez tratados en vivo por dicho reactivo.

Reactivo de Kleinenberg.—Solución acuosa concentrada de

Acido pícrico	100
— sulfúrico	2

Para usar este líquido, conviene diluirlo en dos ó tres veces su peso de agua.

Licor de Flemming.

Agua destilada	100
Acido crómico	0,25
— ósmico	0,1
— acético	0,1

Mezcla de Fol. — Es un líquido de Flemming más débil, y en ocasiones más conveniente, por cuanto respeta mejor las afinidades tintóreas de las células.

Acido crómico al 1 por 100	25
— ósmico al 1 por 100	2
— acético al 2 por 100	5
Agua	68

En la mezcla de Flemming y de Fol, permanecerán las piezas de seis á veinticuatro horas, según el volumen ; luego se lavarán en agua, y concluirán de indurarse en alcohol. Estos fijadores son excelentes para el estudio de la kariokinesis.

Bicloruro de mercurio.—Se usa disuelto á saturación en agua destilada. Las piezas frescas se abandonan en el reactivo durante veinticuatro horas ; después se lavan en mucha agua y se

llevan al alcohol, desde el cual pueden pasar á la celoidina ó parafina, á menos que no se quiera teñir en masa antes de la inclusión. Este reactivo es también indurante. Fija bien las figuras kariokinéticas.

Licor de Perény.

Acido nítrico al 10 por 100	40	cents.	cúbs.
Alcohol absoluto	30	»	»
Acido crómico al 0,5 por 100	30	»	»

Este líquido fija los objetos pequeños en cinco ó seis minutos. Prolongando la acción de doce á veinticuatro horas, se obtiene además una inducación bastante notable, que puede exagerarse todavía en el alcohol. Una vez extraído el objeto del fijador, se sumerge en alcohol al 70 por 100 (por veinticuatro horas), luego en alcohol al 90 por 100, y por último, en alcohol absoluto.

La coloración puede hacerse en los carmines, hematoxilinas, anilinas, etc.

Se ha recomendado el líquido de Perény para el estudio de las células y fibras nerviosas, que fija perfectamente.

Acido cromo-fórmico (Rabl).

Acido crómico al 3 por 100	200
— fórmico concentrado	5

Debe actuar sobre las partes, cuyos núcleos deseemos impregnar, de doce á veinticuatro horas. Antes de proceder á la coloración, para la que se preferirá la hematoxilina ó safranina, se lavarán por algunas horas las piezas en agua destilada y se indurarán en alcoholes de progresiva concentración.

Alcohol acético (Carnoy, van Beneden).

Alcohol absoluto	300
Acido acético	100

Este líquido se aconseja para fijar el ovario del *ascaris megalocephala*. Tiempo de acción, de diez á quince minutos. Inducación subsiguiente en alcohol absoluto.

Mezcla cromo-formólica (During, etc.).

Bicromato de potasa	3
Agua	100
Formalina	4

Sirve para indurar y fijar rápidamente el tejido nervioso.

REACTIVOS ACLARADORES Y OPACANTES

Reactivos *aclaradores* son los que obran borrando ó moderando el contraste de los índices de refracción de las partes constitutivas de los tejidos. Cuanto más diferencia de índice exista entre las células y el medio orgánico en que yacen, más obscuras aparecerán las preparaciones y más difícil resultará la apreciación de los elementos colocados en el espesor de éstas.

Las materias capaces de atenuar dichos contrastes, y que, por ende, prestan á los cortes histológicos una gran transparencia, son las esencias (esencia de clavos, la de bergamota, la de orégano, el xilol, la creosota, etc.), y las soluciones de bálsamo del Canadá ó de resina d'Ammar en xilol.

Reactivos *opacantes* son los que, por gozar de un índice de refracción muy bajo, obran en sentido contrario, es decir, obscureciendo el contorno de las células y robando transparencia á la preparación. Este efecto, que en los cortes suele ser dañoso, resulta muy beneficioso cuando se examinan células sueltas, ténues filamentos libres, diatómeas, en fin, todas aquellas partes cuyas superficies exhiben rayas ó expansiones de gran delicadeza. Entre los agentes opacantes deben contarse : el aire, el alcohol, el éter y el agua común.

Las materias de un índice muy elevado, mucho más alto que el de los tejidos, tales como el *stirax*, el *liquid ambar*, el *ioduro de metilo*, tienen también una acción opacante, puesto que prestan á la preparación, aunque en sentido opuesto, el mismo contraste engendrado por los líquidos de bajo índice. El *stirax* es, sobre todo, muy usado por los diatomistas, á fin de dar realce á las finas rayas del *amphipleura pellucida* y del *pleurosigma angulatum*.

REACTIVOS AISLADORES

Son los que, atacando las materias intercelulares, dejan en libertad las células, ó facilitan, por lo menos, las maniobras de la disociación mecánica.

Alcohol al tercio, es decir, dos partes de agua por una de alcohol de 36°. Este reactivo, que fue preconizado por Ranvier, aisla fácilmente, mediante una maceración de veinticuatro á cuarenta y ocho horas, las células de los epitelios cilíndricos y pavimentosos, así como las fibras musculares lisas.

Acido nítrico al 25 por 100. — Si se macera en este licor, por uno á tres días, tejido de fibra lisa ó el músculo cardíaco, se logra disociar cómodamente las fibras musculares.

El *ácido sulfúrico* concentrado sirve para disociar las células epiteliales córneas, y diluído al 5 por 100, aisla fácilmente los prismas del cristalino.

El *bicromato de potasa*, diluído al 1 por 300, es de gran provecho para lograr el aislamiento de las células neuróglicas y nerviosas de la médula espinal. El tiempo de acción debe prolongarse de dos á cinco días.

ABLANDANTES Ó ALTERANTES

Se usan para rebajar la consistencia de substancias excesivamente duras, como el hueso y el cartílago en vías de osificación. Los ablandantes más generalmente usados son : el ácido crómico, el pícrico, el nítrico, el hidroclórico, todos en soluciones más ó menos diluídas, excepto el pícrico, que se aplica á saturación.

He aquí algunas fórmulas :

Líquido de Fol :

Acido crómico al 1 por 100	70
— nítrico	3
Agua	200

Líquido de Waldeyer :

Cloruro de paladio	0,01
Acido clorhídrico al 1 por 100	1000

Líquido de Ebner :

Acido clorhídrico	2,5
Alcohol	500
Cloruro sódico	2,5
Agua destilada	100

Líquido de Haug á la floroglucina :

Floroglucina.....	1
Acido nítrico.....	10

Caliéntese hasta disolución y añádase :

Agua destilada.....	100

Observaciones.—La cantidad de líquido con relación á las piezas debe ser considerable, para que la decalcificación sea rápida.

Antes de decalcificar toda pieza, deberá ser fijada y endurecida en alcohol ó líquido de Müller.

Extraídas las piezas del líquido decalcificante, se lavarán, por veinticuatro ó cuarenta y ocho horas, en agua destilada ; después volverán al alcohol, donde se deshidratarán, esperando la inclusión definitiva.

La mejor materia de inclusión es la celoidina ; la parafina produciría excesiva consistencia. Los cortes se teñirán con zafranina, carmines, hematoxilina, etc.

CAPÍTULO VIII

CONTINUACIÓN DE LOS REACTIVOS

Reactivos colorantes selectivos.—Reactivos impregnadores.—Reactivos inofensivos y conservadores.

Reactivos colorantes. — Son aquellos que, fijándose con matices más ó menos intensos, en determinadas partes de los tejidos, permiten distinguir detalles estructurales invisibles ó apenas apreciables con el uso exclusivo del microscopio.

Los reactivos colorantes deben clasificarse en dos grupos: 1.°, agentes que tiñen selectivamente sin experimentar descomposición apreciable; 2.°, agentes electivos que coloran descomponiéndose. Estos últimos designanse también *reactivos impregnadores*.

Reactivos colorantes selectivos.—Son numerosísimos, pero los principalmente usados son: el carmín y picrocarminato, la hematoxilina y los colores de anilina.

Carmín. — Introducido en la técnica por Gerlach, es hoy uno de los reactivos de más boga. El carmín es insoluble en agua, en alcohol, éter, glicerina, etc., pero se disuelve en el amoníaco, en los carbonatos alcalinos, en el ácido hidroclórico, en las soluciones concentradas de alumbre, etc.

La especialidad del carmín consiste en teñir el núcleo de las células, y con menor energía los fascículos del tejido conectivo y cilindros-ejes de los tubos nerviosos.

Antiguamente, se utilizaban mucho las soluciones amoniacales; pero hoy se sabe que el carmín alcalino ataca más ó menos la cromatina nuclear, imposibilitando el estudio de las figuras mitósicas ó kariokinéticas. Por este motivo se prefieren los carmines aluminosos que tiñen sin alteración dicha substancia.

Las fórmulas de carmín son muy numerosas. Nosotros daremos aquí las que gozan de más crédito.

Picro-carminato amoniacal.—Es una mezcla de carmín y ácido pícrico, propuesta por Ranvier para lograr coloraciones dobles de los tejidos. El carmín colora los núcleos en rojo, y el ácido pícrico tiñe en amarillo las células córneas y fibras elásticas.

La preparación de este importante reactivo es algo difícil, y sus resultados varían mucho según la fórmula empleada. He aquí la de Löwenthal, que pasa por una de las mejores :

Sosa cáustica	0,5
Carmín laca	0,4
Agua destilada	100

Después de una decocción de quince minutos, dilúyese en 200 de agua, y se añade sucesivamente una solución de ácido pícrico al 1 por 100 hasta que cese de disolverse el precipitado que se forma. El líquido debe filtrarse dos ó tres veces, y estará listo para usarse.

Carmín de Grenacher :

Carmín	2
Solución de alumbre al 5 por 100	100

Se filtra después de una hora de ebullición. En este líquido permanecerán los cortes de una á veinticuatro horas, sin temor á la sobrecoloración. El carmín (que adquiere un matiz purpúreo), se fija de preferencia en la cromatina nuclear y figuras mitósicas ó kariokinéticas.

Cochinilla de Czokor. — En vez del carmín del comercio cabe utilizar la cochinilla de donde se extrae. La fórmula de Czokor da buenos resultados ; colora la cromatina nuclear de violado purpúreo.

Cochinilla en polvo	7
Alumbre calcinado	7
Agua	700

Hiérvase hasta reducción á la mitad, filtrese y aplíquese como la fórmula precedente.

Carmín lítico de Orth. — Las soluciones alcalinas de carmín poseen poca ó ninguna selección; mas cuando un preparado, teñido difusamente en un carmín alcalino, se trata por una solución alcohólica de ácido hidroclórico, el exceso de color se disuelve y se opera una fuerte selección en los núcleos.

La *solución de Orth* es la siguiente :

Carmín laca.....	2,5
Solución saturada de carbonato de litina....	100

Los cortes, que permanecerán aquí algunos minutos, son lavados de medio á un minuto en una solución alcohólica de ácido clorhídrico (al 1 por 100), y luego en agua destilada.

Hematoxilina. — Es una substancia colorante amarillenta, poco soluble en agua, más en alcohol y en los líquidos aluminosos, que se extrae del palo campeche. Se prefieren generalmente las soluciones de hematoxilina en agua albuminosa, adicionada de cierta cantidad de alcohol. Este reactivo tiñe de color violado azul la cromatina nuclear, la materia birefrigerante de los músculos y la mucina de las células caliciformes.

Pocas substancias colorantes poseen la energía tintórea de la hematoxilina, la cual colora hasta los tejidos que han permanecido mucho tiempo en el ácido crómico y mezclas cromo-ósmicas; pero, en cambio, sus soluciones son muy inestables, no gozando de la virtud selectiva citada, sino durante cierto período (llamado de *madurez del reactivo*), que comienza una ó dos semanas después de preparado el color, y se prolonga, á lo sumo, por espacio de dos ó tres meses.

Recientes investigaciones tienden á referir la inestabilidad de la hematoxilina á una descomposición de esta materia en presencia del aire. Para Mayer, de Nápoles, la substancia activa de la época de madurez, sería un *compuesto amoniacal de hematei-na*. Sus ensayos le han conducido á preparar ya madura la solución de hematoxilina. Hé aquí su fórmula :

A..	Hemateína amoniacal ...	1	disuélvase al calor.
	Alcohol al 90 por 100....	50	
B..	Alumbre..... ...	50	
	Agua destilada.....	1000	

Se mezclan estos dos líquidos y, en frío, se filtra el licor resultante, que podrá usarse desde luego.

La *hemateína amoníacal* se obtiene disolviendo en caliente un gramo de hematoxilina en 20 de agua destilada, y adicionando un centímetro cúbico de amoníaco (peso esp., 0,875). Evaporado el líquido, la masa resultante será la *hemateína amoníacal* (1).

He aquí algunas fórmulas muy usadas de la hematoxilina.

Hematoxilina Böhmer :

1 líquido.	Hematoxilina	1
	Alcohol	12
2 líquido	Alumbre	1
	Agua	320

A un vidrio de reloj lleno del segundo líquido, se añaden dos ó tres gotas del primero. Debe esperarse lo menos ocho días hasta que el líquido tome color azul. Las soluciones rojas antiguas no sirven.

Hematoxilina de Ehrlich :

Hematoxilina	2
Alcohol absoluto	100
Glicerina	100
Agua	100
Alumbre	en exceso.

Se abandona á la luz hasta que tome color rojo. Entonces resulta bastante estable y tiñe bien los núcleos.

Las demás fórmulas de hematoxilina no son superiores á las precedentes y no las mencionamos.

Hematoxilina de Weigert-Pal :

La hematoxilina tiene gran afinidad por las sales crómicas, con las que forma lacas de color negro azulado, insolubles en agua, pero atacables por ciertos reactivos. Esta propiedad sirve de base á un excelente método de coloración de la mielina de las fibras nerviosas, ideado por Weigert y modificado por Pal. La importancia de este método de teñido nos obliga á dar una idea del *modus operandi*.

(1) La hemateína amoniacal, susceptible de ser disuelta en solución de alumbre, se expende constantemente en las casas de artículos de micrografía, en la de Grübler, de Leipzig, por ejemplo.

1.° Inducación de las piezas de centros nerviosos en líquido de Müller, durante treinta á cincuenta días.

2.° Inducación subsiguiente en alcohol, sin previo lavado en agua.

3.° Inclusión en celoidina y ejecución de cortes que deberán recogerse en alcohol.

4.° Inmersión de los cortes, por cuatro ó seis horas, en un líquido compuesto de:

Solución saturada de acetato neutro de cobre.....	100
Agua.....	100

5.° Lavado rapidísimo de los cortes en una pequeña cantidad de agua destilada.

6.° Inmersión de los mismos, por media á una hora, y á temperatura de 40° á 60°, en la materia colorante siguiente:

Hematoxilina	1
Alcohol absoluto ó de 40°.....	10
Solución saturada de carbonato de litina..... ...	1
Agua destilada.....	90

Este líquido debe estar recientemente preparado, pues á los tres ó cuatro días actúa ya mal, volviéndose rojo-pardo.

7.° Inmersión sucesiva (y durante medio ó un minuto) de los cortes en una solución de:

Hipermanganato de potasa.....	0,5
Agua destilada.....	100

donde se vuelven pardo-amarillentos y se enrecian notablemente.

8.° Transporte de los mismos á una solución de:

Acido oxálico.	1
Sulfuro de potasio.....	1
Agua destilada.....	200

donde permanecerán algunos minutos, hasta que se decolore todo menos la mielina, que debe quedar negra.

9.° Lavado en agua abundante.

10. Coloración subsiguiente de fondo en picrocarminato ó carmín aluminoso ó litiocarmín.

11. Lavado, deshidratación, esencia de bergamota ó creosota (si se quiere dejar la celoidina) y bálsamo al xilol.

Acido pícrico. — Se emplea en solución al 1 por 100. Tiñe de amarillo las fibras elásticas y los tejidos epiteliales, singularmente el epidermis córneo, para el que tiene una afinidad muy viva.

El ácido pícrico, en solución saturada, es también un buen fijador de las células glandulares, según Heidenhain.

Eosina. — Conocida en el comercio bajo el nombre de *primerosa*, es una sal de potasa y de una ptaleína bromada, introducida en la técnica histológica por Renaut. Se usa disuelta al 1 por 100 ó por 200. Esta substancia tiñe en rosa el protoplasma de las células, los fascículos del tejico conectivo, y, sobre todo, los glóbulos rojos. Se emplea asociada á la hematoxilina para lograr dobles coloraciones muy instructivas.

Azul de metileno y demás anilinas.—Todas las anilinas básicas, tales como el *azul de metileno*, la *fuchsina*, el *violado de dalia*, el *violeta de genciana*, la *zafranina*, la *vesubina*, el *violado de anilina*, etc., tiñen fácilmente los núcleos, aplicadas, ora en soluciones acuosas débiles adicionadas de unas gotas de ácido acético, ora en soluciones muy concentradas acuoso-alcohólicas.

Las *soluciones acetificadas* tiñen directamente y en pocos minutos la cromatina nuclear de los elementos frescos ; mas las *soluciones acuoso-alcohólicas* exigen, para obtener iguales resultados, una operación subsiguiente, á saber : la decoloración del preparado, ya con el alcohol, ya con la esencia de clavo, ya con los ácidos minerales diluídos, agentes que roban el color de todas las partes, menos de los núcleos y de ciertas substancias fundamentales. Con las anilinas usadas de esta suerte (método de Hermann-Böttcher), se consiguen coloraciones tan bellas ó más que las obtenidas con el carmín ó hematoxilina. Más adelante insistiremos sobre este particular.

El *azul de metileno* posee, además de las propiedades comunes á todas las anilinas básicas, una virtud importantísima, señalada primeramente por Ehrlich y aprovechada por Arstein, Smirnow, Dogiel, Retzius, Sig. Mayer, Cucatti, etc., en recientes indagaciones, á saber : la de teñir en azul intenso y durante

la vida del animal, los cilindros-ejes y terminaciones nerviosas. A este fin se emplean soluciones al 0,3 por 100 en líquido salino indiferente (sal, 0,75 ; agua, 100), las cuales se hacen penetrar en los tejidos vivos ó recién muertos, bien mediante inyección vascular, bien á favor de irrigación directa, renovada varias veces en media ó en una hora. La reacción sobreviene rápidamente en los animales de sangre caliente, más tarde (una á dos horas después de la inyección) en los de sangre fría, y exige como condición precisa la presencia del aire; las partes profundas impregnadas por inyección, no exhiben la selección característica en los cilindros-ejes, hasta que son puestas al descubierto.

La coloración al azul de metileno es, desgraciadamente, pasajera. No obstante, si se tratan las partes teñidas, durante dos ó más horas, por una solución saturada de picrato-amónico, se alcanza la conservación de una porción más ó menos considerable del teñido. Este fijador trueca el color azul en violado, y convierte la tinta homogénea inicial en una impregnación de aspecto granuloso.

Recientemente ha propuesto Bethe un mejor fijador de la coloración azul adquirida por las partes nerviosas. Los trozos de tejido fresco y coloreado se sumergen por doce á veinticuatro horas en la mezcla siguiente :

Molibdato amónico	10
Agua	100
Acido clorhídrico	8 ó 10 gotas.
Hidrógeno peroxigenado	Unas gotas.

Después de la acción de este líquido, lávanse las piezas en agua para extraer el exceso de molibdato, se induran en alcohol, se encastran en parafina y las secciones se montan en bálsamo, ó d'Ammar.

El alcohol, sin embargo, aun empleado á 0 grados, como aconsejan Bethe y Semi Meyer, disuelve algo el azul. Nosotros preferimos para la inducación la fórmula siguiente :

Agua	100
Formol	40
Solución al 1 por 100 de cloruro de platino	5

Para seccionar, englobamos superficialmente las piezas (que deben permanecer de diez á veinticuatro horas en el líquido precedente) en parafina, recogemos los cortes en alcohol adicionado de algunas gotas de la solución de cloruro platínico, deshidratamos en alcohol puro, aclaramos en xilol, y montamos en goma d'Ammar disuelta en xilol. Los cortes deben ser algo gruesos, conviniendo, para que adquieran gran transparencia, montarlos al descubierto, como las preparaciones del método de Golgi.

Substancias impregnadoras.—Ya dijimos más atrás que ciertos agentes como el ácido ósmico y algunas sales metálicas, poseían la propiedad de teñir selectivamente, pero á condición de sufrir, en presencia del tejido, una descomposición. Las substancias que obran de esta suerte, son : el ácido ósmico, el nitrato de plata, el cloruro de oro y las mezclas bicrómicas puestas en presencia de algunas sales de plata ó de mercurio.

Acido ósmico. — Es una substancia verdosa, cristalina, sumamente volátil, que E. Schultze aplicó primeramente á los trabajos micrográficos. Se usa en soluciones acuosas al 1 por 100. Este reactivo, como ya expusimos anteriormente, es un excelente fijador, pero su virtud más valiosa consiste en teñir de negro la grasa y la mielina de los tubos nerviosos.

Semejante efecto depende de una reducción del reactivo en presencia de las grasas neutras.

Nitrato de plata.—Se usa en soluciones flojas, generalmente al 1 por 300. Su especialidad de acción, consiste en colorar en negro pardo los cementos que juntan los epitelios, así como la substancia fundamental del cartílago y tejido conjuntivo. Esta acción no es directa ; necesítase del concurso de la luz, bajo cuya influencia, el cloruro y albuminato argénticos formados al nivel de los cementos, son reducidos bajo la forma de polvo argéntico impalpable.

Es condición precisa que los tejidos destinados á la impregnación sean frescos; generalmente se prefieren las membranas serosas, la córnea y todas aquellas partes que por su delgadez son transparentes.

El *modus operandi* se reduce á lo siguiente : Comiénzase por poner al descubierto la membrana que se desea impregnar, y á

ser posible, se traslada íntegra al porta-objetos; en seguida se irriga durante algunos segundos con la solución argéntica; lávase rápidamente para eliminar los precipitados irregulares y el exceso de reactivo, y, bajo una gota de glicerina, se expone al sol, hasta que los tejidos adquieran color amarillo-pardo. La conservación se verificará en bálsamo ó glicerina.

Cloruro de oro. — Esta substancia se emplea en solución al 1 por 100. Su especialidad de acción consiste en reducirse, bajo la forma de polvo de oro finísimo y de matiz violado ó rojizo, en la mielina y terminación de los cilindros-ejes. Como el nitrato de plata, el cloruro de oro exige también la colaboración de un reductor, que puede ser la luz y mejor todavía los ácidos orgánicos.

Muchas son las fórmulas del cloruro de oro ideadas por los autores para el fácil logro de la coloración de las terminaciones nerviosas. Nosotros indicaremos solamente la más constante.

Procedimiento de Loewit. — Primeramente se hace actuar sobre el tejido (que debe ser fresco), y durante un minuto, una solución de ácido fórmico al tercio; en seguida se abandona el preparado por un cuarto de hora en cloruro de oro al 1 por 100, y, en último término, se lleva la pieza al ácido fórmico puro (ó diluído á la mitad), en donde permanecerá veinticuatro horas. Al cabo de este tiempo, el preparado aparecerá teñido en la superficie de violado-negro, en el centro de amarillo y en las zonas intermedias de rojo-violado claro. Esta región de transición es la que exhibe las mejores terminaciones nerviosas.

Cromato de plata. — Cuando se somete á la acción del nitrato de plata un trozo de centro nervioso ó de tejido con nervios, previamente indurado en bicromato de potasa, prodúcese en el espesor de la trama, y sobre ciertos elementos solamente, un precipitado rojo-ladrillo opaco, que permite seguir fácilmente las fibrillas nerviosas y las expansiones de las células.

Esta singular reacción fue descubierta por Golgi, y ha sido aprovechada ventajosamente en el estudio de la estructura de la retina, mucosa olfatoria, ganglios, médula, cerebro, cerebelo, por numerosos investigadores (Golgi, L. Sala, Fusari, Martinotti, Tartuferi, los hermanos Cajal, Cl. Sala; Kölliker, Lenhosséck,

van Gehuchten, Retzius, Falcone, Schaffer, Calleja, etc. He aquí el método de Golgi, tal como nosotros lo practicamos.

Método rápido de Golgi modificado:

1.° Inducración de trozos pequeños (1/3 de centímetro cuadrado á lo más) durante uno á tres días en:

Bicromato de potasa al 3 por 100.....	20
Acido ósmico al 1 por 100.....	6

2.° Lavado rápido (dos á cuatro segundos) en agua destilada.

3.° Inmersión por treinta horas en solución de nitrato de plata cristalizado al 0,75 por 100.

4.° Induración por media hora, en alcohol de 40°.

5.° Montaje superficial en un bloque de parafina ó entre dos trozos de médula de saúco, para efectuar las secciones microtómicas, que deberán ser espesas.

6.° Lavado de los cortes (que deben recogerse en alcohol de 40°) en alcohol de 40°, que se mudará seis ú ocho veces durante media hora.

7.° Aclaramiento, por dos á cinco minutos, en la esencia de clavos.

8.° Traslación rápida al porta-objetos, donde se irrigarán con xilol (por algunos segundos) para quitar la esencia de clavo.

9.° Lubrificación de los cortes con bálsamo ó resina d'Ammar disueltos en xilol.

10. Desecación subsiguiente de los cortes al descubierto, á fin de que el barniz se endurezca hasta lo hondo del tejido, y las células queden como incrustadas en cristal. La lenta desecación del barniz, así como un montaje á la manera ordinaria, estropean la coloración.

Este método de coloración produce excelentes preparados en la médula embrionaria, cerebro y cerebelo de los mamíferos, en la retina, bulbo olfatorio, terminaciones nerviosas periféricas, gran simpático adulto, conductos glandulares, etc. Tiñe de negro las células y particularmente los cilindros-ejes.

Cuando después de la impregnación en nitrato de plata, el preparado nos mostrase poca ó ninguna reacción, volverán á someterse las piezas (recién sacadas del nitrato) á los mismos

baños, á saber : solución osmio-bicrómica por veinticuatro horas, y nitrato de plata por treinta y seis. Este método, que nosotros hemos llamado de *doble impregnación*, es mucho más constante que el ordinario, y nos ha permitido (así como á Retzius, van Gehuchten, Cl. Sala, P. Ramón, Lenhosséck, etc.) colorar fibras y células nerviosas, que se resisten á los otros modos de empleo de la reacción negra.

Impregnación con las sales de mercurio. — Golgi, en sus fecundas exploraciones técnicas sobre el sistema nervioso, descubrió que si una pieza indurada en bicromato potásico, se trata durante algunas semanas por el bicloruro de mercurio, ciertas células y fibras nerviosas aparecen impregnadas por un precipitado metálico, blanco á la luz refleja, y obscuro á la luz transmitida. El método de Golgi al mercurio, ha sido modificado ventajosamente por Cox, cuyo procedimiento damos aquí.

Método de Cox :

1.° Trozos frescos de centros nerviosos, se abandonan por dos ó tres meses en este líquido.

Bicromato de potasa al 5 por 100	20
Solución de sublimado al 5 por 100	20
Agua destilada	30 ó 40
Cromato de potasa al 5 por 100 con reacción fuertemente alcalina	16

2.° Sección de las piezas como en el método de Golgi.

3.° Después de lavadas en mucha agua, se colocan por algunos segundos en una solución floja de potasa, hasta que el precipitado mercurial blanco se torne moreno.

4.° Lavado en mucha agua para arrastrar la potasa excedente.

5.° Deshidratación en alcohol. Esencia de clavo y goma d'Ammar. Montaje al descubierto.

REACTIVOS INOFENSIVOS

Los *reactivos inofensivos* son líquidos que, por alterar poco ó nada la forma y vitalidad de los elementos anatómicos, se apro-

vechan para conservar, durante el examen en vivo, los humores y tejidos.

Uno de los líquidos inofensivos más usados es la solución salina siguiente.

Cloruro de sodio.....	0,75
Agua destilada.....	100

Añadiendo á este licor cierta cantidad de violeta de metilo, se obtiene el líquido conservador *sódico-metílico* de Bizozzero, utilísimo para el examen algo prolongado de las plaquetas de la sangre.

El *humor ácueo*, extraído ya de la rana, ya del conejo, es también un buen vehículo para conservar durante la observación los movimientos amiboides de los leucocitos y el vibrátil de los epitelios.

Los demás reactivos inofensivos, á saber: la *solución salina de Hayem*, el *suero artificial de Schültz*, el de *Kronecker*, etc., se aplican en ciertos casos solamente, y no son tan provechosos como los arriba citados para el examen en vida.

REACTIVOS CONSERVADORES

Son *reactivos conservadores*, no los inofensivos, sino los que, además de poner los tejidos al abrigo de la putrefacción, conservan el color y demás cambios provocados en las preparaciones por las distintas maniobras de fijado y coloración.

El modo de acción de estos reactivos consiste, unas veces, en robar agua al preparado, imposibilitando así toda vegetación de bacterias (alcohol, glicerina); y otras, en sustituir el agua de imbibición por materias resinosas imputrescibles, como el bálsamo del Canadá, la resina d'Ammar, el *stirax*, etc.

Glicerina. — Debe ser anhídra y perfectamente neutra, para evitar la alteración que, en presencia de ácidos ó álcalis, experimentan ciertos colores. Esta substancia conserva bastante bien los tejidos, á quienes presta regular transparencia; pero tiene el inconveniente de retraer algo los fascículos conjuntivos y de alterar á la larga la coloración de las células.

Bálsamo del Canadá.—Se aplica, generalmente, disuelto en xilol, de modo que se obtenga una masa de consistencia de jarabe espeso. El montaje en bálsamo de los cortes exige, como condición precisa, la deshidratación (en alcohol) y el aclaramiento. (Véase más adelante : *Conservación de las preparaciones*).

Goma d'Ammar.—Se aplica, como en el bálsamo, la solución en xilol de la resina seca y pulverulenta ; su empleo reclama también la previa deshidratación de los cortes.

Licor de Farrant.

Goma arábiga	100
Agua	100
Glicerina	2

Añádase para conservar este líquido un cristal de timol.

Se aplica, como la glicerina, sobre objetos no deshidratados. La ventaja principal de este ménstruo estriba en que no exige cementación definitiva, pues la parte que rebosa del cubre-objetos se endurece progresivamente, constituyendo una costra protectora.

Los demás líquidos conservadores, á saber : el de Goadby (sal, alumbre y sublimado), el de Pacini (sublimado, sal y glicerina), la glicerina gelatinada, etc., se emplean raras veces ; porque además de la escasa transparencia que dan á los objetos, respetan poco los colores, y el menor deterioro del cemento que rodea el cubre-objetos, ocasiona la desecación del preparado.

CAPÍTULO IX

C. — MÉTODOS HISTOLÓGICOS

Clasificación de los métodos.—Método del examen en vida.—Método aislador. Método de los cortes. — Método de las inyecciones.

Llámase *método histológico* al conjunto de operaciones destinadas á demostrar tal ó cual disposición estructural de los tejidos. Comprende cada método una porción de actos técnicos que conspiran al mismo fin; así, por ejemplo, la demostración de la textura del núcleo entraña la ejecución de las operaciones: fijado del objeto, induración, sección, coloración, etc.

Si cada particularidad de estructura de los tejidos exige el empleo de uno ó de varios métodos analíticos, está claro que deben ser éstos muy numerosos. Su exposición circunstanciada reclamaría una extensión de que no disponemos; por lo cual, nosotros ceñirémonos á explicar los métodos de indagación aplicables á todos ó á varios tejidos. Los métodos analíticos más generales pueden reducirse á cuatro: *el exanen en vivo*; *la disociación*, que presenta las células aisladas; *el método de los cortes*, que revela los elementos en sus relaciones y actitudes naturales; *el método de las inyecciones*, que consiente, mediante el relleno de las cavidades orgánicas, la percepción del contorno de éstas. Las *operaciones de coloración* podrían en rigor considerarse como métodos; pero nos parece más práctico englobarlas en el método de los cortes, del cual representan el obligado complemento.

EXAMEN EN VIVO

El examen de los elementos vivos puede efectuarse, bien en líquidos orgánicos, bien en tejidos disociables, bien en membranas transparentes del animal íntegro.

Líquidos orgánicos.—La observación de los humores vivos, tales como la sangre, la linfa, el esperma, etc., es de las más sencillas. En el centro de una cámara húmeda porta-objetos, se deposita una gota del líquido que se desea examinar ; cúbrese rápidamente el preparado con una laminilla que, para evitar la intrusión de microbios, se cementará con parafina. Si el líquido pertenece á un animal de sangre fría, bastará el empleo de la cámara húmeda ; mas si procede de un animal de sangre caliente, la observación se hará en la cámara de Pfeiffer.

Examen de los tejidos íntegros ó disociados. —La córnea de la rana, trozos de tejido conectivo extraído mediante las tijeras curvas, las fibras musculares frescas de las patas del hidrófilo, pedazos del epitelio vibrátil del esófago de los batracios, etc., podrán conservarse vivos en cámara húmeda y por varias horas. El vehículo preferible será para los elementos de la rana, el humor ácueo del mismo animal, y para los del *hidrophilus piceus*, *dítiscus marginalis*, etc., la linfa que de estos coleópteros rezuma cuando se les arranca una pata ó la cabeza. En general, y para evitar la muerte rápida de los elementos, la disociación preliminar al examen será muy ligera ; se impedirá también que el cubre-objetos oprima demasiado la preparación.

Examen de los órganos transparentes.—El mesenterio, pulmón y lengua de la rana, las expansiones membranosas de la cola del renacuajo y de la larva del sapo, el mesenterio del conejillo de Indias de pocos días, etc., constituyen órganos adecuados á la observaóión microscópica de algunos tejidos vivos, tales como los nervios, los vasos, la sangre y linfa, el tejido conectivo, los epitelios, etc.

Examen en el renacuajo. — Prefiérense larvas de pequeño tamaño, que pueden acomodarse fácilmente encima de un porta-objetos. Para inmovilizar el animal, se añaden al agua en que nada, unas gotas de una solución de curare al 1 por 100. Mientras el renacuajo tiene el epitelio íntegro, no se absorbe el veneno ; pero en cuanto se punza la piel, el curare penetra, y el animal queda inmóvil, aunque no muerto, pues el corazón continúa latiendo y la nutrición se mantiene. Al objeto de evitar la deseca-

ción, se mojará de cuando en cuando la piel, y se cubrirán las expansiones de la cola con una laminilla.

Mesenterio de la rana. — El mesenterio se presta admirablemente, por su gran transparencia y delgadez, al estudio de los vasos y sangre, así como al examen de los corpúsculos del tejido conectivo.

La rana se inmovilizará también con el curare, de cuya solución al 1 por 100 se inyectarán bajo la piel, en el saco linfático dorsal, algunas gotas. A los diez minutos, la absorción es suficiente para paralizar los movimientos voluntarios. Acto continuo, y previa una sección lateral del abdomen, se extrae un asa intestinal (porción superior del intestino), provista de un repliegue mesentérico dilatado. A prevención, tendremos preparado un cristal pequeño (el tamaño 9 por 12 centímetros, llamado cuarto de placa por los fotógrafos, es excelente), en cuyo centro se pega con parafina un cilindro de corcho, cuyo diámetro concuerde con el del asa intestinal, y cuya altura guarde proporción con el espesor de la rana. En el contorno superior del corcho se labrará exteriormente una muesca, en donde, á favor de finos y cortos alfileres, deberá fijarse el intestino. La observación se efectúa á flojos aumentos (A ó C de Zeiss), si se desea apreciar la circulación en un territorio algo extenso; la percepción de finos detalles exige un objetivo fuerte (E de Zeiss, por ejemplo), y la protección del mesenterio mediante un pequeño cristal circular. Finalmente, se cuidará de mantener la respiración cutánea de la rana, mojando la piel cada cinco ó diez minutos; esto evita también la desecación del mesenterio.

El examen en la membrana interdigital se hará fácilmente, inmovilizando la rana sobre un corcho plano y extenso, en el cual habrá un agujero que se cubrirá con las expansiones interdigitales de la pata extendida. La extensión de los dedos se mantendrá á favor de hilos, fijos por uno de sus extremos en las últimas falanjes, y atados por el otro en los agujeros del corcho.

Aunque con menos comodidad, cabe también examinar la circulación en el mesenterio del conejillo de Indias. El ratón, la rata y el gato son menos á propósito, á causa de las espesas formaciones adiposas que recubren los vasos peritoneales. En cuan-

to á la inmovilización, se efectuará inyectando en el peritoneo cierta cantidad de hidrato de cloral; dos ó tres gramos de solución acuosa al 5 por 100 bastan para narcotizar, por algunas horas, un conejo de Indias de pequeña talla.

DISOCIACIÓN

El *aislamiento* de los elementos anatómicos puede efectuarse de las siguientes maneras: por *acción mecánica*, por *acción química* y por *compresión*.

Disociación mecánica. — Esta operación se ejecuta en los tejidos blandos, sobre todo en los que, como el muscular, el nervioso, el fibroso, el del cristalino, están construídos por filamentos largos paralelamente dirigidos.

Las maniobras de disociación se ejecutan sobre un porta-objetos colocado encima de un fondo negro ó blanco (según sea el color del tejido), con el objeto de percibir claramente, por contraste, los más pequeños fragmentos desprendidos. El desmenuzamiento, que se prolongará hasta que las parcelas obtenidas resulten casi invisibles, se efectuará con las agujas enmangadas y bajo una gota de líquido indiferente, á menos que no convenga, como sucede en los nervios, ayudarse de la semidisecación. En ciertos casos, se facilitará mucho la operación con el microscopio simple.

La *compresión* de los tejidos frescos ó fijados entre dos laminillas, la *dilución* de los líquidos cargados de células á favor de vehículos indiferentes, y la *inyección* de estos mismos reactivos en los intersticios de tejidos fibrosos, son procedimientos mecánicos que podrán aplicarse también con provecho.

Disociación química.—Tiene lugar utilizando la virtud que poseen ciertos reactivos de disolver el cemento separatorio de las células. Así, cuando un trozo de epitelio fresco se abandona por treinta y seis horas en el alcohol al tercio, el epitelio aparece desintegrado, y es fácil trasladar á un porta-objetos numerosas células sueltas que serán teñidas en la hemotoxilina ó en el picro-carminato. La potasa al 40 por 100, el ácido nítrico al tercio, el líquido metílico de Schiefferdecker (agua, 20; glicerina, 10;

alcohol metílico, 1), el líquido de Landois (solución saturada de bicromato amónico neutro, 5; solución saturada de fosfato potásico, 5; solución saturada de sulfato sódico, 8; agua, 100), serán muy útiles en casos especiales.

MÉTODO DE LOS CORTES

El método de los cortes comprende el conjunto de operaciones que deben realizarse para conseguir secciones delgadas, transparentes y coloreadas de un órgano ó tejido. La importancia de este método es tan grande que, á menudo, hace inútiles todos los demás. Así, por ejemplo : la estructura de los tejidos cartilaginoso, óseo, epitelial, etc., puede estudiarse suficientemente en los cortes, con tal de variar los procedimiedtos de fijado, inclusión y coloración en armonía con el detalle estructural que se desea poner de relieve.

Es preciso distinguir dos casos en lo referente á las maniobras necesarias para la obtención de finas secciones : cuando los tejidos seccionables son blandos, y cuando son excesivamente duros, casi pétreos.

A. — Secciones en tejidos blandos

Los órganos blandos, parenquimatosos, *verbi gratia*, el ovario, el hígado, el intestino, la médula, los ganglios, etc., deben sufrir, al objeto de prestarles el endurecimiento conveniente, las operaciones siguientes : fijación, induración y encastramiento ó inclusión ; vienen después las maniobras de sección, seriación (si ha lugar), coloración y montaje.

Fijado de las piezas.—Se verificará por uno de los líquidos más atrás mencionados con el título de fijadores. El líquido elegido variará según el objeto que nos propongamos demostrar. Así, cuando se desea estudiar la kariokinesis ó la textura del núcleo, se dará la preferencia al fijador de Rabl ó al de Flemming; si se intenta poner de manifiesto la textura de los tubos nerviosos, se echará mano del ácido ósmico al 1 por 100, que se hará obrar durante algunos minutos; finalmente, si se busca solamente una imagen de conjunto, se apelará al alcohol absoluto.

Induración. — Después de extraer la pieza del líquido fijador, se lava en agua abundante (excepto cuando se emplea el alcohol absoluto), y se sumerge, ya en el alcohol, ya en el bicromato potásico.

El endurecimiento en alcohol es el complemento obligado de toda acción indurante ó fijadora conseguida con otros reactivos. Así, toda pieza fijada en el ácido ósmico, licor de Flemming, bicloruro de mercurio, licor de Kleinenberg, formol, etc., se trasladará al alcohol, donde permanecerá dos ó tres días. Este reactivo servirá también para acabar el endurecimiento de las piezas de centros nerviosos, indurados previamente en el ácido crómico ó en el bicromato de potasa.

Inclusiones. — La inclusión ó encastramiento, es la operación por cuya virtud se hace penetrar en el espesor de la pieza endurecida por el alcohol, una materia solidificable, que lleva al *máximum* la consistencia del tejido, y facilita la ejecución de cortes cuyo espesor oscila entre dos centésimas y una milésima de milímetro.

Muchas son las substancias propuestas con tal objeto; pero los histólogos emplean hoy casi exclusivamente las *inclusiones en parafina y celoidina*. Estas son las que expondremos brevemente, aconsejando al lector ganoso de profundizar el asunto y de conocer los otros modos de encastrar (inclusión en jabón, en albúmina, en agar-agar, en goma, etc.), la lectura de las obras especiales de técnica micrográfica.

a) **Inclusión en colodion y celoidina.** — Este método de encastramiento fue imaginado por M. Duval que se sirvió primeramente del colodion espeso, que solidificaba mediante el alcohol de 36°. Actualmente se prefiere la celoidina, que es una especie de colodion seco, de color ambarino, soluble lentamente en una mezcla, á partes iguales, de éter á 65° y alcohol de 40° ó absoluto. Algunos proponen la *fotoxilina*, que se disuelve más rápidamente en la mezcla alcohólico-etérea, y forma, cuando solidificada, una masa transparente; pero no posee ventajas sobre el colodion y la celoidina, si hemos de juzgar por propias experiencias.

La solución de celoidina debe tener consistencia de jarabe es-

peso. En ella permanecen uno ó varios días las piezas; después son abandonadas por veinticuatro horas en alcohol de 36° ó cloroformo puro. Estos líquidos roban al éter de la celoidina, que adquiere una consistencia semejante al cautchouc.

Antes de incluir las piezas, deben venir del alcohol, y se supone que han sido preventivamente fijadas. Para mayor claridad, he aquí la marcha de las operaciones necesarias á una buena inclusión:

1.° Los trozos de tejido ó neoplasia, de un espesor que no pasará de un centímetro (la anchura es indiferente), permanecerán veinticuatro horas en una mezcla de éter y alcohol.

2.° Después se sumergirán, por veinticuatro á cuarenta y ocho horas ó más (según el espesor de las piezas), en una primera solución de celoidina al 2 por 100.

3.° Durante dos, tres ó más días, atendido el volumen, se empaparán las piezas en una segunda solución de celoidina al 8 ó más por 100. Este líquido debe tener consistencia de espeso jarabe.

4.° Extraída la pieza de la celoidina, se montará inmediatamente (evitando la desecación del vehículo) sobre un corcho limpio y seco, ó sobre un trozo de madera. Pegada á tal soporte, quedará expuesta al aire, durante algunos minutos, á fin de que se condense un tanto más la celoidina envolvente.

5.° Los corchos ó maderas con los objetos pegados, se introducirán en un frasco de boca ancha que contenga alcohol de 36°. Aquí permanecerán las piezas (que deben quedar envueltas por el alcohol) unas veinticuatro horas.

6.° Puesta la pieza con su soporte de corcho en la pinza portaobjetos del microtomo, se procederá á seccionarla, cuidando lubrificar la navaja con alcohol de 36°.

7.° Los cortes serán recogidos en agua, donde permanecerán hasta el momento de ser teñidos. Si la tinción debiera realizarse al cabo de dos ó más horas, la conservación de los cortes en el ínterin debe efectuarse en alcohol de 36°.

Observaciones. — El método de inclusión del colodion ó celoidina es aplicable á todos los tejidos sin excepción, aun los más duros, á condición de estar decalcificados.

El tiempo necesario al englobamiento podrá abreviarse mucho si las piezas son muy pequeñas (3 ó 4 milímetros de espesor). En tal supuesto, cabe practicar todas las operaciones de la inclusión en unas doce ó catorce horas, pudiendo prescindirse del primer baño de éter y alcohol, y aun de la primera solución de celoidina.

b) **Inclusión en parafina.**—Las piezas englobadas en esta materia adquieren una consistencia muy notable, siendo fácil reducirlas con el microtomo á secciones de 3 á 5 milésimas. Hasta los tejidos muy blandos, tales como el nervioso, el glandular y aquellos que encierran repliegues ó cavidades considerables, por ejemplo, el ovario, el testículo, el intestino, los embriones, etcétera, se cortan sin ninguna dificultad, particularmente si se utilizan el microtomo automático de Minot, ó el de la Sociedad de Cambrigde.

El orden de las operaciones es el siguiente :

1.° Las piezas, convenientemente deshidratadas y fijadas, se colocarán en una mezcla, á partes iguales, de alcohol y cloroformo. El cloroformo debe echarse después del alcohol, y á favor de una pipeta que penetrará hasta lo más hondo, á fin de constituir una capa profunda exclusivamente clorofórmica. En cuanto las piezas, que se mantendrán algún tiempo entre las dos zonas de alcohol y cloroformo, desciendan del todo, pueden trasladarse :

2.° Al cloroformo puro, donde quedarán por seis á veinticuatro horas.

3.° Del cloroformo se transportarán á una solución concentrada de parafina en cloroformo, donde se abandonarán por seis á veinticuatro horas.

4.° Después se conducirán á un baño maría (1) que contenga parafina derretida, y á temperatura apenas superior al punto de fusión. Aquí permanecerán según las dimensiones, desde ocho horas á dos ó tres días.

5.° Extraída la pieza, se enfriará repentinamente para que la

(1) Utilízase de preferencia el baño maría de Giesbrecht ó de Nápoles, el cual está provisto de termo-regulador de mercurio, termómetro, etc. Su precio viene á ser de 75 francos.

materia de inclusión se solidfique en cristales finísimos (una solidificación lenta da cristales espesos que estropean los elementos); luego se montará en un bloque de parafina, al cual se pegará mediante un escalpelo caliente; terminando la operación, recubriendo la superficie de la pieza con una capa de parafina de 3 ó 4 milímetros de espesor.

6.º Antes de poner la pieza en el microtomo, se tallará en cuadradillo, procurando que una de las caras se dirija hacia adelante. El filo de la navaja deberá ser parelelo á dicha superficie, es decir, perpendicular á la resbaladera; disposición que favorece singularmente la obtención de series ó cintas de cortes.

7.º Los cortes se llevan á un porta-objetos, se lavan con esencia de trementina ó xilol para quitarles la parafina, y se montan al bálsamo. Se supone, naturalmente, que la pieza fue teñida en masa antes de la inclusión. Ya veremos luego cómo se logra el teñido individual de los cortes.

Observaciones.—A) El cloroformo y la solución de parafina en cloroformo se emplean, antes de la inmersión en el baño de parafina, para facilar la penetración de ésta en la trama del tejido. Pero pueden utilizarse con tal fin todos los disolventes de la parafina : la esencia de trementina, la esencia de clavo, la esencia de cedro, el xilol, el petróleo, el toluol, etc. El modo de empleo de estos agentes será igual que el del cloroformo.

B) Los cortes de la parafina tienen, á veces, tendencia á arrollarse, imposibilitando el logro de las series. Los remedios propuestos son muchos. Hé aquí algunos :

Mecánicamente, se evita dicho enrollamiento, superponiendo á la pieza, suavemente y mientras se corta, un pincel ancho y flexible. La navaja pasa entonces por debajo de éste y el corte queda plano.

Se aconseja también tallar en prisma triangular, de arista aguda anterior, el bloque de parafina; con lo que, si el corte se arrolla en espiral, podrá desarrollarse á un suave calor en el porta-objetos, teniendo la precaución de poner el lado ancho y la base de la espiral hacia abajo.

Un procedimiento que, para pequeñas piezas nos ha dado resultados, es formar la costra exterior de parafina de capas alter-

nadas (por sumersión y rápido enfriamiento de la pieza) de parafina dura y blanda.

Pero el mejor remedio es usar una parafina cuyo punto de fusión guarde relación con la temperatura del ambiente. Bajo las altas temperaturas del verano (25 á 30°), convendrá una parafina que funda á 55°; en pleno invierno (10 á 12°) se preferirá la parafina que funda á 45°; finalmente, con temperatura de transición (18 á 22°) se ensayarán con ventaja parafinas de punto de fusión de 48 á 50°, ó mezclas, previamente ensayadas, de parafinas dura y blanda. El punto de fusión de una parafina puede exaltarse con la cocción prolongada.

Seriación y montaje de los cortes en porta-objetos.—*Cortes á la celoidina.* — Los cortes á la celoidina podrán seriarse, con sólo recogerlos en una sucesión ordenada de pocillos de porcelana como los que utilizan los acuarelistas. En cada pocillo sufrirá el corte todas las operaciones de teñido, lavado, deshidratación, aclaración, etc., sin confusión alguna, con tal que los pocillos estén numerados.

Cuando los cortes son 1, 2 ó 3, no hace falta utilizar ningún procedimiento de adherencia al porta-objetos. Teñidos, deshidratados y aclarados, se lubrifican en una gota de bálsamo y se cubren con una laminilla.

Pero si los cortes son pequeños y numerosos, y se desea montarlos ordenadamente en un solo porta-objetos, cabrá utilizar el artificio siguiente : aclarados y ordenados convenientemente sobre el cristal, se mojan con bálsamo al xilol á poca concentración; cuando, transcurrido un cuarto de hora, la capa de fijativo esté casi seca (debe cubrir los cortes), ya no habrá inconveniente en proteger el preparado en el cubre-objetos, lubrificado en bálsamo ordinario. La presión de la laminilla no desarreglará las secciones, porque el nuevo líquido conservador será incapaz de reblandecer la costra de fijativo.

Para series largas y cuidadosas debe preferirse el método de Weigert, á saber :

1.° Conforme se obtienen los cortes, se van colocando, empapados en alcohol de 36°, sobre una hoja de papel *closet*, donde á prevención, tendremos marcado el comienzo de la serie.

2.° El papel (siempre húmedo con alcohol flojo) con los cortes hacia abajo, se coloca sobre una lámina de cristal colodionada, como las que emplean los fotógrafos para dar el brillo; se aprieta el papel sobre el colodion, y los cortes se adhieren en cuanto aquél se despega.

3.° El cristal y los cortes (que no deben secarse) se cubrirán de una nueva capa de colodion, la cual se dejará coagular durante algunos minutos.

4.° Puestos los cristales en el agua (antes de secarse el colodion), se desprenderá fácilmente la película del colodion con todos los cortes seriados, pudiéndose ya con toda seguridad ejecutar en ella, como si se tratase de un solo corte, todas las operaciones ulteriores de coloración, deshidratación, aclaramiento y montaje. La esencia para aclarar será la creosota, que transparenta mucho y no ataca á la celoidina.

Cortes á la parafina.—Con los microtomos automáticos llamados de Minot y de Cambridge, se obtienen fácilmente, si la parafina posee la debida consistencia, cintas de cortes, que se pegan al porta-objetos á beneficio del líquido siguiente :

Licor de Schallibaum :

Colodion normal.....	1
Esencia de clavo.....	3

Con un pincel se lubrifica, en capa delgadísima, el porta-objetos. Este licor tiene la propiedad de no secarse á la temperatura ordinaria, y de coagularse rápidamente. Fijadas las series, llévase la preparación á un baño maría (56° ó 60°), donde, á la media hora, se habrá evaporado la esencia y endurecido la capa de colodion.

Ulteriormente (y en caliente) se extrae la parafina con la esencia de trementina, y se cubre el preparado con una laminilla untada de bálsamo.

Coloración de los cortes de preparaciones englobadas en celoidina. — Hé aquí la marcha sistemática para los carmines, la hematoxilina y las anilinas.

Coloración con el carmin y eosina.

1.° Los cortes lavados en agua destilada, se abandonan por

seis á veinticuatro horas en el carmín aluminoso de Grenacher, ó en la solución de cochinilla de Czokor.

2.° Lavado en agua para extraer el exceso de color.

3.° Llévanse los cortes á una solución de eosina al 1 por 200, donde permanecerán algunos minutos.

4.° Nuevo lavado en agua.

5.° Deshidrataciones en alcohol.

6.° Aclaramiento en esencia de clavos, donde se disolverá la celoidina. Si, por tener el corte muchas cavidades, no conviniese extraer la celoidina, se conservará ésta, aclarando con la creosota.

7.° Montaje en bálsamo ó resina d'Ammar.

Coloración con la hematoxilina y eosina.

1.° Los cortes, recién extraídos del agua, se sumergen en un pocillo de porcelana que contenga cierta cantidad de hematoxilina de Böhmer, ó de Erhlich, ó de Delafield, etc. Aquí permanecerán de dos á diez minutos, durante los cuales se agitarán, á fin de que el teñido resulte por igual. Evítense los pliegues de los cortes. En ocasiones convendrá, para que el teñido sea más lento y manejable, diluir la hematoxilina en el doble ó triple de agua destilada.

2.° Lavado de los cortes en agua abundante.

3.° Traslación de los mismos á una solución de eosina al 1 por 200, donde permanecerán algunos minutos.

4.° Deshidratación en alcohol, aclaramiento en esencia de clavos y bálsamo.

Hematoxilina ferruginosa de M. Heidenhain. — Para colorar en negro los núcleos y en moreno los centrosomas del protoplasma, aconseja este autor el siguiente método:

1.° Los cortes de tejidos se sumergen, por una ó varias horas, en una solución al 2 ó 3 por 100 de alumbre de hierro.

2.° Lavado rápido en agua destilada para quitar el exceso de mordiente.

3.° Inmersión, por media ó varias horas, en una solución acuosa de hematoxilina al 1 por 100.

4.° Lavado por algunos minutos en un exceso de mordiente,

es decir, en el mismo licor ferruginoso antes citado, en el cual el color negro irá desapareciendo paulatinamente hasta que los cortes tomen un tono gris.

5.° Inmersión en agua destilada para eliminar el mordiente.

6.° Deshidratación, aclaramiento y montaje en bálsamo.

Los núcleos aparecen teñidos de negro ó gris obscuro, y los protoplasmas de moreno más ó menos claro, según el tiempo de acción del mordiente.

Este método puede combinarse con la coloración de fondo del método de Gieson, es decir, con la picro-fuchina, obteniéndose espléndidas coloraciones rojas del tejido conectivo. Para ello no hay más que sumergir los cortes en este reactivo después de efectuado el lavado que sigue á la decoloración.

Coloración con las anilinas.

1.° Los cortes permanecen, de diez minutos á una hora, en una solución saturada en agua (conviene añadir al agua algunas gotas de alcohol para que la solución sea más intensa) de uno de los siguientes colores básicos de anilina: la zafranina, el azul de metileno, la vesubina, el violado de genciana, tionina, etc.

2.° Los cortes son sucesivamente llevados al alcohol, que se renovará dos ó tres veces hasta que desaparezca el exceso de color.

3.° Aclaramiento en la esencia de bergamota (la esencia de clavo no conviene sino cuando la decoloración es todavía insuficiente, porque disuelve las anilinas) y montaje en bálsamo disuelto en xilol.

Coloración triple de van Gieson.

Los cortes fuertemente teñidos en una solución de hematoxilina madura, se colocan, por algunos minutos, en una solución saturada de ácido pícrico que contenga una pequeña cantidad de fuchina ácida (agua saturada de ácido pícrico, 100; fuchina ácida 0,1). Los cortes se llevan después al alcohol donde se deshidratan, se aclaran en esencia de clavos y se montan en d'Ammar. Los núcleos aparecerán violados, amarillos los epitelios y rojos los haces conjuntivos.

Método de triple coloración con la fuchina ó magenta, el ácido pícrico y el carmín de índigo (Cajal).

1.° Los cortes se sumergen durante cinco á diez minutos, en una solución saturada ó muy concentrada de rojo magenta (fuchina roja ordinaria).

2.° Lavado rápido en agua abundante para arrastrar el exceso de color.

3.° Coloración, por cinco á diez minutos, en la siguiente solución: agua saturada de ácido pícrico, 100; carmín de índigo 0,25.

4.° Lavado rápido en agua acética (en un pocillo de porcelana lleno de agua se echan dos ó tres gotas de ácido acético).

5.° Decoloración en alcohol absoluto, hasta que los cortes hayan desprendido el exceso de magenta, lo que se conocerá en el color violado general adquirido por aquéllos.

6.° Aclaramiento en xilol ó bergamota.

7.° Montaje en bálsamo disuelto en xilol.

Es éste sin disputa el método más bello que se conoce para teñir todos los órganos que contienen epitelios y trama conectiva. Los núcleos aparecen impregnados enérgicamente en rojo vivo; los protoplasmas exhiben una tinta verde clara ó rosácea-amarillenta; y los haces conjuntivos se presentan de azul puro intensísimo. Tiene además este método la ventaja de la facilidad y rapidez de ejecución, así como la perfecta conservación de las preparaciones.

En general, el ácido pícrico tiene la propiedad de transformar todo color soluble en las soluciones de aquél, en un excelente reactivo de la substancia colágena. Hasta la misma hematoxilina de Weigert-Pal, asociada al ácido pícrico en saturación, se convierte en un reactivo acidófilo, que tiñe la colágena de violado azul.

Coloración de las preparaciones englobadas en parafina.—Las preparaciones á la parafina pueden teñirse de dos modos: *en bloque*, antes de la inclusión, y *en los cortes*, después de la fijación de éstos en porta-objetos.

Teñido en masa.—Se realiza cuando la pieza acaba de ser endurecida y fijada. Los líquidos colorantes preferibles al efecto

son : la hematoxilina de Bœhmer ó Erhlich, el carmín alumino-so, la hematoxilina de Heidenhain, el carmín lítico de Orth, etc.; las piezas deben ser pequeñas y permanecer de seis á veinticuatro horas ó más en los líquidos colorantes.

Teñido en porta-objetos.—Se efectúa sobre los cortes pegados al cristal y desprovistos de parafina. Para ello, se lubrifica la preparación con esencia de trementina, luego con alcohol fuerte, y últimamente, con agua destilada. En este momento se aplica el color (hematoxilina, zafranina, carmín lítico, etc.), subsiguiendo todas las operaciones requeridas para el montaje, á saber : lavado en agua, deshidratación, aclaramiento en esencia y conservación en bálsamo.

Como materia fijadora al cristal de los cortes seriados, se preferirá el licor de Schallibaum.

B. — Secciones en tejidos duros

El hueso y el diente, así como el cartílago en vías de osificación, pueden seccionarse, ya en su estado natural, ya previo reblandecimiento por los reactivos ablandantes ó decalcificantes.

La obtención de cortes del diente y hueso con su consistencia natural, lógrase utilizando un procedimiento análogo al usado por los petrógrafos para la sección de las rocas. He aquí el *modus operandi* en el hueso.

1.° Obtención, con la sierra-pelo de relojero, de un corte grosero, que comprenda, á ser posible, todo el espesor de la diáfisis de un hueso largo (radio, cúbito, femur).

2.° Sobre una piedra arenisca ó rueda de vaciador, se desbasta el corte por ambas caras, hasta que presente un espesor de menos de medio milímetro.

3.° El corte se lleva á una piedra fina de afilar, como la usada por los peluqueros, en la cual y mojada con alcohol, se pule y adelgaza hasta que resulte transparente.

4.° Lávase el corte en alcohol limpio y se deja secar sobre papel chupón.

5.° Finalmente, llévase el corte á un porta-objetos donde habrá una gota de bálsamo del Canadá privado de aceite esencial

por el calor y recién liquidado á la lámpara. Antes que el bálsamo se solidifique por enfriamiento, se cubre el preparado con una laminilla, oprimiendo fuertemente para repeler el exceso de vehículo.

Al microscopio, se presentarán las lagunillas óseas y conductos calcóforos de color negro, por el aire que contienen (el aire encerrado en el bálsamo exhibe contornos obscuros); y allí donde el aire haya sido rechazado por el vehículo, las laminillas óseas se percibirán correctamente.

El mismo tratamiento sufrirán los cortes de diente, con tal de que no interesen el esmalte, tejido que raya el acero. Los cortes longitudinales (que comprenden naturalmente la costra adamantina) no pueden practicarse con la sierra, por lo cual nos vemos obligados á desgastar pacientemente el diente entero en la rueda de afilador, hasta obtener una lámina delgada, que acabará por afinarse y pulirse sobre una piedra fina de peluquero. Para evitar el desgaste de los dedos durante las maniobras citadas, algunos operadores pegan previamente la pieza, con bálsamo del Canadá seco, á un mango de madera.

Los cortes de hueso y diente pueden también teñirse con los colores de anilina, obteniéndose bellas imágenes de los conductitos calcóforos y osteoplasmas.

Ranvier, que fue el primero en aplicar las anilinas con tal objeto, propuso impregnar las secciones de hueso con azul de anilina y conservarlas en glicerina salada. Pero, desgraciadamente, la preparación se decolora al poco tiempo, y los conductitos óseos no se revelan con la claridad y limpieza que en los cortes conservados en bálsamo. Para obviar estos inconvenientes, propusimos nosotros el siguiente método que proporciona preparaciones muy bellas y absolutamente permanentes (las que conservamos desde hace diez años están hoy como el primer día).

Procedimiento de coloración del hueso según Cajal.—«Una sección ósea bien afilada en la piedra, se abandona por algunos días en una solución alcohólica saturada de violeta de dalia (cualquier anilina insoluble en agua puede emplearse lo mismo). El corte y el líquido se colocan en un vidrio de reloj á fin de que el

alcohol se evapore rápidamente. Cuando el corte está seco, se afila nuevamente (en agua) por ambas caras hasta despojarlo de la costra superficial de color ; se deja secar, previo lavado en agua destilada, y se le da transparencia en la esencia de bergamota. La preparación se concluye montando el corte (todavía mojado con la esencia), en el bálsamo del Canadá seco recién derretido al calor. La inclusión en la resina d'Ammar disuelta en la bencina, es también de recomendar, pues no disuelve el violado de dalia. No obstante, nosotros preferimos el bálsamo seco, pues la preparación queda dura y manejable inmediatamente de terminada (1).

- *Procedimiento de Zimmermann* (2).—Este autor, sin tener conocimiento del método arriba citado, ha propuesto un procedimiento de teñido muy semejante al nuestro, á saber : «Delgados cortes de hueso, desengrasados en xilol, se tratan en caliente hasta desecación, por una solución alcohólica saturada de violeta de metilo. Los cortes desecados se privan de la costra exterior de materia colorante, raspándolos con un escalpelo y afilándolos en la piedra bajo una gota de xilol. Es recomendable calentar el bálsamo antes de cubrir la preparación para aumentar la densidad del vehículo».

Se ve, por lo expuesto, que el método de Zimmermann es substancialmente idéntico al nuestro ; pues tanto monta usar una anilina como otra, y lo mismo da aplicar la goma d'Ammar disuelta en bencina que el bálsamo disuelto en xilol ; lo esencial es conservar el preparado en una solución resinosa que no disuelva las anilinas. Por lo demás, este procedimiento no proporciona preparaciones tan estables como el nuestro ; las que hace un año ejecutábamos nosotros, según las indicaciones de Zimmermann, comienzan á palidecer como sucede indefectiblemente con todo preparado teñido con las anilinas y conservado en ménstruos líquidos.

Procedimiento de teñido con nitrato de plata.—Si un corte afi-

(1) Cajal : Tejido óseo. *Boletín Médico-Valenciano.* Enero de 1887.

(2) Zimmermann : Demonstrationen der mikroskopische Präparate. *Verhandlungen des anatomischen Gesellschaft auf dritten Versammlung in Berlin.* 10-12 October, 1889.

lado de hueso se sumerge primeramente en nitrato de plata, se lava después en agua común, y se expone al sol por algunos minutos, las laminillas óseas aparecerán impregnadas en café claro, y de un matiz más intenso el cemento separatorio de las mismas. Esta reacción, que ya fue notada por nosotros hace mucho años, ha sido primeramente publicada por Matschinsky (1), quien la ha utilizado ventajosamente para el estudio de la textura del hueso (2).

INYECCIONES

Las inyecciones histológicas tienen por objeto hacer perceptibles los conductos vasculares y glandulares, mediante la introducción de materias coloradas coagulables.

En el arte de las inyecciones hay que estudiar dos cosas: las masas de inyección y los instrumentos inyectores.

Masas de inyección.—Muchas son las propuestas, pero no todas reunen las condiciones requeridas, que son: ser transparentes, fácilmente solubles, y no trasudar de los vasos. He aquí las dos fórmulas que dan mejores resultados.

Masa de carmín según Ranvier.—Con dos gramos y medio de carmín y unas gotas de agua se hace una pasta, que se disolverá en la menor cantidad posible de amoníaco. Esta disolución se echa gota á gota en otra de cinco gramos de gelatina, disuelta al calor en la cantidad de agua que esta substancia absorbe durante algunas horas de hidratación. Hecha la mezcla, no falta más que neutralizar el exceso de amoníaco con una solución de ácido acético; la desaparición del olor amoniacal nos advertirá de la neutralización.

Masa de azul de Prusia. — En el comercio de objetos de micrografía, se halla un azul de Prusia que, á favor de largo tra-

(1) Matschinsky: Ueber das normale Waschtum der Röhrenknochen etcétera. *Arch. f. mikros, Anatomie.* Bd. 39, 1892.

(2) Desde hace más de diez años, posee el Laboratorio Histológico de la Facultad de Medicina de Madrid, una preparación del hueso ejecutada por este método, y que ha servido á los profesores y ayudantes para la demostración de las laminillas óseas.

tamiento por el agua destilada, y en virtud de un cambio químico no bien dilucidado, se ha hecho perfectamente soluble en agua. De la solución acuosa saturada de este azul de Prusia, se tomarán 6 ó 7 gramos, que se mezclarán con 5 gramos de gelatina disuelta al calor en su agua de absorción.

La *tinta china* y el *nitrato de plata* suministran también masas de inyección aplicables á ciertos casos. Así, cuando se trata de inyectar el hígado, podrán llenarse las arterias con la masa de carmín, las venas con la masa de azul de Prusia y los conductos biliares con una solución de tinta china.

La demostración del endotelio de los capilares exige la inyección de los vasos con una solución de nitrato de plata al 1 por 300, adicionada ó no de gelatina.

Instrumentos inyectores. — Tales son las jeringas ordinarias usadas en las salas de disección, y las especialmente destinadas á inyecciones finas, construídas según las indicaciones de Robin, Ranvier, Lacaze-Duthiers, etc. Todos estos aparatos (que van provistos de los accesorios indispensables, tales como cánulas, tubos intermediarios con llave, mandrines), dan excelentes resultados con tal que el operador adquiera alguna habilidad.

En ciertos casos, se preferirán los inyectores de presión contínua, entre los cuales debe mencionarse el de Latteux (figura 42), que consiste en una bomba (A), de paredes resistentes, destinada á reservorio de aire, de la cual emergen cinco tubos : dos terminados en los frascos que contienen las masas de inyección (E), uno que aloja al manómetro (A), otro que conduce á la pera de caoutchouc, donde se ejerce la presión (C), y el último (D) que sirve para dar acceso al aire exterior en el reservorio. Por el examen de la figura 42, se vendrá fácilmente en conocimiento del mecanismo del aparato ; así, la presión ejercida en la pera de caoutchouc se transmite al reservorio, y de éste á la cámara de aire de los frascos, de donde la masa de inyección se escapa hasta la cánula final, merced al tubo que enlaza ésta con el fondo de la vasija.

En los mamíferos de talla media (perro, gato, conejo, conejillo de Indias), y con más motivo en los de gran tamaño, toda inyección histológica debe ser parcial, tanto para ahorrar mate-

ria de inyección, cuanto para asegurar la penetración de ésta en los capilares más finos. Durante la operación, convendrá que el órgano esté sumergido en agua caliente, que se cambiará por fría en cuanto termine la inyección, al objeto de coagular rápidamente la gelatina; evítanse así los escapes de líquido, pudiendo cortarse la pieza sin temor momentos después de la operación.

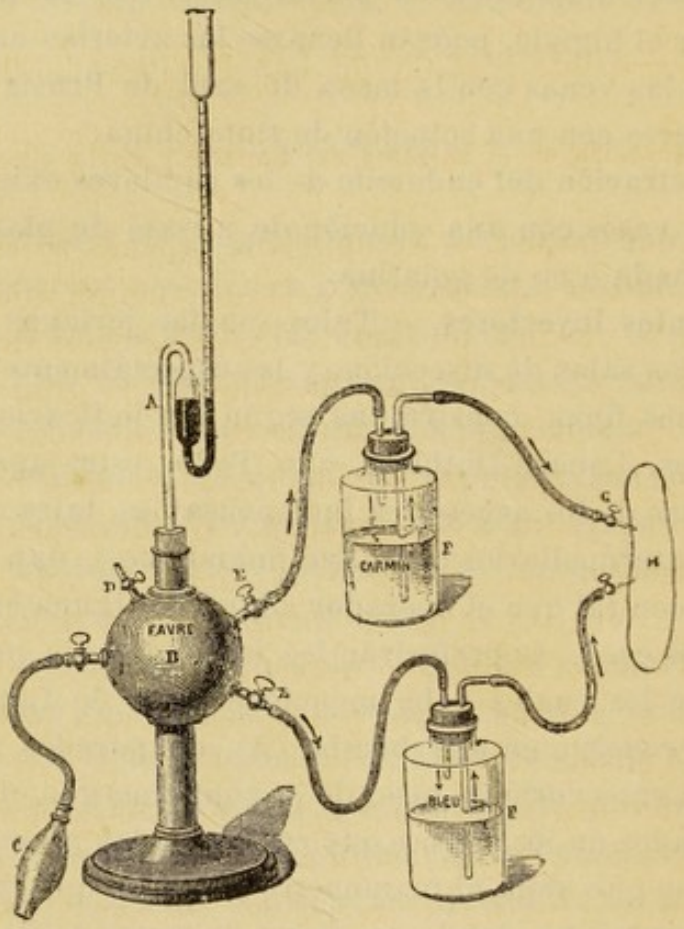


Fig. 42. — Aparato inyector de presión contínua: B, reservorio de aire; A, manómetro; C, pera de caoutchouc donde se hace la presión; F, frascos con las masas de inyección que se mantienen calientes á favor de un baño maría.

El endurecimiento se efectuará en alcohol, donde las piezas reducidas á pedazos no muy grandes (de 1 á 2 cent. cúb.), permanecerán de tres á cinco días. Los cortes serán algo espesos y se conservaran, sin previa coloración, en bálsamo del Canadá. Cuanto más transparente sea la preparación, más limpiamente resaltarán los capilares inyectados.

CAPÍTULO X

D.—CONSERVACIÓN DE LAS PREPARACIONES

Conservación en el bálsamo del Canadá y en la glicerina.

Bálsamo del Canadá. — Actualmente, apenas se emplea otra cosa que el *bálsamo del Canadá seco*, disuelto en xilol en cantidad tal que se obtenga un líquido de consistencia de jarabe espeso. La *resina d'Ammar*, disuelta también, á gran concentración, en xilol ó bencina, puede utilizarse en muchos casos. Cuando las soluciones resinosas son débiles, fórmanse burbujas de aire en los preparados, á consecuencia de la desecación y retracción del vehículo.

Todo corte debe, antes de ser incluído en el bálsamo, deshidratarse en alcohol absoluto ó muy fuerte, y aclararse en una esencia, que será la de clavo, cedro, bergamota, orégano, trementina ó el mismo xilol.

No es indiferente la elección de una esencia. Siempre que no haya inconveniente en *disolver la celoidina de un corte, la esencia preferida será la de clavos*, por dos razones : porque aclara rápidamente, y porque no abarquilla ni retrae los cortes. Para los cortes de piezas no incluídas, es decir, para las exclusivamente induradas en alcohol, será asimismo preferida.

Mas cuando *sea fuerza retener la celoidina, el aclarador soberano será la creosota*, substancia que goza de tres valiosas propiedades : no arruga los cortes, transparenta rápidamente y no disuelve la celoidina.

Los cortes *teñidos con las anilinas* se aclararán en las esencias que no disuelven estos colores, á saber : la de bergamota, trementina, xilol, etc. Su empleo exige perfectas deshidrataciones en el alcohol de 40°, ó absoluto.

Para mayor claridad, he aquí el orden de las operaciones del montaje en el bálsamo:

1.° Deshidratación de los cortes, que se pasarán, al efecto, por dos ó tres pocillos de porcelana llenos de alcohol de 40°.

2.° Rápida inmersión de los mismos en esencia de clavo, creosota ó bergamota, etc.

3.° Después de algunos minutos de permanencia, y cuando la transparencia de los cortes sea perfecta (las manchas opacas indican presencia de agua y hay que volver á deshidratar), se trasladan á un porta-objetos.

4.° El exceso de esencia se escurre del cristal, que permanecerá algunos minutos en posición oblícua. Con igual fin cabrá también enjugar los cortes con papel chupón bien limpio (1).

5.° Montaje en bálsamo disuelto en xilol.

Glicerina. — La *glicerina* como materia conservadora tiende á abandonarse, sucediendo lo mismo con la glicerina gelatinada, mezcla de Farrant, líquidos salinos, etc.

Toda preparación á la glicerina se altera tarde ó temprano; por lo cual la glicerina sólo debe servirnos para estudiar temporalmente ciertos preparados, cuyos finos detalles exigen, para su cómoda percepción, medios de menor índice de refracción que el bálsamo.

El montaje se hace de una de dos maneras: ó por el procedimiento de la célula y betún de Judea, ó por el del lacre y parafina.

Montaje y cierre al betún. — Comiénzase por trazar con betún semilíquido, sobre un porta-objetos, un círculo de cemento que se deja secar. Este círculo se hace con ayuda de un pequeño instrumento llamado *rueda giratoria*. El cemento más á propósito es una mezcla, á partes iguales, de betún de Judea disuelto en esencia de trementina, y del *Gold-size*, ó cemento de los doradores. Obtenido el círculo ó *célula*, se colocan en su centro la preparación y la glicerina; se cubren con una laminilla; se

(1) Si se emplea la creosota ó la esencia de clavos, convendrá, después de escurrida del porta-objetos, tratar rápidamente los cortes por el xilol; de este modo se evita el exceso de transparencia que un resto de aquellas substancias podría dar á la preparación.

aprietan para rechazar el excedente de vehículo, y, una vez limpio de glicerina el cubre-objetos, se hace en torno de éste otro círculo de betún. Yo suelo reforzar todavía esta cementación con otra que presta gran solidez al cierre; consiste el nuevo cemento en una mezcla de color al óleo para pintores (blanco de España, bermellón), con un barniz secante cualquiera ó con el mismo *Gold-size*, adicionado, para que tenga una consistencia apropiada, de unas gotas de esencia de trementina.

Montaje al lacre y parafina. — Este cierre preconizado por Ranvier y muy usado en nuestros laboratorios (López-García, Del Río, etc.), es también muy sólido. Colócase la preparación y glicerina en el porta-objetos, cúbrese el todo con una laminilla cuadrada ó cuadrilonga, y, limpio el excedente de vehículo, se practica, con parafina dura y con ayuda de un hierro candente, una primera cementación marginal. Solidificada la parafina, se pasa por el borde del cubre-objetos un pincel cargado de una solución espesa de lacre en alcohol.

El primer método de cierre y montaje conviene especialmente para los cubre-objetos redondos y las preparaciones deleznables que la menor presión pudiera destruir; el segundo método, más expeditivo, es más adecuado para los cubre-objetos cuadrados y las preparaciones extensas y poco vulnerables (1).

(1) La concisión que nos hemos impuesto, no nos consiente detalles técnicos, que se hallarán en las obras especiales. El lector que desee profundizar la técnica, deberá consultar las siguientes modernas obras:

Ranvier: Traité de technique d'histologie, Paris, 2.e edition, 1889 (obra clásica que conviene siempre consultar).
Latteux: Manuel de technique microscopique, 3.e edition, Paris 1891.
Carnoy: La Biologie cellulaire, Fasc. I, 1884.
H. Fol: Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie, 1885.
Bolles-Lee y Henneguy: Traité des methodes techniques de l'Anatomie microscopique (colección excelente y completa de métodos y fórmulas). Paris 1896, 2.ª edición.
Francotte: Manuel de technique microscopique, etc., Paris 1888 (libro muy práctico).
W. Behrens, A. Kossel, Schiefferdecker: Das Mikroskop und die Methoden der mikroskopischen Untersuchung. Braunschweig, 1889 (excelente resumen técnico).

MAESTRE-DE SAN JUAN: Tratado elemental de Histología normal y patológica, 2.ª edición, Madrid 1885.

H. VAN HEURCK: Le microscope, sa construction, son maniement, etc., 4.e édition considérablement augmentée, 1891 (excelente estudio del microscopio y sus accesorios).

W. BEHRENS: Tabellen zum Gebrauch beim mikroskopischen Arbeiten. Braunschweig, 1892 (formulario completo, equivalencias de pesos y medidas, con otras indicaciones indispensables en los laboratorios histológicos y bacteriológicos).

STÖHR: Lehrbuch der Histologie und der mikroskopischen Anatomie des Menschen mit Einschluss der mikroskopischen Technik, 5 Aufl. 1892, Jena (contiene un buen resumen técnico).

CARPENTER: The microscope and its revelations, 7.e edition, Philadelphia 1891 (edición notablemente aumentada y renovada por W. H. Dallinger).

VON SCWEIGER-LERCHENFELD: Das Mikroskop. Leitfaden der mikroskopischen Technik, etc., Leipzig 1892.

BOHM E OPPEL: Manuale di technica istologica. Trad. ital. con note ed aggiunte originali di G. Cao. Milano 1892 (es un buen resumen de técnica moderna).

GARBINI: Manuale per la technica moderna del microscopio nelle osservazioni istologiche, embriologiche, anatomiche, zoologiche, 3.e edicion. Milano 1891.

GAGE: The Microscope and Histology for the use of Laboratory studen, etcétera, 3.e edit., 1891. Ithaca.

ACQUA: Il microscopio, ossia guida elementare per le piu facili osservazioni di Microscopia. Milano 1893.

CAJAL: Manual de histología normal y técnica micrográfica, 2.ª edición, Valencia 1893.

DEL RIO Y LARA: Manual de técnica micrográfica general, con 208 grabados y fototipias. Madrid 1893 (excelente resumen de métodos y fórmulas).

RAWITZ: Leitfaden f. histologische Untersuchungen. Jena 1895.

SCHAFER: Practical Histology, 2.e edition. London 1897.

COLE: Methods of microscopical Researsch, etc., 2.e edition. London 1896.

DIPPEL: Das mikroscop und seine Anwondung. 2 Aufl. (Abtheil. I). Braunschweig 1896.

MANGIN: Precis de technique microscopique et bacteriologique. Paris 1896.

Algunos tratados de técnica de Anatomía patológica, serán también leídos con provecho ; *verbi gratia :*

Weischelbaum : Grundriss der pathologischen Histologie mit besonderer Berucksichtigung der Untersuchungen methodik. Leipzig, u. Wien 1892.

Kahlden : Technik der histologischen Untersuchung pathologisch-anatomischer Präparate. 2.e Auf., 1892 (notable colección de métodos y fórmulas).

O. Israel : Practicum der pathologische Histologie. 2.e Auflage. Berlin 1893.

Finalmente, las revistas periódicas siguientes, serán indispensables para los que quieran estar al tanto de los progresos de la técnica, y particularmente para aquellos que deseen consagrarse á investigaciones originales.

Zeitschrift für wissenschaffliche Mikroskopie und f. mikroskopische Technik. Publicado por W. J. Behrens. Editor: Herald Bruhn de Braunschweig. (Este es el mejor periódico de técnica que se conoce ; resume trimestralmente todos los trabajos técnicos é inserta una bibliografía completa).

L*a Cellule*, recueil de cytologie et d'histologie générale, publié par J. B. Carnoy, etc. Lierre et Louvain.

Internationale Monatschrift f. Anatomie und Physiologie. Publicado por Schäffer, Testut y Krause.

Le Micrografie préparateur. Journal mensuel de micrographie générale, etcétera. Publié par J. Tempère. Paris.

Anatomischer Anzeiger. Centralblatt f. die gesamte wissenschafliche Anatomie. Publicado por Karl Bardeleben. Jena. (Excelente y económico periódico quincenal donde aparecen resumidos casi todos los descubrimientos histológicos importantes).

Archiv. f. Anatomie und Entwickelungsgeschichte. Anat. Abtheil. des Arch. f. Anat. u. Physiol. Publicado por W. His. Leipzig.

Archives de Biologie. Publicados por E. van Beneden y C. Bambeke. Gand et Leizip.

Archiv. f. mikroskopischen Anatomie. Publicado por O. Hertwig, la Valette y W. Waldeyer. Berlin. (Publica magníficas monografías sobre puntos histológicos).

The Quarterly Journal of microscopical science. Editado por E. Lankaster, Adam Segdwick, etc. Londres.

Zeitscrift fur wissenschafliche Zoologie. Publicado por A. von Kölliker y E. Ehlers. Leipzig, Editor : Engelman.

Journal of the Royal Microscopical Society. Editado por F. Jeffery Bell, A. Bennet, R. G. Herb, etc. Londres y Edinburgo.

Archives ilaliennes de Biologie. Revues, resumés, reproductions des tra-

vaux scientifiques italiens. Publicado por A. Mosso. Turin. Editor: Hermann Loescher.

Mittheilungen aus der zoologischen Station zu Neapel. Publicado por M. Dorhn, director de dicha estación zoológica.

Journal de l'Anatomie, etc., publicado por Mathias Duval. Paris. Acan.

Bibliographie anatomique, publicado por A. Nicolás. Paris et Nancy. Berger-Levrault et C.^{e}

Archives d'Anatomie microscopique, publiés par E. Balbiani et L. Ranvier. Paris. Mason.

PARTE SEGUNDA

HISTOLOGÍA

CAPITULO PRIMERO

Concepto y división de la Histología ó Anatomía general.—Estequiología. Concepto y clasificación de los principios inmediatos.

La *Anatomía* ó *Morfología*, como muchos la llaman, es la ciencia biológica que trata de la materia y de la forma, tanto exterior como interior de los seres vivientes.

Esta ciencia, la primera de las que constituyen el grupo de las biológicas, alcanza tanta extensión, que ha sido forzoso dividirla en numerosas ramas, atendiendo unas veces al reino, grupo ó especie de los seres que investiga (anatomía vegetal, anatomía animal, anatomía humana, etc.), considerando otras el valor relativo y grado de generalidad de los hechos morfológicos que forman la materia de su estudio (anatomía descriptiva, general, comparada, etc.).

Pero entre las divisiones posibles, conforme á este último criterio, ninguna más importante que la de *Anatomía general* y *Anatomía descriptiva*.

No discrepan gran cosa estas dos ramas anatómicas por el objeto, sino por el método. La *Anatomía descriptiva* estudia las partes especiales á cada sér ó grupo de seres muy afines, aquellas disposiciones de estructura poco ó nada repetidas dentro de un mismo organismo, y que exigen, por no asemejarse apenas

entre sí, una descripción individual ; tales son : los *órganos*, los *aparatos* y el *organismo en conjunto.*

La *Anatomía general* investiga las partes comunes ó repetidas dentro de un mismo sér, y generales á muchos organismos, aquellas disposiciones de estructura que, según la feliz expresión de Bichat, una vez conocidas para una región del cuerpo, lo son también para las demás y aun para la mayor parte de los seres. Tales factores generales de construcción, son : los *principios inmediatos*, las *células* y los *tejidos.*

Un ejemplo aclarará todavía el concepto diferencial de estas dos ramas anatómicas. El estudio de los huesos puede hacerse de dos maneras : inquiriendo todas aquellas propiedades que los distinguen, tales como la forma, posición, magnitud, conexiones, etc., y éste es el método de la *Anatomía descriptiva ;* ó considerando solamente cuanto dichos órganos tienen de común, que no puede ser otra cosa que su materia (los principios inmediatos, osteína, sales, etc.) y su trama íntima (células óseas, conductos calcóforos, lagunas óseas, etc.), y este es el método de la *Anatomía general.*

Ya hemos dicho que estos factores comunes, estos resortes repetidos dentro del organismo y en gran parte extensivos á todos los seres vivientes (los principios inmediatos, las células y los tejidos), constituyen el sujeto de estudio de la Anatomía general, ciencia que no lleva el calificativo de *general* por versar sobre abstracciones ó generalidades, sino por ocuparse en la descripción de hechos generalizados.

No son en igual grado generales los conocimientos de esta ciencia. La materia (ó sean los principios inmediatos) es más general que la forma, y la forma elemental (células) aparece más extendida que la complicada (tejidos). Esta consideración de la decreciente generalidad de los hechos anatómicos, permite establecer el orden en que deben estudiarse las tres secciones de la Anatomía general ó histología : 1.°, los *principios inmediatos* ó *estequiología* (de στοιχεῖον, elemento, y λόγος, tratado); 2.°, los *elementos anatómicos* ó *citología* (de κύτος, célula, y λόγος, tratado) ; 3.°, los *tejidos* ó *histología* (ἱστός, tejido, y λόγος, tratado).

La extraordinaria importancia de los tejidos y un abuso de

lenguaje cada vez más extendido, han conducido á estimar como sinónimos las voces *histología* y *anatomía general*. Por consiguiente, la expresión *histología* significará unas veces la parte (histología propiamente dicha) y otras el todo (anatomía general).

Cediendo también á la tiranía de la costumbre, añadiremos, después de la sección histológica propiamente dicha, un capítulo sobre histología de los órganos, ó más propiamente *organografía micrográfica*, invadiendo de este modo el campo de la anatomía descriptiva.

La identidad de la técnica de indagación ha servido, á falta de otras razones, para aproximar, bajo la pluma de casi todos los autores, materias tan esencialmente distintas como la textura de los órganos ó partes especiales (terreno de la anatomía descriptiva) y la historia de los elementos ó partes generales (terreno de la anatomía general.

SECCION PRIMERA

CAPITULO PRIMERO

ESTEQUIOLOGÍA

Concepto de principio inmediato.—Clasificación de los principios inmediatos. Substancias inorgánicas.– Materias orgánicas del primer grupo.

La *estequiología* es la parte de la anatomía general que estudia los principios inmediatos.

Principios inmediatos. — Son aquellos cuerpos simples ó compuestos, separables por medios puramente físicos, y de cuya mezcla, en proporciones determinadas, están construídas las células y tejidos. Lo que caracteriza, por tanto, á los principios inmediatos, no es su naturaleza, pues los hay orgánicos é inorgánicos, ni su complejidad, pues los hay simples, como el oxígeno, y complicadísimos, como la albúmina, sino el doble atributo de ser cuerpos anatómicamente disociables, y de constituir la materia de que están modelados los seres vivientes.

Los elementos químicos de cuyas variadas combinaciones resultan los principios inmediatos, son : el carbono, hidrógeno, nitrógeno, oxígeno, azufre, fósforo, cloro, silicio, fluor, potasio, sodio, magnesio, litio, calcio, plomo, hierro, cobre y manganeso.

Muchos de los principios inmediatos, son comunes al reino orgánico y al inorgánico. Pero existe una categoría de cuerpos, generalmente de gran complejidad, que por encontrarse exclusivamente en los seres vivientes, llámanse *substancias orgánicas*.

En la molécula de estos cuerpos, entra, como factor principal, el carbono, cuya cualidad de tetra-atómico y la virtud que sus átomos poseen de combinarse entre sí, engendrando cadenas moleculares complejísimas, explican, en parte, la riqueza extraordinaria de los compuestos orgánicos.

Clasificación de los principios inmediatos. — No habiendo dilucidado todavía la fisiología el papel funcional desempeñado en la economía viviente por cada principio inmediato, no sería prudente adoptar una clasificación de base fisiológica; lo más raciocional es ordenar estos cuerpos, atendiendo á su naturaleza química y á su progresiva complejidad, como aparece en la siguiente clasificación que hemos tomado, modificándola ligeramente, del Dr. Maestre-De San Juan :

- **Materias minerales.**
  1. Cuerpos simples : oxígeno, nitrógeno.
  2. Acidos libres : ácido carbónico, clorhídrico, silícico.
  3. Bases libres : óxido de hierro, óxido de cobre, óxido de manganeso.
  4. Sales : fosfatos, cloruros, sulfatos y carbonatos.
  5. Agua (disolvente general).
- **Materias orgánicas.**
  - I grupo...
    - 1. Alcoholes. — Colesterina. Glicerina.
    - 2. Hidratos de carbono. — Glicógena. Dextrina. Glucosa. Inosita. Azúcar de leche.
    - 3. Acidos ...
      - Grasos..... — Acético, butírico. Cáprico, capréico. Oléico, esteárico. palmítico.
      - No nitrogenados..... — Láctico, glicólico. Succínico, oxálico, etc.
      - Nitrogenados. — Urico y sus derivados.
    - 4. Eteres de la glicerina. — Palmitina, oleína, estearina, etc.
    - 5. Amidas . — Urea.
    - 6. Acidos amídicos... — Creatina, creatinina, leucina, taurina, glicocola, ácido hipúrico, cistina.
  - II grupo. Albuminoides ó substancias protéicas.
    - 1. Albuminoides propiamente dichos..... — Albúmina, fibrina, miosina, vitelina, globulina, caseína, peptonas.
    - Substancias colágenas .. — Nucleína, plastina. Colágena. Acido condrótico. Osteína. Elastina. Keratina. Neuro-keratina. Mucina. Substancia coloide.
    - Materias colorantes.... — Hemoglobina, hemina, hematina, hematoidina, bilirubina, índican, melanina.
    - Fermentos .. — Diastasa, pepsina, pancreatina, invertina, etc.

MATERIAS INORGÁNICAS

Las *substancias inorgánicas ó minerales* entran en la constitución de todos los tejidos, guardando en cada uno de éstos, y en sus mezclas con los principios protéicos, proporciones bastante constantes. En general, dichas materias hállanse en estado de simple disolución ; no obstante, hay tejidos en donde es admisible una combinación de las mismas con determinados albuminoides. Tal sucede en los dientes y en los huesos, donde la osteína parece estar combinada con el fosfato y carbonato de cal.

Las proporciones relativas de materias minerales varían en cada tejido. El dentario y el óseo las encierran en grandes cantidades (huesos, 654,5 por 1000); mientras que los humores, y particularmente las glándulas, son muy pobres en tales principios (páncreas, bazo, de 3 á 4 por 1000).

Al 5 ó al 7 por 100 asciende la cantidad de materias minerales obtenida por incineración del cuerpo de los mamíferos; esta proporción, que acrece con la edad, sólo es en el feto del 1 por 100. Las tres cuartas partes del total de materias minerales, están representadas por la cal y el ácido fosfórico.

Cuerpos simples.—1.° *Oxígeno* (O^2).—Este gas yace en estado libre, disuelto en muchos líquidos orgánicos, en especial en el plasma sanguíneo y linfático ; en combinación floja forma parte de la oxihemoglobina.

El oxígeno es un factor indispensable, tanto en la vida vegetal como animal, pues, como es sabido, la combinación de las materias orgánicas con este gas desprende calor, y de esta fuerza provienen en definitiva todas las energías desplegadas por los tejidos vivos.

2.° *Nitrógeno* (N).—Hállase en estado libre en las vías aéreas y tubo digestivo, y en disolución habita en muchos humores.

Acidos libres.—*Acido carbónico* (CO^2).—Reside en el tubo digestivo, y sobre todo en el pulmón, donde es exhalado por la sangre venosa, que lo contiene en disolución. El ácido carbónico es uno de los productos de la oxidación de las materias carbonadas de los tejidos.

Acido clorhídrico (ClH). — Hállase en el jugo gástrico en proporción de 0,8 ó 0,9 por 1000 ; su oficio es coadyuvar á la disolución de las materias albuminoides coaguladas.

Acido silícico (SiO^2).—Reside en el cabello y en algunos líquidos orgánicos.

Bases libres. — Son : el *óxido de hierro* (FeO), que entra en la formación de la hemoglobina, bajo la forma de óxido férrico, y el *óxido de cobre* que se halla en la bilis.

Sales. — *a*) *Fosfatos.* — El *fosfato de cal básico* ($Ca^3Ph^2O^8$) reside en todos los tejidos, pero en particular en los huesos, en donde entra en proporción del 51 por 100. El *fosfato ácido de cal* ($Ph^2CaH^4O^8$) abunda en los humores, donde yace disuelto á favor de los ácidos. El *fosfato de magnesia* ($PhMg^3O^4$) reside en el timo y músculos, y acompaña al de cal en los huesos y dientes. El *fosfato amónico-magnesiano* ($MgNH^4Ph^4+6H^2O$) se presenta preferentemente en la orina y en todas las materias protéicas en descomposición (con desprendimiento de amoníaco). Cristaliza en prismas, cuya forma recuerda la de una tapa de ataud (figura 43). El *fosfato sódico*, con sus dos formas, neutro ($PhNa^3O^4$) y ácido ($PhNaH^2O^4$), figura en estado de disolución en todos los humores.

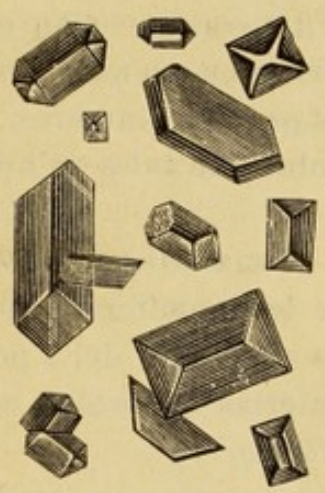


Fig. 43.—Cristales de fosfato amónico magnesiano (Kössel).

b) *Cloruros.*—*Cloruro de sodio* (NaCl).—Tiene su residencia en los tejidos y humores ; evalúase su cantidad total en 200 gramos (cuerpo humano). *Cloruro de potasio* (KCl) ; es menos abundante que el precedente. Hállase también en la saliva y jugo gástrico una débil proporción de *cloruro amónico* (NaH^4Cl).

c) *Sulfatos y sulfuros.* — Los *sulfatos alcalinos* residen en la sangre y demás humores, excepto la leche, el jugo gástrico y la bilis ; se eliminan por la orina. Los *hiposulfitos* alcalinos se han encontrado en la orina. El *sulfocianuro de potasio y sodio* habita en la saliva. El *sulfuro de hierro* en los excrementos.

d) Carbonatos.—El de cal ($CaCO^3$) habita en el fosfato de cal, en los dientes y huesos, así como en los humores. El *carbonato de sosa* (Na^2CO^3) reside en la sangre venosa.

Agua. — Cuerpo el más abundante del organismo, puesto que entra en la constitución de éste en proporción de 70 por 100. El agua es el disolvente general de las materias nutritivas y el vehículo de las substancias destinadas á la eliminación. Según Bischoff, el cuerpo de un hombre adulto contiene 415 partes de substancias sólidas y 585 de agua.

De tres maneras se encuentra el agua en los tejidos : como vehículo de substancias disueltas (sangre, linfa, secreciones), como líquido de imbibición destinado á mantener hinchados y en estado coloide los principios albuminoides, y como agua de combinación ó cristalización de ciertas moléculas orgánicas.

Procede el agua de los alimentos y bebidas. Además de este origen, que es el más general, se ha reconocido que dicho cuerpo puede engendrarse por combinación. En efecto, el hidrógeno de los albuminoides y grasas, se oxidaría como el carbono, y de esta combustión brotaría cierta cantidad de agua.

SUBSTANCIAS ORGÁNICAS DEL PRIMER GRUPO

Alcoholes. —Como es sabido, los alcoholes se engendran por la combinación de un carburo de hidrógeno con el oxhidrilo (OH). Por ejemplo : el alcohol metílico resulta de la unión de OH con el metilo (CH^3).

a) Alcohol ordinario ó etílico (C^2H^6O). — Aunque en cortísima cantidad, este alcohol podría hallarse en el organismo, no como resultado de la ingestión de bebidas alcohólicas, sino como producto de la fermentación intraorgánica de la glucosa (Béchamp, Blondeau).

b) Colesterina ($C^{26}H^{44}OH^2O$). — Es un alcohol levogiro, cristalizable, ya en finas agujas (colesterina anhidra), ya en tablas romboidales delgadísimas (colesterina hidratada); funde á 137°, es insoluble en agua y en los álcalis débiles, pero es soluble en las grasas, éter, cloroformo y bencina; reside en la bilis, sangre,

vitellus, cerebro, tubos nerviosos, etc. Por oxidación, engendra el *ácido colestérico* ($C^{8}H^{10}O^{5}$).

c) *Glicerina* ($C^{3}H^{8}O^{5}$).—Substancia siruposa, incolora, miscible al agua, insoluble en éter, cloroformo y esencias, pero soluble en alcohol; representa un alcohol triatómico, que se combina con los ácidos grasos para formar las grasas neutras (la *triestearina*, *tripalmitina*, *trioleína*, etc.).

Hidratos de carbono. — Estos cuerpos, que son muy afines de los alcoholes, han recibido la designación de *hidratos de carbono*, á causa de que su molécula encierra, en unión de varios átomos de carbono, otros de hidrógeno y oxígeno, precisamente asociados según la relación de los elementos del agua ($H^{2}O$). Así, la fórmula general de las glucosas es $C^{6}H^{12}O^{6}$.

Tocante á sus propiedades, son los hidratos de carbono substancias sólidas, blancas, inodoras, químicamente indiferentes, de sabor más ó menos dulce. Habitan en muchos órganos, pero prefieren el hígado y los músculos.

Los principales hidratos de carbono son: *Substancia glicógena* ($C^{6}H^{10}O^{5}$). Descubierta por Claudio Bernard en el hígado, se la halla igualmente en el ovario, cartílagos, músculos, etc. Es una materia blanquecina, amorfa, insoluble en alcohol, soluble en agua; precipita de sus soluciones por el ácido acético, tanino, etc.; se colora en rojo moreno por el iodo, y no reduce el licor cupro-potásico.

Dextrina.—Es dextrogira, es decir, que desvía la luz polarizada á la derecha ($=+138^{\circ}$), y se halla en el intestino, siendo el resultado de la acción de la diastasa salival sobre los amiláceos. —*Glucosas.* La principal es el *azúcar de uva* (*glicosa*, *dextrosa*), que reside, aunque en pequeñas proporciones, en la sangre y músculos, y se caracteriza por su poder rotatorio ($=+106^{\circ}$), por cristalizar, ya en mamelones, ya en agujas transparentes, y por reducir el licor cupro-potásico.—*Sacaridos.* Cuerpos que responden á la fórmula $C^{12}H^{22}O^{11}$, y cuyo representante principal es el *azúcar de leche* (lactosa), substancia cristalizable en primas oblícuos de cuatro facetas, levogira ($=+59^{\circ},3$), reductora del licor cupro-potásico y residente de manera exclusiva en la leche. — *Inosita* ($C^{6}H^{12}O^{6}$). Soluble en agua y alcohol, cristalizable en

láminas brillantes, y habitante en el corazón, pulmones, riñones, bazo, etc.

Acidos orgánicos. — *a*) *Acidos grasos*. — Casi todos los ácidos grasos se hallan combinados con la glicerina, constituyendo las grasas neutras del tejido adiposo, nervioso y de las glándulas sebáceas y mamarias. Su fórmula general es $C^nH^{2n-1}O$ (HO).

En el organismo del hombre sólo se encuentra un corto número de ácidos grasos: el *esteárico* ($C^{18}H^{36}O^2$) y el *palmítico* ($C^{16}H^{32}O^2$), ambos pertenecientes á la *serie acética;* y el *oleico* ($C^{18}H^{34}O^2$), único representante de la *serie oleica*.

Acido oleico.—Es de consistencia líquida, solidificable á—4° y neutro al papel de tornasol. Forma con la glicerina la *trioleina*.—*Acido palmítico*. Cristaliza en escamas, funde á los 62°, y constituye, con la glicerina, la *tripalmitina*. — *Acido esteárico*. Cristaliza en agujas nacaradas microscópicas, funde á 69°,2, es soluble en cloroformo y éter, y engendra, en unión de la glicerina, la *triestearina*.

b) *Acidos no nitrogenados*, ó de la serie oxálica y glicólica.—*Serie oxálica*. Su fórmula general es $C^nH^{2n-6}O^4$. Dimanan los ácidos de esta serie, por oxidación, de los ácidos grasos, de los cuales un átomo de hidrógeno ha sido sustituído por OH.—*Acido oxálico* $(C^2H^2O)^4$. Es una substancia sólida, cristalizable, que funde á 98°, y se descompone fácilmente por el calor, engendrando ácido carbónico, agua y óxido de carbono. Existe normalmente en la orina combinado á la cal, es decir, formando el *oxalato de cal*, sal insoluble en agua, cristalizable, ora en octaedros (forma de sobre de cartas), ora en figura de reloj de arena con cabos redondeados (fig. 44).—*Acido sucínico* ($C^4H^6O^4$). Substancia cristalizable en prismas exagonales, solubles en agua

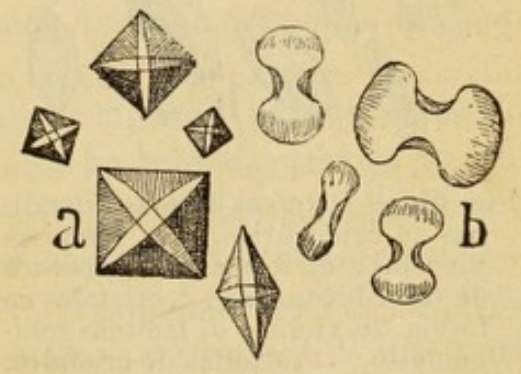


Fig. 44. — Cristales de oxalato de cal. — *a*, cristales octaédricos; *b*, cristales en forma de reloj de arena.

y alcohol. Hállase en pequeñas cantidades en la orina, hígado, timo, bazo y cuerpo tiroides.

Acidos de la serie glicólica.—Responden á la fórmula $C^nH^{2n}O^3$, y son ácidos diatómicos monobásicos, derivados de los de la serie acética mediante la sustitución de un átomo de H por el hidróxilo (OH).—*Acido glicólico* ($C^2H^2O^3$). No reside en el organismo, pero sí un derivado suyo, la *glicocola ó glicina*, que habita en la bilis bajo la forma del *ácido conjugado glicocólico.*—*Acido láctico* ($C^3H^6O^3$). Habita en el organismo, revistiendo dos formas isoméricas : 1.° El *ácido etilidenoláctico*, del que se conocen las dos variedades : *ácido sarcoláctico*, residente en los músculos, y el *láctico* propiamente dicho, engendrado por fermentación de la leche, y que se encuentra en el jugo gástrico. 2.° El *ácido etilenoláctico*, yacente en los músculos, y suscitado comunmente por la fermentación de la inosita.

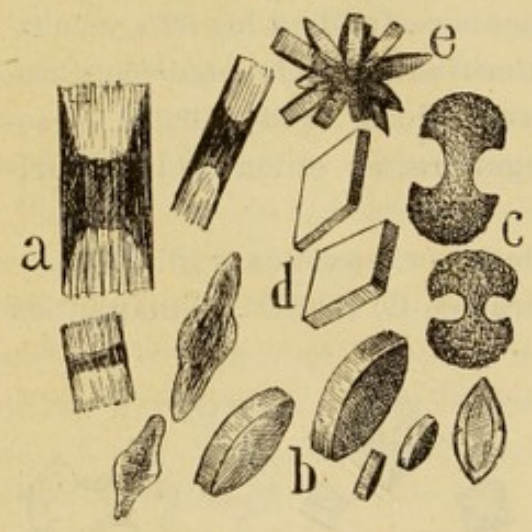


Fig. 45. — Diversas formas cristalinas de ácido úrico. — *a*, forma en pinceles ; *b*, forma en segmentos de lente biconvexa ; *c*, cristales en forma de violín ; *d*, láminas romboidales ; *e*, estrellas de cristales.

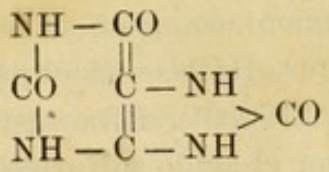
c) *Acido úrico y sus derivados.*—*Acido úrico* ($C^5H^4N^4O^3$). Es un cuerpo incoloro cuando puro, teñido en rojo café cuando impuro, que se obtiene de la orina, descomponiendo, á beneficio del ácido hidroclórico, los uratos de sosa, cal y magnesia. El precipitado rojizo así logrado, es ácido úrico impuro cristalizado en segmentos de lente biconvexa, ó en láminas romboidales de ángulos redondeados. Este ácido es poco soluble en agua, más soluble en glicerina y ácido sulfúrico. Mezclando, en un vidrio de reloj, una pequeña porción de este cuerpo con ácido nítrico, y calentando después hasta sequedad, se forma una mancha amarilla, que se transforma en azul violada en cuanto se trata por la sosa ó potasa. Esta es la reacción llamada de la *murexida*.

Como se ve, pues, el ácido úrico no se halla libre en la orina, sino combinado con la sosa, constituyendo principalmente el *urato ácido de sosa*. A este cuerpo es debida la reacción ácida normal de dicho líquido, el cual, algunas horas después de expulsado, se torna alcalino, por consecuencia de la fermentación amoniacal de la urea (producción de carbonato de amoníaco).

La constitución estructural ó fórmula racional del ácido úrico, dista mucho de ser bien conocida.

Las fórmulas dadas por Baeyer, Erlenmayer, Mulder, Strecker y Medicus, explican bastante bien las reacciones, pero ninguna puede aceptarse como positiva.

La siguiente, imaginada por Musculus, le parece muy verosímil á Beaunis.



Alantoína ($C^4H^6N^4C^3$).—Substancia incolora cristalizable en prismas romboédricos, poco solubles en agua, más en los álcalis. Prodúcese por oxidación del ácido úrico en presencia del permanganato de potasa.

Guanina ($C^5H^5NO^9$).—Existe en el hígado y páncreas. Insoluble en el alcohol y éter. Se disuelve en ácidos y álcalis. Su origen se refiere á la descomposición de la nucleína.— *Xantina é hipoxantina*. Encuéntranse estos cuerpos en la orina y en muchos tejidos.—*Carnina* ($C^7H^8N^4O^3$). Forma parte de los músculos, y figura en el extracto de carne.— *Aloxana* ($C^4H^2N^2O^4$). No habita en el organismo, pero sí uno de los productos de descomposición de la misma, el *ácido oxalúrico*, que ha sido hallado en la orina.

c) **Amidas.** — Son resultado de la desasimilación de las materias albuminoides. Figuran constantemente en los tejidos y líquidos excrementicios, y poseen una composición cuaternaria.

Urea (CH^4N^2O). — Habita en la sangre, pero sobre todo en la orina, en cuya composición entra en proporción de 2 ó 3 por 100.

Es un cuerpo incoloro, neutro, cristalizable en prismas de cuatro facetas acabados por planos oblícuos. Se disuelve perfectamente en agua y alcohol, pero no en el éter. Combínase predilectamente con los ácidos nítrico y oxálico, constituyendo las sales *nitrato* y *oxalalo de urea*. Créese que la urea proviene del ácido carbónico (no debe confundirse con el anhídrido, CO^2), ácido teórico (CH^2O^3) que no ha sido aislado aún, y del cual dos oxhidrilos (OH) serían sustituídos por NH^2.

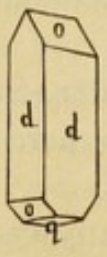


Fig. 46.—Forma ideal de los cristales de urea (Kössel).

d) **Ácidos amídicos**. — Son cuerpos azoados que poseen el doble carácter de ser ácidos y bases débiles.—*Leucina* ($C^6H^{13}NO^2$). Substancia cristalizable en laminillas nacaradas, á veces agrupadas en estrellas, soluble en agua y en amoníaco, poco soluble en alcohol y nada en éter. Hállase en el páncreas, hígado, riñones, etc.—*Glicocola* ($C^2H^5NO^2$). Esta sustancia, que se obtiene tratando la gelatina por el ácido sulfúrico, cristaliza en prismas romboédricos, de sabor azucarado, solubles en agua, casi insolubles en éter y alcohol. — *Acido hipúrico* ($C^9H^9NO^3$). Se extrae de la orina del caballo, y cristaliza en prismas cuadrangulares, terminados por dos facetas oblícuas.—*Butalanina* ($C^5H^{11}NO^2$). Cristaliza en agujas prismáticas, incoloras. Según Gorup-Besanez, reside en el páncreas y bazo. Pueden considerarse también como ácidos amídicos la *creatina* ($C^4H^9N^3O^2$), residente en el cerebro, músculos y sangre, soluble en agua, insoluble en alcohol y éter, cristalizable en prismas romboidales; la *creatinina* ($C^4H^7N^3O$), substancia de reacción alcalina, cristalizable en prismas rombóideos oblícuos, soluble en agua y habitante en los músculos, orina, etc. Citemos aún : la *cistina* ($C^3H^7NSO^2$), que difiere de los cuerpos anteriores por contener azufre; la *taurina* ($C^2H^7NSO^3$), parecida á la anterior y residente en el intestino; la *tirosina* ($C^9H^{11}NO^3$), producto de descomposición de las materias albuminoides (algunos autores la incluyen en las substancias aromáticas) y que reside en el páncreas, hígado, bazo, timo, etcétera.

e) **Éteres de la glicerina**. — Son combinaciones de los ácidos

grasos con la glicerina; las principales son: la *tripalmitina*, la *trioleína* y la *triestearina*. Las grasas neutras son incoloras, sin olor ni sabor, con reacción alcalina, insolubles en agua, pero solubles en la bencina, éter, alcohol hirviente, etc. En presencia de las bases, forman jabones, combinándose el ácido graso con aquéllas y quedando la glicerina en libertad. Residen las grasas neutras en las células adiposas, tubos nerviosos y productos de las glándulas sebáceas y mamarias.

Lecitina ($C^{44}H^{90}NPhO^{8}$). Substancia fosforada que se considera como un *fosfoglicerato de neurina*, puesto que da por descomposición el ácido *fosfoglicérico* (combinación de la glicerina y ácido fosfórico) y la *colina* ó *neurina* ($C^{5}H^{15}NO^{2}$). Existe la lecitina en el tejido nervioso, hematíes, cristalino, zoospermos, bilis, etc. Cuando pura, se presenta blanca, apenas cristalizable; en el agua se hincha, formando grumos globulosos; es soluble en las grasas, cloroformo, bencina, sulfuro de carbono etcétera. Tiene de común con las grasas la propiedad de eliminar glicerina por la saponificación.

CAPÍTULO II

SUBSTANCIAS PROTÉICAS

Propiedades generales de los albuminoides. Albuminoides propiamente dichos. Substancias colágenas. Materias colorantes y fermentos.

Son los más importantes factores de construcción de los tejidos, localizándose preferentemente en el interior de las células. Su composición es muy compleja, pues constan de O,H,N,C y S. No se conoce del todo la naturaleza y el número de las especies protéicas; lo que se debe á sus rápidas metamórfosis, á sus estados isoméricos y á la dificultad de aislarlas sin hacerlas sufrir ninguna descomposición.

Propiedades generales de las materias albuminoides. — Estas substancias pertenecen al grupo de las coloides de Graham, son amorfas y desvían la luz polarizada á la izquierda. Afectan dos estados: el *líquido* que muchos consideran, no como una disolución, sino como una hinchazón de la molécula albuminoide en presencia del agua; el *insoluble* ó *coagulado*.

Reina mucha incertidumbre tocante á la fórmula estructural de los albuminoides. Dáse, no obstante, por verosímil, que la molécula de la albúmina es de gran dimensión y entraña varios grupos atómicos pertenecientes unos á la serie grasa, otros á la aromática (Landois). Beaunis imagina la molécula albuminoide compuesta de la agregación de tres grupos atómicos: el núcleo azoado ANH; el hidrocarbonado HCOH ó el graso CH^2; y el núcleo aromático C^6H^4, á los cuales podrían todavía asociarse otros radicales accesorios. Esta estructura explicaría las descomposiciones de la albúmina, así como sus reacciones principales.

En cuanto á la composición centesimal, sería, según Würtz: Carbono, 52,7 á 54,5; hidrógeno, 6,9 á 7,3; nitrógeno, 15,4 á 17,0; oxígeno, 20,9 á 23,5; azufre, 0,8 á 2,2.

He aquí las propiedades generales y reacciones de los albuminoides :

Coagulación. — Coagúlanse los albuminoides disueltos bajo la influencia del calor y del alcohol. El mismo efecto provocan los ácidos minerales concentrados, el tanino, el ácido pícrico, el bicloruro de mercurio y el acetato de plomo. El ácido acético puro no los precipita, excepto la caseína y sintonina ; pero la mezcla de dicho ácido con el ferrocianuro potásico, es un buen precipitante.

Disolución. — Algunos albuminoides son solubles en los líquidos orgánicos ; pero los más deben su solución á la presencia de sales (cloruro de sodio, etc.), ó la de materias alcalinas. Las legías de sosa y potasa disuelven las materias protéicas, engendrando lo que se llama *albuminatos alcalinos.* A favor de la digestión pépsica y tripsica, los albuminoides insolubles se hacen solubles (peptonas).

Reacciones. — 1.° *Reacción de Millon :* Calentados los albuminoides en presencia del nitrato mercurioso, adquieren un matiz rojo intenso. 2.° *Reacción xantoprotéica*: la solución de un albuminoide adicionada de ácido nítrico, adquiere por la ebullición color amarillento, que pasa á rojo naranja si se añade amoníaco. 3.° *Reacción de Fröhde :* el ácido sulfúrico mezclado con el molibdico, tiñe los albuminoides coagulados en azul. 4.° *Reacción de Adamkiewitz :* los albuminoides disueltos en ácido acético, toman color violado si se tratan por el ácido sulfúrico fuerte. 5.° *Reacción de Axenfield :* una gota de ácido fórmico, más tres gotas de cloruro de oro al 1 por 100, mezcladas á un líquido albuminoide, producen un color rosa que pasa á púrpura, acabando por suscitarse un precipitado azul intenso.

Divídense las substancias protéicas en *albuminoides propiamente dichas, materias colágenas* ó derivados albuminoides, *substancias colorantes* y *fermentos.*

Albúminas. — *Serum-albúmina.* — Llamada así por hallarse disuelta en el suero de la sangre y linfa, es una substancia amorfa, soluble en agua, coagulable por el calor, ácidos minerales y sales metálicas. Sus soluciones son alcalinas y desvían la luz polarizada á la izquierda. Su propiedad de coagular por

el calor (70°), se debe á las sales que la acompañan; privada de ellas, no coagula.—*Albúmina del huevo.* Es semejante á la anterior, de la que se distingue por precipitar más fácilmente por el calor, por tener menor poder rotatorio (= — 35,5, cuando el de la serum-albúmina es = — 56°), y por ser dialisable ó exudable cuando se inyecta en los vasos (la albúmina del suero no es exudable). — *Albúmina muscular.* Es parecida á la de la sangre, á excepción de su punto de coagulación por el calor, que es de 47°. *Alcali-albúminas.* Tratada la albúmina por la sosa, potasa, barita, etc., fórmanse combinaciones que han tomado el nombre de *albuminatos alcalinos.* Estos cuerpos son solubles en agua, precipitables por los ácidos, pero no por el calor.— *Acidalbúminas.* En presencia del ácido hidroclórico, la albúmina se transforma en una materia soluble en agua clorhídrica, insoluble en los líquidos neutros y precipitable por los álcalis.

Fibrina. — Trátase de una materia sólida, blanco-amarillenta, dispuesta en redes de hebras microscópicas, y la cual constituye la mayor parte del coágulo de la sangre y linfa. Se acepta como probable que semejante principio no preexiste en el plasma sanguíneo, sino que se engendra en el momento de la coagulación, á favor de la combinación de dos albuminoides preexistentes : la *fibrinógena* y un *fermento* residente en los leucocitos (*trombina*). Las sales de cal coadyuvarían también al acto de la coagulación.

Globulinas. — Son albuminoides solubles en la solución de cloruro de sodio, insolubles en agua, coagulables á 75°, y transformables en acida-albúmina mediante los ácidos diluídos.—*Globulina del cristalino y de los hematíes.* Albuminoide no coagulable espontáneamente, pero sí bajo la influencia del calor y á una temperatura superior á la de la albúmina.—*Paraglobulina ó fibrino-plástica.* Albuminoide resistente en el plasma de la sangre, insoluble en agua pura, soluble en el agua carbónica, y en el cloruro de sodio, del cual es precipitada por una temperatura de 75°. Precipitan sus soluciones por el sulfato de magnesia. Según Hammarsten, la proporción de fibrino-plástica de la sangre, subiría al 3 por 100.—*Fibrinógena.* Es muy semejante á la anterior, y reside también en el plasma sanguíneo, en el linfático, en la serosidad del hidrocele, pericardio, etc. Coagula de 52

á 56° y precipita completamente por las soluciones fuertes de cloruro de sodio, lo que no ocurre con la fibrino-plástica.

Miosina. — Substancia que forma una parte de la materia birefringente del músculo, del cual se extrae por presión. Coagúlase espontáneamente después de la muerte, lo que suscita el fenómeno de la rigidez cadavérica. Disuélvese en las soluciones concentradas de cloruro de sodio, coagula á 55° y descompone en frío el agua oxigenada. Es soluble en las soluciones de cloruro amónico, propiedad que se aprovecha para extraer la miosina del músculo fresco.

Caseína.—Reside en la leche, á la cual da la propiedad de ser coagulable por los ácidos y por el fermento del *cuajo* de los rumiantes. Contiene fósforo, circunstancia que la aproxima á la nucleína. Es insoluble en agua pura, pero no en la leche, donde se mantiene en estado líquido, gracias al fosfato de potasa. Enrojece el papel de tornasol.

Peptonas. — Son el resultado de la acción de los fermentos digestivos sobre las materias albuminoides coaguladas ó en estado de semifluidez. Se discute todavía el número y cualidades de las peptonas.

En general, se trata de cuerpos amorfos, transparentes, que, cuando recientemente precipitados, se liquidan á temperatura de 80 á 90°, para volver á solidificarse como las soluciones de gelatina al enfriarse. Las peptonas son dialisables, incoagulables por el calor, fácilmente solubles en agua, imprecipitables en soluciones débiles por el ácido nítrico, así como por el alcohol y el sulfato de cobre ; pero precipitables por el bicloruro de mercurio, el tanino, el acetato de plomo, etc. Conócense varias especies de peptonas, entre ellas, las *peptonas* A, B y C de Miescher ; la *propeptona* de Schmidt-Müldheim ; los grupos de *antipeptonas* y *hemipeptonas* de Kühne, etc. Estos cuerpos, que abundan en el tubo digestivo y sangre, son estudiados minuciosamente por la química biológica ; ellos representan la matriz de todas las materias protéicas del organismo.

DERIVADOS DE LOS ALBUMINOIDES

Nucleína. — Este cuerpo, que encierra ácido fosfórico, reside especialmente en el armazón cromático de los núcleos ; se hincha en el agua sin disolverse ; es soluble en los álcalis diluídos y en los ácidos fuertes, pero insoluble en los flojos (acético, fórmico, etc.). El cloruro de sodio al 10 por 100, lo transforma en masa difluente. Según Kössel, la nucleína es una combinación de la albúmina con el *ácido nucléico*.

Plastina.—Materia albuminoide sólida, residente en el retículo ó espongioplasma del cuerpo celular. Es insoluble en ácido hidroclórico diluído, agua, alcohol, éter y cloruro de sodio al 10 por 100. Resiste á la acción de las bases y jugo gástrico artificial, pero llega á disolverse en el ácido clorhídrico concentrado.

Linina, *paralinina*, *pirenina*, *anfipirenina*, son derivados albuminoides no bien conocidos todavía, que residen respectivamente en el armazón acromático, jugo interfibrilar, nucleolos verdaderos y membrana acromática de los núcleos. En la química celular hablaremos de ellos.

Colágena. — Así llamada por engendrar jalea por la cocción ; reside en el tejido óseo y conectivo. La *gelatina* en que dicha substancia se convierte por la ebullición, es una materia incoagulable por el calor, soluble en agua caliente y precipitable por el cloruro mercúrico, tanino, ácido metafosfórico, etc. Su poder rotatorio es = — 130°.

Condrina.—Habita en la materia fundamental del cartílago y tejido de la córnea. Discrepa de la gelatina por precipitar por los ácidos, el nitrato de plata, el sulfato de hierro, etc. Recientes experimentos de Mörner, Kössel, etc., parecen demostrar que la condrina no es una individualidad química, sino el producto de la unión del *ácido condrótico*, con la albúmina y álcalis. El poder rotatorio de la condrina es = — 213°.

Elastina.—Materia caracterizada por su gran resistencia á los ácidos y á los álcalis; reside en las fibras y membranas elásticas. Según Horbaczewski, la elastina es digestible por la pepsina y ácido hidroclórico, desdoblándose en dos materias : la *peptona* de la *elastina* y la *hemielastina*.

Keratina.—Es un cuerpo también muy resistente á los reactivos que reside en los pelos, uñas y epidermis córneo. Insoluble en agua y alcohol, se disuelve en caliente en los álcalis cáusticos. El ácido sulfúrico hincha la keratina y acaba por descomponerla, dejando en libertad cierta cantidad de leucina y tirosina.

Neurokeratina.—Por el método de las digestiones histológicas, Kühne y Ewald han aislado un cuerpo insoluble en frío, en potasa y ácido sulfúrico, é inatacable además en la pepsina y tripsina. La semejanza de propiedades que este cuerpo tiene con la keratina y el hecho de hallarse exclusivamente en los tubos nerviosos, le han valido el nombre de *neurokeratina*.

Mucina.—Así se califica la materia mucilaginosa característica del moco y de la sinovia; se encuentra también en el interior de las células caliciformes del intestino y glándulas, así como en la materia fundamental del tejido conectivo embrionario. No es soluble en agua, pero se hincha en este líquido, revistiendo aspecto gelatinoso. Precipita en copos por el alcohol, y, por el ácido acético, en una materia viscosa, que se deja estirar en hebras. Un exceso de este último reactivo la redisuelve.

SUBSTANCIAS COLORANTES

Hemoglobina.—Constituye la materia colorante de los glóbulos rojos, y quizás también la de las fibras musculares estriadas. Su composición centesimal es, según Hüfner, $C^{54,71}—H^{7,38}—^{17,43}—S^{0,479}—Fe^{0,399}—O^{19,602}$; pero su fórmula de estructura es desconocida. La hemoglobina es el único albuminoide cristalizable, ofreciendo la particularidad de no cristalizar con igual facilidad, ni bajo las mismas formas geométricas, en todos los vertebrados. Así, en el hombre, cristaliza en láminas y prismas romboidales; en el conejo de Indias, en tetraedros, y en la ardilla en láminas exagonales. La hemoglobina es soluble en agua, insoluble en cloroformo, éter y alcohol. Vista al espectroscopio, exhibe dos bandas de absorción entre la raya *D* y *E* (oxihemoglobina).

La hemoglobina se halla en el organismo en dos estados : en

la sangre arterial aparece combinada con el oxígeno (*arterina* ú *oxihemoglobina*), y en la sangre venosa yace en estado de reducción (*flebina* ó *hemoglobina reducida*). Esta última exhibe al espectroscopio, entre las rayas *D* y *E*, una sola banda obscura *banda de reducción* de Stokes).

Hematina ($C^{25}H^{32}N^4FeO^4$).— Es una materia morena, incristalizable, que se considera como resultado del desdoblamiento de la oxihemoglobina. Insoluble en agua, alcohol y éter, goza de solubilidad en los álcalis y en el alcohol mezclado con ácido sulfúrico. Hay varias especies de hematinas: la *hematina ácida*, la *alcalina*, la *reducida*, etc.

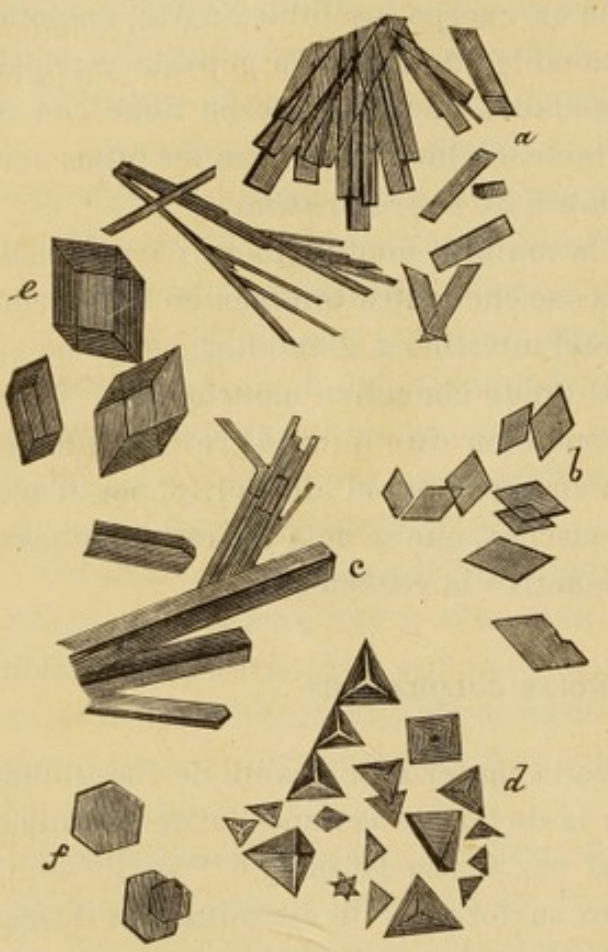


Fig. 47.—Cristales de hemoglobina.—*a* y *b*, cristales de la sangre venosa del hombre; *c*, cristales de la sangre del gato; *d*, del conejillo de Indias; *e*, del castor; *f*, de la ardilla (según Frey).

Hemina ó clorhidrato de hematina ($C^{32}H^{31}ClN^4F^3$). — Es otro derivado de la hemoglobina, que se presenta al microscopio bajo la forma de cristales finos color café obscuro, insolubles en agua y alcohol, solubles en los álcalis y en ácido nítrico y sulfúrico hirviente. Dichos cristales, que son dicróicos y birefringentes, afectan la figura de láminas romboédricas alargadas, á menudo dispuestas en estrellas. Se obtiene la hemina diluyendo una gota de sangre ó una costra sanguínea seca, á favor del ácido acético, y en presencia de una pequeña cantidad de uclorro de sodio. Después de evaporar á un suave calor, el exa-

men micrográfico denuncia en la masa sanguínea desecada los cristales característicos del clorhidrato de hematina. Este proceder tiene suma importancia en medicina legal, pues permite identificar las manchas de sangre.

Hematoidina ($C^{17}H^{18}N^2O^3$). — Cuando la sangre se extravasa y permanece secuestrada largo tiempo en el tejido conectivo, fórmanse, á expensas de la hemoglobina, unos cristales de color rojo naranja, de forma de tablas romboidales, solubles en cloroformo y sulfuro de carbono, pero insolubles en agua. La hematoidina carece de hierro. Muchos autores la identifican con la bilirubina.

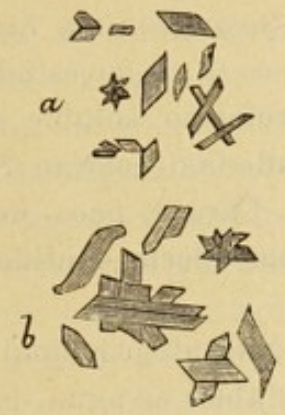


Fig. 48. — Cristales de hemina ó clorhidrato de hematina: *a*, del hombre; *b*, del cordero (Landois).



Fig. 49. — Cristales de hematoidina (Frey).

Bilirubina ($C^{32}H^{36}N^4O^6$). — La bilis recién segregada contiene una materia anaranjada, insoluble en agua, pero soluble en cloroformo, y cristalizable en prismas clinoromboédricos. Por oxidación pasa la *bilirubina*, que es el cuerpo á que nos referimos, á *biliverdina*, substancia colorante de la bilis verde, es decir, de la que se ha modificado ó por acción del aire, ó por haber permanecido mucho tiempo en la vejiga. La *biliverdina* ($C^{32}H^{36}N^4O^8$) es muy soluble en alcohol é insoluble en cloroformo.

Existe una reacción característica de la materia colorante biliar: si en una solución de bilirubina ó biliverdina se echan unas gotas de ácido nítrico adicionado de una pequeña cantidad de ácido nitroso, aparece, en el punto de contacto de ambos líqui-

dos, un anillo verde, por bajo del cual, y en el espesor del licor ensayado, se suceden otros en el orden siguiente : azul, violado, rojo y amarillo (reacción de Gmelin). Un efecto parecido producen las mezclas de ácido sulfúrico y nítrico, así como la del ácido sulfúrico y nitrato de sosa. Créese que la bilirubina dimana de la materia colorante de la sangre.

Melanina.—Así se llama una materia amorfa ó granulosa, de color moreno negruzco, residente en el pelo, en la capa epitelial de la retina, en la coroides y en ciertos corpúsculos melánicos emigrantes del cuerpo de Malpigio. No habiendo sido aislada de un modo completo, existe cierta vaguedad en los caracteres asignados por los químicos á dicha substancia. Considérase probable la existencia de varias melaninas (*uromelanina*, *hipomelanina*, *fuscina*, etc.). La del pelo, que es la mejor estudiada, es insoluble en agua, alcohol, éter y cloroformo, soluble en los álcalis. El agua clorada y el agua oxigenada la decoloran. Según Hosaeus, su fórmula sería $C^{442}H^{5}N^{9'9}O^{426}$. Carece, pues, de hierro, y según otros autores, podría contener cierta cantidad de azufre.

Indican ($C^{8}H^{6}KNSO^{4}$).—Es la materia colorante principal de la orina. Cristaliza en láminas brillantes, solubles en agua, insolubles en alcohol. Del índican proviene la *indigotina* ($C^{8}H^{5}NO$), substancia cristalina, de color azul obscuro, insoluble en agua y álcalis diluídos, pero solubles en cloroformo y ácido sulfúrico. Para transformar el índican en indigotina, no hay más que calentar, en contacto del aire, una solución de aquel cuerpo. Esta transformación ocurre también en las soluciones alcalinas de índican expuestas al aire.

Rodopsina. — Substancia purpúrea residente en los artículos externos de los bastoncitos de la retina. Su propiedad más notable consiste en palidecer bajo la influencia de la luz y regenerarse en la obscuridad. Es soluble en el agua y en la bilis ; los ácidos, el alcohol y los álcalis, la decoloran.

FERMENTOS SOLUBLES

Los *fermentos* se dividen en *fermentos amorfos ó solubles* y *fermentos figurados ú organizados*.

Los *fermentos figurados* están representados por ciertos vegetales microscópicos, tales como el *cryptococcus cerevisiæ*, el *micoderma aceti*, el *bacillus lacticus*, el *butiricus*, etc., cuya vida y multiplicación en los líquidos orgánicos que les sirven de campo de cultivo, constituyen la condición indispensable de la fermentación. La destrucción de estos micro-organismos suspende inmediatamente el fenómeno ; igual resultado se obtiene separando el fermento figurado, á beneficio de una membrana animal, del terreno fermentescible.

Según Pasteur, al cual se deben las principales pruebas de la teoría fisiológica de la fermentación, este proceso estaría íntimamente ligado á la vida sin aire, es decir, á la de ciertas bacterias llamadas *anaerobias*, porque no necesitan para vivir del concurso del aire atmosférico. Estos microfitos, que pululan por la atmósfera, se pondrían en contacto con los líquidos fermentescibles y, substrayendo el oxígeno de los compuestos orgánicos, suscitarían desdoblamientos cuyo término sería la producción de cuerpos de reducción (producción de alcohol en la fermentación del mosto, de ácido butírico ó láctico en las ocasionadas por el *bacillus lacticus* y el *butiricus*, etc.). Semejantes transformaciones ocurrirían, al menos en muchos casos, de un modo inmediato, es decir, sin el concurso de fermentos solubles segregados por los microfitos ; pues si bien es cierto que los microbios son capaces de producir diastasas á la manera de las células glandulares, sírvenles para disolver y asimilar las substancias del medio, no para engendrar el producto principal de la fermentación, que podría, según Bechamp, compararse á las materias de desasimilación de los organismos superiores (urea, uratos, ácido carbónico, etc.).

Con todo, no faltan sabios que, sin negar el concurso de los micro-organismos y las diferencias que en punto á complejidad de productos separan ambas especies de fermentación, defienden

la doctrina de la unidad substancial del proceso. Este vendría á ser siempre provocado por la acción química de los fermentos solubles, importando poco para la esencia del fenómeno que las substancias activas sean segregadas por organismos elevados (células glandulares), ó por seres unicelulares (levaduras, microbios). En todo caso, habría una materia-fermento, intermediaria al corpúsculo secretor y al líquido fermentescible. El microbio sería incapaz, por el mero hecho de nutrirse, de introducir modificaciones importantes en el medio.

Tal es la doctrina que profesan Berthelot, Hoppe-Seyler, etc., y la cual, justo es decirlo, halla poderoso apoyo en las modernas investigaciones sobre la biología de los micro-organismos saprofitos y patógenos, en muchos de los cuales ha sido dado hallar diversos *encymas*, comparables á los fermentos digestivos de los animales superiores. Con todo, existirían fermentaciones, la alcohólica, por ejemplo, en la cual no existe ó no ha podido hallarse aún el fermento soluble.

Fermentos solubles. — Estos cuerpos, llamados también *encymas* por Kühne, son el producto de secreción de las células glandulares de los animales ó de ciertos órganos de las plantas. Bajo la influencia de estas materias, los principios hidrocarbonados y albuminoides insolubles, se hacen solubles y pueden atravesar el epitelio intestinal y ser absorbidos por la sangre.

Toda fermentación exige el concurso del agua y una determinada temperatura. Los ácidos débiles favorecen el proceso, mientras que los álcalis y la presencia de sales metálicas lo dificultan.

La acción de los fermentos solubles es de naturaleza química, guardando proporción la intensidad del acto fermentativo con la cantidad del fermento. En general, estos agentes parecen obrar hidratando y desdoblando las materias orgánicas.

Los fermentos solubles pasan por albuminoides, aunque no se conoce perfectamente su composición. Una temperatura de 100° los desnaturaliza. Son amorfos, solubles en agua, precipitables por el alcohol y el acetato de plomo, y gozan de gran afinidad por el oxígeno.

Los principales fermentos, son : la *diastasa salival*, que trans-

forma el almidón en dextrina y glucosa ; la *pepsina*, fermento del jugo gástrico que metamorfosea los albuminoides coagulados en peptonas ; la *tripsina*, fermento del jugo pancreático, que obra de manera análoga ; la *invertina*, fermento del hígado y tubo intestinal, destinado á cambiar el azúcar de caña en azúcar invertido ; el *fermento de la fibrina*, yacente quizá en las plaquetas ó en los leucocitos, como afirma Schmidt, y provocador del fenómeno de la coagulación de la sangre, etc,, etc. (1).

(1) Los alumnos que deseen conocer detalladamente la Estequiología, pueden consultar las siguientes modernas obras :

Hoppe-Seyler : Lehrbuch der physiologischen Chemie, Berlin, 1881. Editor, Hirschwald.

Reincke u. Rodewald : Studien über das Protoplasma, Berlin, 1881. Parey, editor.

F. Schwarz : Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas. Mit 8 Tafeln, 1887. Publicado en un tomo del *Beiträge zur Biologie der Pflanzen*, herausgegeben von F. Cöhn. Breslau.

Krunenberg : Grundriss der medicinich. chemischen Analyse, Heidelberg, 1883.

Ralfe : Clinical chemistry, London, 1883.

Drechsel : Chemie der Secrete und der Gewebe (incluso en el *Handbuch der Physiol.*, de Hermann), 1883.

Ludwig : Medicinische Chemie, Wien, 1885.

Engel : Nouveaux éléments de chimie médicale, 1883.

Würtz : Tratado de química biológica. Traducción castellana de Peset y Cervera, Valencia, 1891 á 1892. Aguilar, editor.

Bunge : Lehrbuch der physiologischen und pathologischen Chemie, Leipzig, 1887. Vogel, editor.

Beaunis : Nouveaux éléments de Physiologie humaine, 3.e édition, París, Baillère, éditeur, 1883. (El primer tomo de esta obra está casi enteramente consagrado á la química biológica).

Landois : Lehrbuch der Physiologie des Menschen, etc., 8.ª edición, 1893. Wien u. Leipzig. Urban y Schwarzenberg, editores. (Contiene un buen resumen de Histoquimia).

Thudicum : Grundrüge der anatomischen und klinischen Chemie, Berlín, 1886. Hirswald, editor.

Hammarsten : Lehrbuch der physiologischen Chemie, Wiesbaden, 1891. Bergmann, editor.

P. Schiefferdecker u. A. Kössel : Gewebelehre mit besonderer Berucksichtigung des menschlichen Körper. Braunschweig, 1890 á 1891 (2 tomos). H. Bruhn, editor. (Contiene un buen estudio de los principios inmediatos debido á Kössel).

Las obras más antiguas siguientes, se leerán también con provecho :

A. Gautier : Chimie apliquée à la physiologie, 1874.

Alex. Schmidt : Die Lehre von den fermentativen Gerinnungserscheinungen. Dorpat. 1878. Leipzig. Koehler, editor.

B. Hofmann : Lehrbuch der Zoochemie, 1878 á 1879.

Frey : Traité d'histologie et d'histochimie. 2e édition française. París, 1877.

Finalmente, los progresos principales alcanzados en los últimos años, se hallarán en las revistas siguientes :

Ann. der Chemie. Heildelberg. (Winter, editor).

Ann. d. Chemie u. Pharmacie. Heidelberg. (Winter, editor).

Journal f. pract. Chemie. Leipzig. (Barth, editor).

Berichte des deutschen chemischen Gesellschaft. Berlín. (Friedländer u. Sohn, editores).

Zeitschrift f. physiologische Chemie. (Publicado por Hoppe-Seyler. Strasburgo).

Jahresbericht für physiologische Chemie. (Publicado por R. Maly).

Comptes rendus des scéances de l'Académie des sciences. París. (Gauthiers Villars, editor).

CAPÍTULO III

ELEMENTOLOGÍA

Concepto de la célula. Teoría celular. Caracteres anatómicos de la célula

Elementología ó citología es la sección de la anatomía general que se ocupa de los elementos anatómicos ó células.

Llámanse *elementos anatómicos* á las formas más diminutas, dotadas de vida individual, en que los tejidos se descomponen por disociación mecánica ó anatómica. Estas últimas formas, las unidades vivientes de Virchow, no son otra cosa que las células.

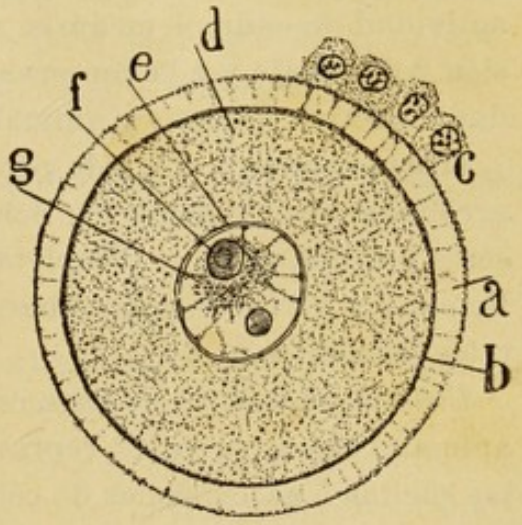


Fig. 50.—Ovulo casi maduro de coneja.—*a*, membrana aislable ó cápsula; *b*, membrana fundamental; *d*, protoplasma; *g*, núcleo; *e*, membrana nuclear; *f*, nucleolo.

Célula. — El concepto de célula ó de elemento anatómico ha experimentado en el transcurso del tiempo algunas variaciones, dependientes de los progresos incesantes de la técnica micrográfica. Los primeros observadores, cuyos estudios recayeron de preferencia en los vegetales, entendieron por célula un pequeño cuerpo vesicular, generalmente microscópico, compuesto de una membrana sólida y de un contenido líquido ó semilíquido, donde parecía flotar un corpúsculo, el núcleo (Schleiden, Schwann, Henle, etc.). Más adelante, habiendo sido observadas células exentas de mem-

brana y hasta privadas de núcleo, modificóse el concepto de elemento anatómico, definiéndolo: una masa de protoplasma, provista comunmente de núcleo y dotada de vida propia. Pero estas reservas descansaban en observaciones imperfectas. Los nuevos medios ópticos, así como los métodos de teñido de que hoy disponemos, permiten distinguir el núcleo en casi todos los micro-organismos que se imaginaban formados de una simple masa de protoplasma (moneras, mixomicetos, bacterias, etc.), y apreciar la existencia, si no de una membrana aislable, de una zona periférica de protoplasma, condensada y exenta de granulaciones. Por donde ha venido á consagrarse la antigua noción de célula, cabiendo definirla actualmente: *un corpúsculo, generalmente microscópico, dotado de vida individual y formado de tres partes esenciales: el protoplasma, la membrana y el núcleo.*

Las células viven, ó en estado independiente y aislado (protozoarios, microbios, etc.), ó agrupadas en colonias, en las que la actividad de cada elemento se subordina al principio de la división del trabajo y á la conservación y reproducción de la entidad colectiva (plantas y animales superiores).

Teoría celular.—Iniciada por Tupin, Mirbel y Dutrochet, desarrollada notablemente por Schleiden, generalizada á todos los séres por Schwann, y completada bajo el aspecto genético por Remack y Virchow, comprende las tres proposiciones fundamentales siguientes:

Unidad anatómica de los seres.—Todos los organismos, tanto animales como vegetales, representan, en último análisis, ó células sueltas ó asociaciones de células. El óvulo es una simple célula, y de células más ó menos transformadas resultan aun los tejidos más alejados en apariencia del tipo celular, tales como el muscular, el vascular y el nervioso. Los materiales orgánicos situados entre los elementos anatómicos, pueden considerarse como productos de excreción ó desasimilación celular.

Unidad fisiológica.—La célula es un organismo en miniatura, un ser dotado de vida propia y encargado del desempeño de una actividad particular en la vasta federación del cuerpo de las plantas y animales. La función del órgano, por elevada y com-

pleja que se la suponga, es siempre la resultante de los trabajos parciales ejecutados por las células.

Unidad de origen. — Las células no se engendran, como pensaban Schleiden y Schwann, en el seno de los tejidos vivos, por un acto de cristalización, sino en virtud de un fenómeno de *generación*, á la manera de los organismos independientes. Toda célula procede de otra célula anterior, por simple partición ó segmentación del núcleo y protoplasma de ésta. El aforismo de Virchow *omnis celula e celula*, es verdadero hasta en el terreno patológico, pues las producciones morbosas derivan siempre de la segmentación de las células normales. Retrogradando en la serie de las segmentaciones que precedieron á la aparición de cada célula, llegaremos al óvulo mismo, de cuyas divisiones sucesivas resulta el organismo entero. Y como el óvulo y zoospermo proceden de otros elementos semejantes y preexistentes, la prosecución de la filiación celular nos conduce á considerar todos los individuos de una misma especie como agrupaciones de pedazos, discontínuos en el espacio, pero contínuos en el tiempo, de dos corpúsculos primitivos : el óvulo y zoospermo de la primera pareja animal.

El estudio de la célula abarca dos especies de caracteres : los anatómicos y los fisiológicos.

CARACTERES ANATÓMICOS

Individualidad. — En general, las células yacen en los tejidos correctamente separadas unas de otras; el contorno celular márcase por la presencia de la membrana ó por la interposición de substancias amorfas. Hay casos, no obstante, en que no aparece tan evidente la individualidad celular; tal ocurre en los corpúsculos epiteliales de la piel, cuyos protoplasmas se hallan unidos por filamentos anastomóticos.

Volumen. — La talla de las células es generalmente microscópica, y se mide por *micras* ó *milésimas* de milímetro (μ). Esta unidad de medida resulta todavía grosera cuando se trata de evaluar el tamaño de ciertos microbios, que no llegan siquiera

á media milésima ; así que los microbiólogos y hasta algunos histólogos, utilizan, como unidad de tamaño, la *décima de milésima.*

La mayor parte de las células de los mamíferos (células epiteliales, conjuntivas, nerviosas, cartilaginosas, óseas, etc.), ofrecen una tallo oscilante entre 12 y 30 μ. Pero existen también células menores y mayores.

Los elementos más diminutos del organismo son los granos del cerebelo (6 á 7 μ), las células de los ganglios linfáticos (de 5 á 5 $^{1}/_{2}$ μ) y los hematíes de la sangre (7 μ). Figuran á la cabeza de los gigantes (en cuanto á longitud) las fibras musculares estriadas, cuya talla mide 2 ó 3 centímetros, las fibro-células, que alcanzan más de una décima, y los prismas del cristalino, que llegan á varios milímetros. A pesar de semejantes estaturas, estas células no son visibles á la simple vista, á causa de su extrema delgadez. En cambio, los elementos esféricos gigantes, como el óvulo (2 décimas de milímetro), y las células ganglionares motrices (cerca de una décima) se disciernen ya, aunque trabajosamente, á la simple vista.

La dimensión de las células no está en razón ni directa ni inversa del tamaño de los animales. En general, cabe afirmar que, exceptuando los elementos nerviosos, las mayores estaturas celulares se hallan en las larvas de urodelo (tritón, gallipato, salamandra, proteo, etc.) y en las de insecto (1).

Morfología celular. — Hay que distinguir la forma originaria y la forma definitiva ó adulta.

Forma originaria. — Las células de tejido afectan, en las primeras fases de su evolución, una figura más ó menos esferoidal, rara vez poliédrica. Así, las células conjuntivas son primitivamente esféricas, y en el estado adulto estrelladas y laminares ; los hematíes embrionarios son esféricos también, transformándo-

(1) La talla de las células no traspasa jamás un cierto límite impuesto quizá por las necesidades de la nutrición. Es indudable, como indica Bullot, que los cambios gaseosos se efectuarán mucho mejor en los corpúsculos pequeños que en los voluminosos, y que un espesor considerable del protoplasma hubiera hecho imposible una rápida penetración del oxígeno y de las materias asimilables.

se, andando el tiempo, en discóideos ; las células nerviosas presentan primeramente figura redondeada, luego piriforme (*neuroblastos* de His), y últimamente estrellada, etc.

Forma definitiva. — Es sumamente variable, y á menudo característica de cada tipo histológico. Las formas principales son : la *estrellada*, la *fusiforme*, la *discóidea*, la *prismática*, la *cúbica* y la *pavimentosa* ó laminar poligonal. En algunas células consérvase la primitiva figura esférica, por ejemplo, en los leucocitos y meduloceles.

Ignórase el mecanismo en cuya virtud las células adquieren sus formas definitivas. Se supone, no obstante, que influyen dos condiciones : el cumplimiento de leyes evolutivas preestablecidas (no reductibles actualmente á procesos físico-químicos), y la influencia mecánica del medio.

Por *procesos mecánicos*, es decir, por consecuencia de presiones de cuerpos exteriores ó del crecimiento de corpúsculos vecinos, ó del choque de corrientes sanguíneas, puede, en parte, explicarse la forma aplanada de las células epidérmicas superficiales, la delgadez de los corpúsculos endoteliales de los vasos, la figura prismática de los elementos epiteliales del intestino, etc.

En virtud de *evoluciones protoplasmáticas* de naturaleza enigmática, que acaso puedan con el tiempo asimilarse á la *quimiotaxis* de los leucocitos, crecen y afectan una forma estrellada particular los elementos nerviosos ; su figura en huso, los musculares lisos; su disposición abarquillada, los elementos constitutivos de los segmentos de los tubos medulares, etc., etc.

Consistencia.—Los elementos vivos poseen una consistencia blanda, semilíquida ; pero los que han sufrido transformaciones químicas incompatibles con la vida celular, afectan á menudo una gran dureza. Mencionemos, á guisa de ejemplo, los elementos epidémicos córneos, cuyo protoplasma se ha transformado en keratina, y los prismas cristalinos centrales metamorfoseados en globulina.

Elasticidad. — El protoplasma de las células vivas es poco elástico, aunque bastante extensible ; pero el de las transformadas, goza á veces de notable elasticidad (células córneas, hematíes, etc.).

Color. — Casi todas las células, examinadas aisladamente, aparecen transparentes y sin color ; en masas algo espesas, se presentan turbias y translúcidas.

Pero se conocen corpúsculos cuyo protoplasma exhibe materias colorantes, ya disueltas, ya dispuestas en granitos. Por ejemplo : los hematíes se hallan teñidos por un albuminoide amarillo (la *hemoglobina*) ; los artículos externos de los bastones, albergan un principio colorante purpúreo (la *fotoestesina*) ; las células melánicas encierran granos de un pigmento moreno (la *melanina*, etc.).

CAPÍTULO IV

CONTINUACIÓN DE LOS CARACTERES ANATÓMICOS DE LA CÉLULA. ESTRUCTURA

Protoplasma. — Corpúsculo polar. — Hipótesis relativas á la construcción del protoplasma. — Núcleo y nucleolo.

Examinada una célula típica, tal como el óvulo antes de comenzar su segmentación, nos presenta al examen micrográfico cuatro partes principales : la membrana, el protoplasma, el núcleo y el nucleolo.

MEMBRANA

Es una lámina transparente, que envuelve exteriormente la célula, sobre la cual se diseña á menudo bajo la forma de un doble contorno,

Es preciso distinguir dos especies de membranas : la *cubierta fundamental* y la *cápsula de secreción*. Ningún elemento carece de la primera ; en muchos no existe la segunda, pero en algunos preséntanse correctamente las dos.

La *cubierta fundamental* es una película finísima continuada con el protoplasma, del que puede separarse, ya mediante la disociación, ya bajo la influencia de las soluciones acéticas. Esta delicada membrana es la única visible en las células del cuerpo de Malpigio de la piel, en los leucocitos, mieloplaxias, células conectivas, corpúsculos nerviosos centrales, etc. (fig. 51, *m*).

A causa de su extrema delgadez, muchos histólogos la han desconocido. Su estructura es ignorada, por más que algunos autores, M. Ide, por ejemplo, la reputen reticulada (membrana de las células de Malpigio).

La cápsula ó membrana de secreción, se halla en el óvulo, en

las células cartilaginosas y en el epitelio intestinal. El mejor objeto de estudio de las dos membranas celulares, es el óvulo (figura 50, *a*). Alrededor del protoplasma se distingue una zona ó limbo transparente (*zona pellucida*), en la cual, á favor de buenos objetivos de inmersión, aparecen ciertas estriaciones perpendiculares interpretadas como conductitos que la atravesarían de parte á parte. Esta membrana es la *cápsula de secreción*, cuyo espesor aumenta con la edad del óvulo.

Inmediatamente debajo de la membrana de secreción ó *zona pellucida*, se discierne una lámina granulosa obscura fig. 50, *b*),

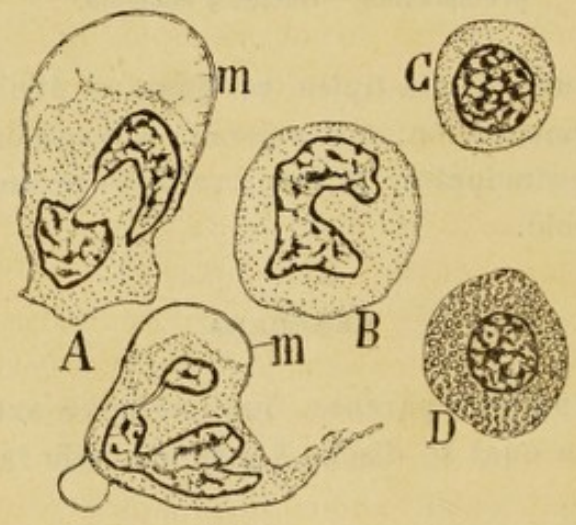


Fig. 51. — Leucocitos de la sangre teñidos en fresco mediante el verde de metileno. — A, célula cuyo protoplasma retraído deja ver en *m* una membrana finísima : D, célula cuyo protoplasma está lleno de granitos de inclusiones (granulaciones eosinófilas).

intimamente ligada al protoplasma, y de espesor casi constante, cualquiera que sea la edad del óvulo. Esta fina película representa la *cubierta fundamental*.

Las células llamadas epiteliales con chapa del intestino, revelan también, aunque no de modo tan evidente, ambas membranas. La cápsula de secreción está representada por la chapa estriada ; y la cubierta fundamental por la línea granulosa subyacente.

No tienen ambas membranas la misma significación ni reconocen igual origen. La *cubierta fundamental*, puede estimarse como un órgano vivo de la célula (condensación periférica del

retículo quizá), algo así como un aparato que regula los cambios de materia entre el protoplasma y el ambiente líquido que le rodea; mientras la *cápsula* representa un órgano muerto, mero producto de secreción celular, como parece probarlo el hecho de que, durante la proliferación, todas las partes de la célula madre, menos la cápsula, se dividen para engendrar los elementos hijos.

PROTOPLASMA

La voz *protoplasma* (de πρῶτος, primero, y πλάσσειν, formar) introducida en el lenguaje anatómico por H. Möhl, no expresa actualmente lo que significó en un principio. En vez de *primera formación*, designa ahora, por acuerdo general de los histólogos, esa masa transparente, granulosa, semisólida, que separa el núcleo de la membrana.

El protoplasma existe en toda célula viva, y representa acaso el factor más importante de la composición de la misma. Examinado á medianos aumentos y en corpúsculos tratados por los reactivos fijadores, aparece como una substancia incolora y delicadamente granugienta, donde apenas cabe distinguir ningún detalle de estructura. Pero los buenos objetos de inmersión, sobre todo si se aplican al examen de objetos favorables, revelan más ó menos distintamente, cuatro partes : el *retículo*, el *enquilema* (hialoplasma) ó jugo celular, las *inclusiones* y la *esfera atractiva*.

Retículo (*espongioplasma* de Hanstein, *mitom*—de μίτος, hilo—de Flemming).—En el protoplasma hay una parte sólida, contráctil, probablemente fibrilar, que no puede discernirse claramente en todas las células, ora por consecuencia de la insuficiencia de nuestros medios ópticos, ora por causa de la abundancia de inclusiones. Practicando el examen en elementos de gran talla, tales como los gigantes de la médula espinal, las robustas células del intestino de la cochinilla de humedad, las no menos voluminosas de las larvas del urodelo ó de insecto, se reconoce fácilmente que dicho protoplasma fundamental está representado por trabéculas refringentes, flexuosas, más ó menos robustas, que arrancando de la membrana nuclear, donde parecen inser-

tarse, se terminan, después de un curso intrincado, debajo de la cubierta celular. No es posible perseguir totalmente el curso de cada fibra ni discernir con entera claridad sus relaciones: de aquí ha nacido la diversidad de dictámenes relativamente á la estructura del retículo. En algunos casos, las fibras parecen engendrar una red, pero esta disposición (aceptada como hecho positivo por Klein, Frohmann, Heitzmam, Carnoy, etc.), no resulta nunca tan evidente que no deje lugar á dudas. Es indudable que, en la hipótesis de un armazón formado por filamentos independientes, podría explicarse también la apariencia de red, suponiendo íntimos contactos y entrecruzamientos entre aquéllos.

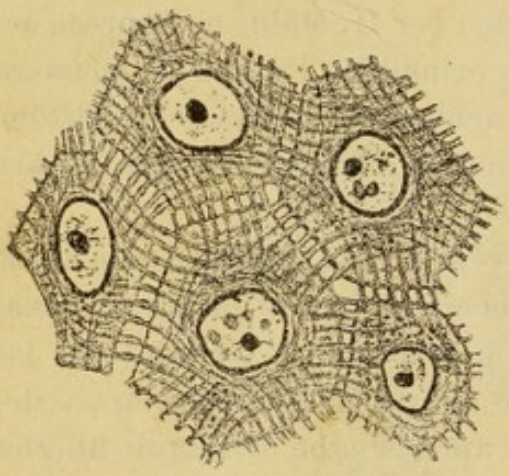


Fig. 52. — Células epidérmicas del cuerpo de Malpigio de la piel. — Adviértese en el protoplasma la existencia de hilos que pasan de un elemento á otro.

En el hombre y mamíferos superiores existen células donde el armazón protoplasmático se percibe con relativa facilidad. Las mejores, bajo este concepto, son los elementos del epidermis cutáneo y las gruesas células nerviosas.

En las células epiteliales de la piel (fig. 52), se ven partir del armazón protoplásmico finos hilos, los cuales, después de atravesar el cemento intercelular, se prolongan con los filamentos de los elementos vecinos. La impresión que el examen de este armazón produce, es la que suscitaría la existencia de haces de filamentos que cruzasen el protoplasma sin anastomosarse en su camino.

Tocante á los corpúsculos nerviosos motores, la impresión es menos precisa; no obstante, con buenos objetivos, se percibe también una rejilla de trabéculos, de aspecto granuloso, que parecen cruzar el cuerpo celular en varias direcciones, concentrándose en el origen de las expansiones protoplasmáticas y nerviosas (fig. 53).

Jugo celular, enquilema ó hialoplasma.— Es la materia líquida ó semilíquida, perfectamente amorfa, alojada en los espacios del retículo. Después de la muerte, y bajo la acción del alcohol, ácido crómico, ósmico, etc., el enquilema sufre coagulaciones que le prestan aspecto granuloso.

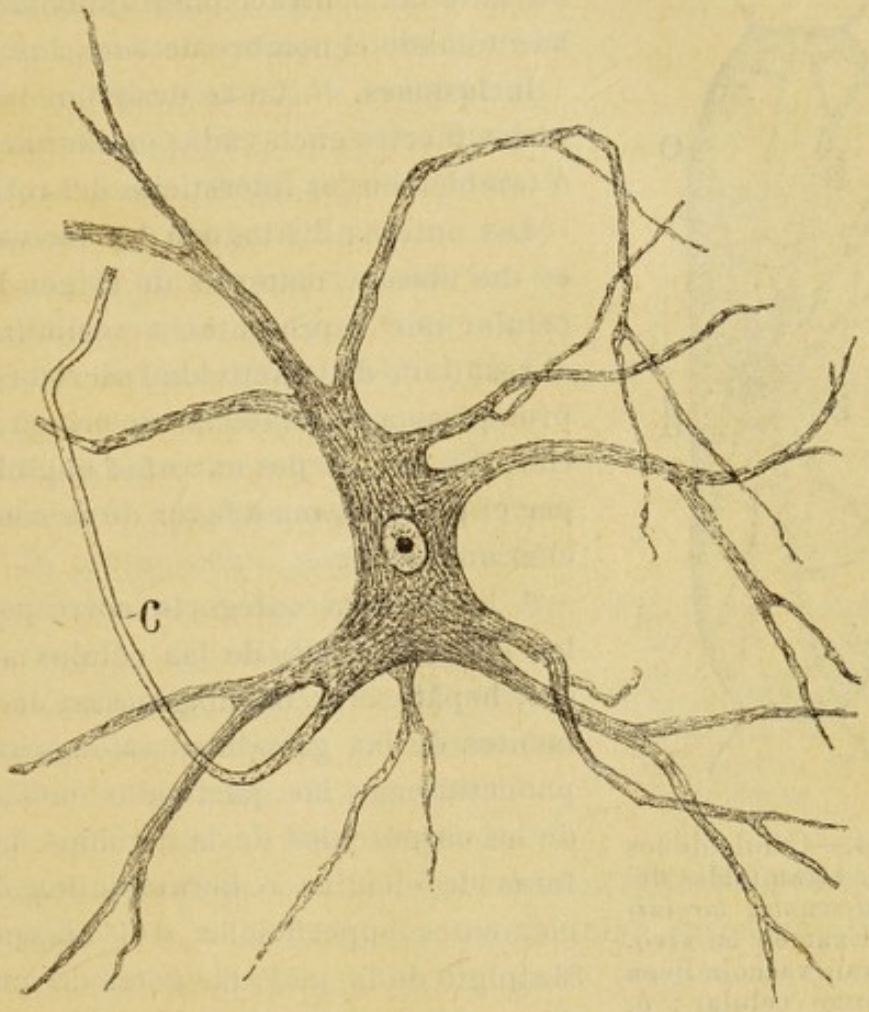


Fig. 53. — Célula nerviosa del asta anterior de la médula espinal del buey. — C, cilindro-eje.

El jugo celular constituye extensos depósitos en el protoplasma de las células vegetales (fig. 54). Además del líquido que infiltra el retículo propiamente dicho, éste se retrae en muchos parajes, limitando vastos espacios donde se alojan el enquilema y diversas inclusiones (gotas de grasa, clorofila, aleurona, granos de almidón, etc.).

Las gotas de jugo celular son raras en el protoplasma de las

células animales; no obstante, si se examinan leucocitos vivos ó células independientes como los amibos, no dejaremos de advertir algún acúmulo transparente de jugo celular, producido por la retracción excéntrica del retículo. Estas colecciones líquidas son esféricas, aparecen y desaparecen durante las contracciones amibóideas, y han tomado el nombre de *vacuolas*.

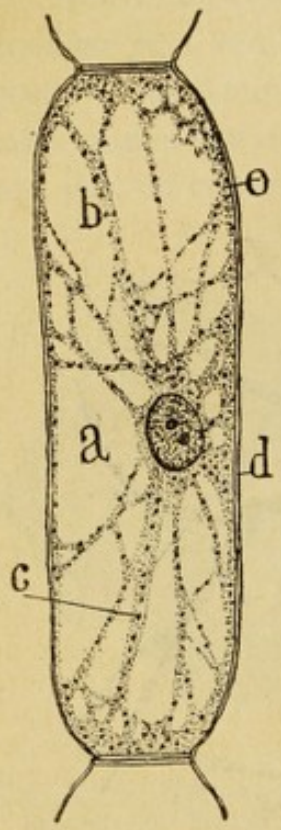


Fig. 54.—Célula de los pelos estaminales del *Tradescantia virginica*. Examen en vivo. *a*, gran vacuola llena de jugo celular; *b*, cordones protoplásmicos; *c*, granos de inclusión; *d*, membrana de cubierta.

Inclusiones. — Así se designan las materias inertes enclavadas en las vacuolas ó también en los intersticios del retículo.

Los autores distinguen las inclusiones en dos clases: materias de origen intracelular que representan verosímilmente el resultado de la actividad secretoria del protoplasma; y materias de origen exterior, ó sean cuerpos extraños englobados por el protoplasma á favor de su contracción amiboide.

A la primera categoría corresponden las gotas de grasa de las células adiposas, hepáticas y cartilaginosas; los fermentos de las glándulas estomacales y pancreáticas; las partículas melánicas de los corpúsculos de la coroides; las esferas de eleidina ó keratohialina de los elementos superficiales del cuerpo de Malpigio de la piel; las gotas de mucina de las células epiteliales caliciformes del intestino; los granitos protéicos, neutrófilos y eosinófilos de los leucocitos, etc.

A la segunda categoría pertenecen los cuerpos extraños que tan á menudo penetran en el protoplasma de leucocitos y células embrionarias (fagocitos).

Las partes extrañas más frecuentemente englobadas son: partículas de carbón (células del pulmón), gotas de grasa (células de las vellosidades intestinales) y microbios (corpúsculos epiteliales de la boca).

La mayor parte de los cuerpos extraños residen en leucocitos de la sangre extravasados, cuya misión parece ser apoderarse de toda partícula insoluble viva ó muerta que traspasa las barreras epiteliales y amenaza impurificar los humores y tejidos.

Esfera atractiva y centrosoma. — Los trabajos emprendidos estos últimos años por van Beneden, Boberi, Flemming y Rabl, tocante á la maturación y conjugación del óvulo, han permitido hallar en el protoplasma un nuevo órgano, llamado *corpúsculo polar* por E. van Beneden, y *centrosoma* por Boberi. Se trata, generalmente, de un corpúsculo esférico de pequeñísima talla, muy refringente y poco afine de las materias colorantes del núcleo; yace cerca del núcleo, á menudo en contacto con la membrana de éste. En ciertos casos, aparece rodeado de una masa de protoplasma correctamente limitada del resto del cuerpo celular (*esfera atractiva* de van Beneden).

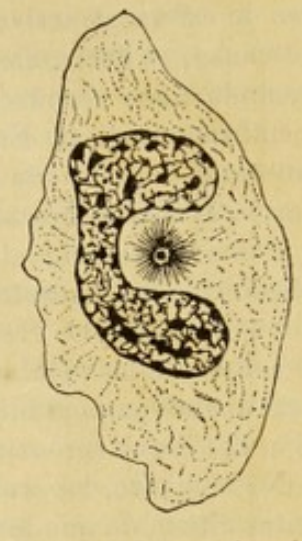


Fig. 55.—Leucocito de larva de salamandra maculosa, según Flemming. — En el protoplasma, cerca del núcleo, se ve el centrosoma.

En un principio, habíase creído que el centrosoma representaba un órgano peculiar del óvulo en vías de segmentación; pero los estudios de van Beneden, de Rabl, de Flemming y de M. Heidenhain, han generalizado á casi todos los elementos la existencia de este singular corpúsculo, cuya misión parece ser iniciar el movimiento de segmentación kariokinética de la célula.

El centrosoma ha sido estudiado por Flemming (1891) en las células linfáticas, epiteliales, endoteliales y conjuntivas de las larvas de la salamandra; por Solger (1892) en las células pigmentarias del sollo (donde sólo se hallaría la esfera atractiva con radiaciones); por Martin Heidenhain (1893), y con ayuda de un método particular de teñido (hematoxilina y decoloración con percloruro de hierro), en las mieloplaxias de la médula ósea y linfocitos del conejo.

La esfera atractiva ha sido recientemente hallada por Bremer (1895) en los glóbulos rojos nucleados de los vertebrados inferiores; por v. Lenhossék (1895) en las células de los ganglios raquídeos de la rana; por

Dehler (1895) en los corpúsculos simpáticos de este mismo animal, y por Lewis (1896) en las células nerviosas gigantes de ciertos anélidos. Es muy probable que dicho órgano se halle en todo elemento susceptible de proliferación, por lo cual carecerían de él las células nerviosas de los vertebrados superiores, incapaces, según resulta de muchos trabajos, de fenómenos regenerativos.

La fig. 55 representa el corpúsculo polar de un leucocito, según Flemming. El centrosoma es pequeñísimo, y á su alrededor se advierte, en vez de esfera atractiva, una radiación protoplásmica. En las células en descanso, es decir, alejadas de su época de segmentación, muéstranse á menudo unos corpúsculos polares diminutos, próximos entre sí y á la membrana nuclear. En sentir de Heindenhain, la duplicidad de los centrosomas constituiría la regla y no la excepción, y en medio de cada pareja existiría constantemente un puente protoplásmico especial.

Considérase generalmente el centrosoma como una producción protoplásmica; no obstante, algunos autores lo estiman como una derivación del núcleo. Así O. Herwitg (1893) y Brauer (1893) afirman que, durante el reposo de las células, dicho corpúsculo residiría dentro del núcleo, al cual abandonaría al iniciarse el proceso mitósico, para dirigir la construcción del huso acromático y constituir los focos de éste (granos polares).

No obstante, los trabajos más recientes tienden á confirmar la opinión antes citada de que la esfera atractiva es un órgano del protoplasma. La esfera atractiva puede ser común á dos y más células. En este caso, observado por Meves (1895) y Rawitz (1895) en las células testiculares de la salamandra, dicho órgano ofrece forma de bizcocho, semejando un cordón de unión de corpúsculos vecinos.

Opiniones hipotéticas sobre la construcción del protoplasma. — *Teoría del retículo.* — Frohmman, Heitzmann, Klein, Leydig, Carnoy, etc., consideran formado el protoplasma por una rejilla de finos hilos sumergida en un líquido transparente. Los microsomas ó granitos incluídos en el cuerpo celular representarían los nudos de la red.

Teoría filar. — Según Flemming, el protoplasma se compone de hilos (*mitom*) y de substancia interfilar (*paramitom*). Estos hilos, ya cortos, ya largos, ya escasos, ya abundantes, se hallarían, no anastomosados, sino entrecruzados.

Teoría alveolar.—Bütschli ha imaginado, para explicar el aspecto filamentoso y reticulado del protoplasma, una estructura esponjosa, comparable á la de la espuma de jabón. Los alvéolos tendrían forma poliédrica y estarían formados de láminas de extraordinaria delicadeza. En su interior se albergarían gotas de líquidos con materias orgánicas en disolución. Fúndase esta opinión en un experimento curioso: si se mezcla una solución de sal ó de azúcar con aceite de olivas, fórmase una espuma que, examinada al microscopio, presenta tabiques alveolares de aceite y cavidades ó espacios cerrados llenos de la solución salina ó azucarada.

Teoría granular. — Altmann ha resucitado, bajo otra forma, la teoría de los *microcimas* de Béchamp sobre la construcción de la célula. Fijando los tejidos en una mezcla de solución al 5 por 100 de bicromato de potasa y ácido ósmico al 2 por 100, coloreando luego con fuchina ácida, y decolorando en ácido pícrico, ha demostrado Altmann en el protoplasma de muchas células unos finísimos granitos de forma esférica, ya sueltos, ya reunidos en hileras, y teñidos en rojo vivo por la fuchina.

Estos granos, que dicho autor denomina *bioblastos*, representarían elementos dotados de vida individual, á cuyo cargo correrían todas las manifestaciones fisiológicas de las células. Estas no serían otra cosa que colonias ó zoogleas de bioblastos reunidos en masa, gracias á la presencia de una materia gelatiniforme intersticial (substancia intergranular).

El bioblasto se engendraría por partición, como las células. Destruídas éstas, sucumbirían los bioblastos. Los microbios, singularmente los micrococos, serían bioblastos independientes.

Como se ve, Altmann comete el error de considerar, sin prueba alguna, como unidades vivientes, precisamente lo que se reputa generalmente como las partes inertes del protoplasma, tales como muchas inclusiones protéicas alojadas en las mallas del retículo. Además, como hace notar O. Hertwig, los microbios no son comparables á gránulos celulares, sino que tienen la representación de células, porque las recientes indagaciones de Bütschli, Ernst y Nils Sjöbring, han demostrado la existencia de verdaderos núcleos en muchas bacterias de gran tamaño.

Teoría micelar. — Nageli ha imaginado, para explicar las propiedades físico-químicas de los cuerpos organizados, y particularmente de las células, una teoría química llamada teoría de las *micelas*.

Son las micelas ciertas moléculas orgánicas, de estructura cristalina, y construídas de muchas moléculas químicas pertenecientes á cuerpos protéicos diversos. El agua entra constantemente en la constitución de la micela, formando en torno de ésta una atmósfera de espesor variable. Cuando los albuminoides se desecan, esta atmósfera se pierde, poniéndose las micelas casi en contacto; una nueva hidratación restablece las capas acuosas perimicelares y las micelas se separan, dando lugar al fenómeno de la hinchazón y disolución del material albuminoide.

En el núcleo y protoplasma activos, las micelas hállanse reunidas en cadenas de varias formas, que pueden juntarse entre sí, constituyendo reticulaciones complicadas.

La teoría micelar, más ó menos transformada, ha sido acogida por Weissmann y O. Hertwig para explicar la transmisión de las cualidades hereditarias en el fenómeno de la fecundación.

Siendo las micelas, por su extrema pequeñez, inaccesibles al microscopio y á todo método de verificación directa, es claro que no cabe afirmarlas ni negarlas. Su grado de verosimilitud debe medirse por el número de hechos que puedan explicar.

Opinión de Reinke (1895).— Este autor defiende la realidad objetiva de los elementos supuestos en el protoplasma por Flemming, Butschli y Altmann. Tanto en el núcleo, como en el protoplasma, encuentra : 1.° Una substancia fundamental esponjosa y pálida, cuyos trabéculos, dispuestos en red, serían contínuos en toda la célula ; la membrana nuclear no sería sino una condensación de este espongioplasma. 2.° Unos finos hilos extendidos por el protoplasma y núcleo, anastomosados en red y convergentes en unos finos granitos ó inclusiones suspendidas en el jugo protoplásmico y nuclear, así como en las esferas atractivas. A expensas de semejantes fibrillas se engendraría el huso acromático y las radiaciones polares de éste durante la mitosis. 3.° Y finalmente, una infinidad de granitos de propiedades diversas alojados en los huesos del espongioplasma.

Según Schloter (1895), estos gránulos del protoplasma serían de las siguientes especies : 1.ª, granitos de Altmann (coloreables por el método de este autor, es decir, por la fijación con la mezcla osmiobicrómica, acción de la fuchina y diferenciación con el ácido pícrico ; 2.ª, finas granulaciones 'ávidas' de los tintes ácidos (*granulaciones oxiplasmáticas*) ; 3.ª granitos plasmáticos poco coloreables por los reactivos.

CAPITULO V

NÚCLEO

Volumen, forma, estructura. Armazón cromático, jugo nuclear, nucleolo y membrana nuclear. Propiedades químicas de la célula.

El *núcleo* es un corpúsculo vesiculoso yacente en el espesor del protoplasma, y constituído principalmente por una materia que atrae vivamente el carmín y las anilinas básicas (nucleína ó cromatina).

El núcleo es un factor importantísimo de la vida celular; rige probablemente el acto de la multiplicación, y en su trama se encarnan las condiciones materiales del complejísimo proceso de la herencia histológica, es decir, de ese poder que las células tienen de reproducir exactamente la forma, volumen y fisiologismo de sus elementos progenitores. Cuando la célula pierde su núcleo, ora por virtud de lesiones físicas, ya por consecuencia de metamorfosis químicas, cesa en ella toda actividad, pudiéndose considerar como un cadáver. Tal sucede con los hematíes y con los elementos epidérmicos de la piel, cuyos núcleos desaparecieron al compás de las transformaciones químicas ocurridas en el protoplasma.

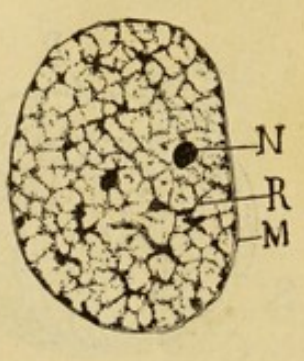


Fig. 56. — Núcleo de las células epiteliales de las larvas de salamandra maculosa. Examen con el obj. 1,30 de Zeiss.

Volumen del núcleo.—Oscila entre 5 y 12 micras. La dimensión del núcleo no guarda estricta relación con la talla de las células; puede, no obstante, afirmarse que los núcleos más voluminosos corresponden á los elementos gigantes (óvulo, células nerviosas, etc.). Asimismo, los animales que poseen gruesas cé-

lulas (larvas de urodelo y de insecto) exhiben también los núcleos más robustos.

Forma. — Por lo común, toda célula embrionaria ó que se halla poco diferenciada, afecta la forma esférica ú ovoidea. Pero en algunos corpúsculos de tejido, esta figura se modifica, haciéndose ya alargada, ya discóidea, ya lobulada. Por ejemplo, en las fibras musculares lisas, el núcleo se presenta en forma de bastoncito de cabos redondeados; en las mieloplaxias y ciertos leucocitos, afecta figura irregular, exhibiendo lobulaciones y estrangulaciones separatorias; en los corpúsculos de las uñas y en los cartilaginosos superficiales, dicho órgano adopta figura más ó menos lenticular, etc.

Estructura del núcleo. — Consta este órgano de cuatro partes principales : *la cromatina ó armazón cromático*, el *jugo nuclear*, el *nucleolo* y la *membrana*.

Armazón cromático. — Constituye la parte más característica del núcleo, y la que mejor se ha estudiado, gracias á las propiedades químicas especiales de que goza. Este armazón, se compone principalmente de la *nucleína* de Miescher (*cromatina* de Flemming), substancia que posee la virtud de colorarse intensamente por el carmín, hematoxilina y los colores básicos de anilina. Los ácidos débiles, tales como el ácido acético y fórmico, que alteran y transparentan notablemente el protoplasma, endurecen y dan gran resalte á la cromatina. Estas dos propiedades, contraste mediante la acción del ácido acético, y colorabilidad en carmín y hematoxilina madura, sirven para poner en evidencia el núcleo, aun en aquellos elementos donde éste alcanza estatura escasísima, y yace rodeado de un protoplasma abundante y rico en inclusiones. En los elementos vivos, el núcleo aparece tan pálido, que sólo en algunos casos puede demostrarse con claridad.

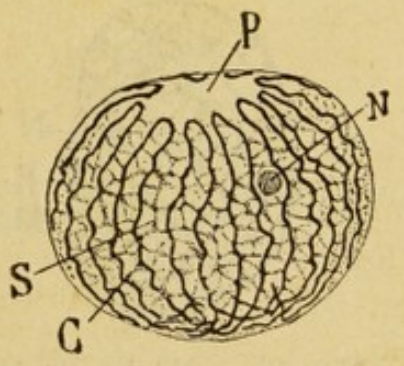


Fig. 57.—Esquema del núcleo según Rabl.—C, filamentos de cromatina, ó primarios ; S, filamentos de linina ó secundarios ; N, nucleolo.

El *armazón de cromatina* puede afectar tres disposiciones: forma reticulada; en bloques ó esferas centrales, y en filamento libre y contínuo.

Cromatina reticulada. — Esta es la disposición más general y típica; obsérvase en las células epiteliales, conjuntivas, cartilaginosas, glandulares, etc., de los vertebrados, y aparece tanto más claramente, cuanto más embrionarios son los elementos observados.

El mejor objeto de estudio de la reticulación cromática fórmanlo las células de las larvas de urodelo, previa fijación con bicloruro de mercurio y coloración con hematoxilina. La cromatina se presenta teñida en violeta intenso, y sus trabéculas de vario espesor y dirección, convergen al nivel de ciertas nudosidades, una de las cuales, más robusta que las otras, desígnase con el nombre impropio de nucleolo. Hacia la periferia, los filamentos cromáticos parecen fijarse en la membrana, á beneficio de una nudosidad más ó menos voluminosa.

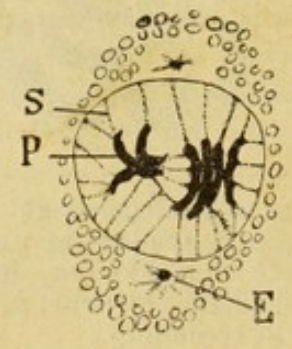


Fig. 58.—Célula madre seminal del *ascaris megalocefala* (Hertwig).—P, filamentos cromáticos del núcleo; S, filamentos acromáticos; E, centrosoma.

Dicho retículo no consta exclusivamente de cromatina; los buenos objetivos de inmersión revelan dos materias: la *cromatina* propiamente dicha, que forma los nudos de la red y acaso algún filamento grueso; y la *linina* que constituye los trabéculos finos, es decir, aquellas partes del retículo refractarias á la coloración por la hematoxilina y anilinas.

Estas dos materias, colorable la una é incolorable la otra por los reactivos del núcleo, se observan ya, con ayuda de buenos objetivos de inmersión, en las células de los mamíferos; pero aparecen mucho más claramente en las de los urodelos (Flemming), y sobre todo en ciertos elementos seminales embrionarios del *ascaris megalocefala* (O. Hertwig), donde como se ve en la figura 58, la *linina* se modela en delicados filamentos periféricos, y la *cromatina* en gruesos trabéculos centrales. En ciertos casos (Pfitzner, Strassburger), etc., el retículo nu-

clear consta de granos sueltos de cromatina, separados por un cemento intercalar de linina.

Cromatina homogénea. — En lugar de armazón reticulado, ciertos núcleos exhiben una masa central más ó menos redondeada de cromatina, completamente desprovista de estructura. Como ejemplos de semejante disposición deben citarse: los núcleos de las células más superficiales del cuerpo de Malpigio de la piel, en los que la cromatina aparece condensada en una esfera central alejada de la membrana nuclear; los zoospermos, cuya cabeza representa un núcleo macizo, construído de cromatina homogénea; y el óvulo maduro, dentro de cuyo núcleo se advierten uno ó más acúmulos redondeados de dicha substancia, flotantes en un jugo nuclear abundante (*manchas germinativas*).

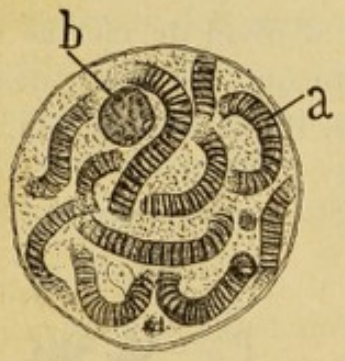


Fig. 59.—Núcleo del estómago chupador de una larva de muscido.—*a*, filamento nuclear estriado; *b*, nucleolo verdadero.

La cromatina homogénea representa para Hertwig una fase transitoria, la cual, por absorción de agua y vacuolización subsiguiente, pasaría en ciertos casos á la disposición reticulada.

Cromatina glomerular ó filamento contínuo. — La cromatina reviste en los núcleos de insecto (larvas de muscido, de nemócero, etc.), la forma de filamento libre, contínuo, apelotonado, cuyas vueltas y revueltas le prestan aspecto de intestino. Como ya demostró hace tiempo Balbiani en las larvas del *Chironomus*, Carnoy en las de *nemocero*, y nosotros en el estómago chupador de las de *muscido*, dicho filamento se compone de dos clases de discos alternados: *obscuros* formados de cromatina, y *pálidos* construídos de linina (fig. 59).

Según van Gehuchten, las vueltas del filamento contínuo no se dispondrían al azar sino con cierto orden, dejando libres dos zonas polares, cuya línea de unión llama este autor *eje orgánico* del núcleo.

Jugo nuclear. — Es el líquido transparente, poco ó nada colorable por los reactivos de la cromatina, que llena las mallas del

armazón cromático, y todo el espacio limitado por la membrana nuclear. Este líquido tiene en disolución diferentes materias protéicas, las cuales, después de la muerte ó por la acción de los coagulantes, pueden precipitarse, engendrando á menudo una reticulación pálida y granugienta.

Los trabajos de estos últimos tres años añaden algunos detalles, todavía no generalmente confirmados, á la estructura clásica del núcleo.

Así, Heidenhain (1894) describe en los núcleos fijados en sublimado y coloreados por las anilinas, dos especies de cromatina: la *basicromatina*, correspondiente á los gránulos de cromatina ordinaria de los autores, caracterizada por su afinidad por las anilinas básicas, y la *oxicromatina ó lantanina*, dispuesta en finos gránulos incorporados al retículo de cromatina básica, y caracterizada por su colorabilidad por las tinturas ácidas.

Por su parte Reinke (1894), después de confirmar las dos especies de cromatina de que habla Heidenhain, añade todavía la existencia de ciertos gránulos pálidos, incolorables por los reactivos y susceptibles de hincharse por el agua. Esta substancia granular, que denomina *edematina*, reside en los huecos ó mallas del retículo cromático, formando una parte del jugo nuclear de los autores. En el verdadero jugo nuclear, es decir, en la substancia líquida situada entre los granos de edematina, hallaríanse unos finos hilos (quizá los hilos de plastina de Carnoy), los cuales atravesarían ciertos poros de la membrana nuclear y se continuarían con los filamentos del protoplasma. Una parte de los datos expuestos por Reinke ha sido confirmada por Schloter (1895), quien da un esquema muy complicado de la célula, describiendo, tanto en el protoplasma, como en el núcleo, muchas variedades de gránulos.

Nucleolo. — Es un pequeño corpúsculo, generalmente redondeado, yacente dentro del núcleo como el núcleo dentro de la célula. Hay que distinguir dos especies de nucleolos: los aparentes y los reales.

Nucleolos aparentes.—Cuando no se conocía bien la estructura del núcleo, calificábase de nucleolo todo grano de algún tamaño y resalte que surgía en medio de la masa nuclear. Hoy se sabe que la mayor parte de los nucleolos que los autores antiguos señalaban en las células, no eran otra cosa que los nudos más espesos del retículo cromático, entre los cuales suele existir uno donde la cromatina aparece especialmente acumulada. Como nucleolos aparentes pasan también las manchas germinativas del óvulo (de las que ya hemos dicho constan esencialmente

de cromatina) y los acúmulos cromáticos nucleares de muchos organismos vegetales y animales inferiores.

Nucleolos verdaderos.—Así se llaman unos corpúsculos comunmente esféricos y esencialmente constituídos por una materia especial, llamada por nosotros *nucleolina* (1883) y que hoy, desde las investigaciones minuciosas de Zacharías y Schwarz, se denomina *pirenina ó paranucleína.*

La *pirenina* ó materia del nucleolo, goza de gran refringencia, resaltando hasta en el mismo bálsamo del Canadá ; resiste, al revés de la nucleína, la acción de los ácidos diluídos ; y el ácido acético le presta gran transparencia, aunque no llega á disolverla. El ácido ósmico, que hace palidecer la cromatina, exagera la refringencia de la pirenina. Finalmente, según ha mostrado Zacharías, el nucleolo atrae preferentemente los colores alcalinos (carmín amoniacal, etc.), al revés de la nucleína que elige los colores ácidos (carmín acético, verde de metileno acetificado, etc.). Esta oposición de propiedades permite obtener coloraciones dobles del contenido nuclear. Por ejemplo : si se tratan las células primeramente por el verde de metileno acetificado, y después por la eosina, la cromatina se diseña en verde, y el nucleolo en rojo.

El nucleolo verdadero, existe en todas ó la mayor parte de las células. Ignórase si posee estructura especial ; lo único que puede asegurarse es que está rodeado de fina membrana y que, á menudo, encierra algunas vacuolas. En los nucleolos de las larvas de insecto, hemos creído notar una textura filamentosa.

Existen nucleolos verdaderos de composición más complicada. Flemming y O. Hertwig han notado que los nucleolos ó manchas germinativas de ciertos óvulos (*Asteria glacialis*, *Cyclas cornea*, etc.), están formados por la reunión de dos corpúsculos de tamaño desigual y de propiedades químicas diferentes.

Membrana nuclear. — El núcleo se limita por una membrana finísima, homógenea, resistente á los ácidos y álcalis é incolorable por los agentes tintóreos de la cromatina.

En la constitución de la membrana nuclear entra, de manera principal, una substancia de propiedades especiales : la *amfipirenina* de Zacharías. Por lo demás, la membrana del núcleo es

difícilmente revelable en algunas células, por ejemplo, en los hematíes nucleados de los anfibios; en cambio, resalta con perfecta claridad en el óvulo y células nerviosas gigantes.

Además de esta cubierta fina é incolorable (membrana acromática), algunos autores admiten otra situada por dentro de la anterior, construída de cromatina (*membrana cromática*) en continuación con el armazón nuclear.

Muchos autores dudan de la realidad de semejante capa cromática, y suponen que ésta es mera apariencia dependiente de que, á menudo, algunas trabéculas del armazón cromático se extienden paralela é inmediatamente por debajo de la membrana acromática, pareciendo, en el enfoque ecuatorial, como que se funden en masa contínua.

PROPIEDADES QUÍMICAS DE LA CÉLULA

Protoplasma. — Está compuesto de una complicada mezcla de principios inmediatos cuaternarios, ternarios é inorgánicos, cuya localización precisa dentro de las diversas partes del cuerpo celular, dista mucho de conocerse suficientemente.

Uno de los principios más constantes parece ser la *plastina*, substancia que residiría en el retículo ó espongioplasma. En el plasma celular ó enquilema, hallaríanse también en disolución la *globulina* y la *albúmina*. La yema de ciertos óvulos contiene también la *vitelina*.

El *agua* representa el factor más abundante del protoplasma. Según Reinke, quien ha analizado el protoplasma del *œtalium septicum*, el agua entra en proporción del 71'6 por 100; el resto lo forman las substancias sólidas.

Las *sales* constituyen el 29 por 100 de las materias sólidas. Las principales son: la cal, en combinación con los ácidos láctico, acético, fórmico, oxálico, fosfórico, sulfúrico y carbónico; el fosfato de magnesia y de potasa; el cloruro de sodio, etc.

La *reacción* del protoplasma vivo es alcalina.

Núcleo. — Como ya hemos expuesto anteriormente, este órgano contiene varias substancias, cuya localización se va fijando

por cada día, gracias á los trabajos de Zacharías, Schwarz, Carnoy, Flemming, Strasburger, O. Hertwig, etc.

La *cromatina* ó *nucleína*, materia caracterizada por su colorabilidad en el carmín y hematoxilina, por su resistencia á los ácidos diluídos y por su solubilidad en los álcalis débiles, reside exclusivamente en el armazón nuclear.

La *pirenina* es el principio especial de que están construídos los nucleolos verdaderos. Esta materia resiste á los álcalis diluídos (al revés de la nucleína, que se disuelve), á la solución de cloruro de sodio al 20 por 100, á las soluciones saturadas de sulfato de magnesia, y en parte hasta á la digestión en *tripsina*. Los colores alcalinos tíñenla mejor que los ácidos.

La *linina* es la materia que liga entre sí los granos de cromatina para formar un retículo contínuo ; constituye, por tanto, la substancia acromática del retículo. Se caracteriza químicamente por disolverse en la tripsina y agua de cal, por precipitar por los ácidos diluídos, hincharse en sal al 20 por 100, ser insoluble en el sulfato de cobre, etc.

La *paralinina* habita en el jugo nuclear, y es soluble en tripsina y jugo gástrico, insoluble en ácido clorhídrico al 20 por 100 é inalterable en los reactivos de la cromatina.

La *anfipirenina* residiría en la membrana nuclear y se caracterizaría por ser más soluble en la tripsina que la pirenina, y por no ser atacable por la sal al 20 por 100, el sulfato de cobre, ácidos diluídos, etc.

CAPITULO VI

PROPIEDADES FISIOLÓGICAS DE LA CÉLULA

Irritabilidad. Excitantes de la irritabilidad. Clasificación de las actividades celulares. División del trabajo. Funciones nutritivas de las células.

Como expusimos ya en las generalidades de los elementos anatómicos, la célula es un sér viviente que, en medio de su subordinación al conjunto orgánico, goza de cierta autonomía funcional.

La virtud que toda célula viva posee de entrar en acción bajo la provocación de los estímulos exteriores, se llama *irritabilidad. Irritación* designa la irritabilidad en acto ó en ejercicio.

La irritación depende de dos condiciones : la presencia de la máquina celular en sus integridades morfológica y química ; y las variaciones químicas ó dinámicas del medio pericelular, variaciones que se designan generalmente con el nombre de *estímulos* ó de *excitantes*.

Se sigue de aquí, que la célula no puede entrar en función espontáneamente, sino que necesita siempre del concurso de un estímulo de origen exterior que conmueva su mecanismo y despierte sus actividades. La energía que la célula despliega en sus movimientos no es otra cosa que la reflexión de las energías que, ya en estado de tensión, ya en forma de fuerzas vivas, llegaron del mundo exterior.

En las células federadas constitutivas del organismo de los animales superiores, los estímulos son de dos clases : *físico-químicos* (toda variación de composición química ó todo cambio dinámico del medio pericelular) ; y *vitales*, es decir, las excitaciones provocadas por otros elementos, tales como las células nerviosas, etc.

En los seres mono-celulares, los estímulos son siempre físico-químicos. Ahondando en el mecanismo de los estímulos, se ve que todos ellos, aun los vitales, proceden, en definitiva, del mundo exterior.

El mismo estímulo, en igualdad de condiciones, provoca en la célula la misma manifestación; pero todas las células no responden idénticamente á la influencia del mismo estímulo. Esto depende de la especial estructura de cada una. Así, el calor y la luz desenvuelven en ciertos elementos fenómenos de contracción, en otros, actos de síntesis química, etc.

Pueden distribuirse los estímulos de origen exterior, como propone O. Hertwig, en cinco grupos : estímulos *térmicos*, *luminosos*, *eléctricos*, *mecánicos* y *químicos*.

Temperatura. — Elevando la temperatura del medio de 40° á 50°, mueren ya muchos infusorios, así como muchas células de tejido de los animales. Un calor moderado aviva los movimientos amiboides. El frío es resistido mejor que el calor, particularmente por las plantas, cuyas células pueden volver á la vida, aun cuando el jugo celular aparezca más ó menos congelado.

Luz.—La piel del camaleón, la de la rana, la de los cefalópodos, etc., presenta unas células conjuntivas estrelladas, cuyo protoplasma alberga granos de pigmento. Bajo la acción de la luz, estas células (*cromatóforos*) retraen sus expansiones, y como el pigmento ocupa menos extensión superficial, la piel del animal se aclara ; lo contrario sucede en la obscuridad, donde el pigmento se extiende y la piel se obscurece. Si, mediante el cloroformo, se paralizan los cromatóforos del camaleón (por acción local sobre la piel), la luz no induce en ellos contracción alguna hasta que el narcótico es eliminado.

La influencia de la luz sobre ciertas algas é infusorios, no es menos curiosa. Así, cuando se ilumina parcialmente una preparación en que se conservan euglenas vivas (*Euglena viridis*), estos infusorios se acumulan rápidamente en la región iluminada.

Electricidad. — Las corrientes de inducción determinan contracciones y como apelotonamiento del protoplasma de las células de la *tradescantia* (pelos estaminales), suspendiendo las co-

rrientes de granitos. En los leucocitos, se encogen rápidamente los pseudopodos, adquiriendo el cuerpo celular forma redondeada.

Verworn ha descrito, con el nombre de *galvanotropismo*, un fenómeno curioso. Cuando se pone en el porta-objetos eléctrico una gota de agua que contenga numerosos ejemplares de *Paramacima aurelia*, estos protistos se orientan en el sentido de las curvas de corriente y se acumulan en el polo negativo.

Excitantes mecánicos.—El simple contacto con otros elementos provocaría, según Massart y Bordet, la contracción de los leucocitos. El contacto con un cuerpo extraño suscita en las fibras musculares un acto de contracción, y en las nerviosas la producción de una corriente.

Excitantes químicos.—Son los de influencia más general, aunque menos conocida. Indicaremos aquí algunos de aquellos cuya acción se ha estudiado mejor.

El *oxígeno* excita los movimientos de los leucocitos y de casi todas las células susceptibles de contraerse. La sensibilidad de ciertos microbios (aerobios) por el oxígeno es tan grande, que pueden emplearse como reactivo de mínimas cantidades de este gas. Si, á ejemplo de Engelman, se pone en una gota de agua que contenga microbios una alga microscópica, la pequeña cantidad de oxígeno que ésta exhala en presencia de la luz, atrae rápidamente las bacterias, las cuales acaban por rodear completamente el vegetal.

El *éter*, el *cloroformo*, el *hidrato de cloral*, suspenden rápidamente los movimientos del protoplasma, y hasta la evolución del óvulo fecundado. Eliminados estos agentes, las funciones vitales se restablecen.

Entre las acciones determinadas por agentes químicos, una de las más interesantes es la que Pfeiffer ha llamado *quimiotaxis*. Es la propiedad que tienen muchos micro-organismos, y los mismos leucocitos de la sangre, de ponerse en movimiento en la dirección de las corrientes de difusión determinadas por un agente químico, que se designa *substancia reclamo* ó *substancia quimiotáctica*. Este fenómeno, señalado primeramente por Pfeiffer en los zoospermos de las criptógamas, ha sido estudiado re-

cientemente en los leucocitos, por Büchner, Massart y Bordet, Gabritchewsky, Metchinikoff, etc. Cuando se abandona bajo la piel de un animal un tubito capilar cerrado por un extremo, y lleno en parte de una substancia disuelta, puede ocurrir una de estas tres cosas : ó que el tubo se haya llenado de leucocitos, ó que no haya penetrado ninguno, antes bien se hayan alejado de la substancia en cuestión, ó que sólo se haya insinuado alguno que otro, y esto de modo inconstante. En el primer caso, la substancia se llama *quimiotáctica positiva* ó materia *reclamo ;* en el segundo *quimiotáctica negativa*, y en el tercero *quimiotáctica indiferente*. Las materias reclamos más enérgicas están representadas por los productos elaborados por las bacterias y acaso por los principios derivados de la descomposición de éstas (Büchner), lo que explica el notable acúmulo de leucocitos que tiene lugar en los parajes del organismo donde se han intrusado ciertos microbios (*staphilococcus piogenes aureus*, *streptococccus piogenes*, *bacillus anthracis*, etc.).

Probablemente todo cadáver celular exhala materias quimiotácticas positivas, dado que los leucocitos suelen englobar cuantos detritus y pedazos celulares encuentran en su camino, para llevarlos al bazo ó eliminarlos á través de las superficies libres. En algunos casos cabría suponer también la influencia de la excitación táctil del leucocito al chocar con cuerpos extraños.

Clasificación de las actividades celulares. —Las modalidades de la irritación pueden condensarse en tres grupos : fenómenos de la vida de relación, tales como movimientos ; fenómenos de la vida nutritiva (asimilación, desasimilación, respiración, secreciones), y fenómenos de la vida generativa (división celular y conjugación).

División del trabajo. — En la época embrionaria, cuando las hojas blastodérmicas no se han formado aún, los elementos del embrión no parecen tener otras funciones que las de nutrirse y reproducirse; pero en cuanto se constituye el mesodermo con sus diversas derivaciones, y el ecto y entodermo, con aquellos plegamientos que se convertirán, andando el tiempo, en médula espinal y en intestino, comienza á establecerse la división del trabajo, entregándose cada tejido á una labor particular. Y es

de notar que esta división del trabajo precede en el embrión á la diferenciación anatómica. Así, las células cardíacas, mucho antes de mostrar su estriación protoplasmática característica, dan comienzo á sus contracciones; las células sanguíneas, antes de modelarse definitivamente, se entregan ya á su especialidad funcional de formar hemoglobina y atraer el oxígeno, etc.

Concluída la evolución del organismo, cesa asimismo el reparto de papeles en la escena orgánica. Cada célula, sin dejar de cultivar las actividades generales de nutrición y generación, perfecciona una ó varias funciones, que constituirán su profesión orgánica y su título, digámoslo así, á la participación de los recursos nutritivos en la gran república celular. Las actividades nutritiva y degenerativa, verdaderos gajes de la división del trabajo y actos esenciales para el mantenimiento de la vida, sólo en casos contadísimos son sacrificadas en aras del principio de la división del trabajo. Por excepción, puede citarse la célula nerviosa, que, entregada á la importante labor de poner en relación todas las partes del organismo y de presidir y reglar el trabajo y nutrición de los demás elementos, ha renunciado el derecho á la reproducción.

FUNCIONES NUTRITIVAS DE LAS CÉLULAS

Los elementos anatómicos poseen la virtud de reaccionar sobre el ámbiente en que viven, eligiendo y asimilándose las materias susceptibles de reponer los desgastes sufridos en el ejercicio de las actividades funcionales ó profesionales.

Para comodidad expositiva, distinguiremos en el proceso nutritivo varios actos: prehensión, absorción, digestión, asimilación, desasimilación, respiración y secreción.

Prehensión del alimento. — Los animales monocelulares, tales como los amibos é infusorios, que se alimentan de presas muertas ó vivas, pueden ejecutar verdaderos actos de prehensión y englobamiento. En los amibos, la prehensión se verifica con ayuda de ciertas expansiones emitidas por el protoplasma, las cuales agarran la partícula alimenticia y la conducen al espesor del cuerpo celular; en éste permanece hasta sufrir, caso de ser

digestible, una verdadera digestión. En los infusorios, la prehensión del alimento se efectúa á favor de pestañas ó flagelos contráctiles, órganos permanentes de locomoción del animal.

Las células fijas de tejido de los animales no necesitan consagrarse á la pesquisa del alimento ; gracias á la división del trabajo, la prehensión, selección y disolución de aquél, corre á cargo de ciertos tejidos (muscular, glandular, epitelial, etc.), cuya labor armónica tiende á formar, entre los corpúsculos de tejido, un medio químico adecuado á la reparación nutritiva.

La célula animal federada no se alimenta, sino que es alimentada, siendo de su incumbencia solamente elegir las substancias más apropiadas á su nutrición y al desempeño de su profesión orgánica. Por excepción, los leucocitos y algunos corpúsculos conectivos de los animales superiores, han conservado, y acaso perfeccionado, el hábito de cazar cuerpos extraños vivos ó muertos, y de someterlos á un acto de digestión intra-protoplásmica.

Esta función de los leucocitos y células conectivas, ha sido llamada *fagocitosis* por Metchinikoff, quien le concede grande importancia, pues le atribuye la defensa del organismo contra las intrusiones de los microbios patógenos.

Por lo demás, la fagocitosis no es solamente un fenómeno de defensa, es también un proceso fisiológico indispensable á la organización definitiva de ciertas partes. La absorción de los órganos larvares (cola de renacuajo, etc.), la desaparición de vasos embrionarios en partes que no deben tenerlos (epiplón mayor del conejo, etc.), la demolición del hueso embrionario, la desaparición de los hematíes gastados, la destrucción y remoción de las células muertas ó agostadas, son actos que los leucocitos realizan, aprovechando al efecto su cualidad de agarrar y encarcelar todas las partes sólidas y de tamaño no muy grande que encuentran en su camino. Es probable que influya también en este fenómeno el proceso quimiotáctico.

Absorción. — Así se llama el acto en virtud del cual penetran y se esparcen por la célula las substancias alimenticias disueltas. Semejante fenómeno no es un proceso puramente físico, pues la célula escoge ciertas substancias y rechaza otras.

Digestión. — La célula no se incorpora los materiales del medio en el estado en que los encuentra, sino que los hace sufrir cambios especiales con ayuda de fermentos semejantes á los segregados por las glándulas. Esta actividad digestiva debe ser mucho más eficaz en los micro-organismos independientes y leucocitos que se alimentan, tanto de substancias disueltas, como de partículas insolubles. Algunos microbios derraman fermentos sobre el terreno mismo en que vegetan, para reblandecerlo y transformarlo en líquido alimenticio.

Del mismo modo, las células de las plantas, durante el tiempo de la germinación, se alimentan de las reservas nutritivas almacenadas en las semillas y tubérculos. Estos materiales (almidón, grasas, azúcares, albuminoides) son absorbidos, previa disolución operada por diastasas especiales, análogas á las segregadas por el aparato digestivo de los animales. En el período adulto, la planta, en vez de gastar reservas, las crea, apelando á materiales sustraídos del aire ó del terreno.

Asimilación.—Consiste en la incorporación á la máquina celular, tanto de los principios arrebatados por la desasimilación, como de las reservas nutritivas que deben subvenir á necesidades funcionales ulteriores. Así, las células glandulares, no sólo asimilan lo necesario á la reparación de sus desgastes, sino las primeras materias destinadas á formar el producto secretorio.

Desde el punto de vista del trabajo químico efectuado en el protoplasma al utilizar los materiales alimenticios, difieren las plantas de los animales.

La *célula vegetal* aprovecha para su alimento materias minerales, particularmente el agua y el ácido carbónico. Con ayuda de la clorofila y del concurso de la luz, el protoplasma descompone el ácido carbónico del aire, se apodera del carbono y sintetiza el almidón, el azúcar, las grasas y hasta los mismos albuminoides, utilizando como factores químicos el agua, el ácido nítrico y sulfúrico del suelo.

La *célula animal* se alimenta de las materias orgánicas sintetizadas por el vegetal : el almidón, los azúcares, las grasas y los materiales protéicos, substancias que transforma en otros principios y que destruye por oxidación.

Dinámicamente, la *célula vegetal* es una máquina que transforma fuerza viva en fuerza de tensión, y químicamente, representa un laboratorio donde dominan los fenómenos de reducción sobre los de oxidación.

Dinámicamente, la *célula animal* es un aparato que transforma las fuerzas de tensión en fuerzas vivas, y químicamente, un laboratorio donde dominan los fenómenos de combustión ú oxidación.

Cuando la asimilación contrapesa exactamente las pérdidas sufridas, la célula mantiene estrictamente su volumen; mas si lo incorporado domina sobre lo desasimilado, se opera un aumento de tamaño.

Este crecimiento se observa, sobre todo, en la época embrionaria, durante la cual, ciertos elementos pueden adquirir una estatura tres ó cuatro veces más grande que la originaria. El crecimiento es, en ciertos casos, *bilateral*, como ocurre en las células musculares; *unilateral*, como sucede en los prismas cristalinos; y *multilateral*, como en las células nerviosas. El crecimiento excéntrico, uniforme, se verifica en el óvulo y las células adiposas.

Desasimilación. — Es el acto en virtud del cual una parte de los materiales de la célula se disuelve y transforma, pasando al medio ambiente, para ser total ó parcialmente eliminada. En su esencia, la desasimilación es tan enigmática como la asimilación: vemos los resultados, pero ignoramos las causas.

Respiración. — La célula atrae el oxígeno disuelto en los plasmas que la rodean, al objeto de quemar una parte de sus materiales de reserva y de organización, y producir ácido carbónico, vapor de agua y calor, que acaso aproveche el protoplasma como manantial de fuerza viva para ejecutar trabajo útil. El oxígeno aborda la intimidad de los tejidos, conducido por los hematíes, de cuya hemoglobina se aparta á la menor solicitación de parte de las células.

Secreciones y excreciones. — Propiamente, llámase *secreción* el acto por el cual las células engendran materias especiales, disueltas ó amorfas (diastasa, pepsina, tripsina, ácido hidroclórico, etc.), destinadas á operar la digestión de los alimentos.

Esta función, corre principalmente á cargo de las células glandulares (glándulas mamaria, hepática, pépsicas, salivares, etc.).

Excreciones. — Son las substancias desasimiladas, impropias para la nutrición, que, después de circular por la sangre, deben ser eliminadas por ciertas glándulas (riñón, hígado, etc.).

Dependiendo la formación de substancias excrementicias del acto mismo de la desasimilación y desgaste celular, todo elemento vivo será capaz de producir excreciones. Entre ellas, unas son líquidas, se difunden rápidamente á lo lejos, y son arrastradas por la sangre y linfa á los emunctorios naturales ; pero otras se solidifican en cuanto salen del protoplasma, permaneciendo alrededor de la célula, y constituyendo las *cápsulas* y las *materias amorfas ó intercelulares.*

Si el producto de secreción se exhala por una de las caras de la célula, fórmase lo que se llaman *chapas ó cutículas* celulares. Tal acontece en los elementos epiteliales del tubo digestivo, en los prismas cristalinos (formación de la cápsula), y en las células más profundas del cuerpo de Malpigio. En la piel de muchos animales, particularmente en la de los insectos, las células pueden elaborar un número extraordinario de chapas superpuestas.

Cuando el producto segregado se derrama indistintamente por todos los lados de la célula, constrúyese una gruesa *cápsula* (óvulo, células cartilaginosas), es decir, una membrana espesa, transparente, cuyo grosor guarda relación con la edad del corpúsculo secretor.

Por último, la materia amorfa ó intercelular, tan abundante en los tejidos cartilaginosos, óseo y conjuntivo, depende de que, siendo muchas las células secretorias, el producto de cada una se confunde, elaborándose grandes masas intersticiales, donde no es posible marcar la obra individual de cada elemento.

Muerte de las células. — El organismo es como un pueblo, cuyos individuos se renuevan muchas veces durante la vida de la colectividad.

Hay elementos, cuya vida dura solamente algunos días, v. gr., los elementos epiteliales de la piel y los de algunas glándulas ; otros, como los cartilaginosos, musculares y conjuntivos, pro-

longan su vida varios años ; pero á todos superan en longevidad los nerviosos, que subsisten tanto como el organismo.

El grado de vulnerabilidad, y, por tanto, la mayor ó menor facilidad de muerte accidental, varían para cada tejido. La menor oscilación de temperatura ó de composición del medio nutritivo, aniquila las células nerviosas y musculares ; en cambio, ciertos epitelios, los leucocitos, los corpúsculos conjuntivos, etc., soportan impunemente alteraciones bastante graduadas de calor y de medio alimenticio, etc.

De esta resistencia se saca partido para observar vivos estos elementos, y sorprender sus actividades fisiológicas. Semejante persistencia vital, fuera de las condiciones mesológicas normales, se advierte, sobre todo, en los animales de sangre fría. En general, puede afirmarse que la vida celular es tanto más resistente y autónoma, cuanto menos diferenciación alcanza la célula en el desempeño de una actividad funcional específica.

El *modo de muerte* tiene origen, unas veces por sobrecarga de materiales extraños (grasa, eleidina, keratina, hemoglobina, etcétera) ; otras por una suerte de disolución (óvulo no fecundado, células granulosas de la vesícula de Graaf, leucocitos, etc.).

La *remoción del cadáver* se efectúa, ya por simple desprendimiento en una superficie inmediata (epitelios), ya por *fagocitosis*. En este caso, la célula muerta es englobada por leucocitos, y acaso destruída en el bazo ó en la médula ósea.

Acción del núcleo en la vida nutritiva de la célula. —El núcleo aislado, como el protoplasma aislado, son incapaces de vivir. Si á ejemplo de Nussbaum, cortamos en fragmentos un infusorio, sólo el trozo que albergue el núcleo continuará viviendo, y reparará lo que falta. Créese que influye también el núcleo en las funciones de secreción y de asimilación de la célula.

CAPITULO VII

FUNCIONES CELULARES DE RELACIÓN

Movimiento browniano, amiboide, de corrientes protoplásmicas, vibrátil y de oscilación.

El movimiento espontáneo es uno de los atributos que mejor caracterizan la vida celular. Este movimiento, que se efectúa sin el concurso del sistema nervioso, puede ser observado en elementos completamente separados del cuerpo del vegetal ó del animal. Distínguense los movimientos en browniano, amiboide, de corrientes protoplasmáticas y de oscilación.

Movimiento browniano. — Sólo rindiendo culto á la costumbre nos ocupamos de él, pues no es en realidad un movimiento vital, por más que se sorprenda alguna vez en el interior de las células. Consiste en un temblor ú oscilación que todas las partículas de menos de una micra presentan, cuando están suspendidas en un líquido de poca densidad. Manifiéstase el movimiento browniano en las granulaciones interiores de los leucocitos, cuando el agua ha penetrado en el espesor del protoplasma y diluído el jugo celular.

Movimiento amiboide. — Así llamado por haber sido primeramente observado en los amibos ; se presenta especialmente en los leucocitos, corpúsculos conjuntivos y células embrionarias de los animales.

Para observar este curioso movimiento, deben preferirse los leucocitos de la linfa ó de la sangre de rana, porque pueden conservarse vivos en cámara húmeda y á la temperatura ordinaria, durante varias horas.

Mientras el leucocito circula por la sangre, su forma es esférica ; pero en cuanto abandona los vasos, poniéndose en contacto con el aire ó con una superficie extraña cualquiera, excítase su

irritabilidad y desenvuelve dos clases de movimientos: movimiento de deformación ó gesticulación; movimiento de translación.

El *movimiento de gesticulación* consiste en la aparición, en torno del cuerpo celular, de expansiones pálidas de forma y tamaño diversos, que varían á cada instante. Esta deformación activa no puede seguirse con la vista, á causa de su lentitud; pero si se interrumpe por algunos minutos la observación, se comprueba que el leucocito ha variado de forma, ora retrayendo expansiones, ora proyectando otras nuevas, ora estirando ó contrayendo en masa el cuerpo protoplásmico.

El *movimiento de translación* se aprecia por el cambio de posición del leucocito, con referencia á un punto fijo, por ejemplo, á un glóbulo rojo. En media hora puede dicha célula recorrer medio campo del microscopio. En el espesor de los tejidos vivos, por ejemplo, á través de la córnea, los glóbulos blancos emigrados de los vasos atraviesan distancias de muchos milímetros, insinuándose por los resquicios y pasos más estrechos y difíciles.

Corrientes protoplásmicas. — En las células jóvenes de ciertas plantas (pelos de la *chelidonia*, *hortiga*, *tradescantia virginica*, etcétera), el protoplasma, que está surcado por anchas vacuolas llenas de jugo celular, exhibe dos especies de movimientos: el amiboide ó de deformación total, y el de circulación de partículas.

El *movimiento amiboide* es bastante activo y determina una metamorfosis continuada de la distribución de las masas y cordones protoplasmáticos. La deformación ocurrida es sólo intracelular, pues la membrana de celulosa, recia y sólida, no consiente ninguna variación de la forma exterior.

El movimiento de *rotación de partículas* es tan rápido, que puede seguirse fácilmente al microscopio, sobre todo, en los pelos estaminales de la *tradescantia virginica* (fig. 60). Consiste este fenómeno curioso en la translación, á lo largo de los cordones protoplásmicos, de ciertos granitos brillantes, de menos de una micra de diámetro, las cuales, marchando primeramente desde el núcleo hacia la periferia, vuelven luego, á lo largo de otros

cordones, desde la periferia al núcleo. Ciertos cordones presentan dos corrientes paralelas, una de ida y otra de vuelta.

Esta rotación de partículas se presenta quizá en toda célula vegetal y acaso también en los corpúsculos animales, aunque en éstos sea á menudo imposible la observación. Créese que dichos granos no se mueven espontáneamente, sino que son empujados por corrientes invisibles de enquilema.

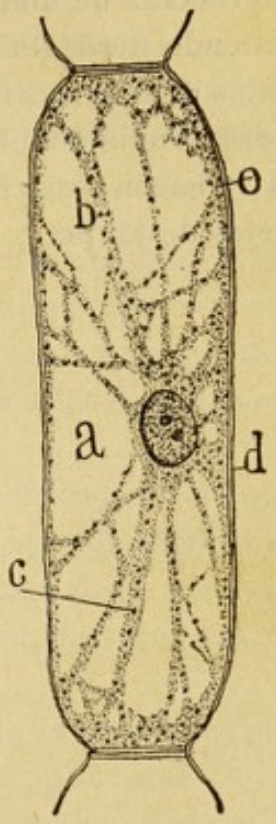


Fig. 60.—Célula de los pelos estaminales del *Tradescantia virginica*. Examen en vivo. *a*, gran vacuola llena de jugo celular; *b*, cordones protoplásmicos; *c*, granos de inclusión; *d*, membrana de cubierta.

Movimiento vibrátil. — Los infusorios, llamados ciliados y flagelados, entre los animales monocelulares, y los corpúsculos epiteliales de ciertas mucosas, entre las células federadas de los animales superiores, exhiben este movimiento, que no se verifica en el protoplasma entero, sino en ciertos finos apéndices implantados en una cara de la célula epitelial.

Para examinar cómodamente el movimiento vibrátil, debe elegirse la mucosa del esófago de la rana. Bajo una gota de agua, y en cámara húmeda porta-objetos, se deposita un trozo de epitelio que procurará ponerse doblado, á fin de que la superficie de la membrana constituya un borde libre. En este borde, bañado por el líquido y en contacto con corpúsculos sanguíneos y epiteliales sueltos, advertiremos unos finos apéndices, notablemente pálidos, agitados por un movimiento de oscilación tan rápido, que cuesta trabajo en ocasiones apreciar su origen y su forma. Transcurrida media ó una hora de observación, el movimiento adquiere más lentitud, y entonces cabe apreciar que cada pestaña pasa por dos estados: uno de contracción ó de flexión rápida, otro de relajación ó de rectificación relativamente lento.

El movimiento de oscilación de la cola de los zoospermos es

semejante al vibrátil, aunque algo más complicado. En vez de simple flexión lateral, el apéndice caudal es recorrido por una onda de contracción que presta al zoospermo el aspecto ondulante de una cuerda que se agita.

En la salamandra y tritón, los zoospermos presentan la cola guarnecida de una membrana, á manera de mesenterio, que se extiende desde la pieza intercalar hasta el extremo libre. Las ondas de contracción se inician cerca de la pieza intercalar, recorren rápidamente toda la longitud de esta finísima membrana, y hacen progresar el zoospermo, actuando algo así como las aletas de un pez.

CAPITULO VIII

FUNCIONES GENERATIVAS DE LAS CÉLULAS

División celular directa. División celular indirecta ó kariokinesis. Conjugación celular.

Las células que pueblan el organismo, del mismo modo que las que viven independientes, gozan del importante atributo de reproducirse, originando nuevos elementos, cuyas propiedades anatomo-fisiológicas son enteramente idénticas á las del elemento progenitor.

El mecanismo más general de la producción de nuevas células es la división ó segmentación. Todas las variantes de neoformación celular pueden reducirse, en último análisis, á un acto de división, más ó menos complicada, del núcleo, protoplasma y membrana fundamental.

Nótese que, en el fenómeno celulo-genético, la célula madre desaparece como individuo, repartiéndose toda su substancia en dos corpúsculos hijos. No hay, pues, *célula madre* ni *célula hija* en el sentido estricto de los términos, sino fragmentación sucesiva de cierta cantidad de materia viva, que disminuiría hasta desaparecer á fuerza de dividirse, si la asimilación no restableciera prontamente el volumen originario.

Modalidades de la celulo-génesis.—La formación de las células se verifica de dos maneras: por *división* y por *conjugación*.

La *división* ó segmentación es el proceder ordinario empleado por la naturaleza para reponer las células destruídas en el ejercicio de las funciones orgánicas ó durante el desarrollo del embrión; mientras que la *conjugación* es un proceder generativo que podría calificarse de extraordinario, al cual recurre solamente la naturaleza para producir la primera célula del embrión (el óvulo fecundado). Este método generativo encierra un pro-

fundo sentido, desde el punto de vista de la transmisión de las cualidades adquiridas y de la conservación del tipo específico y funcional de los seres.

DIVISIÓN CELULAR

Comprende la segmentación celular dos modalidades : la *división directa ó amitósica;* y la *división indirecta, mitósica ó kariokinética.*

1.º — Segmentación directa ó amitosis

La segmentación directa es el acto de partición celular no precedido de metamorfosis estructurales del núcleo ni del protoplasma. Este proceso genético, que fue conocido mucho antes que el mitósico, pierde de cada día importancia y generalidad, pues se ha averiguado que muchos de los elementos á quienes se atribuía aquel proceder divisorio, proliferan en realidad por kariokinesis. Autores hay que llegan á declarar que todos los hechos conocidos de división directa no representan otra cosa que fases mitósicas mal interpretadas. No parece, sin embargo, prudente llevar el escepticismo á tal extremo, á menos de negar, sin motivo alguno, la legitimidad y realidad de las observaciones de división amitósica recaídas en leucocitos y células conectivas, y publicadas por Ranvier, Arnold, Cajal, Flemming y otros.

Por nuestra parte, hace ya cerca de nueve años que pudimos observar el fenómeno de la segmentación directa de los leucocitos de la sangre de un urodelo (el *pleurodeles Waltii*). Las fases observadas concuerdan con las anunciadas por Ranvier y Arnold. La división se inicia por estrangulación del núcleo, que no tarda en segmentarse en dos pedazos, generalmente de forma desigual; los núcleos hijos se colocan en un extremo del protoplasma, mientras que la porción intermedia de éste se estira y adelgaza extraordinariamente, concluyendo por romperse. A veces el proceso aborta; el puente de protoplasma que estuvo á

pique de excindirse, se acorta y engruesa; los núcleos se aproximan y la célula se reintegra en su primitiva forma (1).

La división del núcleo puede no ser seguida de partición del protoplasma. La partición nuclear puede repetirse tres, cuatro ó más veces, resultando así un corpúsculo generalmente voluminoso, que encierra en su protoplasma un número variable de núcleos. Por tal mecanismo se producen las células multinucleadas gigantes del tejido inflamatorio (células gigantes del tubérculo, del leproma, etc.), y los osteoclastos de la médula ósea.

Existen células, tales como ciertos leucocitos de gran talla y las mieloplaxias de la médula ósea, cuyos núcleos parecen ofrecer en estado permanente ó bastante duradero las fases de transición entre la mononuclearidad y la multinuclearidad. El núcleo de estas células exhibe á menudo forma de judía ó de bizcocho, con puente intermediario más ó menos delgado; en otros casos, afecta la forma de una cadena de lobulillos unidos por finas estrangulaciones.

Cuando la división directa ó indirecta sobreviene en células rodeadas de espesa cubierta (cápsula de secreción), los corpúsculos hijos no pueden separarse, porque la membrana envolvente, que no participa en el fenómeno divisorio, lo impide. Esta variedad de proliferación, se llama *segmentación endógena*. Si la división ocurre en células que sólo poseen delgada membrana fundamental, los elementos engendrados quedan en libertad, pudiendo separarse inmediatamente (*fisiparidad simple*). Finalmente, cuando la segmentación del núcleo y protoplasma se efectúa de un modo desigual, de manera que sólo una pequeña parte de estos órganos se aprovecha para engendrar uno ó varios elementos hijos, el acto generativo toma el nombre de *gemmación*.

2.° — Kariokinesis ó segmentación indirecta

La *mitosis* ó *kariokinesis*, es el método de división más general é importante, y se carecteriza por la circunstancia de que el

(1) Véase nuestro *Manual de Histología y Técnica*, pág. 391, 1.ª y 2.ª edición.

núcleo, antes de segmentarse, experimenta una serie curiosísima de metamorfosis de estructura, así como de fenómenos de movimiento.

Las fases de este proceso pueden observarse en toda clase de células, tanto animales como vegetales; pero son preferibles, por el gran tamaño de sus núcleos, los elementos de las larvas de urodelo, por ejemplo, las de salamandra y tritón, donde Flemming y Rabl han hecho sus estudios sobre la kariokinesis.

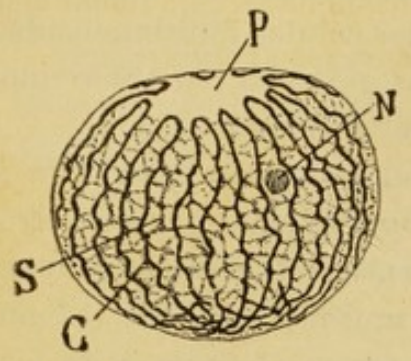


Fig. 61.—Esquema del núcleo según Rabl.—C, filamentos de cromatina, ó primarios; S, filamentos de linina ó secundarios; N, nucleolo.

He aquí las fases porque atraviesa la célula desde el comienzo hasta el final de su división mitósica, según las investigaciones de Flemming, Rabl, Waldeyer, van Beneden, Strasburger, O. Hertwig, etc., investigaciones que nosotros hemos confirmado en las larvas del pleurodelo Waltii, así como en las células de los animales superiores.

1.ª **Fase de descanso.** — Así se llama el estado de la célula en el intervalo de dos segmentaciones (fig. 62, 1 y 2). En los últimos días de este período de descanso, la red cromática del núcleo se hace más rica, y la talla nuclear aumenta sensiblemente.

2.ª **Fase glomerular ó del ovillo.** — Cuando va á comenzar el proceso, la red nuclear aparece más perceptible, distinguiéndose claramente dos clases de trabéculos: *primarios* ó gruesos, formados principalmente de cromatina, y *secundarios* ó finos, donde domina la linina. Rabl ha demostrado y Flemming ha aceptado recientemente, que los filamentos primarios, llamados también *cromosomas*, no están dispuestos al azar, sino que forman asas ú horquillas orientadas casi en el mismo sentido, y cuyos codos están vueltos á un lado. El paraje del núcleo donde convergen los ángulos de las horquillas, presenta un espacio vacío de filamentos, que se ha llamado *campo polar*. En el extremo opuesto (*campo antipolar* ó *contrapolo*) no existe vacío, acumulándose y entrecruzándose los cabos libres de los cromosomas.

Al final de esta fase, todos los filamentos finos ó secundarios desaparecen, así como el nucleolo, quedando exclusivamente los primarios, que se perciben ahora con gran corrección, y que atraen vivamente las materias colorantes de la nucleína. Ulteriormente, las horquillas se espesan, al par que se acortan, con lo que el espacio claro interfibrilar se ensancha. A este fenómeno

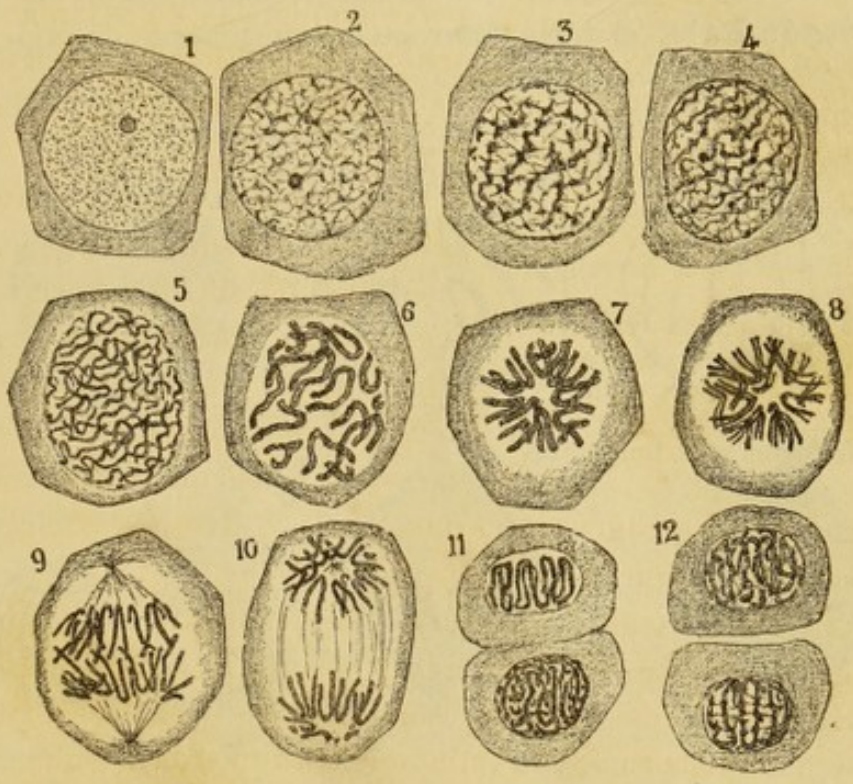


Fig. 62.—Células epiteliales en vías de división kariokinética de la piel de la larva del Pleurodeles Waltii. — 1, Descanso; 2, Reticulación fina; 3, Reticulación gruesa; 4, Reabsorción del nucleolo y fase glomerular; 5, Ovillo laxo; 6, Horquillas; 7, Estrella madre; 8, División longitudinal (vista polar); 9, Metakinesis; 10, Estrella hija; 11, Ovillo hijo; 12, Segmentación del protoplasma.

de enreciamiento de los hilos, que acaece en los últimos momentos de la fase del ovillo, se ha dado el nombre de *estadio del ovillo denso*.

Fase de estrella madre.—Esta fase se caracteriza por el arreglo, en forma de estrella, de los hilos ú horquillas cromáticas, (llamadas también *kariosomas*), y por la aparición de un órgano especial, cuya influencia en el curso ulterior de la segmentación será muy importante, el *huso acromático* (fig. 63, *h*).

El *huso* es un aparato filamentoso, especie de fascículo en forma de tonel, con polos puntiagudos, en los cuales resalta un grano brillante, grano que en estos últimos años se ha identificado con el centrosoma y esfera atractiva del protoplasma. Los hilos del huso son de extraordinaria delicadeza, y corren curvilíneamente de uno á otro polo; distínguense de las asas cromáticas no sólo por su forma, sino por su incolorabilidad en el carmín. Según Rabl, el huso aparece primeramente debajo de la

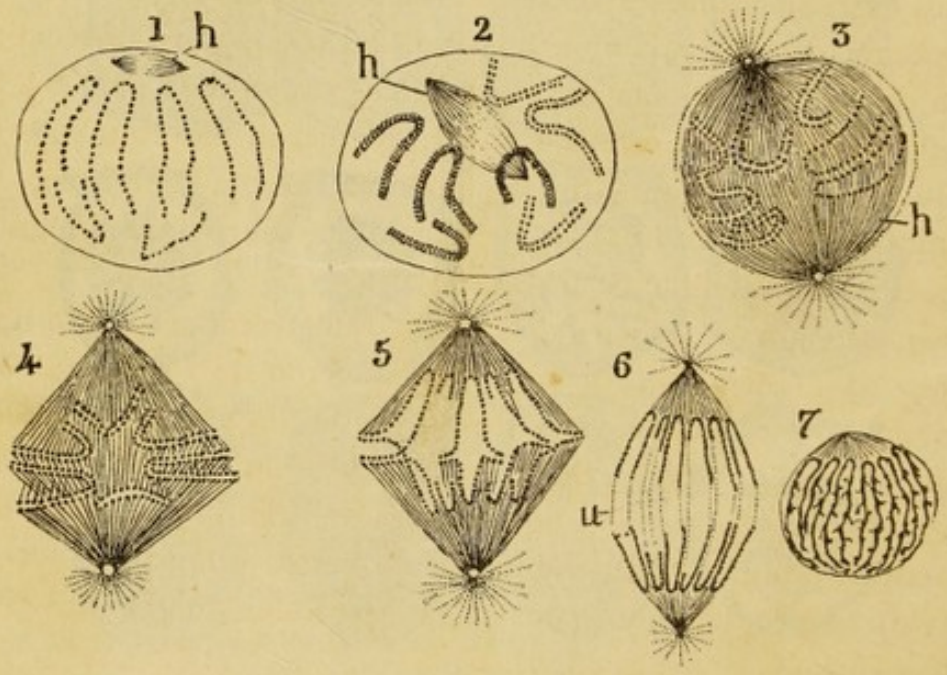


Fig. 63.—Fases mitósicas, según Rabl.—1, Fase de ovillo ; 2, Formación del huso y atracción de las horquillas ; 3 y 4, Momentos distintos de la fase de estrella madre ; 5, Placa ecuatorial ; 6, Estrellas hijas ; 7, núcleo hijo donde comienzan á brotar los hilos secundarios ; *h*, huso acromático ; *u*, filamentos de unión.

membrana nuclear, en el medio del campo polar; luego adquiere un gran volumen, y alejándose de la cubierta, se retira á la región central del núcleo, para dirigir los movimientos de las asas cromáticas (fig. 63, 1, 2).

Mientras tanto, estas últimas, como atraídas por fuerza misteriosa, vuelven sus codos al centro del núcleo, disponiéndose en torno de la región más ancha del huso, y constituyendo una estrella cuyo plano es perpendicular al eje de éste. Este plano

llámase sección ó *plano ecuatorial*, y á su nivel ocurrirá más adelante la segmentación del núcleo y protoplasma.

Durante la formación de la estrella, la membrana nuclear se hace cada vez más pálida, hasta que desaparece por completo. En adelante, las figuras nucleares se mostrarán completamente libres en el interior del protoplasma.

Fase de segmentación longitudinal. — Como ha descubierto Flemming, durante la fase de estrella *madre*, y á veces antes, las horquillas se excinden á lo largo, comenzando el hendimiento por los extremos libres y acabándose por los codos. Este importante fenómeno de partición longitudinal, tiene por consecuencia la duplicación de las asas cromáticas, y explica por qué la estrella madre y las estrellas hijas, encierran exactamente el mismo número de filamentos de nucleína. Según Flemming, la segmentación longitudinal de las horquillas sobreviene á menudo en el estadio de glomérulo ó de ovillo.

Frecuentemente, las asas de la fase de estrella muestran una disposición arrosariada; lo que, en concepto de Pfitzner, Balbiani, Rabl, etc., dependería de que cada filamento cromático consta en realidad de un número considerable de esférulas de cromatina, ligadas entre sí por puentes de linina. En el acto de la partición longitudinal, cada esférula constitutiva de las asas se dividiría, produciéndose dos sartas paralelas de granitos cromáticos (fig. 62, 8, y fig. 63, 3).

Placa ecuatorial ó metakinesis.—Luego de duplicadas las horquillas, éstas comienzan á separarse, iniciándose el apartamiento por los codos y siguiendo hasta los extremos (fig. 62, 9, y figura 63, 5). Desconócese el mecanismo de esta emigración de las horquillas. Ciertos autores imaginan que, en el momento de la segmentación longitudinal, divídese ecuatorialmente el huso, cuyos filamentos se adherirían á los codos de las horquillas, tirando de ellos hacia las regiones polares.

Fase de estrellas hijas. — Las asas cromáticas se corren hacia los polos, constituyendo una doble estrella, que sólo puede apreciarse bien en las vistas polares. Los filamentos del huso han desaparecido en gran parte de la zona ecuatorial, percibiéndo-

selos con claridad en el espacio que media entre los codos de las asas y el granito polar (fig. 63, 6).

Fase del ovillo hijo.—Los granos polares y el huso desaparecen, mientras que una fina membrana surge en torno de las figuras cromáticas hijas. Al iniciarse esta fase, las horquillas conservan su orientación y su independencia ; pero no tardan en brotar del contorno de las asas filamentos pálidos, ramificados, que enlazan entre sí los hilos cromáticos, dando lugar á una figura reticulada, fiel reproducción de la fase del núcleo en descanso. Al acabar esta fase ó algo antes, se excinde ecuatorialmente el protoplasma celular, y la sección comienza en la periferia para terminarse en el centro. Por este tiempo, los filamentos secundarios son bien perceptibles, así como el nucleolo (figura 63, 7, y fig. 62, 11).

KARIOKINESIS PLURIPOLAR

En las células gigantes ó mieloplasias de la médula ósea (Denys), en las células de los tejidos patológicos (Arnold, Hansemann, Cornil, Schottländer, Denys, Cajal, etc.), en las células gigantes del hígado embrionario (Kostanecki), en los óvulos del *strongylocentrotus* tratados por la quinina (O. Hertwig), etc., se advierte que la partición de las asas cromáticas en la fase de estrella madre, en vez de conducir á la formación de dos estrellas hijas, puede abocar á la construcción de tres, cuatro ó más de estas figuras, cada una de las cuales se transformará en un núcleo en descanso. Cuando la mitosis ha terminado, el protoplasma, que sólo entra en partición tardíamente, contiene un número más ó menos considerable de núcleos.

Este fenómeno de mitosis pluripolar depende probablemente de la multiplicación anormal del número de las esferas atractivas, así como de la pluralidad de los husos acromáticos. Por lo demás, la multiplicidad de las esferas atractivas en las mieloplaxias y otras células en estadio de descanso, parece ser, si hemos de dar fe á las recientes observaciones de Heidenhain, un hecho constante.

Relación entre la mitosis y las esferas atractivas. — Hasta ahora no hemos estudiado la esfera atractiva en sus relaciones con el acto mitósico; lo haremos más adelante al tratar de la conjugación.

Por el momento, conviene hacer constar que muchos histólogos (van Beneden, Rabl, Flemming, Heidenhain) estiman que la esfera atractiva representa un órgano constante del protoplasma, cuya misión es iniciar el movimiento kariokinético. Al efecto, y antes que la cromatina nuclear sufra cambios importantes, la esfera atractiva se segmentaría, y las dos esférulas resultantes se apartarían, corriéndose por fuera de la membrana nuclear; una vez formado el huso acromático y desaparecida dicha membrana, estos granitos vendrían á constituir los dos puntos brillantes que destacan en los polos de aquél. Si semejante división de las esferas atractivas no puede sorprenderse en la mayor parte de los elementos en vías de mitosis, ello dependería de la pequeñez de las mismas. Por el contrario, los óvulos de los invertebrados (*asteria*, *vermes*), cuyas esferas son gruesas, y, por tanto, bien perceptibles, permitirían seguir el fenómeno con toda facilidad. En muchas células, la esfera atractiva es doble, y no es, en consecuencia, necesaria una división preliminar de la misma.

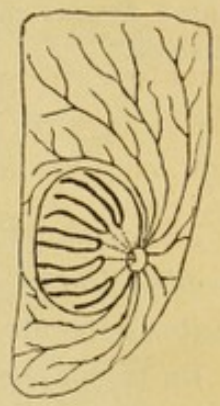


Fig. 64. — Esquema de Rabl, que muestra la estructura hipotética de la célula y núcleo en descanso.

Esquema de Rabl sobre la segmentación mitósica. — La influencia de la división de las esferas atractivas sobre la formación de las figuras cromáticas es difícil de comprender, así como la construcción del huso que tanta influencia parece tener en la posición y movimientos de las asas cromáticas. Para dar alguna idea de este mecanismo, Rabl ha imaginado el adjunto esquema del núcleo en descanso (fig. 64). Los hilos primarios ó gruesos del armazón nuclear aparecen formando horquillas, cuyos codos miran á la zona polar, en la cual, y sobre la membrana, descansa la esfera atractiva. Los ángulos de las horquillas únense mediante finos hilos al grano polar ó esfera atractiva que recibe por el opuesto lado la inserción del retículo protoplásmico. Con estos antecedentes, veamos cómo se realiza el fenómeno kinético.

Bajo la provocación de un estímulo exterior, el retículo protoplásmico reacciona, contrayéndose y tirando en dirección opuesta de la esfera atractiva; ésta se duplica, y acto seguido se dividen á lo largo los hilos acromáticos que la enlazan á las horquillas. En tal situación, las esferas atractivas se han apartado mucho, colocándose casi en puntos opuestos del núcleo; y los dos haces producidos por la división de los hilos acromáticos se han convertido en el huso ó fascículo de fibras pálidas, á cuyo alrededor se establecerá la estrella madre. Por último, los ángulos de las

asas, de los que tiran los dos medios husos recién formados, acaban por excindirse también longitudinalmente, de donde la formación de la placa ecuatorial, estrellas hijas, etc.

No todos los autores están de acuerdo con el esquema de Rabl. Flemming, sobre todo, lo combate con argumentos de fuerza, entre los cuales el más importante nos parece ser la frecuente producción de la excisión longitudinal en estadio de ovillo, es decir, antes de que los medios husos acromáticos aparezcan y puedan tirar de los cromosomas. También se duda por algunos de la contractilidad de los filamentos del huso. Así, Reinke se inclina á atribuir la dislocación de los cromosomas en las distintas figuras mitósicas á los movimiontos libres, amiboides, de los mismos.

CONJUGACIÓN

La formación celular por conjugación, ocurre solamente en la producción de la primera célula del embrión, tanto de los animales como de las plantas.

En la conjugación hay que distinguir dos actos sucesivos : 1.°, reducción cromática ó expulsión de una parte de los filamentos del núcleo del zoospermo y del óvulo; 2.°, penetración del zoospermo en el protoplasma del óvulo y construcción de una figura cromática conjugada ; 3.°, kariokinesis subsiguiente.

Proceso de reducción. — Llamado también *maturación* de las células sexuales, consiste esencialmente en la expulsión, á beneficio de dos actos mitósicos simplificados, de una parte de la cromatina nuclear, con el fin quizá de evitar la duplicación de esta materia después de la fusión, en una unidad nuclear, de los dos núcleos ovular y zoospérmico. Este curioso proceso, cuyas fases han podido seguirse bien en los equinodermos (*asteria glacialis*) y los vermes (*ascaris megalocephala*), es el obligado precedente de la fecundación y recae tanto en el zoospermo como en el óvulo. Existen todavía puntos dudosos en lo concerniente á las fases y mecanismo de la reducción; nosotros, á fin de aparecer más claros, evitaremos toda discusión, indicando lo más substancial de las investigaciones de Fol, van Beneden, Boberi, Hertwig, Carnoy, van Gehuchten, etc.

Reducción en el óvulo. — En esta descripción nos referiremos sobre todo al óvulo del *ascaris megalocephala*, donde el proceso

ha podido estudiarse más detalladamente que en los equinodermos y vertebrados inferiores.

El óvulo maduro ó casi maduro del *ascaris* del caballo, contiene un protoplasma granuloso, salpicado de inclusiones, una fina membrana de cubierta, y un núcleo provisto de ocho bas-

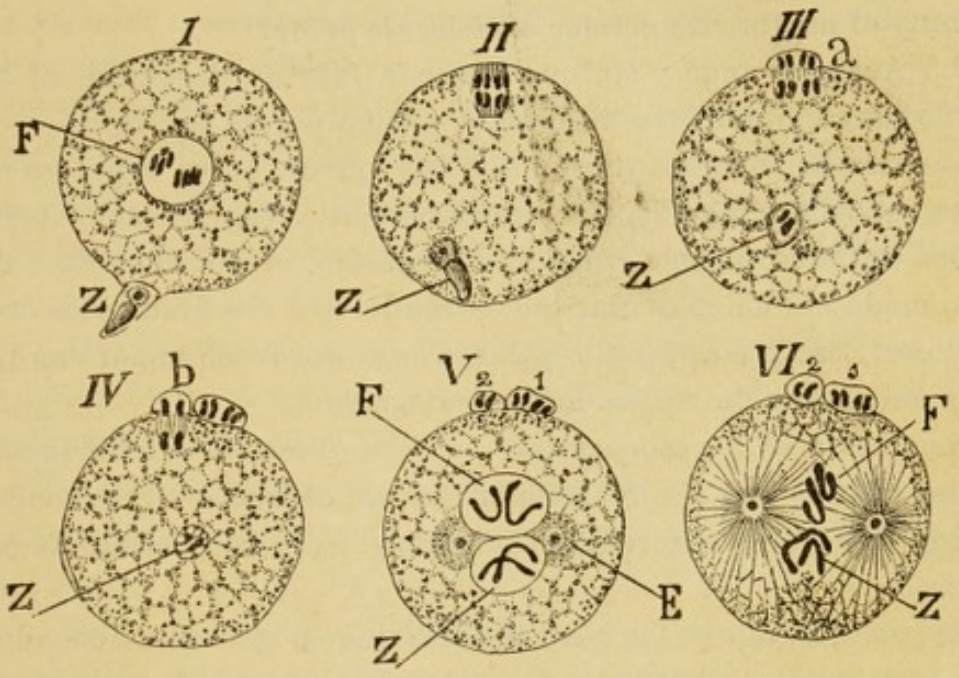


Fig. 65. — Fases del proceso de la conjugación y del de la eliminación de los corpúsculos polares en el óvulo del *ascaris megalocephala*, según O. Hertwig.

F, núcleo femenino; Z, zoospermo ó núcleo derivado del zoospermo; E, esfera atractiva; *a*, formación del primer corpúsculo polar; *b*, formación del segundo corpúsculo polar.

Fase I. El zoospermo Z, penetra en el óvulo. — *Fase II.* El núcleo del óvulo se prepara para eliminar el primer corpúsculo polar.—*Fase III.* Eliminación del primer corpúsculo polar y transformación del zoospermo en un núcleo. — *Fase IV.* Eliminación del segundo corpúsculo polar y fase de descanso del núcleo masculino. — *Fase V.* Aproximación de los núcleos masculino y femenino, cada uno de los que posee dos asas cromáticas. — *Fase VI.* Formación de una estrella madre con las cuatro asas cromáticas, de las que dos son masculinas y dos femeninas.

toncitos cromáticos, seis de los cuales deben ser eliminados. Las fases principales del fenómeno son :

1.° El núcleo pierde su membrana y se hace periférico; llegado cerca de la superficie celular, surge entre los bastoncitos cromáticos un huso de cortas dimensiones (fig. 65, II), en torno del

cual, estos últimos se alinean en dos haces de á cuatro hilos cada uno.

2.° Divídese ecuatorialmente el pequeño huso formado y sepárase del cuerpo celular un trozo de protoplasma periférico, que arrastra consigo cuatro bastones cromáticos (fig. 65, III). El corpúsculo independiente que resulta, sitúase por fuera del óvulo y toma el nombre de *primer corpúsculo polar*.

3.° Acto contínuo y sin que preceda fase de descanso, ni de ovillo, engéndrase otro huso en el mismo paraje del anterior, y los cuatro bastoncitos que en el óvulo quedaron se reparten en dos grupos (fig. 65, IV). Una nueva é idéntica segmentación periférica del protoplasma, origina el *segundo corpúsculo polar*; de este modo el núcleo ovular queda reducido á dos filamentos cromáticos. Los dos corpúsculos polares no se aprovechan para nada, degenerando y destruyéndose ulteriormente.

Reducción en los zoospermos. — Se ha observado el fenómeno en las células madres de zoospermos del *ascaris*; últimamente, Bardeleben lo ha sorprendido también en los zoospermos de los mamíferos.

El proceso recorre las mismas fases que en el óvulo, abocando á la eliminación, mediante dos actos de partición sucesivos, de una porción de la cromatina del zoospermo. Los corpúsculos polares nacidos del núcleo de los filamentos espermáticos de los mamíferos, son elementos caducos, destinados á destruirse; pero en las células madres del zoospermo del *ascaris megalocephala*, el proceso de reducción engendra células viables de tamaño casi idéntico.

Penetración del zoospermo y conjugación de los núcleos masculino y femenino. — He aquí las fases del proceso en el *ascaris megalocephala*, según Beneden, Boberi, Carnoy, Zacharías, etc., fases que coinciden en gran parte con las descritas por Fol en el *asteria glacialis*.

1.° El zoospermo, que en el ascaris tiene una forma conóidea (fig. 65, Z, I), disuelve en un punto la fina membrana de cubierta del óvulo, y penetra en el espesor del protoplasma. La cola y demás accesorios desaparecen, quedando solamente perceptible un grano cromático (fig. 65, II, Z) que corresponde á la cabeza del

zoospermo de los mamíferos. En cuanto la penetración es completa, la membrana ovular se refuerza por una nueva y más espesa cubierta, á fin de evitar la intrusión de nuevos zoospermos. En muchos óvulos, los fenómenos de reducción preceden á la entrada del filamento seminal; pero no sucede así en los del *ascaris*, donde antes de la expulsión del segundo corpúsculo polar ya suele esperar el núcleo zoospérmico en el centro del protoplasma (fig. 65, IV).

2.° Acabada la expulsión del segundo corpúsculo de reducción, el núcleo femenino se acerca al masculino, situándose ambos en el centro del óvulo; cada núcleo ó *protonúcleo*, como también se designa, aparece compuesto de una membrana acromática y de una red cromática.

3.° Del protoplasma ovular surgen dos esferas atractivas, que se colocan una en un lado y otra en el opuesto de la pareja de protonúcleos (fig. 65, V, E).

4.° Las membranas nucleares desaparecen, y la cromatina de cada núcleo se transforma en una pareja de bastones cromáticos de gran longitud (fig. 65, V, F).

5.° Entre las esferas atractivas se advierte ahora un huso acromático, cuyo ecuador atrae los hilos acromáticos sueltos, engendrándose una figura mitósica que corresponde á la llamada *estrella madre*. De estos cuatro filamentos, dos son masculinos y dos femeninos (fig. 65, VI).

6.° Las asas ó cromosomas divídense longitudinalmente, produciendo ocho filamentos, de los cuales cuatro se dirigirán á un polo y cuatro al otro. Resultan, por consiguiente, formadas dos estrellas hijas, en las cuales se contienen dos asas cromáticas masculinas y dos femeninas.

7.° Acábase la división kariokinética, constituyéndose dos núcleos hijos en descanso y segmentándose el protoplasma. En adelante, la multiplicación de las células ocurrirá por kariokinesis común. El proceso será siempre iniciado por la segmentación de la esfera atractiva.

Se ve, por lo expuesto, que el acto de la fecundación consiste esencialmente en la construcción de una figura de estrella madre, en la cual, de sus cuatro asas integrantes, dos tienen repre-

sentación masculina y dos femenina. No existe, pues, fusión de los protonúcleos paterno y materno, sino reparto de las cromatinas sexuales, de tal suerte que, en toda división celular ulterior se conservará exactamente el mismo número de filamentos cromáticos masculinos y femeninos. Esta independencia de los cromosomas masculinos y femeninos, ha sido reconocida por Rückert (1895) hasta en los núcleos en fase de descanso (esferas de segmentación de las larvas de *Cyclops*) en los cuales se ven dos grupos laterales de asas, constantemente separados, uno formado por los cromosomas paternos y otro por los maternos.

Esta interesante disposición, que ha sido confirmada por Hacker (1895) en los crustáceos, y por Zoja (1896) en el *ascaris megalocephala*, prueba que todo núcleo posee una simetría bilateral, es decir, que los cromosomas paternos colocados á un lado del eje orgánico del núcleo, son iguales en número y forma que los maternos situados en el otro.

Dado que el acto esencial de la conjugación consiste en la reunión de la cromatina del zoospermo con la del óvulo, y teniendo en cuenta que el protoplasma paterno ó zoospérmico añadido al óvulo, es una cantidad despreciable comparada con la de éste, resulta muy verosímil la opinión defendida por Strasburger, Oscar Hertwig, Kölliker, Weissmann, etc., de que el *substractum* por el cual los padres transmiten sus cualidades á los hijos, la *materia de la herencia*, en fin, no es otra cosa que la substancia del núcleo y del corpúsculo polar. Sólo estas partes concurren en cantidades iguales y con propiedades físico-químicas idénticas al acto de la fecundación. El protoplasma del óvulo representaría principalmente un órgano vegetativo, indispensable á la nutrición y renovación de la materia hereditaria.

En el proceso de la fecundación, existen todavía muchos puntos dudosos. Uno de ellos es el origen de las esferas atractivas que preceden al acto de la conjugación de las asas cromáticas. En el *ascaris* no ha podido descubrirse la procedencia de dichos corpúsculos ; pero, en cambio, los modernos trabajos de H. Fol (1891) en la *asteria glacialis*, y los recientes de Fick (1893) en los urodelos, permiten aceptar, como muy verosímil, que la pareja de esferas atractivas no nace espontáneamente en el seno del protoplasma del óvulo, sino que procede de esferas preexistentes. En efecto, el zoospermo, al penetrar en el protoplasma, trae consigo

un órgano especial, la pieza intercalar ó intermedia, que no es otra cosa que una verdadera esfera atractiva masculina; por su parte, el núcleo del óvulo se acompaña de otra, que en el *ascaris* no es visible, pero que aparece distintamente en la *asteria glacialis*. En cuanto los pronúcleos se aproximan, las dos esferas atractivas se dividen; cada mitad masculina, busca á la mitad femenina, fúndense después, y engéndranse dos esferas atractivas hermafroditas, puesto que cada una resulta de la reunión de media masculina con media femenina.

Los más modernos trabajos sobre el origen de las esferas atractivas confirman en lo substancial las aserciones de Fol y de Fick. Michaelis (1896) ha notado que en el acto de la fecundación del óvulo del tritón, la cola del zoospermo es absorbida, y la pieza intermediaria de éste se convierte en esfera atractiva. También Niessing (1896) ha confirmado dicha preexistencia de la esfera atractiva masculina en la fecundación del óvulo de los mamíferos, habiendo podido seguir todas las fases recorridas por el centrosoma de la célula madre testicular (*espermatocito*) hasta convertirse en un órgano de la cabeza del zoospermo, con el cual penetraría en el protoplasma del óvulo.

En cuanto á la significación del singular fenómeno de la expulsión de las asas cromáticas, los dictámenes de los sabios no están de acuerdo. Todos, sin embargo, coinciden en que esta reducción es necesaria para que el núcleo resultante de la fecundación contenga la misma cantidad de cromatina ó de substancia hereditaria; pues es evidente que si no hubiera reducción preliminar á cada fecundación, dicha materia se duplicaría, y al cabo de algunas generaciones, alcanzaría proporciones colosales. Es posible que el fenómeno de la reducción tenga todavía más hondo sentido y que se relacione, como quiere Weissmann, con la necesidad de facilitar el progreso, eliminando el plasma ó la representación hereditaria de nuestros antepasados más lejanos.

La producción de dos globos polares tiene algunas excepciones. Así Sobotta (1896), en su trabajo sobre la fecundación en el anfioxus, sólo ha podido confirmar la existencia de un globo polar ó de dirección. En este mismo animal los protonúcleos femenino y masculino se fundirían en su fase de reticulación, siendo imposible por tanto la demostración de la independencia de las cromatinas paterna y materna. También en la fecundación del óvulo del ratón se formaría á menudo un sólo cuerpo de dirección, el cual se originaría por partición transversal de los cromosomas preexistentes y no por eliminación de asas separadas.

Desarrollo embrionario. — Las sucesivas particiones del óvulo fecundado, dan origen á un conglomerado celular todavía contenido bajo la membrana pelúcida, que se llama fase de *morula*.

Fase de blástula. — Al principio, dichas esferas de segmentación constituyen una masa maciza; pero no tarda en aparecer

un líquido central que rechaza hacia la periferia las células, las cuales se disponen en membrana por debajo de la zona pelúcida. Esta capa celular es continua, forma una verdadera vesícula cerrada, y se designa con el nombre de *blastodermo*.

Fase de gástrula. — Ulteriormente, y merced á la invaginación de un lado de la vesícula blastodérmica, constitúyese la *gástrula*, en la cual existe una cavidad comunicante con el exterior (*colenterón*) y un agujero que establece la comunicación (*blastoporo*). El pequeño espacio que resulta entre las dos hojas, se llama *cavidad de segmentación*, y las hojas mismas se conocen con las designaciones de *ectodermo* ú hoja externa, y *entodermo* ú hoja interna. En los gusanos, equinodermos, etc., la fase de *gástrula* constituye una larva independiente que se nutre por sí, experimentando algunas diferenciaciones, tales como la aparición de pestañas, etc. El colenterón hace oficio de cavidad digestiva y el entodermo de mucosa intestinal. En los vertebrados la fase de gástrula, como todas las otras, se transforma rápidamente, nutriéndose á expensas de los órganos inmediatos del animal, ó á costa de las reservas alimenticias de la yema (aves, reptiles, etc.).

Formación del mesodermo. — En los vertebrados inferiores, como el anfioxus, los anfibios, los peces, etc., el mesodermo ú hoja media, resulta de un replegamiento del entodermo. Pero en los vertebrados superiores (aves y mamíferos) el proceso de formación del mesodermo es muy discutido. En general, admítese, como ya demostró Kölliker hace muchos años, que esta hoja procede del ectodermo, precisamente del paraje de éste en donde se forma el surco primitivo del embrión. Al principio, la continuidad del ecto y mesodermo al nivel de dicho surco, es claramente demostrable; pero luego rómpense los vínculos que enlazaban ambas hojas celulares, y el embrión aparece compuesto de tres membranas netamente separadas; la interna ó entodermo, compuesta de una hilera de elementos aplanados; la externa ó ectodermo, formada de células prismáticas voluminosas, particularmente abundantes al nivel del surco primitivo; la media ó mesodermo, constituída de corpúsculos menos regulares y dispuestos en dos hileras fundidas hacia adentro y limitantes de

un intersticio ó cavidad llamada *saco celómico ó celoma*. Entre los dos sacos celómicos aparece una columna hueca, engendrada por un replegamiento del entodermo, y situada paralelamente al surco primitivo. Esta columna se designa *notocorda*.

Cada hoja blastodérmica posee una significación, tanto organogenética como histogenética. El *ectodermo* sólo engendrará una categoría especial de órganos y tejidos, á saber : el epidermis cutáneo, las glándulas de la piel, el sistema nervioso, el cristalino, las mucosas bucal, ocular, etc. El *entodermo* dará origen al epitelio intestinal y sus glándulas anejas, como el páncreas, hígado, pépsicas, de Lieberkühn, etc. El *mesodermo* producirá, sobre todo, los tejidos vegetativos del organismo, tales como el conjuntivo, óseo, cartilaginoso, seroso, vascular, sanguíneo, adiposo, á los que hay que añadir algunos órganos activos como los músculos, el ovario y testículo.

Los alumnos que deseen adquirir un conocimiento profundo de la Elementología, deben consultar los siguientes libros y monografías. No mencionamos todos los trabajos publicados en estos últimos años, pues la lista sería larguísima, sino los que estimamos más importantes, relativamente á la estructura y reproducción de las células :

Flemming : Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung. Leipzig, 1882.
Idem.—Ueber Theilung u. Kernformen bei Leucocyten und über deren Attractionssphären. *Arch. f. mik. Anat.* Bd. 37.
Idem. — Attractionssphären und Centralkörper in Gewebszellen und Wanderzellen. *Anatomischer Anzeiger*. Bd. VI.
Idem.—Zelle. Ergebnisse der Anatomie und Entwickelungs geschichte. II Band. 1893. Wiesbaden.
Carnoy : La biologie cellulaire, etc. Lierre, 1884.
Idem.—La cytodiérèse chez les arthropodes. La cellule. Bd. I.
Idem.—La vesicule germinative et les glob. polaires chez divers nématodes.
Fol : Lehrbuch der vergleich. mikr. Anatomie. Leipzig, 1884.
Strasburger : Zellbildung und Zelltheilung, 2.e Aufl. 1876.
Idem.—Studien über das Protoplasma. *Jenaische. Zeitschr.* 1876.
Idem.—Manuel technique d'Anatomie vegetale, etc. (traducción del alemán por Godfrin). París, 1886.
Kölliker : Handbuch der Gewebelehre, 6.e Aufl. 1889.
Schieferdecker u. Kossel : Gewebelehre mit besonderer Berucksichtigung des menschl. Körpers. 2 Band. Brauschweig. 1891.
Renaut : Traité d'histologie pratique. París, 1889.

Altmann : Die Elementasorganismeu u. ihre Beziehungen zu den Zellen, Leipzig, 1890.

Butschli : Untersuchungen uber mikroskopische Schäume u. das Protoplasma, 1892.

Pritzner : Beitrage zur Lehre vom Bau des Zellkerns u. seinen Theilungsercheinungen. *Arch. f. mik. Anat.* Bd. 22, 1883.

Van Beneden : Recherches sur la maturation de l'œuf, la fecundation et la division cellulaire. *Arch. de Biol.* Vol. IV. 1883.

Van Beneden et Neyt : Nouvelles recherches sur la fécondation et la division mitosique chez l'ascaride mégalocephale. Leipzig, 1887.

Roberi : Zellenstudien, *Jenaische Zeitschrift.* 1888, 1890.

Rabl : Ueber Zelltheilung. *Morpholog. Jahrb.* Bd. X. 1885, y *Anatomischer Anzeiger.* Bd. IV. 1889.

R. Zander : Ueber den gegenwärtigen Stand der Lehre von der Zelltheilung. *Biol. Centralblatt.* Bd. XI. 1891.

Waldeyer : Ueber Karyokinese und ihre Beziehungen zu den Befruchtungsvorgängen. *Arch. f. mik. Anat.* Bd. 32, 1888.

Solger : Zur Kenntniss der Pigmentezellen. *Anat. Anzeiger*, 1891.

Weissmann : Ueber die Zahl der Richtungskörper und ueber ihre Bedeutung für die Vererbung. Jena, 1887.

O. Hertwig : Beträge zur Kenntniss der Bildung, Befruchtung und Theilung der thierischen Eies. *Morphol. Jahrbuch.* Bd. I. II. IV.

Idem.—Vergleich der Ei-u. Samenbildung bei Nematoden. *Arch. f. mik. Anat.* Bd. 36, 1890.

Idem. — Die Zelle und die Gewebe. Jena, 1893. (El libro más completo de Elementología).

R. Fick : Ueber die Reifung und Befruchtung des Axolotleies. Leipzig, 1893.

J. Sobotta : Die Betruchtung des Eier der Maus. *Anat. Anzeiger*, número 7, 1894.

Rawitz : Grundriss der Histologie. Berlin, 1894.

Reinke : Zellen Studien, *Arch. f. mik. Anat.* Bd. 44, 1895.

Ruckert : Ueber das Selbständigbleiben des väterlichen und mütterlichen Kernsubstanz &. *Arch. f. mikr. Anat.* Bd. 45, 1895.

Niessing : Zellenstudien. *Arch. f. mikr. Anat.* Bd. 46, 1895.

Rawitz : Untersuchungen ueber Zelltheilung &. *Arch. f. mikr. Anat.* Bd. 47, 1896.

Ives Delage : La Structure des protoplasma et les théories de l'hérédité. París, 1895.

Ives Henneguy : Leçons sur la cellule. París, 1896.

Duval : Precis d'Histologie. París, 1897.

SECCION SEGUNDA

HISTOLOGÍA

CAPITULO PRIMERO

Concepto de Histología. — Definición de tejido. — Clasificación de los tejidos.

Se llama *Histología* (de ιστος, tejido y λογος, tratado) la sección de la Anatomía general que estudia los tejidos orgánicos.

Tejidos.—Son las masas orgánicas formadas por la asociación, en un orden constante, de células de propiedades estructurales, fisiológicas y químicas semejantes.

El tejido representa una trama celular típica, siempre idéntica en cualquier parte del organismo en que se la estudie. La reunión de varias tramas de propiedades diversas engendra los sistemas ó sea la compleja urdimbre de los órganos. Sólo por escepción existen órganos, como el cristalino, constituídos exclusivamente de un sólo tejido; los músculos, los huesos, las glándulas, etc., resultan de la asociación y entretejimiento de tres ó cuatro tejidos.

Clasificación de los tejidos. — Las analogías y diferencias que bajo el triple aspecto de la génesis, actividad fisiológica y estructura, ofrecen los tejidos, pueden servir de bases para una clasificación histológica; empero ninguna más provechosa que la referente á la estructura, aunque en el estado actual de la ciencia, no pueda fundarse en ella una clasificación completamente exenta de defectos.

Hé aquí la clasificación que nos parece más lógica; se funda en dos consideraciones anatómicas : el modo de unión de las células y el grado de diferenciación del cuerpo protoplasmático.

Por lo demás, este agrupamiento de los tejidos tiene muchos puntos de contacto con la clasificación de Virchow.

- *Tejidos simples...*
  - De células unidas directamente. — epitelial. / tejido del cristalino.
  - De células separadas por substancia fundamental.....
    - con substancia fundamental líquida..... — sangre. / linfa.
    - semi-líquida. — conjuntivo. / adiposo.
    - sólida..... — cartilaginoso. / óseo. / dentario.
  - De células transformadas..... — muscular. / nervioso.
- *Tejidos compuestos*..... — tegumentario. / piloso. / seroso. / glandular. / vascular.

CAPITULO II

TEJIDO EPITELIAL

Definición.—El tejido epitelial (de επί, *sobre*, y θηλή, *mamelón* ó *papila*) es una trama membranosa que reviste las superficies libres del organismo, y consta de células poliédricas, unidas entre sí por escasa cantidad de un cemento intersticial.

Caracteres macroscópicos.—Son los epitelios membranas transparentes ó translúcidas, elásticas, coherentes, exentas de vasos, pero no de nervios. Por una de sus caras son libres, limitando la cavidad de los órganos internos ó la superficie de la piel; por su cara profunda, se adhieren íntimamente al tejido conjuntivo, del cual extraen el plasma de nutrición.

Caracteres micrográficos de los epitelios. — La composición de los epitelios es extremadamente simple, pues constan solamente de células, generalmente voluminosas, exentas de expansiones, y limitadas por facetas planas. El contacto de las células no es inmediato; entre ellas existe una materia resistente, diáfana, que se tiñe en negro por el nitrato de plata (*cemento* de unión) y se disuelve por la potasa y el alcohol al tercio. En ciertos epitelios, la unión se refuerza á favor de filamentos intercelulares.

Clasificación de los epitelios. — Atendiendo á la morfología celular, pueden distribuirse en tres grupos principales: epitelio de células aplanadas, epitelio de células alargadas ó prismáticas, epitelio de células cúbicas. Para establecer los géneros, conviene introducir el principio de la diferenciación celular. He aquí la clasificación:

Los epitelios, son:	De células aplanadas ó anchas.	de una sola capa.	endotelio.
		de varias capas.	epitelio tegumentario.
	De células prismáticas ó largas	con chapa.....	intestinal.
		con melanina....	pigmentario.
		con pestañas....	vibrátil.
	De células cúbicas ó cortas.		glandular.

Endotelios. — Así fueron llamados por His aquellos epitelios aplanados, de una sola capa, semejantes á un pavimento, que tapizan las cavidades cerradas del mesodermo, á saber : el interior del árbol sanguíneo y linfático, el corazón, pleura, peritoneo, pericardio y aracnoides, las sinoviales articulares, etc. Aunque, por lo común, los endotelios reconocen un origen mesodérmico, no faltan excepciones entre las cuales debe citarse el pulmón, cuyas vesículas terminales, con ser de extirpe entodérmica, es-

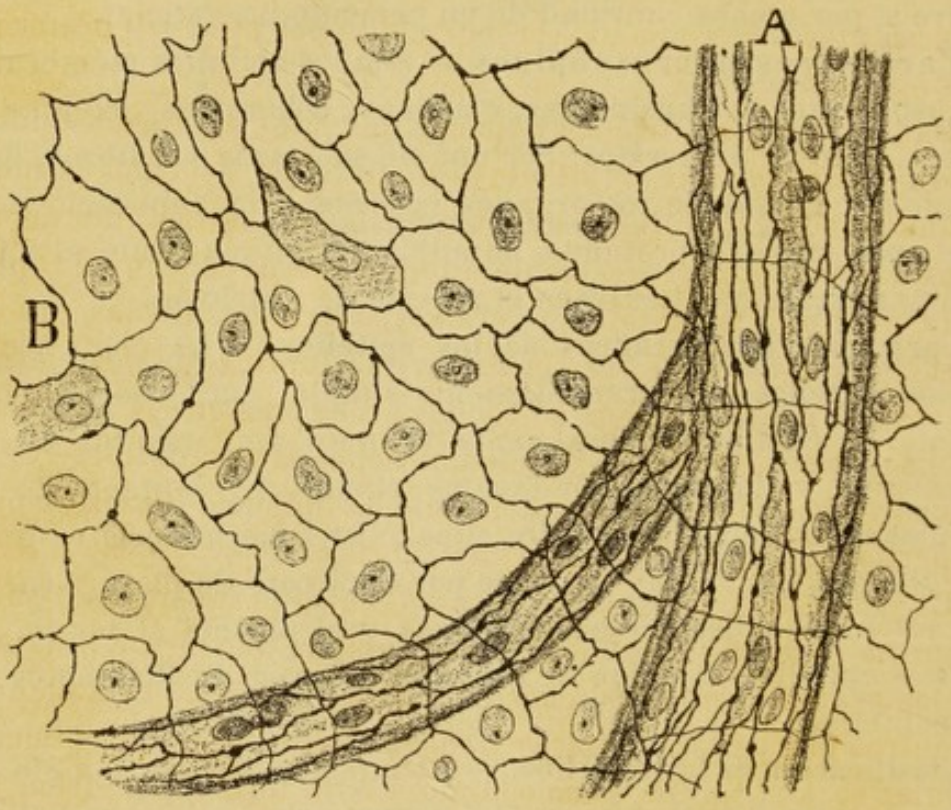


Fig. 66.—Endotelio del mesenterio de la rana. Coloración con el nitrato de plata y carmín : A, endotelio de un capilar sangníneo ; B, endotelio del mesenterio.

tán revestidas de células aplanadas de aspecto endotelial. Hay también cubiertas endoteliales que no tapizan cavidades serosas, sino superficies de órganos rodeados de otros tejidos. Tales son, por ejemplo, las cubiertas endoteliales de la vaina laminosa de los nervios, la que rodea los haces tendinosos secundarios, la que tapiza los órganos músculo-tendíneos de Golgi, las que envuelven las células de los ganglios raquídeos, etc.

Las células endoteliales no pueden estudiarse bien sino en

las preparaciones tratadas en fresco por el nitrato de plata, reactivo que produce (como ya expusimos en la *Técnica*) al nivel del cemento intercelular, un precipitado negro de plata metálica que dibuja correctamente los contornos celulares. En estas preparaciones se advierte que las células endoteliales son delgadísimas, transparentes, de forma poligonal y de bordes sinuosos íntimamente ajustados á los de los vecinos elementos. En ciertos parajes, sobre todo en los puntos de convergencia de varias células, nótanse unos acúmulos redondeados de cemento, que algunos autores han tomado erróneamente por agujeros preformados (*estomas*).

Dada la extrema transparencia y delgadez de dichas células, es difícil de apreciar el retículo protoplásmico, así como la membrana; en cambio, los reactivos de la cromatina, denuncian constantemente la presencia de un núcleo redondo ú oval, aplastado en el mismo sentido que el cuerpo celular. De las dos superficies celulares, la libre es lisa y está lubrificada por plasma, en el cual nadan algunos leucocitos; mientras que la adherente es más áspera, toca á los fascículos conectivos próximos, y, algunas veces, parece presentar, como ha indicado Bizzozero para el peritoneo, una capa basal, fina y brillante.

La morfología de las células endoteliales se subordina á su topografía y á la disposición del órgano que deben revestir. Así, en las grandes serosas, dichas células son planas ó casi planas; mientras que en los capilares y fascículos tendinosos, el cuerpo celular se abarquilla, acomodándose á la forma cilíndrica del órgano. Presentan también variaciones topográficas de forma, cuyo origen no puede determinarse: las células de la pleura y peritoneo (fig. 66), las cuales son anchas, poligonales y de bordes irregulares; el endotelio vascular, cuyos elementos afectan figura romboidal, con el eje mayor paralelo al del vaso; el endotelio de los vasos linfáticos donde dominan células irregularmente romboidales, de bordes engranados á beneficio de anchos dentellones, etc. (fig. 67). Este aspecto dentellado ha sido atribuído por Muscatello al estado de retracción de los endotelios; con la tensión, las sinuosidades de los bordes celulares desaparecerían en gran parte.

Supónese, en general, que los contornos celulares están unidos solamente á favor de un cemento resistente; sin embargo, el endotelio de la membrana de Descemet (cara posterior de la córnea), presenta filamentos comunicantes que fueron descritos por Preiss, Smirnow y nosotros (1), y, en ciertos casos, descúbrense también filamentos de unión en las células peritoneales, como ya habíamos nosotros sospechado (2), y ha demostrado recientemente Kolosow.

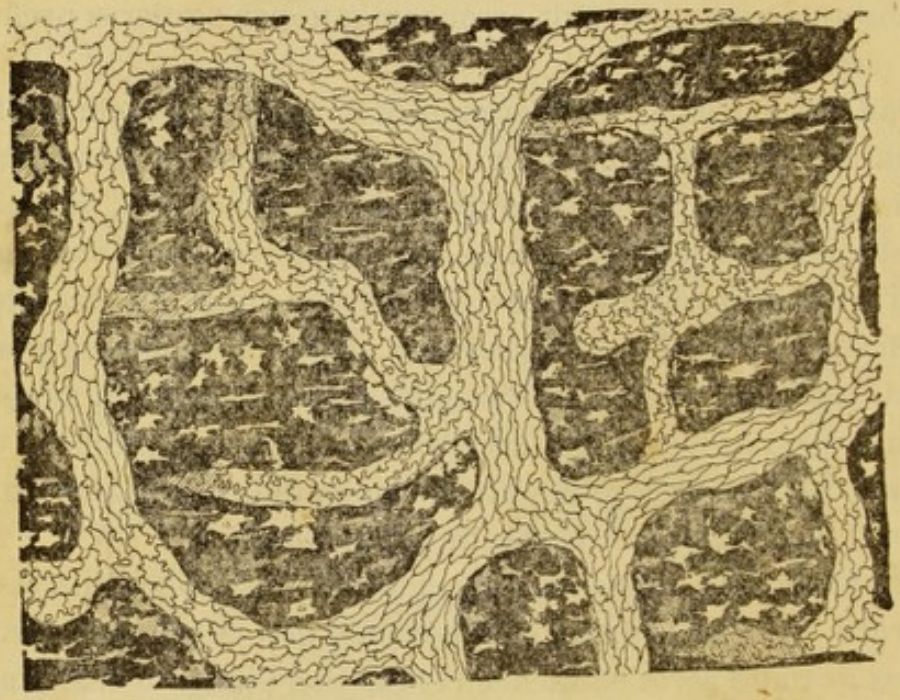


Fig. 67.—Capilares linfáticos del centro frénico del diafragma del conejo, teñidos por el nitrato de plata. Las células que resaltan en el fondo negro son corpúsculos conjuntivos.

Epitelio tegumentario.—Trátase de un epitelio resistente, poliestratificado que reviste todas las superficies libres expuestas á frotes y presiones enérgicas, tales como la piel, la boca, el esófago y faringe, los órganos genitales externos, la vagina y tercio inferior de la cavidad del útero, la vejiga y uretra, las cuerdas vocales inferiores, el conducto auditivo externo, etc.

Tres rasgos fundamentales distinguen este epitelio de todos

(1) Véase nuestro *Manual de Histología normal*, pág. 295.
(2) Cajal: *Manual de Histología normal y Técnica micrográfica*, pág. 296.

los demás : ser poliestratificado; constar de células poliédricas más ó menos aplastadas de fuera á dentro; y carecer de cemento sólido intercelular, ausencia compensada con la existencia de numerosos puentes de unión, es decir, de ciertos filamentos que, partiendo del retículo protoplásmico de una célula, se continúan con el retículo de las vecinas.

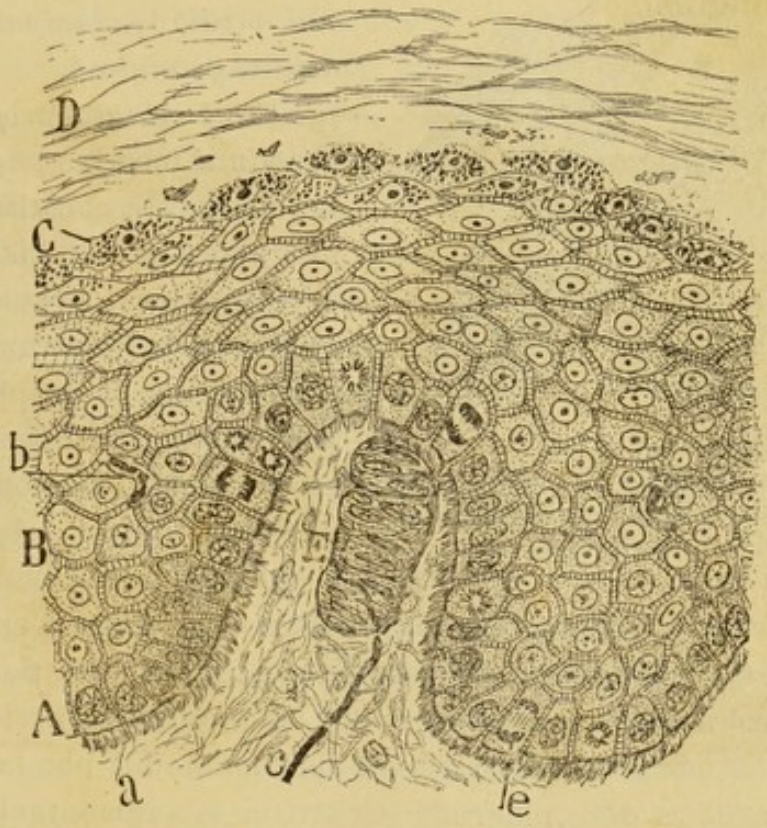


Fig. 68. — Corte perpendicular del epidermis de la piel de un dedo : A, capa germinal ; B, células intermedias del cuerpo de Malpigio ; C, estrato granuloso; D, epidermis córneo; E, corpúsculo de Meissner situado en una papila del dermis; *a*, capa basal estriada; *b*, leucocito emigrado; *c*, fibra nerviosa; *e*, célula en vías de mitosis.

El tipo de los epitelios tegumentarios es el epidermis cutáneo. Cuando se examina un corte perpendicular de la piel, se advierten en el epidermis dos formaciones bien distintas : *zona superficial*, llamada *epidermis córneo*, cuyas células han perdido el núcleo, el protoplasma y todo resto de vitalidad; y *zona profunda*, designada también *cuerpo mucoso* de Malpigio, y construída de células vivas, nucleadas y provistas de protoplasma

filamentoso, anastomosado con el de las vecinas á favor de hilos comunicantes (fig. 69).

Un examen minucioso de la *formación profunda* ó cuerpo de Malpigio, nos enseñará que no todas sus células constitutivas poseen igual forma y estructura. Bajo este respecto, cabe subdividir esta zona en tres subestratos: *profundo ó germinal, medio ó principal, superficial ó granuloso.*

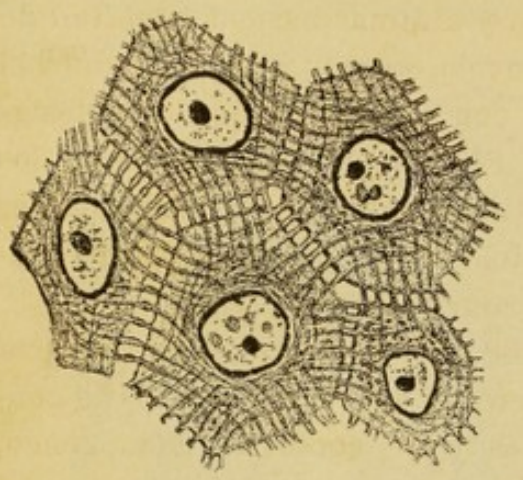


Fig. 69. — Detalles del retículo y filamentos comunicantes de las células del cuerpo de Malpigio.

El *sub-estrato profundo ó germinal* toca las papilas del dermis y está constituído por una hilera de células cúbicas ó prismáticas, provistas por su cara inferior de una chapa ó membrana basal brillante y estriada verticalmente (figura 68, *a*). El nombre de *germinal* lo debe este estrato á que casi todas sus células ofrecen fases de mitosis, fases que faltan casi siempre en las de más hileras celulares. Tales corpúsculos germinales tienen por misión proliferar activamente, á fin de reparar, con elementos nuevos, los contínuos desgastes experimentados por la formación superficial del epidermis. Ocurrida la segmentación, una de las dos células resultantes emigra hacia arriba, recorriendo las diversas capas del epitelio, empujada por la presión de otros corpúsculos más jóvenes; mientras que la otra queda en el yacimiento primitivo, sirviendo á perpetuidad de germen epitélico.

El *sub-estrato medio* (fig. 68, B) es el más espeso, y consta de varias hileras de células poliédricas, que aumentan en volumen y aplanamiento á medida que ocupan regiones más superficiales. Entre estos corpúsculos se perciben muy bien los filamentos comunicantes, engrosados en su cruce por el cemento á favor de tenue membrana (1) continuación de la celular (Cajal, Ide,

(1) Véase Cajal: Contribution à l'étude des cellules anastomosées des épitheliums pavimenteux stratifiés, *Intern. Monatschrift. f. Anat. u. His-*

Kromayer). En ciertos parajes, los hilos intercelulares aparecen apartados para dar paso á leucocitos emigrantes, llegados del dermis subyacente.

El *sub-estrato granuloso* (fig. 68, C) se compone de dos hileras irregulares, y á menudo discontínuas, de células poliédricas aplanadas, cuyo protoplasma encierra unas esferas brillantes colorables por el carmín, hematoxilina y anilinas básicas (*eleidina* de Ranvier, *keratohialina* de Waldeyer). A estos granitos se debe el nombre de *stratum granulosum* con que algunos autores designan este sub-estrato epidérmico. El protoplasma que alberga los granos es brillante y semiqueratinizado; sus hilos comunicantes se definen con dificultad, y el núcleo retraído y coarrugado dentro de la célula, sólo posee un grano cromático central.

La *formación superficial* (fig. 68, D) ó *epidermis córneo* consta de células aplastadas, á la manera de escamas, de tamaño considerable, de contornos inciertos y de contenido homogéneo, macizo, transparente, incolorable por el carmín, tingible por el ácido pícrico, ósmico, etc., y constituído en gran parte por la queratina.

La porción más honda del epidermis córneo, fronteriza del *stratum granulosum*, presenta una homogeneidad y una diafanidad especial, por lo que se ha designado *stratum lucidum*.

El estudio de las mucosas, tales como la lingual, esofágica, vaginal, etc., nos revela substancialmente los mismos caracteres. Hagamos constar, sin embargo, que la formación córnea ó superficial de las mucosas conserva los núcleos, aunque alterados, y que el contorno de los elementos queratinizados, lejos de desaparecer como en la piel, resalta más que en los corpúsculos del cuerpo de Malpigio.

Epitelio alargado ó de células prismáticas. — Constituye este epitelio revestimientos de una sola capa en casi todas las cavidades de origen entodérmico, como son : el estómago é intestino, los conductos excretores de las glándulas, la tráquea y bron-

tol. Bd. III, núm. 7, 1886. Ide menciona nuestro descubrimiento de la membrana de las células malpigianas, así como nuestra opinión de que aquélla se prolonga con los hilos comunicantes ; en cambio, Kromayer adopta nuestras ideas sin citarnos.

quios, las fosas nasales, órganos genitales internos, conductos semicirculares, etc.

Consta de células prismáticas de cuatro ó más facetas planas, unidas entre sí por un cemento resistente. Cuando se examinan estos epitelios por su superficie libre, previo tratamiento por el nitrato de plata, se advierte que dichas células forman un mosáico poligonal bastante regular (fig. 71). Además del cuerpo, hay que considerar en estos elementos: un extremo superficial ó secretor (Hatschek), guarnecido de una cutícula provista ó no de pestañas; y un cabo profundo ó nutritivo, generalmente puntiagudo ó menos espeso que el superficial, fronterizo del tejido conjuntivo, del cual extrae, como las raíces de un árbol, los jugos nutritivos.

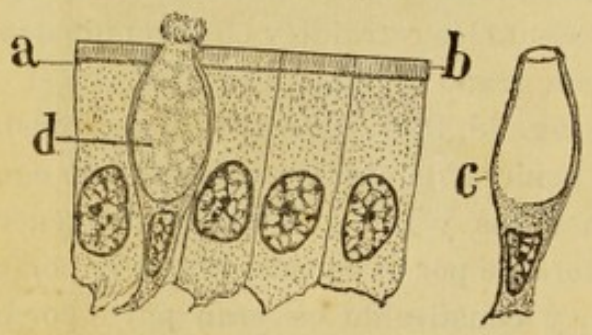


Fig. 70. — Células del intestino del conejo de Indias: *a*, capa granulosa; *b*, chapa estriada; *d*, interior de una célula caliciforme; *c*, célula caliciforme suelta.

Las variedades principales del epitelio alargado son, atendiendo á los caracteres de estructura: las *células con chapa*, las *caliciformes*, las *vibrátiles*, las *pigmentarias*, y las *neuro-epitélicas*.

Células con chapa (fig. 70).—La superficie de las vellosidades intestinales, la porción excretora de las glándulas de Lieberkühn y de las pépsicas, los conductos colédoco, cístico y vejiga de la hiel, las glándulas mucosas del útero, del árbol aéreo, de la mucosa nasal, etc., aparecen revestidos por unos corpúsculos prismáticos mono-estratificados, cuya característica consiste en exhibir, al nivel de la superficie libre, una gruesa placa, de consistencia córnea, de aspecto estriado, y que ha recibido el nombre de *chapa epitelial*. Cada chapa celular se adhiere íntimamente á los bordes de las vecinas, constituyéndose un forro contínuo, á manera de barniz que separa el epitelo del líquido intestinal. Se ha discutido mucho la composición de la chapa epitelial. Algunos autores han tomado las estriaciones que en ella

se advierten como conductitos preestablecidos ; pero nosotros, coincidiendo con el dictamen de varios autores (Heidenhain, Schiefferdecker, etc.), nos inclinamos á considerar dicha cutícula como un pincel de bastoncitos rígidos, paralelos y estrechamente unidos, á beneficio de un cemento homogéneo y fácilmente alterable (fig. 70, *b*). Por debajo de la chapa se percibe una fina capa, de aspecto granuloso, continuada lateralmente con la membrana celular (fig. 70, *a*). En sentir de Heidenhain y Schiefferdecker, cada bastoncito de la placa se continuaría con un hilo del retículo protoplásmico y ofrecería, á su paso por dicha membrana granulosa, un minúsculo engrosamiento.

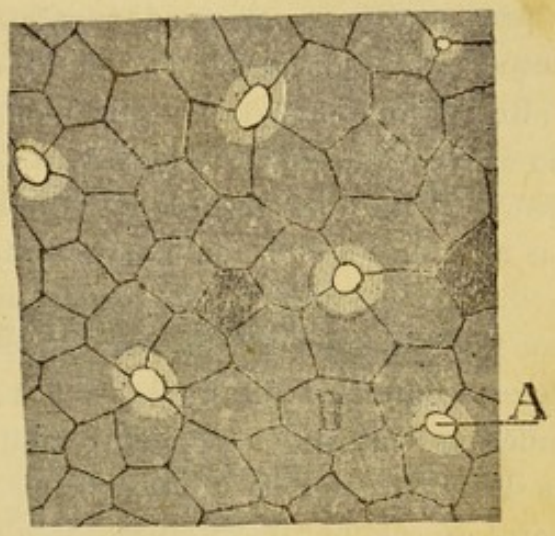


Fig. 71.—Células del intestino de la rana, vistas por sus cabos superficiales. Coloración por el nitrato de plata.

El *extremo inferior* de las células de chapa descansa en el tejido conectivo, siendo plano ó dentellado. En ocasiones da origen á expansiones ramificadas, que se pierden entre los filamentos de la capa basal. Las *caras laterales* son planas, y el cemento intercelular es alguna vez recorrido por leucocitos emigrantes (1).

Células caliciformes (fig. 70, *c*).—Así llamadas, porque su cuerpo, en vez de ser sólido, posee una cavidad en forma de copa ó cáliz, comunicante con la superficie libre de la mucosa. Estas células se hallan salteadas con las de chapa en las vellosidades intestinales, y constituyen la mayor parte del resvestimiento de los conductos excretores de las glándulas del estómago é intes-

(1) Heidenhain y Nicolás han descrito recientemente entre las células con chapa del intestino, puentes comunicantes como los que existen en el epidermis. Por nuestra parte, no hemos podido persuadirnos de la realidad de esta disposición.

tino, así como el del conducto colédoco, vejiga de la hiel, glándulas mucosas, tráquea y bronquios, etc.

Las células caliciformes poseen un cuerpo abultado y relleno de una materia transparente, de aspecto reticulado, colorable en violado rojizo por la hematoxilina, y en la cual existe cierta cantidad de mucina. El extremo profundo, á menudo adelgazado, alberga el núcleo y cierta cantidad de protoplasma que sirve de fondo á la copa celular; el extremo superficial carece de chapa y presenta un agujero redondeado, por el cual se ve salir á veces el producto segregado (fig. 70, *d* y 71, A).

Relativamente á la significación de las células caliciformes, no existe acuerdo entre los sabios. Quienes las reputan como una fase activa ó secretora de las células con chapa (Stöhr); quienes las consideran como células epiteliales degeneradas, destinadas á eliminarse; quienes (y á esta opinión me inclino) las reputan por glándulas monocelulares específicas y permanentes. En pro de esta opinión militan tres hechos: la ausencia en las glándulas mucosas é intestino de células calciformes en vías de destrucción, es decir, sin núcleo y protoplasma; la carencia de mitosis ó de actos de regeneración en las células epiteliales que rodean dichos corpúsculos, y la imposibilidad de hallar elementos de transición entre los caliciformes y los de chapa (1).

Epitelio vibrátil (fig. 72). — Reside en la porción respiratoria de las fosas nasales, en la laringe, tráquea y bronquios, en los dos tercios superiores de la mucosa uterina, en las trompas de Falopio, conductos deferentes, epidídimo, etc.

Este epitelio adopta siempre la disposición mono-estratificada, y sus elementos, prismáticos y alargados, tocan por su cabo profundo el dermis, y exhiben por su cabo superficial un penacho de pestañas finísimas, completamente libres y dotadas de movimientos espontáneos, ya de vaiven, ya de látigo, ya de flexión y extensión, etc. Por debajo de las pestañas yace una cutícula granulosa (como la ya mencionada del epitelio con chapa), á cuyo

(1) La ausencia de mitosis en las vellosidades intestinales la explica Bizzozero admitiendo que la regeneración tiene lugar al nivel de las glándulas de Lieberkühn, corriéndose las nuevas células de éstas hacia la superficie intestinal.

través pasan las pestañas, pareciendo continuarse con los filamentos verticales del retículo protoplasmático. Esta continuación no siempre es fácil de discernir y ha sido descrita por varios autores: Klein, Cajal, Engelmann, Nusbaum, Schieffendecker, etc.

El espesor del epitelio vibrátil varía algo con los distintos órganos. Por ejemplo, en los bronquios pequeños, en las fosas nasales, la matriz, etc., las células son relativamente cortas y los núcleos constituyen una línea algo irregular. Pero en la laringe y tráquea los elementos son mucho más largos, y los núcleos, en vez de formar una hilera, yacen en planos diversos, simulando una multiestratificación celular que ha sido tomada como realidad por muchos autores (fig. 72). Los cortes finos de la tráquea, así como la disociación, permiten ver que muchas células son

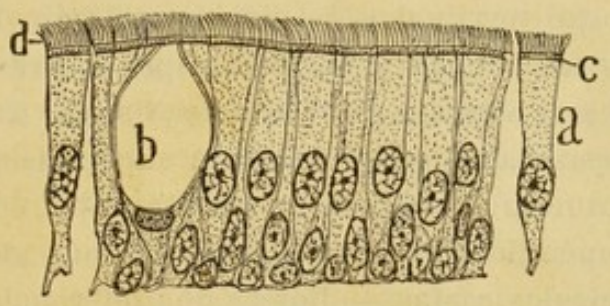


Fig. 72. — Epitelio vibrátil de la tráquea del gato: *a*, célula vibrátil; *c*, chapa situada bajo las pestañas; *d*, pestañas; *c*, célula caliciforme.

tan altas como el espesor total del epitelio; si algunas parecen constituir un estrato profundo, es porque la expansión superficial guarnecida de pestañas es tan delgada, que suele pasar inadvertida. No negaremos, sin embargo, la existencia de algún corpúsculo basal, aunque pudiera tratarse muy bien de leucocitos emigrados.

Células pigmentarias. — Por fuera de los conos y bastoncitos de la retina reside una hilera de elementos alargados, prismáticos, cuyo protoplasma alberga cristales de melanina. Examinado este epitelio por su cara posterior ó periférica, exhibe un mosáico regular exagonal; mirado por su lado profundo ó anterior, se advierte que cada célula acaba mediante un penacho de expansiones protoplasmáticas, las cuales, insinuándose entre los

conos y bastones, constituyen en torno de estos elementos un verdadero forro de melanina. El núcleo yace cerca del cabo externo de las células, en un paraje donde el protoplasma es macizo y poco rico en pigmento. Cuando tratemos de la retina insistiremos sobre estos corpúsculos, cuyo papel en el fenómeno de la visión debe ser muy importante.

Células neuro-epitélicas.—Los órganos de los sentidos contienen ciertas células epiteliales alargadas, prismáticas ó fusiformes que, por relacionarse íntimamente, y á favor de contactos múltiples, con fibrillas nerviosas sensoriales, deben estimarse como los primeros anillos de la cadena de conducción establecida entre el cerebro y el mundo exterior. Citemos, por vía de ejemplo : las *células ciliadas* del caracol, y de las crestas acústicas, en contacto con su cabo profundo, más ó menos redondeado con filamentos terminales del nervio auditivo (Retzius, van Gehuchten), y las células fusiformes y prismáticas irregulares de los botones gustativos y de la mucosa lingual (Retzius, Lenhossék). Las pestañas que guarnecen la superficie periférica de estos elementos neuro-epitélicos no son vibrátiles, como no lo son tampoco los apéndices exteriores de los corpúsculos olfativos.

Epitelio de células cortas. — Reside de preferencia esta variedad epitelial, en la porción secretora de las glándulas.

Sus células son cuboideas, granulosas, y se disponen, por lo común, en una sola capa. Por sus caras laterales, se adhieren, á favor de un cemento blando, desprovisto de hilos comunicantes, á los corpúsculos vecinos ; su cara libre limita el contenido glandular, y está desprovista de cutícula (hay excepciones, por ejemplo : las células de las glándulas de Lieberkühn, las de los tubos contorneados del riñón, etc., que están provistas de un cepillo de bastoncitos rígidos, que se desprenden durante el reposo de la glándula) ; su extremo profundo se apoya en una membrana basal, especie de condensación del tejido conectivo limítrofe ; y en su interior se albergan, además del núcleo, gotas de materia segregada y granulaciones de fermentos.

Caracteres fisiológicos. — Los epitelios carecen de vasos, nutriéndose por imbibición de los jugos circulantes por el tejido conjuntivo limítrofe. La renovación de las células destruídas

por consecuencia de colisiones mecánicas ó de la actividad secretoria, se verifica mediante mitosis de los elementos inmediatos, ó, como ocurre en la piel, por proliferación de la hilera epitelial más profunda. La abundancia de mitosis en un determinado epitelio, revela el tanto de destrucción celular que éste debe sufrir en el cumplimiento de sus funciones. Así se ha podido determinar por Bizzozero y sus discípulos, que hay epitelios fijos, como son los del riñón, hígado, glándulas salivares, sudoríparas, etc. ; mientras que existen otros, como los de las glándulas pépsicas, las de Lieberkühn, sebáceas, etc., cuyos elementos están sujetos á rápida renovación.

Desde el punto de vista de su actividad funcional dominante, se han clasificado los epitelios en : *epitelios de protección* (piel y mucosas) ; *epitelios de secreción* (glandular) ; *epitelios de absorción* (el de las vellosidades intestinales) ; *epitelios de diálisis* ó de filtración (el de los vasos y serosas) ; *epitelios sensoriales* ó neuro-epitelios (los yacentes en los órganos sensoriales en donde sirven de colectores de las excitaciones acústica, luminosa, gustativa, etc.).

Histogénesis. — Dimanan los epitelios de las tres hojas blastodérmicas ; del *ectodermo* nace el epidermis cutáneo, el de la cavidad bucal, órganos genitales externos, conjuntiva, conducto auditivo externo, etc. ; del *entodermo* deriva el epitelio intestinal y el de todas sus glándulas anejas, inclusive el pulmón y el hígado ; del *mesodermo* provienen los endotelios, así como el epitelio de las glándulas sexuales.

Los epitelios experimentan pocas transformaciones en el curso de su evolución, conservando en gran parte su disposición embrionaria y el atributo privativo de los corpúsculos blastodérmicos, á saber : la aptitud de proliferar incesantemente. Esto último sólo es valedero para ciertos epitelios, como ya más atrás dejamos expuesto.

Preparación de los epitelios.—Tres procedimientos técnicos pueden utilizarse con tal objeto : la disociación, los cortes seguidos de coloración y la impregnación argéntica.

A) *Disociación.* — Difícil de aplicar en los epitelios pavimentosos estratificados, proporciona excelentes resultados en los alargados, como el prismático del intestino, vibrátil de los bronquios, etc.

El medio aislador preferente es el alcohol al tercio. En este líquido se abandonarán á la maceración, por veinticuatro ó cuarenta y ocho horas, trozos de mucosa fresca provistos de su revestimiento epitelial. Al cabo de este tiempo, la capa epitelial aparecerá hinchada y de un aspecto gelatinoso transparente. De esta masa blanda y viscosa, que contiene las células disociadas y separadas por un líquido como mucoso, se tomará una pequeña parte y se agitará en el centro de un porta-objetos con una gota de hematoxilina ó de picrocarminato.

La hematoxilina será filtrada antes de ser usada, y se tendrá cuidado de no colorar con ella sino breves minutos. El picrocarminato podrá actuar mucho más tiempo. En todo caso, se cubrirá la preparación con una laminilla, y después se depositará en el borde del cubre-objetos una gota de glicerina. Por el lado opuesto á la glicerina, y en contacto con la materia colorante, es conveniente poner un poco de papel secante; de esta suerte, á medida que la materia tintórea desaparece, penetra la glicerina. Para evitar que, á consecuencia de esta maniobra, sean arrastradas casi todas las células aisladas del preparado, se tendrá la precaución de no depositar en el borde del cubre-objetos más que la cantidad de vehículo conservador estrictamente precisa. Resta no más, para terminar la preparación, limpiar el exceso de glicerina que rezuma en torno del cubre-objetos y ejecutar la cementación definitiva.

En vez del alcohol al tercio, podrá usarse también como aislador el bicromato de potasa diluído (al 1 por 300). En este líquido se abandonarán los objetos por dos ó tres días, al cabo de los cuales será fácil, raspando con un escalpelo la superficie epitelial, arrancar algunas células perfectamente aisladas para el estudio.

B) *Método de los cortes.*—Se aplica especialmente al estudio de los epitelios pavimentosos estratificados, siendo igualmente provechoso para los alargados.

Después de fijados los epitelios en alcohol, formol ó sublimado (véase *Técnica general*), se incluirán en celoidina, y los cortes finos se teñirán por cualquiera de los métodos generales ya descritos. Son recomendables : el método de Gieson, el procedimiento de Heidenhain con hematoxilina y hierro, las fórmulas de las anilinas básicas, etc.

C) *Impregnación argéntica.* — Es el medio casi exclusivamente usado para la preparación de los endotelios y de los epitelios delgados de muchas capas. Para los detalles del manual operatorio, remitimos al lector á la *Técnica general*. Aquí recordaremos solamente : 1.° Que las piezas destinadas á impregnarse deben ser transparentes, por ejemplo: la córnea de la rana ó del conejo, el mesenterio, el epiploón mayor, el centro frénico, las aurículas, las delgadas venas, la vejiga, etc., de los pequeños mamíferos. 2.° Que no deben usarse soluciones más fuertes que al 1 por 500, so pena de ver con el tiempo ennegrecerse casi totalmente la pieza. 3.° Que no hay que abusar del lavado preliminar (antes de la impregna-

ción) con agua destilada, pues las células se desprenden y los cementos pierden sus cloruros, por lo cual será conveniente, cuando la superficie epitelial no se ha manchado con la sangre, prescindir de todo lavado previo. 4.° Que, finalmente, el nitrato no debe obrar sino breves instantes.

Existen epitelios susceptibles de examinarse en fresco, en plena vitalidad. Tales son: las células epiteliales de la boca y de las fosas nasales del hombre, y los epitelios de la córnea, de la lengua, esófago, vejiga urinaria, etc., de la rana y pequeños mamíferos. Para estudiar el epitelio bucal del hombre, basta rascar la superficie de la lengua con un escalpelo: en la saliva espesa de esta suerte recogida, hállanse multitud de células pavimentosas, cuyo núcleo es visible sin ayuda de reactivo alguno. En el moco procedente de la faringe se encuentran células todavía mejores, en cuanto á sus caracteres típicos. En ellas aparece fácilmente con los reactivos del núcleo la red cromática y la cubierta acromática.

La preparación de las células del esófago y lengua de la rana, se verifica del propio modo. Unicamente cuando se deseen sorprender los movimientos vibrátiles, convendrá cortar un pellizco de la mucosa lingual y observarlo doblado entre dos laminillas. En el borde doblado se advertirá un movimiento rápido de oscilación, revelable especialmente por las corrientes del líquido y la agitación de los hematíes y células desprendidas en las inmediaciones del epitelio.

José Jesús Giraldo
Médico-Cirujano

CAPITULO III

TEJIDO DEL CRISTALINO

Definición.—Representa el tejido del cristalino una modalidad epitelial ectodérmica fuertemente transformada, cuyas células se han convertido en larguísimos prismas exagonales, transparentes, formados en gran parte de globulina y exentos de núcleo y protoplasma.

Distribución y caracteres físicos. — Este tejido reside exclusivamente en la lente cristalina de los vertebrados; goza de perfecta transparencia debida, tanto al perfecto ajuste de sus elementos constitutivos, como á la casi identidad de los índices de refracción del cemento y de los prismas; después de la muerte, y también bajo la acción de los reactivos coagulantes, la cocción, etc., su diafanidad desaparece, aumentando la consistencia.

No todo el cristalino ofrece la misma dureza : las zonas periféricas son blandas, particularmente después de la muerte, desagregándose y constituyendo lo que se llama *humor de Morgagni;* en tanto que la porción central es dura, resiste á la disociación en fresco y ha tomado el nombre de *núcleo del cristalino.*

Caracteres micrográficos.—Tres factores entran en la composición del cristalino : la membrana ó cápsula, los prismas y la capa epitelial.

Cápsula (fig. 73, A).—Así se llama la membrana hialina, espesa y resistente que rodea y protege al cristalino, adhiriéndose íntimamente á sus células. El espesor de la cápsula es mayor por

delante que por detrás (sin duda porque la lente exige mayor protección por delante, ordinario camino de los agentes traumáticos); así, en el hombre, la pared anterior de aquella (llamada también *cristaloides anterior*), tiene un espesor de 12 á 27 μ, mientras que la pared posterior no suele pasar de 8 á 10 μ. Carece la cápsula de estructura, y permanece incolora en presencia de casi todos los reactivos tintóreos; su contorno es limpio, y sus fracturas acusan cierta estriación que recuerda la de las membranas basales y chapas epitélicas.

La pared anterior de la cápsula se continúa, por su cara profunda, con la superficie de las células epiteliales, mientras que la pared posterior parece dependencia del cabo posterior de los prismas cristalinos, puesto que se adhiere íntimamente al contenido de éstos. En suma, la cápsula cristalina parece representar el producto de secreción del epitelio y de los prismas, y puede identificarse con la membrana basal estriada yacente por debajo de la epidermis de la piel.

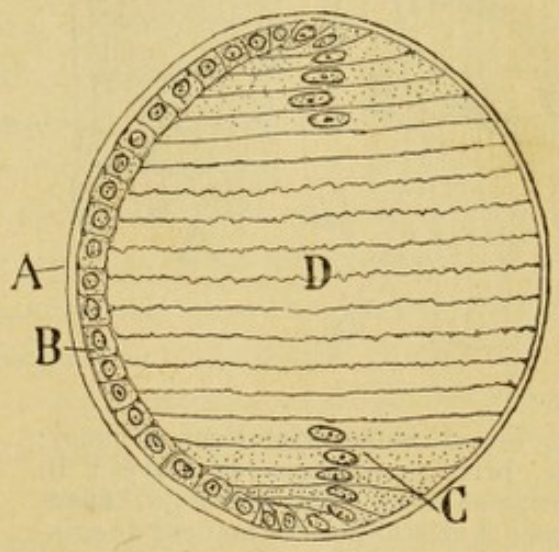


Fig. 73.—Esquema del cristalino de rana: A, cápsula; B, capa epitelial; C, prismas cristalinos periféricos; D, prismas centrales.

Prismas ó células del cristalino (fig. 74).—Cuando se disocia el cristalino, ya en estado fresco, ya previa acción del ácido sulfúrico diluído, quedan en libertad unas fibras larguísimas, acintadas, exagonales, perfectamente diáfanas y unidas entre sí mediante un cemento transparente y poco resistente ante la tracción de las agujas. Están dirigidas de delante á atrás, acomodándose á las curvas del cristalino y alcanzando casi tanta longitud como un meridiano de éste. Su figura de prismas exagonales aparece muy claramente, examinando cortes transversales ó ecuatoria-

les de la lente; y se nota en éstos que cada prisma posee dos caras planas y anchas, paralelas entre sí y con la superficie general del órgano, y cuatro facetas estrechas, dos en cada borde de los prismas, destinadas á unir á éstos en el sentido de la circunferencia. El espesor de los prismas, algo menor en los profundos que en los superficiales, llega en el hombre á 5 μ; su anchura pasa de 10 μ.

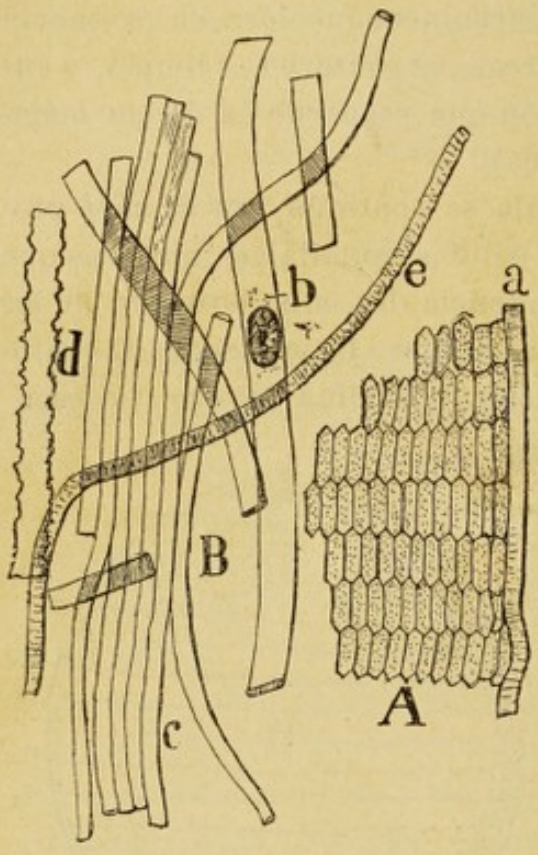


Fig. 74.—Prismas cristalinos del buey: A, prismas cortados de través; B, prismas rotos y disociados; *a*, cápsulas del cristalino; B, manojo de prismas vistos de canto; *b*, prisma superficial visto de frente; *d*, fibra cristalina central; *e*, una de éstas examinada de canto.

La región del cristalino acomodada para la función de lente es la central, cuyas células han sufrido grandes transformaciones; la región periférica permanece en un estado menos alejado de la fase embrionaria.

Los prismas *cristalinos superficiales* son los más largos, y marchan curvilíneos desde la cara posterior del epitelio hasta la cristaloides posterior en donde se fijan; constan de membrana, aunque poco aparente, de un resto de protoplasma todavía granuloso y como reticulado, y de un núcleo alargado, á cuyo nivel la célula se halla algo ensanchada.

Los prismas *cristalinos centrales* son algo más cortos, no llegan, por lo menos en su mayor parte, á la superficie cristalina, sino que rematan en ciertos septos ó radios de cemento que cruzan el espesor del órgano; su estructura es más simple, pues carecen de núcleo, de membrana y protoplasma, quedando re-

ducidos á una materia dura (globulina), diáfana, unida estrechamente á la de los elementos vecinos á beneficio de un cemento semisólido.

Otro carácter distintivo entre los prismas superficiales y profundos atañe á la disposición de los bordes: en los superficiales el contorno es liso, pero en los profundos, la arista lateral ó el ángulo agudo aparece dentellado, y sus apéndices se insinúan en huecos ó escotaduras de los prismas inmediatos. Semejantes dentellones aparecen extraordinariamente desenvueltos en los peces, y los engranajes que resultan recuerdan completamente las suturas craneales.

Capa epitelial.—Detrás de la pared anterior de la cápsula y delante de los extremos frontales de los prismas, yace un plano de corpúsculos epiteliales cuboides, algo aplanados de delante á atrás, perfectamente transparentes y de contorno poligonal (fig. 73, B). El cuerpo de estas células varía algo en dimensión, y exhibe un núcleo elipsoide, á menudo excéntrico, rodeado de protoplasma finamente granuloso. Adhiérense estas células por delante á la cápsula ó cristaloides anterior que representa, como ya dijimos, un producto de secreción de las mismas, y están flojamente unidas posteriormente á los cabos anteriores de los prismas superficiales. En el ecuador del cristalino, las células epiteliales más periféricas se alargan sucesivamente, cambian de dirección y se continúan por suaves transiciones con los prismas cristalinos (fig. 73, C). Semejante disposición se advierte muy claramente en el embrión y mamíferos recién nacidos.

Histogénesis.—El cristalino representa una producción secundaria del epidermis cutáneo. Hacia la época en que aparecen las vesículas oculares (expansiones del cerebro anterior destinadas á engendrar la retina), el epidermis facial contiguo se espesa, y hundiéndose ulteriormente, engendra una bolsita epitelial á manera de rudimento de glándula, la cual, después de deprimir la vesícula ocular, rompe el pedículo que la retenía á la piel.

La bolsa epidérmica así engendrada, consta de una hilera celular, cuyas metamorfosis ulteriores varían en cada polo del órgano: las células de la pared ó polo anterior del cristalino

se aplanan ligeramente, segregan la cristaloides anterior y conservarán indefinidamente su vitalidad; las células de la pared posterior se alargan de delante atrás, engendrando los prismas cristalinos y constituyendo casi toda la masa de la lente. Al principio, todos los prismas poseen núcleo situado, poco más ó menos, en su región central; pero más adelante, y en una época muy anterior al nacimiento, las células centrales se hialinizan, pierden sus núcleos, transformándose en meras fibras desprovistas de vitalidad, y comparables por muchos aspectos á los hematíes adultos.

Preparación del cristalino.—1.ª *Fibras cristalinas.— a) Disociación.*—El mejor procedimiento de estudio de las fibras cristalinas, es la disociación mecánica, que podrá efectuarse en cristalinos frescos, desgarrando sus capas superficiales con las agujas en una gota de verde metileno ó de picrocarminato. Aplicando el verde de metileno, los núcleos y nucleolos de las fibras aparecerán correctamente teñidos y revelarán una textura fibrilar. Pero estos preparados, excelentes para el estudio, no pueden conservarse bien; así que en la mayor parte de los casos deberemos elegir otros métodos. Uno de los mejores consiste en someter el cristalino á la acción de agentes que obran á la vez que fijando, facilitando la disociación, por ejemplo: el ácido sulfúrico, el crómico, el líquido de Müller, etc. Nosotros preferimos el ácido sulfúrico diluído, ya aconsejado por Becker. La cantidad de ácido no debe pasar de 4 ó 5 gotas, por 4 ó 6 gramos de agua destilada. Trozos frescos de cristalino se abandonarán en este licor por espacio de doce á cuarenta y ocho horas. La maceración en el ácido sulfúrico presta á las fibras mayor opacidad, y actúa disolviendo el cemento de unión, con lo que la disociación de los prismas se verifica facilísimamente, á poco que nos ayudemos de las agujas. Terminada la disociación, se lava la preparación con agua destilada, para arrastrar el exceso de ácido, se tiñe por la hematoxilina ó el carmín y se monta en glicerina. Este procedimiento conserva muy bien la forma y estructura de las fibras superficiales.

b) Cortes. — A fin de completar el estudio de los prismas, es muy útil la práctica de secciones de la lente en dos sentidos perpendiculares, el meridiano y el ecuatorial. En los cortes ecuatoriales se percibirán claramente los exágonos ó secciones transversales de las fibras, apreciándose la verdadera forma y espesor de éstas, y en los antero-posteriores ó meridianos veremos las fibras á lo largo con sus núcleos, y las relaciones de los cabos de éstas con la cápsula cristalina. Los cortes deben hacerse lo más finos posible (de 6 á 10 μ), para lo cual convendrá dar al cristalino, ya indurado en el líquido de Müller ó alcohol, un suplemento de consistencia por medio del alcohol y la celoidina. No es de recomendar al efec-

to la inclusión en parafina; casi siempre, la dureza obtenida es demasiada y corren riesgo de mellarse los microtomos. El endurecimiento en el ácido ósmico y subsiguientemente en el alcohol, fija muy bien las fibras, pero les presta tanta homogeneidad, que apenas son visibles sus contornos.

2.ª *Epitelio.* — Puede revelarse por la impregnación argéntica. Para ello, no hay más que sumergir un cristalino pequeño (de rana ó ratón) por pocos minutos en un soluto de nitrato de plata al 1 por 300. Lavado y expuesto á luz en una gota de glicerina, mostrará en su cara anterior tres cosas: 1.°, unas líneas negras que limitan espacios poligonales bastante extensos, correspondientes al cemento inter-epitelial; 2.°, líneas morenas granulosas paralelas y convergentes á las estrellas de cemento, que son los intermedios de unión entre los prismas cristalinos superficiales (esta impregnación se ve mejor en la cara posterior del cristalino); 3.°, las mismas estrellas de cemento representadas por *tractus* gruesos, morenos y granulosos.

Un estudio más completo del epitelio anterior, exige preparaciones de la cápsula, en que las células, convenientemente teñidas, sean vistas de frente. Con este fin, comenzaremos por indurar un cristalino humano en bicromato de potasa ó ácido crómico. A los pocos días de maceración, la cristaloides anterior se despegará fácilmente del tejido cristalino, arrastrando consigo el epitelio. Un pedazo de la cápsula extendido en portaobjetos, teñido con hematoxilina, aclarado con el ácido acético diluído y conservado en glicerina, mostrará suficientemente claras las células con sus núcleos, así como las relaciones de éstos con la cápsula. Sin embargo, este último punto, así como las conexiones del epitelio con los prismas, podrán estudiarse mucho mejor en delgados cortes meridianos de la lente. Un análisis bastante detallado de estas células y núcleos, puede practicarse también en fresco, tratando por el verde de metilo ácido un cristalino entero de rana. A través de la cápsula, y á medianos aumentos, se diseñarán admirablemente las células y los núcleos, coloreados de verde claro; se advertirá que son excéntricos en posición y que las células son polígonos irregulares.

CAPÍTULO IV

SANGRE Y LINFA

Definición. — La sangre es un tejido caracterizado por su fluidez, color rojo intenso, y sobre todo, por constar de numerosos corpúsculos discoides amarillentos, flotantes en una materia intercelular transparente y espontáneamente coagulable.

Caracteres físicos y distribución. — El tejido sanguíneo yace encerrado en el sistema vascular, y es un líquido espeso, de color rojo claro en las arterias, de color rojo obscuro en las venas, opaco por el gran número de corpúsculos que tiene en suspensión, de un olor *sui generis* y de una densidad de 1'055; su temperatura alcanza unos 38° centígrados y su reacción es alcalina. La cantidad total de sangre es algo variable, pero puede fijarse para el hombre adulto en unos cinco ó seis litros. Cambia poco la composición anatómica de este líquido en los diversos órganos; en cambio, su composición química experimenta modificaciones cualitativas y cuantitativas según las localidades orgánicas que recorre.

Caracteres micrográficos. — Cuando se examina al microscopio una gota de sangre, aparecen á nuestra vista tres clases de corpúsculos: los *hematíes* ó glóbulos rojos, los *leucocitos* ó glóbulos blancos, y las *plaquetas* (hematoblastos de Hayem).

Hematíes (fig. 75, A). — Son estos los elementos más abundantes y á los que la sangre debe su color y muchas de sus propiedades. Poseen pequeña talla, pues que miden en el hombre 7 á 8 μ de diámetro por 2,5 de grueso, y afectan forma de lente bicóncava de contorno circular, lo que se aprecia bien examinando los hematíes de canto; vistos de frente, aparecen circulares y más claros (efecto de la mayor delgadez) en el centro que en su periferia; su color es amarillo-verdoso claro en los hematíes aislados, rosáceo anaranjado cuando se superponen varios de ellos,

y rojo intenso en los fuertes acúmulos globulares. Carecen de núcleo y de todo rastro de estructura, exhibiendo un contorno correcto y un contenido absolutamente homogéneo. El número de hematíes es enorme; en un milímetro cúbico se cuentan de cuatro y medio á cinco millones.

Son los hematíes formas sumamente alterables, que sólo se conservan incólumes á condición de que el plasmano experimente variación en sus proporciones de agua, sales y albuminoides. Una ligera evaporación, como la que ocurre en una gota de sangre puesta en porta-objetos y cubierta por una laminilla, suscita en los hematíes las siguientes transformaciones: desde luego los discos se achican y su contorno se eriza de dentellones cónicos; ulteriormente, el hematíe adquiere forma esférica y aparece por todas partes cubierto de expansiones cortas que le dan parecido con la llamada rosa de los vientos (fig. 75, *d*).

El agua los palidece notablemente, robándoles la hemoglobina y reduciéndolos á esferas blancas casi invisibles (estroma).

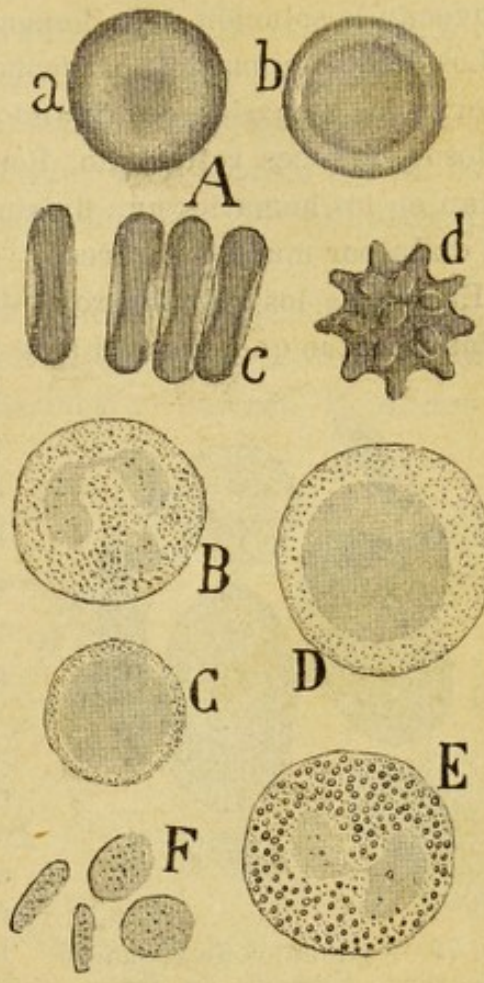


Fig. 75. — Sangre humana examinada en fresco á grandes aumentos: A, hematíes; B, leucocito grande con granos neutrófilos; C, linfocito ó leucocito pequeño y de núcleo esférico; D, leucocito grande de núcleo esférico y mucho protoplasma (mielocitos de ciertos autores); E, leucocito con granos eosinófilos; F, plaquetas; *a*, hematíe visto de frente y enfocado en su plano superior; *b*, el mismo enfocado algo más abajo; *c*, hematíes vistos de perfil; *d*, hematíe alterado.

Las soluciones salinas de proporción inferior á la concentración salina del plasma, obran

como el agua ; pero si su densidad es superior, actúan como la evaporación, retrayendo los hematíes y erizándolos de espinas. El éter y el cloroformo prestan á los hematíes forma esférica y provocan la solución de la hemoglobina en el plasma.

Los ácidos minerales, el alcohol, el bicromato de potasa, etc., alteran los hematíes, coagulando su contenido y tornándolo granuloso y á veces reticulado. Por último, los ácidos diluídos revelan en los hematíes una finísima cubierta, que ha sido puesta en duda por muchos autores.

En suma ; los glóbulos rojos de los mamíferos representan células muertas que, merced á su diferenciación química, perdieron núcleo y protoplasma, adquiriendo en su lugar un principio inmediato, la hemoglobina, al que deben su particular actividad funcional y el importantísimo papel que desempeñan en la economía viviente.



Fig. 76. — Glóbulos de la sangre de rana. Examen en fresco : *a*, hematíes vistos de frente ; *b*, hematíes de perfil ; *d*, leucocito ; *c*, hematíe joven ; *e*, plaquetas.

Hematíes en los vertebrados inferiores (fig. 76, *a*). — Los glóbulos rojos de las aves, reptiles, batracios y peces, discrepan de los de los mamíferos por los siguientes caracteres : 1.°, afectan una forma de disco elíptico ú oval (exceptúanse los ciclostomos cuyos hematíes son circulares) ; 2.°, albergan un núcleo elíptico central algo aplanado y rico en cromatina ; 3.°, ofrecen una talla considerable ; 4.°, vistos de perfil, no aparecen bicóncavos, sino biconvexos, á consecuencia del abultamiento central producido por el núcleo (fig. 76, *b*). Desde el punto de vista de las dimensiones, son notables los hematíes de los batracios, y singularmente los de los urodelos. Por ejemplo : en la rana, el diámetro mayor de los hematíes es de unos 22 μ de milímetro ; en la salamandra maculosa, de 40 μ ; en el gallipato, de 35 μ, y en el proteo, de 56 á 60 μ.

Se sigue de lo expuesto, que los hematíes de los vertebrados inferiores conservan su tipo embrionario, reproduciendo la forma primitiva de los hematíes de los mamíferos. Parecidos ejemplos nos ofrecen también otros tejidos, como tendremos ocasión de observar más adelante.

Leucocitos (fig. 75, B, C, D). — Estos glóbulos, llamados leucocitos (de λευκός, blanco) por carecer de color, son células perfectas, de forma esférica y de un diámetro oscilante entre 9 y 12 μ. Su número en el milímetro cúbico es de 5000 á 10000, guardando con los hematíes la proporción de 1 por 250 ó por 300.

Un buen objetivo denuncia en los leucocitos frescos, pero mucho mejor en los tratados por el agua acetificada ó por un color básico de anilina, tres partes bien diferentes : el protoplasma, el núcleo y la membrana.

El *protoplasma*, es de aspecto granuloso y ofrece señales de reticulación. En los leucocitos vivos y en plena contracción amiboide, apréciase una ó más vacuolas circulares. El *núcleo* se distingue por su forma frecuentemente irregularizada por gibas y expansiones lobuladas y por la circunstancia de que la cromática, escasa en el retículo central, se condensa en espesa membrana nuclear (*cubierta cromática*). Por último, en torno del protoplasma el agua y el ácido acético diluído revelan una fina *membrana* que tiende á levantarse en gibas ó vacuolas periféricas (fig. 77).

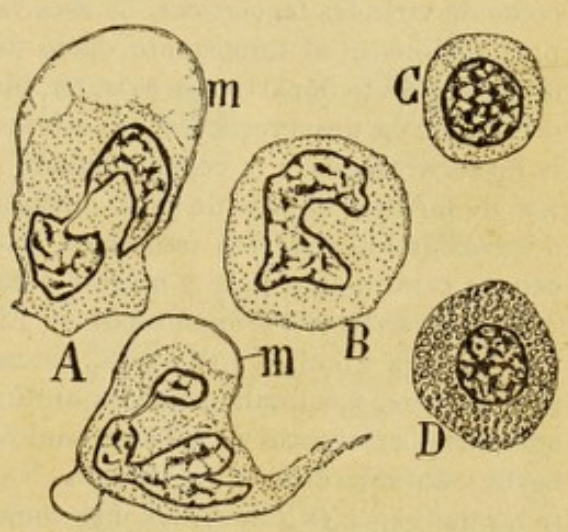


Fig. 77. — Leucocitos de la sangre de rana tratados por la solución acetificada de verde de metilo : *m*, membrana ; A y B, leucocitos grandes ; C, leucocito pepueño ó linfocito.

Relativamente á su tamaño y estructura, pueden distinguirse varias especies de leucocitos, sobre todo: una variedad de gran talla y de núcleo lobulado (fig. 77, A, B) ; y otra de pequeño volumen, escaso protoplasma y núcleo esférico (fig. 77, C).

Los trabajos de Ehrlich y de sus discípulos, han permitido individualizar las siguientes clases de leucocitos, cuyo origen y actividad fisiológica acaso sean muy diversos.

1.° *Linfocitos* ó sean pequeñas células (de 8 á 9 μ), provistas de un

núcleo esférico, rico en cromatina y rodeado por escasa cantidad de protoplasma (fig. 77, C). Según Ehrlich, engéndranse estos corpúsculos en los ganglios linfáticos ; forman escasamente el 25 por 100 de los leucocitos sanguíneos (Weichelbaum).

2.° *Leucocitos* grandes, de protoplasma abundante, que alberga un núcleo grueso, esférico ú oval, pero de red cromática floja. Son también poco numerosos (fig. 75, D).

3.° *Leucocitos* algo menores que estos últimos y provistos ya de un núcleo alargado en forma de riñón, ya de un núcleo cuyo contorno está irregularizado por lobulillos más ó menos numerosos, unidos, de ordinario, por estrechos itsmos (fig. 75, B, y 77, A). Algunos de estos leucocitos pueden alojar dos ó más núcleos (1). Esta clase de leucocitos, ofrece á menudo granulaciones neutrófilas, y constituye el grupo más numeroso de todos los glóbulos blancos (el 60 ó 70 por 100 de la totalidad) ; goza también más que ninguno de la capacidad amiboide ó emigratoria, así como de virtudes fagocíticas. A esta variedad de fagocitos corresponde principalmente el importante oficio de limpiar la sangre é intersticios orgánicos de toda partícula extraña, bien provenga del exterior, bien se origine de la desagregación de células de tejido. Según Metchinikoff, la forma arrosariada y como lobulada del núcleo respondería al propósito de facilitar el paso de éste, durante el proceso de la extravasación, á través de los angostos resquicios inter-endoteliales. La cuna de estas células estaría en el bazo y médula ósea (Ehrlich).

4.° *Leucocitos con granulaciones.* — El protoplasma de algunos leucocitos encierra granitos brillantes, verdaderos productos de secreción del protoplasma, y colorables por las anilinas. Fundándose en las especiales apetencias colorantes de estos gránulos, Ehrlich ha llegado á distinguir hasta siete variedades de leucocitos. Nosotros indicaremos aquí solamente las dos especies granuladas más comunes, á saber : *a*) leucocitos voluminosos (fig. 75, E), de núcleo con jibosidades, cuyo protoplasma alberga granos gruesos, esféricos, parecidos á micrococos, y colorables por la eosina y anilinas ácidas (leucocitos eosinófilos) ; *b*) leucocitos polinucleares ó con núcleo abollado, cuyo protoplasma aloja granos finos colorables por las anilinas neutras (granitos neutrófilos). Esta especie de leucocitos corresponde en gran parte á la variedad tercera (leucocitos polinucleares de varios autores), y es la más abundante de las granuladas (fig. 75, B).

Plaquetas (fig. 75, F).—En la sangre viva pululan también unos diminutos corpúsculos, señalados hace tiempo por Zimerman,

(1) Ehrlich distingue en esta variedad dos especies (con núcleo único pero giboso, y con núcleo múltiple) ; mas como en realidad estas dos especies (3 y 4 de Ehrlich), no representan otra cosa que fases de transformación nuclear de un mismo tipo celular, nosotros hacemos una de ambas.

mejor descritos por Hayem, quien reconoció su existencia en casi todos los vertebrados, y cuya historia ha sido completada modernamente por Bizzozero, Eberth y otros.

Las *plaquetas* (designación que les ha sido dada por Bizzozero) son más numerosas que los leucocitos ; su relación con los hematíes es de 1 á 20, y en un milímetro cúbico de sangre se encuentran unas 245.000. El diámetro de estos glóbulos oscila entre 3 y 5 μ ; su forma es la de un disco circular ú oval ya plano, ya biconvexo; carecen de núcleo y de hemoglobina, pareciendo formadas de una masa transparente, blanda y finamente granulosa. Los ácidos diluídos revelan en torno de esta masa una sutilísima cubierta (fig. 78, D).

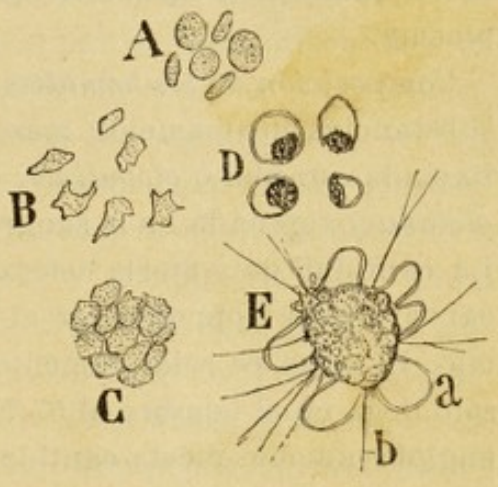


Fig. 78.—Plaquetas de la sangre humana : A, plaquetas normales ; B, alteradas y tales como se ven en una gota de sangre recién extraída ; C, reunidas en montón ; D, mostrando una membrana tras la acción del ácido acético diluído ; E, plaquetas de la sangre coagulada en torno de las cuales se separan, bajo la acción del agua acetificada, finas membranas (*a*) ; *b*, hilo fibrinoso.

Gozan las plaquetas de la curiosa propiedad de deformarse rápidamente en cuanto salen de los vasos, atrayéndose unas á otras, y construyendo unos acúmulos irregulares de dimensión variable, que se han llamado *zogleas de plaquetas* (fig. 78, C). Tan súbita es esta transformación, que, algunos segundos después de extraída una gota de sangre, ya no se descubre ninguna plaqueta íntegra, sino granulaciones irregulares ó acúmulos deformes ; no obstante, se logra impedir, durante algunas horas, las conglutinación de estos corpúsculos, mezclando la sangre viva con cierta cantidad de líquido sódico metílico de Bizzozero (agua, 100 ; sal, 0,75 ; violeta de metilo á saturación).

Plaquetas de los vertebrados inferiores.—A la manera de lo que acontece con los hematíes, las plaquetas de las aves, reptiles, batracios y peces, son de talla considerable, afectan figura de discos elípticos generalmen-

te biconvexos y están provistas de un núcleo alargado rodeado de escasa cantidad de protoplasma granuloso (fig, 76, *e*). En la rana y los urodelos, este protoplasma, como ya hemos demostrado hace años, es capaz de movimientos amiboides y de englobar cuerpos extraños. Por lo demás, también en estos animales gozan las plaquetas de la propiedad de transformarse y conglutinarse, sirviendo sus zoogleas, en la sangre extravasada, de focos de la red de fibrina coagulada.

Caracteres químicos de la sangre. — Es preciso distinguir en este líquido la composición química de los hematíes y la del plasma.

Composición de los hematíes. — Constan estas células de dos substancias íntimamente mezcladas : una incolora é insoluble llamada *estroma* ó *globulina ;* otra coloreada y soluble, la *hemoglobina* (oxigenada en la sangre arterial, reducida èn la venosa)· La cantidad de materia colorante de los hematíes humanos alcanza, según Hoppe-Seyler al 40,4 por 100 de peso de los mismos. El *agua* es relativamente escasa, pues según dicho autor sólo llega en el hombre al 57,7 por 100. El *estroma* ó globulina engloba además cierta cantidad de *colesterina*, *lecitina* y *sales* (fosfatos y cloruros de base de sosa, magnesia y potasa).

Composición del plasma. — El plasma sanguíneo corresponde á la materia intercelular de otros tejidos ; es perfectamente líquido, transparente, y lleva en disolución un gran número de principios inmediatos y de sales ; lo que se comprende bien recordando que el *plasma sanguinis* es el vehículo de todas las materias nutritivas y el colector de todas las substancias desasimiladas.

Según Hammarsten, los albuminoides del plasma hállanse en las proporciones siguientes :

Fibrina ó fibrinógena..	6
Globulina ó fibrinoplástica.....	38
Serum-albúmina.....	24
Agua.....	917

Las proporciones de todas las materias del plasma de la sangre humana nos las da Hoppe-Seyler en la tabla siguiente :

Agua	914
Albuminoides	67
Lecitina	2
Colesterina	0,654
Grasa	3
Extracto alcohólico	1
— acuoso	2
Sales	7

Opiniones relativas á la coagulación de la sangre. — Uno de los albuminoides más importantes al par que más discutidos en lo que se refiere á su naturaleza química, es la *fibrina*, substancia á que la sangre debe la propiedad de coagularse.

A despecho de la diversidad de opiniones que reinan sobre el mecanismo de la coagulación de la sangre, hay dos puntos en que casi todos los autores coinciden, y que pueden darse como resueltos : 1.°, que la mayor parte, si no todo el coágulo fibrinoso, se engendra por la solidificación de la fibrinógena del plasma ; 2.°, que el paso al estado sólido de la fibrinógena es determinado por un fermento intracelular, que se pondría en libertad tan pronto como la sangre abandona los vasos y siempre que este líquido tropieza en su curso intravascular con obstáculos que tienden á remansarlo ó con asperezas de las paredes endoteliales ; 3.°, que las sales de cal son indispensables en la precipitación de la fibrina.

Según Hammarsten, la fibrina coagulada resulta de la acción sobre la fibrinógena del fermento que Schmidt supone existente en los leucocitos. El coágulo sanguíneo contendría casi toda la fibrinógena del plasma, más una pequeña cantidad de fibrino-plástica, que sería mecánicamente englobada. Esta precipitación de la fibrina exige siempre la presencia de sales calcáreas.

Para Arthur y Pagés (1890) la presencia de sales de cal, no sólo es precisa en el fenómeno de la coagulación, sino que constituye su condición principal. Creen estos autores que la fibrina coagulada es un *albuminato de cal* formado en la sangre, con ocasión de la separación del fermento de los leucocitos. Mediante la acción de este *encyma*, que la destrucción de los leucocitos pondría en libertad, la fibrinógena se combinaría con la cal, substancia que se contendría en la *fibrino-plástica*. Todo reactivo capaz de precipitar la cal de la sangre viva (acción del oxalato sódico, etc.), impide la coagulación de la fibrinógena; al contrario, la re-

posición de la cal ó la adición de la fibrino-plástica que la contiene, provocan la coagulación.

En sentir de Pekelharing (1891 y 1892), el portador de la cal indispensable para la transformación de la fibrinógena en fibrina sólida, es el mismo fermento de la coagulación, es decir, una *nucleo-albúmina* residente en leucocitos y hematíes. En la sangre extravasada ó en la circulante sometida á la acción de productos patológicos, los hematíes se destruyen; la nucleo-albúmina ó fermento queda en libertad, combinándose á la cal, que, libre nuevamente, se incorpora á la fibrinógena. Por esto, toda substancia ó proceso patológico, capaz de desorganizar los hematíes (quemaduras extensas, acción intra-vascular del arseniato sódico, etc.), provocan la trombosis.

Schmidt, de cuyas opiniones sobre el tema hemos hablado ya en la *Estequiología*, ha modificado (1892) sus anteriores ideas en la forma siguiente:

Según este sabio, hay que distinguir en la coagulación dos actos distintos: 1.°, la producción del fermento; 2.°, la acción coagulante de éste.

1.° El fermento, que llama Schmidt *trombina*, se forma solamente durante la coagulación; en la sangre viva y normal, los leucocitos contienen una materia inactiva, la *protrombina*, capaz de transformarse en *trombina* bajo la acción de ciertas materias, puestas en libertad por la destrucción de los hematíes (materias zimoplásticas).

2.° En presencia de la trombina libre (la cual se halla en el plasma) la *paraglobulina* de la sangre sufre una serie de metamorfosis: primero fórmase la *fibrinógena;* luego pasa ésta á fibrina líquida, y, últimamente, combinándose este último albuminoide con las sales de cal, prodúcese la *fibrina coagulada.*

La *paraglobulina*, fase anterior de la *fibrinógena*, deriva á su vez de otros albuminoides, la *citoglobulina* y *preglobulina*, substancias residentes en los elementos de diversos tejidos, y las cuales serían arrastradas al plasma sanguíneo por las corrientes de desasimilación. De este modo, tanto el fermento de la coagulación producido en los leucocitos, como las substancias zimoplásticas y paraglobulina, representan el resultado de actividades celulares.

Fenómenos microscópicos de la coagulación.— El fenómeno de la coagulación puede observarse al microscopio, con sólo colocar entre dos laminillas una gota de sangre fresca. Al principio, los hematíes se adhieren por sus caras, constituyendo columnas que á su vez se reunen con otras para engendrar vastas redes globulares.

A los pocos minutos de examen, todas las plaquetas se han alterado, adhiriéndose al porta ó cubre-objetos, y constituyendo

acúmulos, en donde los contornos de cada elemento quedan fundidos en un magma granuloso (fig. 79, A). Más tarde, en la periferia de estos conglomerados, surgen unas gotas hialinas (quizá son el fermento de la fibrina) que se mezclan al plasma, y la coagulación comienza. Esta se inicia junto á las plaquetas, de cuyo contorno brotan hilos fibrinosos divergentes, que no tardan en anastomosarse con los procedentes de otros acúmulos placulares, generándose una vasta red de trabéculas hialinas, brillantes, difícilmente perceptibles sin el auxilio de las materias tintóreas. En las mallas de la red quedan englobados los hematíes y leucocitos y una parte del plasma ó suero.

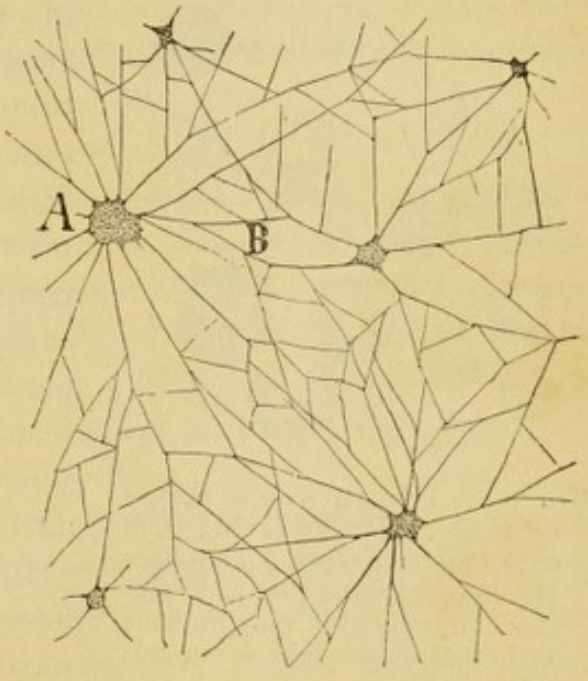


Fig. 79. — Red fibrinosa de una gota de sangre: A, zooglea de plaquetas; B, hilos de fibrina. Los hematíes han sido destruídos por el agua.

Los *fenómenos macroscópicos de la coagulación* son bien conocidos. La sangre, recogida en un receptáculo cualquiera, tórnase, pocos momentos después de extravasada, consistente y pastosa; á los pocos minutos, todo el líquido se solidifica, como una masa gelatinosa que se enfría, englobando en su seno los hematíes, por cuya circunstancia, el coágulo adquiere color rojo obscuro. El coágulo comprende al principio toda la masa sanguínea, mas al cabo de algunas horas, la red fibrinosa se retrae, y expulsado el suero de sus mallas, queda en libertad una gran cantidad de líquido cetrino, en donde acaba por nadar el coágulo mismo, considerablemente empequeñecido. En la parte superior del coágulo vése una costra blanca, compuesta exclusivamente de fibrina y leucocitos, y debida á que, en el momento de ocurrir la so-

lidificación, casi todos los hematíes, cuyo peso específico es superior al de los leucocitos, han logrado descender algunos milímetros.

Histogénesis.— 1.° *Epoca embrionaria.* — La sangre es una producción mesodérmica, que tiene origen fuera del embrión, en la llamada *area vascular* de la hoja media. Según las opiniones más concordantes, á un tiempo mismo nacen vasos y sangre, iniciándose el proceso por la construcción de una red de cordones macizos, irregulares, constituídos por un conglomerado de células mesodérmicas. Más adelante (de la vigésima á la trigésima hora de incubación en el embrión de pollo) ocurre una diferenciación en las células constitutivas de estos cordones; las periféricas se aplanan y se transforman en endotelio; las centrales aparecen separadas por un líquido transparente, y se metamorfosean en leucocitos y hematíes nucleados ó embrionarios.

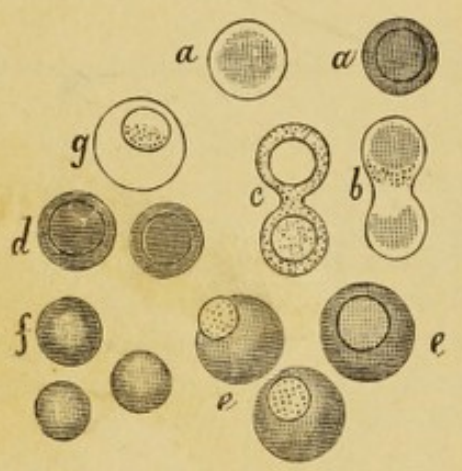


Fig. 80.— Hematíes de la sangre de un embrión de ratón: *a*, *b*, *c*, *g*, eritroblastos ó hematíes sin hemoglobina; *d*, *e*, hematíes con hemoglobina y núcleo; *f*, hematíes adultos ó sin núcleo.

Una vez formada la sangre y adelantado el desarrollo embrionario, los glóbulos se multiplican en el mismo torrente circulatorio, como puede advertirse fácilmente examinando este líquido en los embriones de mamífero de las primeras semanas. Los hematíes embrionarios son de dos especies: 1.°, *células semihialinas* (Cajal) ó *eritroblastos* (Loewit), corpúsculos esféricos, nucleados, hialinos y exentos de hemoglobina ó ligeramente teñidos por esta materia; y 2.°, *células rojas* ó glóbulos rojos nucleados, cuyos caracteres son: la esfericidad, contener un núcleo, ya central, ya periférico, y presentar un protoplasma hialino, fuertemente cargado de hemoglobina. Tanto las células pálidas ó semihialinas como las rojas, exhiben fases mitósicas. Entre estas dos especies celulares, adviértense todas las transiciones.

En los últimos meses de la vida embrionaria, las células rojas nucleadas, así como los eritroblastos ó células semihialinas desaparecen, siendo reemplazadas por hematíes normales, es decir, por glóbulos discóideos y desprovistos de núcleo.

La filiación más probable de todas estas formas, parece ser la siguiente : 1.° Las células semihialinas, que representan los gérmenes de los hematíes, proliferan abundantemente ; una parte de la progenie resultante se transforma por secreción de hemoglobina en hematíes nucleados ; otra porción subsiste algún tiempo en estado de células-gérmenes, para dar origen á nuevas proliferaciones. 2.° Las células rojas engendradas proliferan todavía, y el ciclo termina expulsándose el núcleo y convirtiéndose el cuerpo celular de esferoidal en discoideo.

Formación de los hematíes en el adulto. — Los trabajos de Neumann, Bizzozero, Torre, Rindfleisch, Dœnys, etc., confirmados por nosotros (1), ponen fuera de duda que la médula del hueso y acaso el bazo, son los órganos donde en la edad adulta se engendran los hematíes. En ellos se refugian los gérmenes hemáticos (células semihialinas y glóbulos rojos nucleados), que durante los primeros tiempos de la vida fetal circulaban libremente por todo el árbol sanguíneo.

Disociada en fresco, bajo una gota de líquido indiferente, la médula roja (médula de los huesos cortos y epífisis de los largos), nos presenta dos clases de corpúsculos emparentados con los hematíes, y que no son otras que las ofrecidas por la sangre fetal, á saber : 1.°, eritroblastos ó células blancas y hialinas (figura 81, A, B); 2.°, hematíes nucleados ó células de Neumann (figura 81, J, I). La filiación es la que dejamos reseñada más atrás : las células hialinas ó semihialinas proliferan abundantemente y se convierten (una parte de ellas) en células rojas de Neumann ; éstas se multiplican también, como ha demostrado Bizzozero, y una vez llegadas á su madurez, pierden el núcleo (quizá por expulsión), se tornan discoideas y entran en el torrente circulatorio (fig. 81, K, L).

En general, se supone que las células de Neumann, así como

(1) Véase nuestro *Manual de Histología normal*, pág. 381 y siguientes.

sus gérmenes, residirían fuera de los vasos, penetrando en éstos por un mecanismo todavía desconocido. Se ha imaginado, para hacer más verosímil esta penetración, que las venitas y capilares de la médula ósea de los mamíferos, están construídos de un epitelio discontínuo, es decir, salpicado de agujeros por los cuales ocurriría la inmigración de los hematíes transformados. Mas todo quedaría llanamente explicado si, como parece probable, cupiera generalizar á los mamíferos un reciente descubrimiento de Bizzozero y Dœnys, realizado en la médula ósea de las aves. En estos seres, las células semihialinas y glóbulos rojos nucleados, residen en el interior de capilares ó venas cavernosas, constituyendo estratos concéntricos por debajo del endotelio, y en los

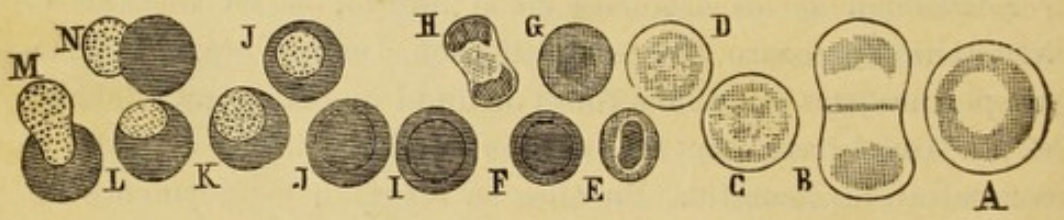


Fig. 81. — Diversas fases presentadas por los eritroblastos de la médula ósea del conejo de Indias. Examen en fresco en un líquido indiferente: A, célula semihialina ó eritroblasto voluminoso; B, eritroblasto en vías de mitosis; D, eritroblastos pequeños; F, E, J, I, células rojas de Neumann ó hematíes nucleados; H, hematíes en vías de mitosis; K, L, M, N, diversas fases de expulsión del núcleo.

cuales, como en el epitelio de los tubos seminíferos, pueden seguirse todas las fases de la multiplicación y metamorfosis de dichos elementos. Las capas más periféricas del contenido sanguíneo, están ocupadas por las células semihialinas, que Dœnys identifica, con razón, con los eritroblastos de Loewit; las zonas concéntricas subsiguientes alojan los corpúsculos de Neumann; y, finalmente, el centro del vaso encierra los hematíes, que han terminado ya su evolución, y pueden entrar en la corriente sanguínea. De lo que se infiere que los hematíes son engendrados, como los zoospermos y óvulos, en una glándula especial de actividad constante, y que merece, mejor que ninguna otra, el título tan prodigado de *glándula vascular sanguínea*. Esta glándula está representada por la médula roja en los vertebrados

superiores, aves y batracios, y por el bazo en los reptiles y peces.

Origen de los leucocitos. — Cuestión es esta que ha sido muy controvertida y lo es aún, sobre todo en lo referente á la cuna de ciertas variedades de leucocitos; pero del fondo de los trabajos publicados en estos últimos tiempos, arranca una convicción, á saber: que el origen de los leucocitos es doble, pudiendo ocurrir: ó por proliferación intra-sanguínea de los elementos preexistentes, como ya demostraron *de visu* Striker, Arnold y Ranvier y nosotros, y más recientemente Spronk y van der Strich, mediante el reconocimiento de fases karioquinéticas; ó por mitosis de las células-gérmenes, los verdaderos leucoblastos, residentes en los ganglios linfáticos, bazo y médula ósea. Este último origen parece con mucho el más importanee, y armoniza bien con el aumento de leucocitos que la linfa presenta después de atravesar los ganglios linfáticos, así como con las numerosas y constantes mitosis que se ven en los folículos de los ganglios y demás tejidos linfoides (Flemming, Cajal, Heidenhain, Hoyer, etc.).

Las opiniones emitidas sobre el origen de los glóbulos rojos y blancos son inumerables. Abandonaríamos la concisión que nos hemos impuesto si hubiésemos de reseñarlas todas, aun las más principales. Haremos, sin embargo, una excepción en favor de la teoría de Loewit, que goza hoy de cierto favor, bien que no le faltan tampoco detractores.

La médula del hueso, el bazo y los ganglios linfáticos encierran, según Loewit, dos especies celulares: los *eritroblastos* á cuyas expensas se engendran los hematíes; y los *leucoblastos* que producen los leucocitos. Representan estas dos clases de células, gérmenes que no tienen entre sí ningún lazo de parentesco, por más que habiten juntos en los mismos lugares.

Los *eritroblastos* son glóbulos esféricos de contorno limpio, hialinos, exentos de hemoglobina, que corresponden indudablemente á nuestras *células semihialinas;* encierran un núcleo con armazón cromático flojo, y se dividen á favor de mitosis. Las células hijas adquieren hemoglobina, transformándose progresivamente en los glóbulos rojos de Neumann, los que á su vez perderían el núcleo, entrando en circulación. La desaparición del núcleo ocurriría por una suerte de licuación intracelular.

Los *leucoblastos* son corpúsculos esféricos mono-nucleados, susceptibles de contracción amiboide, exentos también de hemoglobina, y cuyo proceder divisorio es una kariokinesis especial, simplificada, que Loewit

llama *divisio indirecta per granula*. El término final de las transformaciones del leucoblasto sería el leucocito multinucleado ó de núcleo polimorfo de la sangre, después de pasar por las demás variedades (leucocitos pequeños con núcleo esférico, etc.). Los leucocitos de la sangre no reconocerían pues distintos orígenes, como afirma Ehrlich, sino que provendrían los unos de los otros y, en último término, de las células-gérmenes ó leucoblastos habitantes en los ganglios, médula ósea y bazo.

Como se ve, la doctrina de Loewit discrepa poco, al menos en el fondo, de la que hemos expuesto en el texto. Desde luego puede aceptarse el ciclo del eritroblasto, que no es sino el de nuestras células *semihialinas*. No hay inconveniente tampoco en designar con el nombre de *leucoblastos* los meduloceles de la médula ósea y los corpúsculos productores de leucocitos que los autores (y nosotros mismos), han señalado en el tejido linfoide de los ganglios. Los puntos débiles de la doctrina de Loewit, resultan de haber generalizado demasiado la residencia de los eritroblastos, y de haber asignado á cada especie de célula-germen un modo divisorio especial. En efecto, los trabajos de Spronck y van der Stricht, prueban la existencia de mitosis completas en algunos leucocitos de la sangre circulante, y el mismo hecho ha sido observado por Bizzozero, H. F. Müller y Wertheim en los órganos linfoides hiperplasiados de los leucémicos. Rechazado el criterio del modo de división para el reconocimiento de los eritroblastos, es imposible distinguir ya estos corpúsculos de los leucoblastos, y solo arbitrariamente cabe admitir, como hace Loewit, la existencia de verdaderos eritroblastos en los ganglios linfáticos y folículos linfoides del intestino. En nuestro sentir, el eritroblasto no tiene igual cuna que el leucoblasto. Conforme nos enseñan los trabajos de Doenys y Bizzozero, que nosotros hemos confirmado, el eritroblasto parece ser una formación intra-sanguínea de la médula ósea y acaso también del bazo ; mientras que el leucoblasto provendría principalmente de células extra-sanguíneas no bien caracterizadas todavía y residentes en los ganglios linfáticos y médula de los huesos.

Origen de las plaquetas.—Es desconocido y solo pueden hacerse conjeturas sobre la localidad y modo de producción de estos corpúsculos. Algunos autores reputan las plaquetas fragmentos de hematíes ó precipitados fibrinosos ; pero si se tiene en cuenta la naturaleza celular de tales elementos en los vertebrados inferiores, no parece irracional admitir que también en los mamíferos pasan por una fase celular nucleada, cuyo asiento podría ser el bazo. La eliminación del núcleo daría lugar á la transformación en plaqueta. Reconocido este origen, podría aceptarse una multiplicación activa de las plaquetas, durante su fase embrionaria. Sea de ello lo que quiera, merece consignarse, porque armoniza con lo expuesto, que en la rana, según Mondino y Fusari, las plaquetas se multiplican en plena corriente sanguínea.

Propiedades fisiológicas. — Cada uno de los factores de que la sangre consta, desempeña un oficio dominante, para el que se ha diferenciado especialmente.

El *hematíe* es una célula muerta, la cual ha perdido su estructura para mejor ejecutar su papel, que no es otro que servir de vehículo al oxígeno, tomándolo del aire en el pulmón y llevándolo á las intimidades de los tejidos. Hasta la ausencia de núcleo en los hematíes de los mamíferos implica una diferenciación utilitaria, puesto que de este modo pueden los glóbulos condensar más oxígeno en menos masa.

Los *glóbulos blancos* parecen ser los encargados de realizar la asepsia intra-orgánica, impidiendo el acceso de microbios y de toda clase de partículas extrañas. Son asimismo los agentes de la destrucción y absorción de todos los órganos ó tejidos cuya oportunidad fisiológica pasó definitivamente.

Estas múltiples funciones realízanlas los leucocitos, gracias á dos propiedades dominantes : aptitud de variar de forma para escurrirse por las junturas endotélicas y recorrer libremente las lagunas conjuntivas ; y capacidad de englobar en su protoplasma, y acaso digerir, como quiere Metchinikoff, todas las partículas orgánicas sólidas de pequeña dimensión.

Es probable que algunos de aquellos leucocitos portadores de granulaciones, tengan además carácter de glándulas monocelulares errantes, cuyo destino podría ser llevar, ora materias nutritivas á ciertos territorios orgánicos, ora fermentos defensivos capaces de esterilizar (como imaginan algunos patólogos) los tejidos invadidos por microbios patógenos.

La misión de las *plaquetas* parece responder también á prudentes previsiones del organismo. Cuando un vaso sufre un traumatismo (pequeña herida, contusión, ligadura, etc.), las plaquetas acuden en masa al punto lesionado, conglutinándose en bloques considerables y produciendo un tapón obturador, que cohibe ó previene la hemorragia, ínterin las energías proliferantes de las células de tejido intervienen para reparar el daño con arreglos definitivos. Como nosotros hemos probado, las plaquetas de la rana poseen movimientos amiboides, así como cualidades fagocíticas, puesto que pueden en-

globar partículas de carmín y diversas especies de microbios (1).

Estos ejemplos prueban que muchas de las disposiciones orgánicas no han sido creadas para desempeñar una función actual fisiológica, sino para ocurrir á conflictos posibles, aunque extraordinarios, entre el organismo y los agentes exteriores.

Circulación de la sangre vista al microscopio. — El orden de marcha de los corpúsculos sanguíneos no es el mismo en los vasos gruesos que en los delgados. Cuando se examina la circulación de la sangre en una arteria ó vena de algún calibre, se nota que la corriente sanguínea es sumamente rápida y que todas las células parecen marchar con igual velocidad. Mas si el examen recae en los capilares ó en las pequeñas venas, advertiremos que la sangre se divide en dos corrientes ó zonas : *capa periférica* ó blanca, por la cual sólo discurren el plasma y los leucocitos ; *capa central* ó roja, por donde marchan los hematíes y plaquetas. En la zona periférica el movimiento es lento, observándose cómo los leucocitos se deslizan perezosamente por el endotelio, en el cual pueden permanecer á veces pegados é inmóviles ; por el contrario, los hematíes circulan con tanta rapidez que cuesta trabajo distinguir sus contornos.

Muerte de los glóbulos. — Las células sanguíneas, cuya cuna conocemos ya, son corpúsculos efímeros que quizás no duran sino algunas semanas. Contínuamente se destruyen hematíes en el bazo, hígado y médula ósea, y sus restos aparecen á menudo englobados por las células de dichos órganos. En cuanto á los leucocitos, las emigraciones constantes á que están sometidos, y su contínuo vagar por las superficies epiteliales (glándulas, intestino, pulmón, amígdalas, etc.), producen la muerte de muchos de ellos.

Compréndese, por tanto, que sea permanente el trabajo reparador de los órganos hematopoyéticos (médula ósea, ganglios linfáticos y bazo), y que aumente todavía durante las afecciones microbianas, á fin de compensar las pérdidas leucocíticas exigidas por la lucha entablada entre el organismo y los parásitos invasores.

(1) Cajal : La fagocitosis en las plaquetas. *Rev. trim. microgr.*, 1896, número 2.

LINFA Y QUILO

La *linfa* es un líquido blanco, transparente, coagulable, que circula por los vasos linfáticos. El líquido acarreado por los linfáticos intestinales durante la digestión, es de aspecto lechoso, y toma el nombre de *quilo*.

Tanto el quilo como la linfa encierran un gran número de leucocitos pertenecientes á todas las variedades que hemos descrito en la sangre. El quilo contiene, además, multitud de finísimas gotas de grasa, incapaces de conglutinarse, pues se hallan rodeadas, según se cree, por delicada cubierta albuminoide. Según Loewit, la linfa alberga también leucoblastos y eritroblastos, aserción que necesita confirmarse.

El *plasma linfático* es alcalino, más rico en agua que el de la sangre y espontáneamente coagulable ; no se solidifica sino fuera de los vasos, bajo la acción del aire, y el coágulo es blanco y más blando y pequeño que el de la sangre, á causa de la escasez de elementos englobados.

Según Hensen y Dähnhard, la linfa humana consta en mil partes de:

Albuminoides	2,6	1,070 fibrinógena. 0,984 serum-globulina. 1,408 serum-albúmina.
Grasa, colesterina, lecitina		0,03
Materias extractivas		1,28
Sales		8,38
Agua		987,07

El quilo posee análoga composición que la linfa, coagula igualmente por la acción del aire, y distínguese de la linfa por contener más grasa.

Preparación de la sangre. —1.ª *Examen de los hematíes en el hombre.* — Nada más fácil que el estudio de los glóbulos rojos. No hay más que hacer una picadura en la yema de un dedo y extender la sangre así obtenida entre dos laminillas, teniendo cuidado que la capa de líquido no contenga más que una sola fila de hematíes. A fin de evitar la desecación y resguardar los glóbulos de la influencia atmosférica, se cementará la preparación con parafina, ó se lubrificará simplemente el contorno con aceite.

Si se desea estudiar la sangre de rana, animal que puede elegirse como tipo de los vertebrados ovíparos, el procedimiento de extracción y de preparación será análogo. Convendrá, sin embargo, en vez de extraer la sangre por picadura ó sección de los dedos (lo que nos daría un líquido tan rico de linfa como de sangre), acudir al corazón mismo donde aquel humor es puro y abundante.

No hace falta conservar las preparaciones de sangre; tan fácil es hacerlas y renovarlas. Alguna vez puede convenir, empero, mantener en preparado definitivo los hematíes fijados por desecación rápida, los tratados por el ácido ósmico (al 1 por 100) y los fijados en bicloruro de mercurio. Estos dos últimos reactivos consienten el montaje en la glicerina. Los glóbulos preparados por desecación se cubrirán no más de una laminilla.

2.ª *Examen de las plaquetas.*—El mejor procedimiento es estudiarlas en la sangre circulante, donde se muestran con todas sus propiedades fisiológicas (véase el examen de la circulación al microscopio). Para observarlas sin alteraciones en la sangre extraída, es preciso recoger este líquido en el licor conservador de Bizzozero: agua destilada, 100; cloruro de sodio, 0'75: violeta de metilo, c. s., para dar al reactivo un matiz violeta obscuro. A este fin, lo más cómodo y lo más seguro es derramar una gota de este licor en el mismo paraje de la piel donde ha de practicarse la puntura; así la sangre no toca ni un momento al aire, y las plaquetas se conservan algunas horas con su forma típica. El estudio de las plaquetas alteradas y de las redes fibrinosas debe hacerse en la sangre pura, frescamente extraída. Unicamente con la mira de que las redes fibrinosas destaquen mejor, será provechoso el empleo de la solución yodo yodurada.

3.ª *Leucocitos.*—El examen de los leucocitos vivos no reclama ninguna precaución particular. Se recordará solamente que los movimientos amiboides exigen para su observación en los animales de sangre caliente una temperatura próxima á 37°.

La coloración de los leucocitos y de sus granulaciones, exige métodos especiales. Para teñir los leucocitos provistos de granitos eosinófilos (α, de Ehrlich), se comenzará por desecar una gota de sangre (y en capa delgadísima) sobre un cubre-objetos; luego se lleva el preparado á un baño de arena (con la capa de sangre al descubierto) donde sufrirá una temperatura de 120°, y por último, se colorará con una solución de eosina en hematoxilina, disolución que se prepara añadiendo á 100 gramos de hematoxilina de Ehrlich, 1 gramo de eosina. Este líquido se hará obrar algunos minutos sobre la preparación, que se terminará lavándola en mucha agua, desecándola entre papel de filtro y montándola en d'Ammar. Los hematíes se presentarán rojos, azules los leucocitos y rojas las granulaciones eosinófilas de éstos.

La demostración de las granulaciones neutrófilas, exige la aplicación sobre una capa de sangre desecada y sometida á 120° de esta mezcla:

agua, 5; solución acuosa saturada de fuschina ácida, 5; solución concentrada acuosa de azul de metileno, 1. Después de varios minutos de acción, efectuada la decoloración en agua, se procede al secado y al montaje en d'Ammar. En el protoplasma de los leucocitos así tratados, se mostrarán teñidos en violado, ciertos granitos, los *neutrófilos* (granulaciones ε, de Ehrlich).

El teñido de las granulaciones basiófilas (γ, de Ehrlich) se logra con cualquier anilina básica. Particularmente recomendables son: la solución de Dalia, la tionina y el azul de metileno.

Si se desea impregnar solamente el núcleo de los leucocitos, no hace falta desecar la sangre: bastará mezclar con ésta, recién extraída de los vasos, una solución concentrada de azul ó de verde de metileno, adicionadas de unas gotas de ácido acético.

4.ª *Circulación de la sangre.* — Este interesante fenómeno puede sorprenderse fácilmente al microscopio en todos los órganos transparentes de los vertebrados: el mesenterio, la lengua y la membrana interdigital de la rana, las expansiones de la cola del renacuajo, y el epiploón y mesenterio de los pequeños mamíferos (rata, conejo de Indias, etc.), son las partes ordinariamente preferidas. Al tratar de los métodos de examen, hemos hablado ya del *modus operandi* que conviene para observar la circulación en la rana.

Entre los mamíferos, el más adecuado á este examen es el conejo indiano de pocas semanas. Antes de extraer el mesenterio, se inmovilizará el animal por el método de Bizzozero, es decir, por inyección en la cavidad peritoneal de cierta cantidad de hidrato de cloral (2 gramos de solución acuosa al 5 por 100).

5.ª *Examen de las células rojas nucleares, etc.* — El procedimiento que más confianza debe merecernos para el estudio de estas células, es el examen en fresco, sin otro vehículo que el plasma que naturalmente empapa y separa los elementos vivos. A veces, los corpúsculos están tan apiñados (barro esplénico, médula ósea), que se hace precisa su separación y dilución: en tal caso, usaremos exclusivamente como vehículo inofensivo el licor sódico (sal, 0'50 á 0'75 por 100 de agua), que conserva no sólo la forma, color, etc., de los hematíes embrionarios, sino los movimientos amiboides de los leucocitos y meduloceles. Para estudiar los fenómenos mitósicos de los eritroblastos y sus relaciones con los hematíes adultos, preferiremos, siguiendo á Bizzozero y Doenys, la médula ósea de las aves (gallina, paloma). Abierto el femur de estos animales, y, extraído el tuétano (que forma una columna blanda y rojiza) será fijado éste en sublimado, ó en líquido de Hermann, ó en la solución de formol; luego se incluirá, según las reglas, en celoidina y se colorará ya con la tionina (solución saturada en agua y decoloración en alcohol), ya con la zafranina, ora con la hematoxilina de Böhmer, ora con la hematoxilina ferruginosa de M. Heidenhain.

También puede emplearse con éxito el método de Loewit, que consiste en fijar los ganglios, bazo ó médula ósea en una solución de cloruro platínico al 0'1 por 100, incluir después en parafina, colorar los cortes en zafranina y decolorar, por diez á quince segundos, en una mezcla de 3 centímetros cúbicos de solución alcohólica de ácido pícrico y una á dos gotas de tintura de iodo. Este líquido roba el color á casi todos los núcleos, menos á los de los eritoblastos que se presentan intensamente teñidos en rojo.

6.ª *Hemoglobina.*—Para preparar fácilmente los cristales de la sangre, debe escogerse un animal cuya hemoglobina sea poco soluble en el plasma, como, por ejemplo, el conejillo de Indias. La sangre de este roedor, despojada de la fibrina por el batido, se mezcla en proporciones iguales con éter sulfúrico ; á los pocos minutos, la materia colorante, que se ha disuelto en plasma, comienza á precipitarse en el fondo y paredes del recipiente bajo la forma de elegantes tetraedros anaranjados, casi todos microscópicos. La observación se efectuará en el agua madre.

Desgraciadamente, estas preparaciones son dificilísimas de conservar. Hemos ensayado con tal fin la desecación, el ácido ósmico y el iodo, pero sólo el alcohol absoluto nos ha proporcionado éxitos tolerables. El *modus faciendi* se reduce á tratar por el alcohol absoluto una capa extendida y todavía húmeda de cristales hemoglóbicos. Fijos los cristales por el reactivo, se lava el preparado y se conserva en glicerina. La forma de los cristales se conserva bien, pero desmerece el color.

8.ª *Preparación de la linfa y quilo.* — Para efectuar el examen de estos líquidos en los animales superiores se elegirá un mamífero de gran talla (asno, caballo) muerto en plena digestión. A favor de una pipeta capilar, se tomará linfa del conducto torácico ó de los linfáticos del mesenterio, muy visibles cuando están ingurgitados por el quilo.

En los animales inferiores, es más difícil recoger linfa perfectamente pura. No obstante, en la rana, cabrá obtenerla casi pura introduciendo un tubo capilar esterilizado en el saco linfático dorsal y soplando el líquido, que haya penetrado por capilaridad, sobre un porta-objeto. Prolongando la observación algún tiempo, se comprobarán fácilmente los fenómenos de contractilidad amiboide y de englobamiento de corpúsculos extraños.

CAPITULO V

TEJIDOS DE SUBSTANCIA CONJUNTIVA

Consideraciones generales.—Los tejidos que vamos á exponer ahora, á saber: el conjuntivo, el adiposo, el cartilaginoso, el óseo y el dentario, poseen, sin perjuicio de su cabal individualidad, rasgos comunes reveladores de su íntimo parentesco, y los cuales conviene, por razón de método, anteponer á la historia circunstanciada de cada especie. Estos rasgos son: analogías de origen, de estructura, de composición química y de fisiologismo.

Analogías genéticas.—Los tejidos conjuntivo, adiposo, cartilaginoso, óseo y dentario, son diferenciaciones del mesodermo, por lo menos en los vertebrados superiores.

Analogías estructurales.—Los mencionados tejidos se componen de dos cosas: las células, comunmente estrelladas ó fusiformes, y una materia fundamental, generalmente abundante y descompuesta en finas hebras y hacecillos.

Analogías químicas. — La materia fundamental de estos tejidos encierra un principio protéico (colágena, osteína, condrina) susceptible de ser reducido por la cocción á jalea ó gelatina.

Analogías funcionales. — Todas las especies conjuntivas desempeñan un oficio común: construir el esqueleto del organismo y servir de medio de unión y protección á los diversos órganos y tejidos.

TEJIDO CONJUNTIVO PROPIAMENTE DICHO

Definición. — Este tejido, llamado también *unitivo*, *fibrilar* y *celular*, se caracteriza por su color blanquecino, consistencia semiblanda, y por constar de dos factores principales: células

aplanadas y asteriformes, á veces anastomosadas, y una materia homogénea intersticial, recorrida por infinitos hacecillos de fibras colágenas.

División. — Aunque el tejido conjuntivo conserva sus rasgos esenciales en todas las localidades orgánicas, experimenta en ciertos órganos modificaciones de detalle, que autorizan una división. La variedad conjuntiva más importante está representada por el *tejido conectivo laxo*, cuyos caracteres más salientes son : la ubicuidad y el no modelarse jamás en órganos especiales.

Las otras variedades, tales como el *tejido conjuntivo fibroso*, el *citógeno* ó *adenoideo*, el *corneal* y el *membranoso*, afectan una distribución menos general, y constituyen casi exclusivamente ciertos órganos (tendones, ganglios linfáticos, epiploones, etc.).

VARIEDAD CONJUNTIVA LAXA

Definición.—Es una modalidad conjuntiva blanda, extensible, esparcida por casi todo el organismo y construída por células aplanadas y escasas, separadas por hacecillos colágenos flojos, y dispuestos en todas direcciones.

Caracteres físicos y distribución.—El tejido conjuntivo laxo es blanco, grisáceo, grandemente extensible y elástico. Entra como factor de composición de casi todos los óganos, bien proporcionándoles envolturas protectrices (*membranas* ó *cápsulas*), bien rellenando sus intervalos (*tejido conectivo interorgánico*), bien penetrando en su trama microscópica, á fin de sostener, separar y nutrir los elementos activos (*tejido conectivo intersticial*). El tejido conectivo se modela en capas de vario espesor por debajo de los epitelios (dermis de la piel y mucosas) y acompaña constantemente á los vasos, á través de todos los tejidos.

Caracteres micrográficos. — Cuando se examina al microscopio un pedazo de tejido conjuntivo laxo, convenientemente disociado á favor de inyecciones intersticiales, atrae nuestra atención la presencia de cuatro elementos : los *haces conectivos*, la *materia amorfa*, las *fibras elásticas* y las *células fijas y emigrantes*.

Hacecillos conjuntivos (fig. 82, A). — Son manojos transparen-

tes, incoloros, que surcan la preparación en todos sentidos y están formados de la reunión de finísimas hebras paralelas. Varía mucho el grosor de estos haces, oscilando entre 2 μ y 20 ó más μ; su curso es tortuoso, describiendo zig-zag, é incorporándose, sin presentar jamás extremo libre, á otros hacecillos.

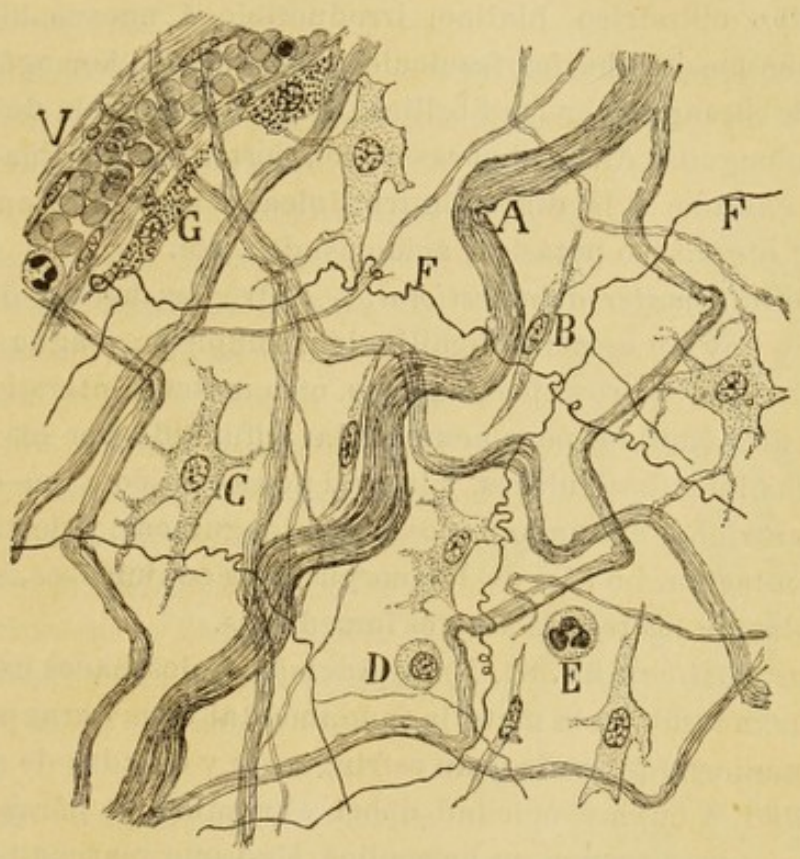


Fig. 82. — Tejido conjuntivo laxo del conejillo de Indias. Preparación por inyección intersticial del líquido sódico-metílico de Bizzozero; A, haces de fibras colágenas; B, célula fija vista de canto; C, células fijas examinadas de frente; D, célula emigrante; E, leucocito de núcleo giboso; F, fibras elásticas; G, células de Ehrlich, ó con gránulos basiófilos; V, vaso sanguíneo.

Las frecuentes ramificaciones de los haces y sus anastomosis repetidas, dan origen á una vasta red cuyos espacios, llamados *lagunas conjuntivas*, alojan el plasma linfático y los elementos morfológicos.

El carmín y la hematoxilina tiñen los haces conjuntivos, aunque menos intensamente que los núcleos. Más enérgica y selectivamente se coloran por la fuchina pícrica de v. Gieson y por el

carmín picro-índigo (solución de carmín de índigo en ácido pícrico á saturación): la substancia que contienen es, pues, notablemente *acidófila*. El agua de cal, las soluciones concentradas de ácido pícrico, de hipermanganato potásico, etc., destruyen el cemento que mantiene asociadas las fibrillas, obteniéndose éstas en estado libre. Con fuertes objetivos se nota que cada fibra es un cordón cilíndrico, hialino, irreductible á nuevos hilos. El ácido acético hincha los fascículos, tornándolos homogéneos y haciendo desaparecer las fibrillas. Bajo la influencia de la cocción prolongada, dichas hebras se convierten en gelatina; resisten, en cambio, á la digestión tripsínica, y no se alteran por el alcohol, bicromato potásico, ácido ósmico, etc.

Cemento ó materia intersticial. — Entre las hebras de cada fascículo hay un cemento semilíquido, soluble en el agua de cal, de barita, etc.; pero existe, además, otra materia intersticial, de consistencia líquida, poco acumulada, difundida por los vacíos ó lagunas interfasciculares, y la cual no es otra cosa que el plasma de nutrición exudado de los vasos sanguíneos, y destinado á la alimentación, no sólo de los corpúsculos conjuntivos, sino de las células de los tejidos activos inmediatos.

Fibras elásticas (fig. 82, F). — Además de los haces conjuntivos, cruzan también la materia fundamental unas fibras especiales, de contorno puro, de gran refringencia y dotadas de notable elasticidad, á cuya propiedad deben el nombre de *fibras elásticas*. Nunca se disponen en hacecillos, sino que marchan sueltas en todas direcciones, cruzando los fascículos colágenos, y trazando, ya simples flexuosidades, ya grandes revueltas, ya trayectos espiróideos. Permanecen incoloras en presencia del carmín, pero se tiñen por el ácido pícrico y muchas anilinas.

Las fibras elásticas son refractarias á la potasa y ácido acético, agentes que semidisuelven ó palidecen notablemente los haces colágenos. Merced á esta propiedad, resulta empresa facilísima la demostración de dichas fibras en un preparado conectivo.

Las fibras elásticas se presentan bajo tres formas principales: 1.°, como fibrillas independientes; 2.°, en redes, y 3.°, en membranas perforadas.

Las *fibrillas independientes* son finas, no ramificadas y sumamente flexuosas; habitan de preferencia el tejido conectivo del dermis y el intersticial de músculos y vísceras (fig. 82, F).

Las *redes elásticas* se asocian igualmente al tejido conectivo de la piel y al de los músculos, pero su asiento preferente es la túnica media de las arterias y venas y los ligamentos amarillos de las vértebras.

En estos últimos ligamentos, el tejido elástico domina sobre el conjuntivo, apenas representado por alguna célula y tal cual fascículo. Las fibras elásticas son espesas, se ramifican en ángulo agudo y engendran redes de mallas irregulares y angostas (fig. 83, A).

Las *membranas perforadas* representan redes elásticas cuyas fibras han adquirido, por crecimiento en superficie, una anchura tal, que las mallas se han reducido á simples agujeros. Residen estas membranas en la túnica media de las gruesas arterias y en el límite externo de la *íntima* de las pequeñas.

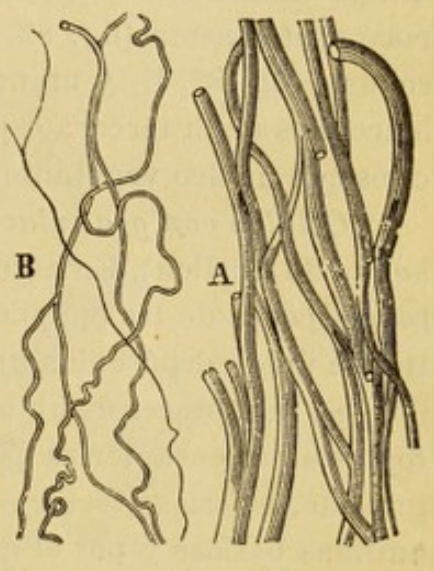


Fig. 83.—Fibras elásticas aisladas por el ácido acético: A, gruesas redes elásticas de los ligamentos amarillos; B, finas redes del dermis cutáneo.

Células.—Los elementos vivos y constantes del tejido conectivo son las llamadas *células fijas ó sedentarias;* menos constantemente y sólo en ciertas localidades orgánicas se hallan las *células emigrantes*, las *Mastzellen de Ehrlich*, las *pigmentarias* y las *cianófilas ó embrionarias*.

a) *Las células fijas* (fig. 82, C) afectan forma de laminillas poligonales, cuyos ángulos se prolongan en largos apéndices frecuentemente anastomosados con los emanados de vecinas células (Renaut, Cajal). Muchos de estos corpúsculos se superponen á los haces cuya dirección siguen; otros aparecen sueltos en el interior de las lagunas conjuntivas.

Cada célula posee un núcleo aplanado, pobre en cromatina;

un protoplasma laminar finamente granuloso y tan transparente hacia sus bordes, que cuesta trabajo discernirlo ; y una membrana delicadísima que sólo con fuertes objetivos puede percibirse. Las caras son lisas, mostrando excepcionalmente las crestas de impresión señaladas por Ranvier (fig. 82, C, B).

b) *Células emigrantes* (fig. 82, D, E).—Así se llaman unos elementos esféricos, poco numerosos, de contorno áspero, que circulan libremente por las lagunas conjuntivas. Gozan de movimientos amiboideos y pasan por ser leucocitos sanguíneos ó linfáticos emigrados. Algunos de ellos poseen un núcleo esférico y poco protoplasma (fig. 82, D) ; otros presentan un cuerpo más robusto (fig. 82, E) y un núcleo con gibosidades, como el de los leucocitos de la tercera especie (*polinucleados* de Ehrlich, leucocitos con núcleo vegetante).

c) *Células con granulaciones* (*Mastzellen*, es decir, *células cebadas* de Ehrlich). En algunas localidades orgánicas, de preferencia cerca de los epitelios y de los capilares y venas, muéstranse unos corpúsculos gruesos, redondeados, ovoideos ó fusiformes, portadores de un núcleo pobre en cromatina, y cuyo protoplasma se caracteriza por contener numerosas granulaciones gruesas, esféricas, semejantes á micrococos, colorables por las anilinas básicas y por el método de Gram (fig. 82, G). La tionina las colora en rojo heliotropo, distinguiéndolas de la cromatina nuclear que se tiñe en azul. Estas granulaciones son de naturaleza albuminoide, solubles en ácido acético é insolubles en alcohol y éter.

Se ignora la significación de las células de Ehrlich. Este autor suponía que dichos corpúsculos abundaban en aquellas partes, en donde por ser asiento de movimientos proliferativos, se produce sobrealimentación ; pero los trabajos de Ballowitz y Bergonzzini (1893), los nuestros y de Calleja (1), echan por tierra esta interpretación, haciendo probable la opinión de que semejantes corpúsculos se hallan constantemente en ciertas localidades del tejido conectivo, variando sólo su distribución según las diversas especies de animales. Bergonzzini menciona también, además de

(1) C. Calleja : Distribución y significación de las células cebadas de Ehrlich. *Rev. trim. microgr.*, núms. 2 y 3, 1896.

las células con granos basiófilos, otras provistas de granitos acidófilos (colorables por la fuchina ácida). En torno de las células cebadas, se advierte, en ocasiones, una atmósfera circular, formada por una materia coloreable por las anilinas básicas. Esta atmósfera prueba que la materia granular basiófila es susceptible de ser eliminada y disuelta en el plasma intercelular.

Las llamadas por Waldeyer *células del plasma*, residentes también cerca de los vasos y provistas de granulaciones interiores, corresponden probablemente á los corpúsculos de Ehrlich ó representan una variedad de los mismos.

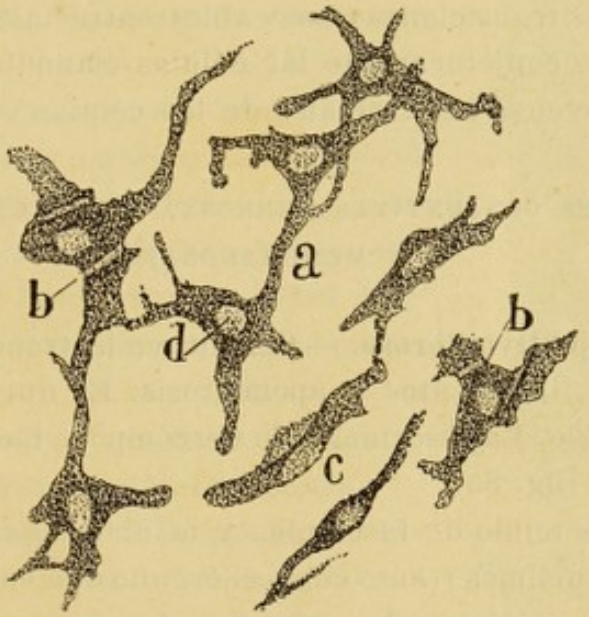


Fig. 84. — Células pigmentarias de la coroides del ojo humano. Las células aparecen vistas de plano ; *a*, puente intercelular ; *b*, depresión lineal causada por haces conectivos ; *c*, células vistas de canto.

d) *Células pigmentarias* (fig. 84). — En el hombre sólo se encuentran estos corpúsculos en la coroides y el iris, y con gran rareza en el dermis de la piel y papilas pilosas. Poseen una forma en huso ó en estrella, y su cuerpo encierra multitud de granitos redondeados de melanina. No es raro ver sus apéndices anastomosados en red.

Las células melánicas son muy abundantes y adquieren gran desarrollo en la piel y otros tejidos de los reptiles, batracios y peces. Por ejemplo, en el dermis de los batracios, estos corpús-

culos alcanzan gran espesor, y sus ramificaciones protoplásmicas se dilatan en una extensa superficie, constituyendo, con las de los vecinos corpúsculos, una red pigmentaria difusa. El núcleo destaca del protoplasma moreno, por carecer de granitos melánicos.

Células cianófilas. — Cerca de los epitelios, y particularmente en el dermis de la lengua y otras mucosas, en el trama intersticial de las glándulas salivares, etc., hállanse unos corpúsculos esféricos ú ovoideos, sin expansiones, con un núcleo esférico, y provistos de un protoplasma vacuolado, coloreable uniformemente por las anilinas básicas, y singularmente por el azul de metileno. Por las transiciones observables entre tales elementos y los fijos, cabe conjeturar que las células cianófilas representan las formas jóvenes ó germinales de las células sedentarias (1).

VARIEDADES CONJUNTIVAS (FIBROSA, CORNEAL, RETICULAR Y MEMBRANOSA)

Tejido conjuntivo fibroso. — Constituye la trama principal de los tendones, ligamentos y aponeurosis. Es duro, nacarado y poco extensible. La disociación lo descompone fácilmente en haces paralelos (fig. 85).

Consta este tejido de fascículos y células. Los *fascículos* son espesos, larguísimos (tanto como el órgano que engendran), perfectamente paralelos y de curso flexuoso ó en zig-zag, que se convierte en rectilíneo cuando aquéllos son estirados por disociación.

Las *células* (fig. 85, *a*) forman series paralelas que ocupan los intersticios lineales de los fascículos ; su forma es la de láminas cuadrilongas, de bordes irregulares y de caras lisas, de las cuales arranca á menudo una cresta penetrante en el intersticio fascicular inmediato (*cresta de impresión* de Ranvier) ; sus extremos tocan, por lo común, los de las células vecinas de la misma serie, y sus bordes, más ó menos estirados en apéndices, acaban libremente entre los fascículos. Las células profundamente si-

(1) Véase Cajal : El estroma de las neoplasias. *Rev. trim. microgr.*, números 2 y 3, 1896.

tuadas en el interior del haz secundario pueden poseer dos y más crestas de impresión.

Fascículos primarios y secundarios.—Los haces entre los cuales se alínean las células corresponden exactamente á los hacecillos del tejido conectivo laxo, y toman el nombre de *fascículos primarios.*

Los fascículos primarios se reunen en un grupo más ó menos numeroso, individualizados y protegidos por una cubierta endotelial, constituída por células poligonales laminares, análogas á las de las serosas y fácilmente revelables por el nitrato de plata (fig. 86, A). Estos son los *fascículos secundarios.*

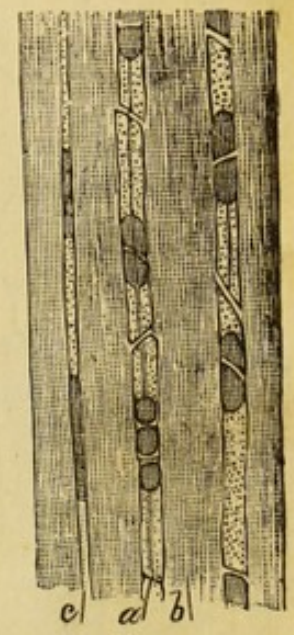


Fig. 85. — Un haz secundario estirado de la cola de ratón : *a*, hilera de células ; *b*, haz conectivo.

Por último, la agrupación de varios haces secundarios da origen al *tendón* ó *ligamento* propiamente dichos, que á su vez está rodeado por una túnica de tejido conjuntivo laxo, rico en vasos sanguíneos. Esta cubierta envía tabiques, provistos también de capilares, al espesor del tendón, es decir, á los huecos resultantes entre los haces secundarios.

Tejido conjuntivo citógeno. — Reside esta variedad en los folículos linfáticos de los ganglios, en el bazo, placas de Peyero y órganos linfoides. Consta también de hacecillos y células.

Los *hacecillos* (fig. 87, B) son sumamente finos (de 2 á 3 μ), pálidos y dispuestos en red, cuyas mallas son poligonales y tan estrechas, que en ellas caben solamente tres ó cuatro células. Los filamentos colágenos constitutivos de cada haz, se perciben menos bien que los del tejido conjuntivo laxo, y al nivel de las nudosidades se ven pasar aquéllos de un fascículo á otro, sin nacer ni terminar en ningún punto.

Las células son de dos clases : *fijas* ó *laminares* y *leucógenas* ó *emigrantes.*

Las *leucógenas* (*leucoblastos* de Lœwit) son esféricas ó polié-

dricas, alcanzan tamaños diversos y muestran, á menudo, fases mitósicas. Ocupan estas células, reunidas en paquetes apretados, todo el hueco de las mallas conjuntivas, y en cuanto acaban su evolución, ganan los espacios cavernosos recorridos por la linfa, y entran en circulación convertidas en leucocitos.

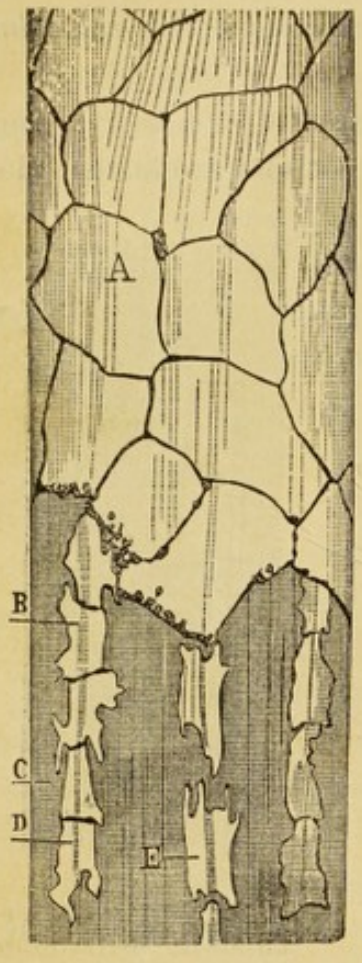


Fig. 86. — Haz secundario de los tendones de la cola del ratón. Coloración por el nitrato de plata : A, células endoteliales ; B, células dispuestas en serie ; C, haz conectivo coloreado en castaño por el reactivo ; D, cresta de impresión de las células; E, célula suelta.

Las *fijas* ó *secundarias* (fig. 87, C) poseen forma de laminillas ténues, portadoras de un núcleo ; hállanse íntimamente adheridas á los hacecillos, particularmente al nivel de las nudosidades. (Para más detalles, véanse *ganglios linfáticos*). Las masas citógenas carecen de células de Ehrlich.

Variedad corneal (fig. 88). — La córnea, membrana transparente del segmento anterior del globo ocular, consta de varias capas que son de delante á atrás; el *epitelio corneal anterior*, formado de varias hileras de células poliédricas ; la *zona conjuntiva*, de textura fibrosa ; y la *capa endotelial* ó epitelio corneal posterior. La zona más espesa y verdaderamente característica de la córnea, es la conjuntiva, cuya estructura vamos á exponer sucintamente.

La capa conjuntiva de la córnea encierra las siguientes partes : láminas conectivas, células fijas y emigrantes, y lagunas ó conductos de Bowman.

Láminas. — La córnea se compone de una serie de láminas concéntricas, paralelas, cada una de las que resulta del adosamiento de hacecillos conjuntivos finos, de hebras delicadísimas é invisibles en estado fresco. Los cortes antero-posteriores de

dichas membranas permiten reconocer que en cada lámina la orientación de los hacecillos es perpendicular á la de los constitutivos de láminas limítrofes. Fascículos oblícuos cruzan los espacios plasmáticos que separan las láminas, poniendo en comunicación recíproca la trama conectiva de éstas.

Conductos de Bowman. — Cuando se inyectan con aire ó azul de Prusia los espacios separatorios de las laminillas, se ve que éstos forman una vasta red de anchos y cavernosos trabéculos,

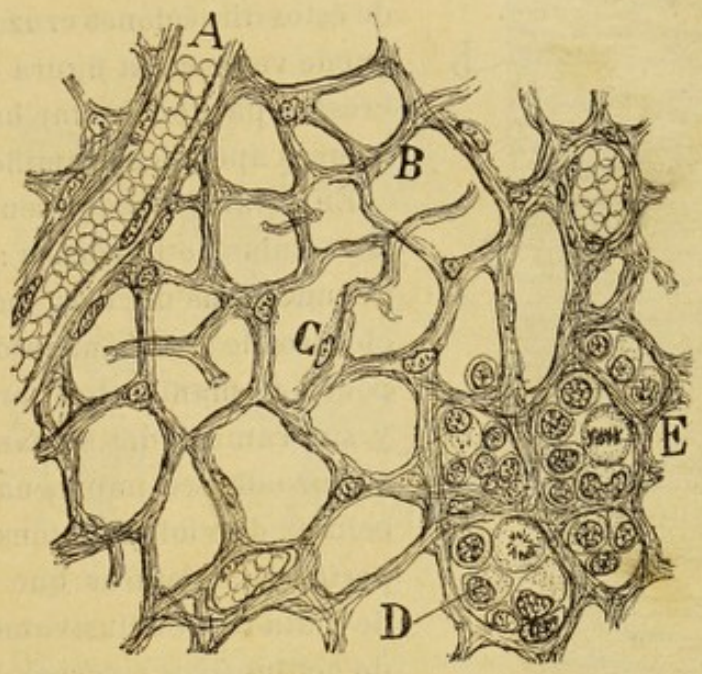


Fig. 87. — Tejido citógeno de un ganglio linfático. Las células de las mallas han sido desprendidas por el pincel; A, capilar sanguíneo; B, haces colágenos finos; D, célula conectiva vista de borde; D, células linfáticas ó leucoblastos alojados en las mallas de la red.

por donde circula ampliamente el plasma. Semejantes huecos han tomado el nombre de conductos de Bowman, y se consideran homólogos á las lagunas del tejido conectivo. Los conductos de un espacio interlaminar comunican, á favor de aberturas labradas en las láminas, con los situados en planos más posteriores ó anteriores.

Células fijas. — Son unos corpúsculos estrellados, aplastados de delante á atrás, situados entre las láminas conjuntivas, precisamente en las amplias confluencias de los conductos de Bow-

man. De sus caras brotan crestas de impresión, que se ajustan á los intersticios de las láminas limítrofes; y de sus bordes nacen numerosas expansiones, ramificadas en ángulo recto y anastomosadas con las de corpúsculos vecinos (fig. 89). Como los hacecillos de cada lámina son perpendiculares á los de la vecina, las crestas de impresión de los corpúsculos fijos tienen también en las caras de éstos direcciones cruzadas, como puede verse en la figura 89. Dichas crestas pueden brotar hasta de los mismos apéndices ramificados.

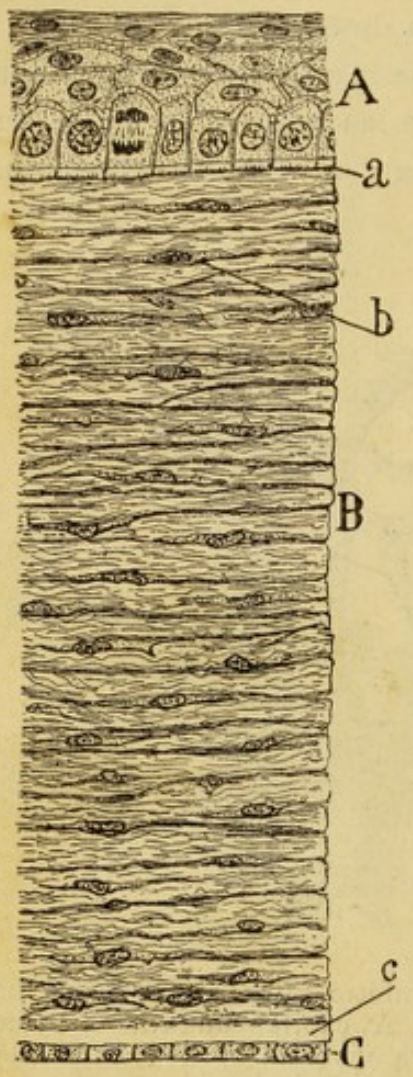


Fig. 88. — Corte perpendicular de la córnea del conejo; A, capa epitelial anterior; B, capa conectiva; C, capa endotelial ó membrana de Descemet; *a*, chapa basal del epitelio; *b*, células corneales vistas de canto; *c*, membrana basal posterior.

En estado fresco, son invisibles las células de la córnea: el carmín denuncia sus núcleos, pero sólo el cloruro de oro y nitrato de plata ponen de manifiesto el protoplasma y sus ramificadas expansiones: el cloruro de oro impregna al cuerpo celular de violado intenso (*imagen positiva*); mientras que el nitrato de plata tiñe exclusivamente el fondo conjuntivo, reservando en blanco el protoplasma y todos sus apéndices (*imagen negativa*).

Células emigrantes.—Cuando se examina en fresco, y por su cara posterior, la córnea de la rana, no tardan en advertirse unos corpúsculos irregulares, á menudo alargados, con numerosas expansiones pálidas, que no son otra cosa que leucocitos emigrados. Casi todos ellos pertenecen á la variedad de núcleo con gibosidades ó de núcleo múltiple; y en las lagunas corneales donde circulan, muévense muy activamente, pudiendo sorprenderse cómo, por

virtud de sus contracciones amiboides, se estiran y deforman, embutiéndose en resquicios estrechísimos, para pasar de un espacio interlaminar á otro. Las células conectivas fijas no son visibles en la córnea viva, y no cabe, por consiguiente, confundirlas con las emigrantes.

Como las observaciones de C. Calleja han puesto de manifiesto, la trama principal de la córnea no posee células de Ehrlich; sólo se encuentran en la periferia de dicho órgano, en su unión con la esclerótica.

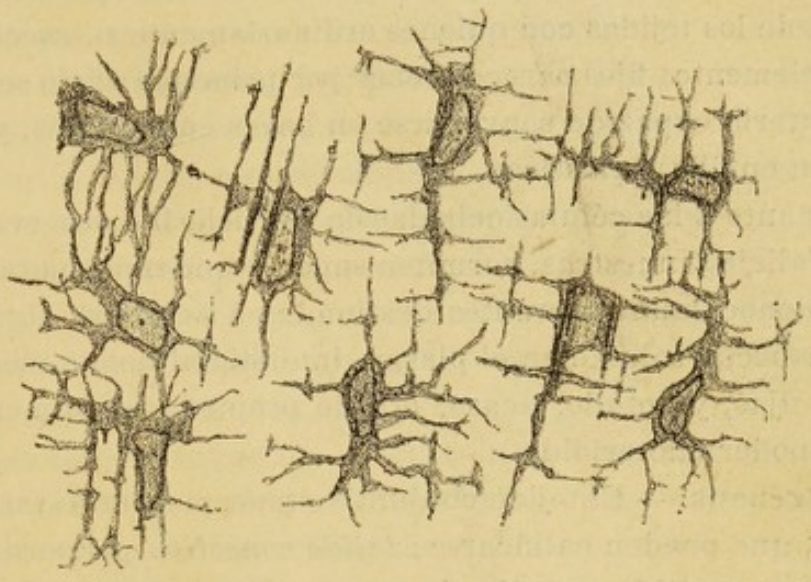


Fig. 89. — Células fijas de la córnea de la rana coloreadas por el cloruro de oro.

Variedad membranosa ó reticular. — Así se llama el tejido conectivo laxo, cuando sus haces se adosan para formar membranas delgadas revestidas por endotelio.

De esta variedad están construídos los repliegues de las serosas, y particularmente el mesenterio y el epiploón (véase más adelante el *tejido seroso*).

Propiedades químicas del tejido conjuntivo. — Los hacecillos conjuntivos están formados principalmente por la *colágena*, substancia insoluble en agua y alcohol, que se hincha en el ácido acético, se disuelve en caliente en los álcalis, se digiere por la pepsina y ácido hidroclórico, pero no por la tripsina. La ebullición prolongada la convierte en gelatina.

Las fibras elásticas constan de *elastina*, substancia que les presta su gran resistencia á los ácidos y álcalis.

Propiedades fisiológicas. — La pobreza relativa en células, y el predominio notable de la substancia fundamental, denotan que el tejido conectivo goza de poca actividad funcional. Su utilidad orgánica proviene precisamente de su pasividad y de sus propiedades físicas, las cuales (elasticidad, extensibilidad) le prestan condiciones adecuadas para unir y proteger los órganos movibles. Pero el principal papel que desempeña es la absorción de los líquidos nutritivos, para difundirlos hasta los elementos activos de los tejidos con quienes ordinariamente se asocia.

Los elementos fijos parecen tener por principal oficio segregar una materia capaz de convertirse en haces conjuntivos, y acaso también en fibras elásticas.

En cuanto á las células cebadas de Ehrlich, las observaciones de C. Calleja y nuestras, permiten suponer que representan glándulas monocelulares errantes destinadas á segregar algún producto especial soluble en el plasma intersticial donde moran las células fijas, y dotado, acaso, ora de propiedades alimenticias, ora de poder bactericida.

Histogénesis. — El tejido conjuntivo pasa por varias fases evolutivas, que pueden calificarse : *tejido conectivo primordial, tejido mucoso, tejido conectivo joven* y *tejido conjuntivo adulto.*

Tejido conectivo primordial. — En las primeras diferenciaciones conjuntivas del mesodermo, así como en los rudimentos de huesos y cartílagos, la trama histológica es extremadamente simple, reduciéndose á células esféricas ó poliédricas, de núcleo relativamente voluminoso, y separadas por escasa cantidad de materia fundamental hialina, sin señales de mucina ni de colágena. Las mitosis celulares son abundantes.

Tejido conjuntivo mucoso. — Más adelante, la substancia intersticial se acrecienta, y en ella aparece la mucina. Las células adquieren mayor tamaño, se apartan unas de otras y afectan forma en huso ó estrellada, cuyas largas expansiones protoplásmicas se ramifican repetidamente, dando origen á una red complicada.

Tejido conjuntivo joven. — Alrededor de las células y de sus

largos apéndices anastomosados, depositanse delgados hacecillos conectivos, que aumentan sucesivamente en espesor y se continúan entre sí formando redes y plexos difusos. Las lagunas conectivas se estrechan á consecuencia del crecimiento de los haces, y la mucina desaparece, siendo sustituída por un líquido plasmático. Ulteriormente surgen en la materia hialina intersticial, y en virtud de un mecanismo desconocido, las fibras elásticas. Las células no engendran directamente ni los haces conectivos ni las fibras elásticas ; se supone, sin embargo, que no son ajenas á la construcción de unas y otras, pues segregarían una materia que, en presencia del plasma intersticial, se coagularía ya en hebras colágenas, ya en fibras elásticas. En pro de esta intervención habla el hecho de aparecer siempre los haces conectivos junto á los corpúsculos embrionarios, y precisamente en la misma dirección de los apéndices protoplásmicos.

Esta fase evolutiva es la que se muestra en el cordón umbilical, donde las redes celulares están revestidas por depósitos de hacecillos, conservándose todavía vastas lagunas plasmáticas ricas en mucina.

Tejido conjuntivo adulto.—Las células dejan de proliferar, adquiriendo formas laminares y retrayendo muchas de sus expansiones. La formación creciente de los haces, y el espesamiento de éstos separa los cuerpos celulares y disminuye, en consecuencia, el número relativo de corpúsculos. Las lagunas conjuntivas quedan reducidas á espacios virtuales, lubrificados por el plasma linfático.

Es muy probable que los corpúsculos conectivos adultos sean incapaces de proliferar. A nuestro modo de ver, la regeneración del tejido conectivo corre á cargo de los corpúsculos cianófilos, ó células conectivas-gérmenes, las cuales, á la manera de lo que ocurre con los epitelios y con los hematíes nucleados de la médula ósea, han conservado indefinidamente su carácter embrionario. Como la piel y mucosas son los parajes más ocasionados á lesiones, en ellos, es decir, cerca de los epitelios tegumentarios, es donde más abundantes se hallan los elementos cianófilos.

Preparación del tejido conjuntivo. — *a*) *Tejido conectivo laxo.*— El mejor método de demostración, consiste en examinar un trozo de la bola de

edema determinada en el tejido conjuntivo subcutáneo de un animal (perro, conejo, conejillo indiano, etc.), mediante la inyección de un líquido colorado é indiferente. El agente que nosotros utilizamos con este objeto es el líquido salino indiferente (sal al 0,75 por 100), en donde se han disuelto, hasta obtener un color intenso, algunos trozos de violado de metilo. Este licor, que no altera en lo más mínimo las células, presta al protoplasma color violeta claro, colora en violado intenso los núcleos y fibras elásticas, y tiñe apenas los fascículos conectivos. La observación debe efectuarse en el mismo vehículo inyectado, pues la glicerina roba el color del preparado, dándole demasiada transparencia.

A fin de ejecutar preparaciones definitivas, podrán ensayarse las inyecciones de ácido ósmico ó nitrato de plata. Las del nitrato (al 1 por 300 ó 500), evidencian con toda corrección los límites protoplásmicos y los fasciculares, pudiendo teñirse los núcleos subsiguientemente con el picrocarminato ó hematoxilina ; pero tienen el inconveniente de retraer las expansiones celulares y de sembrar la preparación de precipitaciones argénticas negras.

Por esto preferimos nosotros la fijación con ácido ósmico. El procedimiento consiste en inyectar en el tejido subcutáneo de un perro, conejo ó conejillo indiano, una solución de aquel agente al 1 por 100. De la infiltración edematosa resultante, se toma una pequeña porción con las tijeras, y se coloca sobre un porta-objetos. Acto continuo se lubrifica el preparado con picrocarminato ó hematoxilina, y se cubre con una laminilla. A las veinticuatro horas de coloración (ésta se efectuará en cámara húmeda), se deslizará suavemente el cubre-objetos y se depositará en el tejido una gota de glicerina.

La demostración de las relaciones de las células con los haces conectivos y el estudio de la disposición general de éstos, exige el método de los cortes. Trozos de piel ó de mucosas se enduran en alcohol, se incluyen en celoidina y se tiñen por el carmín, hematoxilina ó las anilinas básicas. Para hacer resaltar los fascículos, son de recomendar el método de Gieson y nuestro procedimiento de triple coloración con la fuchina y el picro-índigo carmín (véase *Técnica general*).

En cuanto á las células cebadas de Ehrlich, se teñirán en los cortes, para lo que se preferirá la tionina. Secciones finas de tejido englobado en celoidina, se sumergen, por algunos minutos, en solución saturada acuosa de tionina ; luego se decoloran en alcohol absoluto hasta que resulten de violado claro, y, por último, se llevan al xilol y al bálsamo. Si la decoloración no ha sido excesiva, los núcleos quedarán de azul obscuro, los haces conectivos de azul pálido y las granulaciones de las células cebadas de rojo heliotropo, fenómeno de metacromasia que tamhién se observa en la mucina, en la materia fundamental cartilaginosa y en la túnica media de las arterias.

La demostración de las fibras elásticas y de las fibras anulares de los

haces, se efectuará con la mayor facilidad en los preparados teñidos con carmín, sometiéndolos por veinticuatro ó cuarenta y ocho horas á la acción de glicerina que contenga 1 por 100 de ácido acético. Aparentemente las fibras anulares, que se presentan también muchas veces en espiral, se tiñen por el carmín bajo la acción de los ácidos. Pero un examen atento, practicado con el obturador 1,18 Zeiss y aparato *Abbe* sin diafragma, permite reconocer que el color reside por debajo de las fibras y resulta de la condensación sufrida por el fascículo al nivel de aquellas. Donde la estrangulación es nula ó poco aparente, las fibras se muestran siempre incoloras.

Recientemente se ha preconizado la orceína para teñir las fibras elásticas. Los cortes deberán permanecer durante quince minutos en la estufa y en un líquido compuesto de: orceína 1; alcohol 100; ácido clorhídrico 1. Deshidratación en alcohol y montaje en d'Ammar. Las fibras elásticas adquieren un tono purpúreo moreno, resaltando bien del tejido conectivo, que se colora flojamente.

b) Tejido tendinoso. — La simple disociación de un trozo de tendón de la cola del ratón ó de los dedos de la rana en un escipiente inofensivo (licor sódico metílico), nos dará ya idea clara de la forma, situación y conexiones de las células y fascículos. El desprendimiento de los tendoncitos de la cola del ratón, es una maniobra que conviene detallar. Despellejada la cola, aparecerán á la vista las vértebras caudales, sus intersticios y las fajas tendinosas nacaradas que las envuelven. Córtense, al nivel de una articulación vertebral, todas las partes blandas, excepto uno de los tendones. Tomando los dos extremos de la cola, se estirará el puente fibroso susodicho, y se verá que se prolonga enormemente, descomponiéndose en finísimos haces. Estos son los haces primarios, que se recogerán en porta-objetos, se fijarán en alcohol, se teñirán con hematoxilina y conservarán en glicerina.

Para completar nuestros informes sobre la trama tendinosa, es preciso ejecutar cortes transversales. La induración previa de un tendón en el alcohol, y subsiguientemente en celoidina, consentirán la ejecución de cortes suficientemente finos para el examen, los que se tratarán por los procedimientos ordinarios de coloración y conservación.

El endotelio sólo se percibe bien impregnando fascículos frescos, de tendón disociado por el nitrato de plata al 1 por 300 ó 500. Los tendones de la cola del ratón son muy favorables al objeto.

En el estudio de las aponeurosis, elegiremos la femoral de la rana, que es sumamente delgada y transparente. Un examen provechoso podrá hacerse ya en fresco, tiñendo la membrana, estirada por semidesecación, con una gota de una solución de verde ó violeta de metilo acetificados. Los núcleos se tiñen admirablemente, revelándose con sus crestas de impresión y resaltando sobre un fondo casi incoloro. La fijación de la aponeurosis fresca y extendida con alcohol absoluto, su coloración con carmín

ó hematoxilina y su conservación en glicerina acetificada, nos proporcionarán preparados definitivos.

c) *Córnea.*— Para comenzar el estudio de la córnea, convendrá el examen de cortes antero-posteriores, sumamente delgados, teñidos con carmín y hematoxilina ó tionina, obtenidos por endurecimiento, alcohol y celoidina. Los fascículos conectivos no se perciben bien sino por disociación de la córnea endurecida en ácido crómico, ósmico ó bicromato de potasa. En cuanto á las células, conviene examinarlas de plano, previa coloración ó impregnación. Los resultados más correctos se obtienen con el nitrato de plata y cloruro de oro. La nitratación se efectúa pasando un lápiz de nitrato de plata sobre la córnea viva en situación normal. Lavada y desprendida ésta, se expondrá á la luz en un poco de agua acética, á fin de que el epitelio se reblandezca y pueda después fácilmente desprenderse. Si la nitratación sale bien, deben mostrarse las células blancas sobre fondo castaño. Otro método, quizá más seguro, consiste en refrescar con un corte tangencial una córnea de mamífero, tratándola, acto contínuo, con una solución de nitrato de plata al 1 por 300. La acción subsiguiente de la luz, en agua ó glicerina, revelará las células con todos sus detalles, incluso el núcleo, que, aunque incoloro, será perceptible si el examen se verifica en el agua.

El cloruro de oro produce imágenes tanto ó más demostrativas. El método que mejores resultados nos ha dado es el de Cohnheim: inmersión de la córnea fresca en solución de cloruro de oro al 0,5 por 100 hasta que adquiera color amarillo de paja; lavado subsiguiente y reducción al sol en agua con algunas gotas de ácido acético, hasta que la pieza tome color violeta intenso; induración al alcohol y ejecución de cortes ya paralelos, ya antero-posteriores. En éstos cabrá observar, aparte de las células teñidas de violeta intenso, las terminaciones nerviosas epiteliales.

CAPÍTULO VI

TEJIDO ADIPOSO

Definición. — El *tejido adiposo* ó grasiento es una trama de origen mesodérmico constituída principalmente por células esféricas, provistas de una gota de grasa y separadas á favor de hacecillos conjuntivos.

Existen dos modalidades de tejido adiposo : el *adiposo común* y el *medular de los huesos.*

TEJIDO ADIPOSO COMÚN

Distribución y caracteres físicos. — El tejido adiposo aparece abundantemente esparcido por el organismo ; forma un cojinete espeso bajo la piel, rodea las vísceras y rellena los huecos que resultan entre los músculos, nervios, etc. Su color es amarillento ; su peso específico de 0,927, por lo que flota en el agua, y su consistencia semisólida.

Caracteres micrográficos.—Cuando se examina al microscopio el producto de la disolución de un lobulillo adiposo, llaman nuestra atención unos corpúsculos poliédricos de un diámetro considerable (de 20 á 40 μ ó más), que tienen el aspecto de vejigas llenas de grasa. Un examen más atento, sobre todo si recae en preparaciones teñidas por el ácido ósmico y el carmín, revela en cada célula cuatro cosas : la membrana, el protoplasma, el núcleo y la grasa (fig. 90).

La *membrana* es finísima, poco perceptible en las células integras ; mas si la grasa se extrae, ora mecánicamente (por rasgadura), ora á favor de la bencina ó el éter, la cubierta se pliega, mostrándonos en muchos parajes un doble contorno muy aparente (fig. 90, *a*).

El *protoplasma* es finamente granuloso y sólo se distingue bien del lado del núcleo, en donde se presenta amontonado.

El *núcleo* afecta una figura discoide, está rodeado de protoplasma y constituye en el contorno celular un abultamiento ligero.

La *gota de grasa* es voluminosa, pues llena, como se ve en la fig. 90, *e*, casi todo el contenido celular ; su contorno es limpio y está orlado de un limbo obscuro, particularidad óptica que presentan siempre aquellas substancias cuyo índice de refracción discrepa mucho del que poseen los medios orgánicos. En torno de la gota grasienta, el protoplasma constituye tan delicada película, que se creería faltar por completo. Por lo demás, la masa oleosa aparece en fresco perfectamente homogénea y de matiz ligeramente amarillento ; no así en las preparaciones que han sufrido la acción del alcohol, en las cuales es frecuente hallar, en el centro de la gota grasienta, irradiaciones de agujas impropiamente llamadas de *margarina*.

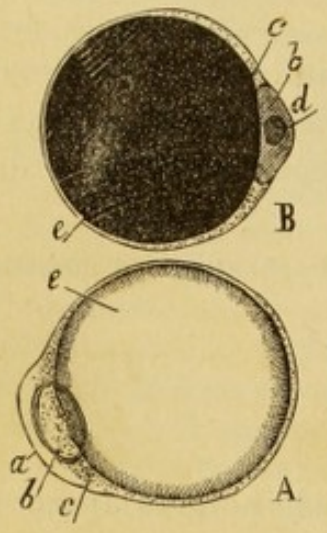


Fig. 90. — Dos células grasientas del perro joven : A, célula tratada por el verde de metilo acetificado; *a*, cubierta ; *b*, núcleo ; *c*, protoplasma; *e*, gota de grasa; B, célula fijada por el ácido ósmico; *b*, núcleo; *d*, nucleolo.

Las células adiposas pueden vivir solitarias, como diseminadas en el seno del tejido conjuntivo; pero la regla es encontrarlas congregadas, constituyendo grupos más ó menos numerosos que se llaman *lobulillos adiposos*. Tabiques de tejido conjuntivo laxo, portadores de vasos de algún calibre, sirven para separar dichos lóbulos. Dentro de estos últimos, las células no están en íntimo contacto ; entre ellas reside una trama formada por delicados fascículos conjuntivos, y una red capilar tupida, de mallas poligonales, y en un todo semejante á la que rodea los acini glandulares.

TEJIDO MEDULAR DE LOS HUESOS

Esta variedad adiposa se caracteriza por encerrar, además de las células grasientas y del retículo conjuntivo, una infinidad de corpúsculos pequeños, de aspecto embrionario, llamados *meduloceles*, así como ciertos otros de talla gigante, designados *osteoclastos* y *mieloplaxias*.

Distribución y caracteres físicos.—Existen dos variedades macroscópicas de médula, que corresponden á dos modalidades microscópicas bien acusadas : la *médula amarillenta* ó tuétano que reside en el conducto de los huesos largos, y se halla compuesta exclusivamente de grasa y tejido conjuntivo ; y la *médula roja* ó *fetal*, habitante en las epífisis de los huesos largos y en la trama areolar de los cortos y anchos. Esta última especie medular es la que, por separarse ostensiblemente de la estructura del tejido adiposo común, merece una descripción particular.

Caracteres microscópicos.—Si se disocia en estado fresco y con ayuda de un líquido indiferente un trozo de médula roja ó fetal, los elementos puestos en libertad son muy numerosos. Entre ellos pueden distinguirse las siguientes especies : *osteoclastos*, *mieloplaxias*, *células rojas* nucleadas, *eritroblastos* ó células semihialinas, *leucoblastos* y *células adiposas*.

Osteoclastos (*poliocariocitos* de Bambeke). — Así se llaman unas células voluminosas (de 20 á 40 μ), de contorno irregular, yacentes en la periferia de la médula, encajadas en ciertas fositas ofrecidas por la superficie interna de los huesos (fig. 91, E). Su protoplasma es granuloso, emitiendo á veces gruesas expansiones, y en su interior se alberga un número variable de núcleos (4, 6 ó más) pequeños, ovoideos, diseminados irregularmente. La multiplicidad nuclear y la posición periférica de estas células, distínguenlas bien de los demás elementos medulares.

Mieloplaxias (*megalo-cariocitos* de Bambeke).—Caracterízanse por su talla gigante (de 20 á 60 μ), forma redondeada ó poligonal, y sobre todo, por encerrar un núcleo voluminoso, muy semejante en forma, aunque muy superior en tamaño, al de los leucocitos (fig, 91, A, B). Las formas que suele adoptar este núcleo,

son: la de riñón, la de doble bola con itsmo delgado de unión y, sobre todo, la de rosario de lóbulos, dispuesto en herradura ó plegado de manera variable y complicada. El carmín de Grenacher y la hematoxilina revelan en dicho núcleo un armazón cromático flojo, pero de trabéculas y nudosidades espesas. A veces los pedículos de los lobulillos nucleares se rompen y el corpúsculo adquiere dos ó más núcleos.

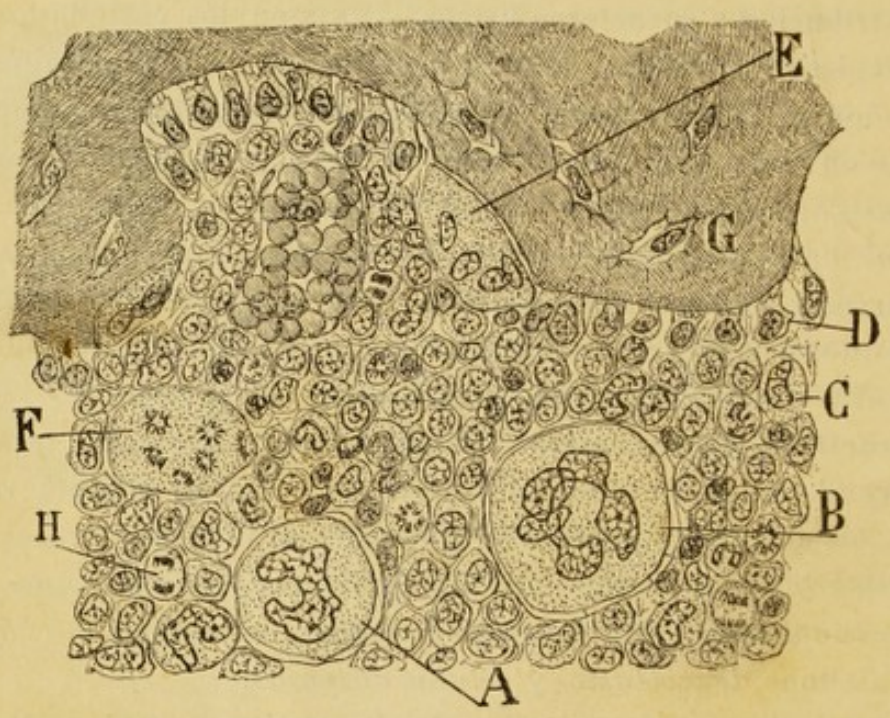


Fig. 91. — Corte transversal de la tibia y médula ósea de un conejillo de Indias joven. Decalcificación en ácido pícrico y teñido por la hematoxilina : A, mieloplaxia mediana de núcleo arriñonado ; B, mieloplaxia gigante de núcleo dispuesto en rosario ; C, mielocitos ó meduloceles ; D, osteoblastos situados junto al hueso joven ; E, osteoclasto situado en contacto con el hueso; F, mieloplaxia con mitosis múltiple; G, célula ósea.

El protoplasma es abundante, filamentoso y está rodeado por una membrana que se desprende en presencia del agua acidulada.

Las mieloplaxias no tienen sitio de elección, yaciendo esparcidas sin orden por todo el espesor de la médula.

Células rojas nucleadas (fig. 91, H).— Llamadas también corpúsculos de Neumann, representan hematíes en evolución,

situados probablemente en el interior de los vasos. Su historia ha sido trazada ya al hablar de la hematogenesis.

Leucoblastos (*meduloceles* de los histólogos antiguos).—Son las células más numerosas de la pulpa medular, y su gran semejanza con los leucocitos ha inducido á los autores á estimarlas, ora como efectivos glóbulos blancos, ora como gérmenes ó fases embrionarias de éstos (fig. 91, C).

Las variedades más comunes de estos elementos, son : 1.°, células enanas, de 5 á 6 μ, de núcleo esférico, rodeado de fina capa protoplasmática; 2.°, células más voluminosas (de 9 á 12 μ), semejantes á leucocitos por la forma de su núcleo (con gibas, arriñonado ó múltiple) y el aspecto granuloso del protoplasma; 3.°, células con granulaciones eosinófilas, 4.°, células con granos basiófilos.

No se conoce bien la filiación de estas células ni el grado de parentesco que cada una de ellas pueda tener con los leucocitos sanguíneos.

Células grasientas.—Son raras en la médula roja, muy abundantes en la amarilla, y sus propiedades coinciden con las de los corpúsculos adiposos antes descritos.

Trama conectiva.—Entre las células de la médula roja existe un retículo de finísimos hilos, cuya naturaleza no se conoce bien, aunque se supone análoga á la de los hacecillos conectivos. En la médula amarilla, Enderlen ha visto este retículo disponerse en forma de nidos que rodean las vesículas adiposas. Otros autores, Mall, por ejemplo, habían notado estas ó parecidas reticulaciones.

Finalmente, la médula ósea roja está recorrida por una red capilar muy rica, cuyas trabéculas son anchas y de aspecto cavernoso.

Caracteres químicos del tejido grasiento.—Las grasas contenidas en las células adiposas, son : la *triestearina* y la *tripalmitina*, substancias sólidas á la temperatura ordinaria, disueltas en la *trioleína*, que es líquida. Disuelta en esta última grasa, se halla también una pequeña cantidad de *lecitina* y *colesterina.*

Propiedades fisiológicas. — Las células adiposas representan glándulas monocelulares, cuyo oficio consiste en producir y re-

tener las grasas neutras, á fin de que, durante las épocas de deficiencia alimenticia, ó de gastos orgánicos excesivos, pueda disponer el organismo de un alimento de reserva. Si se examinan las células adiposas atrofiadas por la fiebre ó por la emaciación, se advierte, como ha demostrado Bizzozero, que la gota de grasa, muy disminuída y situada en el centro, está rodeada por un limbo de una materia mucosa semilíquida.

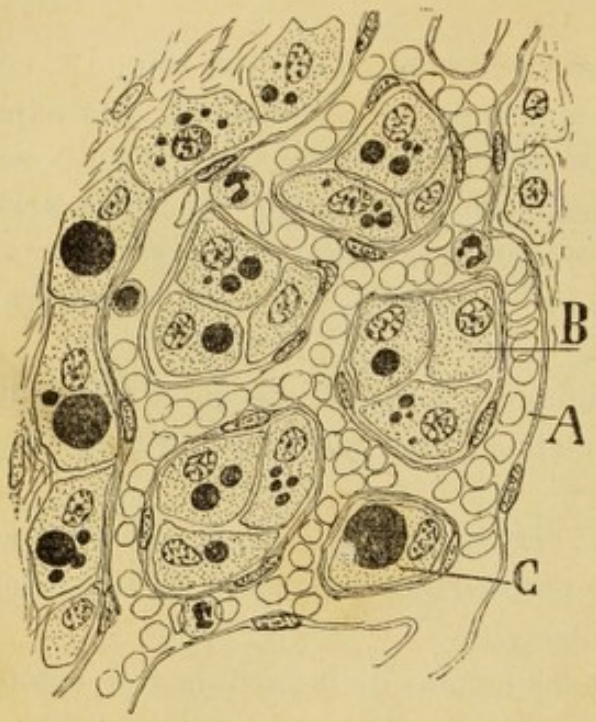


Fig. 92. — Tejido adiposo en vías de evolución de la piel del perro recién nacido. Coloración por el ácido ósmico y carmín: A, capilar; B, adipoblasto sin grasa; C, adipoblasto con una gota de grasa.

Histogenesis (fig. 92). —Los lobulillos adiposos carecen de grasa en los primeros tiempos de su formación, y resultan de la agrupación de dos factores: una red capilar sanguínea apelotonada y de estrellas-mallas; y un conglomerado de células gruesas, redondeadas ó ligeramente poliédricas por presión recíproca, ricas en protoplasma, exentas de expansiones y situadas ya á lo largo de los capilares, ya en el espesor de sus mallas (fig. 92).

Semejantes elementos no deben identificarse con los corpúsculos fijos ni emigrantes del tejido conectivo, sino que hay que estimarlos como células específicas, diferenciadas *ab initio* en el seno del mesodermo, y residentes solamente en aquellos parajes donde, andando el tiempo, se formarán los lobulillos adiposos. Para evitar perifrasis, llamarémoslas *adipoblastos*.

Después del nacimiento, los adipoblastos son asiento de una infiltración grasienta: primeramente, aparecen una ó varias gotas de pequeña dimensión, diseminadas por el cuerpo celular;

luego se reunen en una gota gruesa, la cual, creciendo progresivamente, dilata la célula, estira el protoplasma y obliga al núcleo á adoptar una posición excéntrica debajo de la membrana (fig. 92, C).

Durante este proceso, y sobre todo en la fase anterior de adipoblasto, los lobulillos adiposos rudimentarios están aumentados, tanto por la división mitósica de sus células como por la multiplicación de las redes capilares asociadas.

El desenvolvimiento de la médula ósea es mucho menos conocido. Supónese que todos sus elementos, exceptuando quizá las células rojas y eritroblastos, son diferenciaciones ocurridas, durante la época de la osificación cartilaginosa, en las células embrionarias de extirpe periostal que pueblan los grandes espacios medulares del hueso joven.

Ulteriormente, las mieloplaxias podrían multiplicarse por kariokinesis pluripolar (Doenys). Según van de Strich y Bambeke, tomarían origen, entre otros modos, por transformación de los leucoblastos.

Preparación del tejido grasiento. — *Adiposo común.* — Un trozo extendido de epiploón mayor del gato, perro ó conejo, recién nacidos ó de pocas semanas, se tratará, durante media hora, por una solución de ácido ósmico al 1 por 100; luego se lavará, para quitar el ácido excedente, y se someterá, por veinticuatro horas lo menos, á la acción del picrocarminato. Las preparaciones montadas en glicerina mostrarán las gotas de grasa negras, moreno-amarillento el protoplasma, y rojos los núcleos de las células adiposas. Antes de tratar la preparación por la glicerina, convendrá lubrificarla por algunos minutos con alcohol; de este modo las células no sufrirán retracciones, ni se alterará la grasa ennegrecida.

Se obtendrán igualmente buenas preparaciones por el procedimiento de las inyecciones intersticiales de ácido ósmico en el tejido subcutáneo del perro de pocos días. Podrán seguirse en estos preparados, convenientemente teñidos, todas las fases evolutivas de la célula grasienta.

La preparación de la médula ósea queda descrita al tratar de la hematogenesis. Añadiremos solamente que si se desea practicar cortes en la médula de un mamífero, es preciso escoger animales de pequeña talla, el ratón ó conejo de Indias, y someter los huesos frescos á la acción decalificante del líquido de Flemming ó del ácido pícrico saturado. La coloración se hará con safranina, hematoxilina ó con los métodos de triple teñido.

CAPÍTULO VII

TEJIDO CARTILAGINOSO

Definición. — *El tejido cartilaginoso* consiste en una trama sólida, translúcida, habitada por células envueltas en espesa membrana y separadas unas de otras por una substancia intersticial abundante, que da las reacciones de la condrina.

División. — Distínguese este tejido en tres modalidades: *variedad hialina*, *variedad reticular ó elástica*, y *variedad fibro-conjuntiva*.

VARIEDAD CARTILAGINOSA HIALINA

Distribución y caracteres físicos. — El cartílago hialino, así llamado por el aspecto homogéneo de su materia fundamental, constituye la costra ternillosa de las articulaciones diartrodiales, los cartílagos costales, los de la nariz, laringe, tráquea y bronquios. Seccionado en cortes finos es transparente; mirado en pedazos gruesos se muestra translúcido, opalino, con reflejos azulados.

Caracteres micrográficos. — Dos cosas componen el cartílago hialino: las células y la substancia fundamental.

Células (figs. 93 y 94).—Son relativamente voluminosas (de 14 á 24 μ), y afectan forma variable, esferoidal, ovoidea, y sobre todo semilunar. No viven aisladas, sino que se agrupan en familias (fig. 94, B) de dos, cuatro ó más individuos (grupos *isogénicos* de Renaut). El examen micrográfico de cortes finos teñidos por el carmín ó hematoxilina, nos presenta en cada célula cartilaginosa: el protoplasma, el núcleo y las inclusiones.

El *protoplasma* aparece granuloso, á veces reticulado; después de la muerte y bajo la influencia de los reactivos, se retrae dentro del condroplasma, mostrando un contorno desigual; ca-

rece de inclusiones en el cartílago joven, pero desde la edad adulta, aloja gotas grasientas que llegan á atrofiar el protoplasma y hacer irreconocible el núcleo.

El *núcleo* es único, esferoidal, rico en cromatina, y yace por lo común, en el centro de las células.

Varía algo la disposición de las células, según su proximidad á la superficie cartilaginosa. Así, en los cartílagos costales como en los de incrustación, las zonas superficiales contienen corpúsculos pequeños, aplanados y numerosos ; mientras que, en las partes profundas, estos elementos se muestran escasos, voluminosos, y más ó menos esferoidales (fig. 94, C).

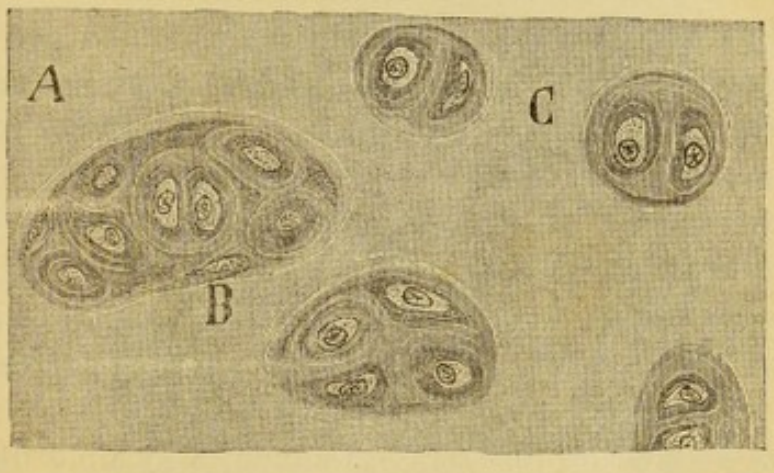


Fig. 93. — Células cartilaginosas de los cartílagos nasales del hombre. Coloración por la hematoxilina y tratamiento ulterior por el ácido acético : A, substancia fundamental ; B, familia de muchas células ; C, grupos nucleares de dos.

Substancia fundamental. — En condiciones apropiadas, deja percibir cuatro cosas : las cápsulas, las fibrillas condrígenas, los cordones permeables y las placas fibroides.

Cápsulas (fig. 93). — Si se examina cuidadosamente la materia fundamental próxima á las células, se nota un limbo ó atmósfera espesa, vagamente separada del resto de la substancia intercalar, pero rigurosamente limitada del protoplasma. Esta corteza de materia fundamental es la *cápsula*, y representa, no una membrana celular fundamental, sino el último producto de secreción de la célula cartilaginosa. En ciertas condiciones, puede notarse que la materia intersticial entera es reductible á cáp-

sulas empotradas las unas en las otras, de todas las cuales sólo la últimamente engendrada, es decir, la fronteriza á cada célula, se percibe con entera claridad. Esta última acredita una composición química algo diferente que el resto de la materia intersticial, puesto que si se tiñe el cartílago por la hematoxilina y se trata después con el ácido acético, todo se decolora menos las cápsulas recientes que retienen enérgicamente el color. Mörner, sin tener conocimiento de esta observación nuestra, ha indicado que la cápsula está construída de un producto especial que llama *globos de condrina*, fundándose en que, en la coloración con el violeta de metilo y la *tropeolina*, las cápsulas resultan azules y la materia intersticial amarillenta.

Fibrillas de condrina. — Cuando se examinan con fuertes aumentos cortes finos de cartílago, precisamente macerados en hipermanganato potásico, cloruro de sodio al 10 por 100, etc., toda la materia intersticial aparece formada de unas hebras finísimas, estrechamente entrecruzadas y unidas entre sí á favor de un cemento sólido y transparente.

La naturaleza de estas fibrillas es poco conocida ; en general, se supone que en ellas reside la condrina ó sus factores componentes.

Fibras permeables (fig. 94). — Cuando, á ejemplo de ciertos autores (Spina, Spronck, etc.), se observan en el alcohol finos cortes de cartílago joven, la materia fundamental se muestra cruzada en ciertos sitios por unos hacecillos relativamente espesos que llamaremos, por alusión á su probable oficio, *fibras permeables*. El curso de estas fibras varía algo en las diversas zonas del cartílago: así, si nos fijamos en la capa periférica de un cartílago costal, dichas fibras aparecen orientadas en sentido radial, arrancando del pericondrio y marchando hacia adentro para terminar en el espesor de las primeras cápsulas ; en las zonas centrales, la orientación es muy otra, pues las fibras permeables constituyen manojos que, irradiando de una cápsula, se terminan en las de los vecinos elementos (fig. 94, C).

La naturaleza y significación de las fibras permeables distan mucho de estar esclarecidas. Para Solger trataríase meramente de fruncimientos ó arrugas intersticiales producidos por el alco-

hol en la materia fundamental del cartílago ; pero la mayor parte de los autores se inclinan á estimar tales fibras como cordones porosos, formados de una substancia que goza de gran poder de imbibición, y á cuyo nivel pasan con la mayor facilidad los jugos nutritivos (1).

No son, pues, conductitos preexistentes llenos de plasma, como creían Bubnoff y Budge, por cuanto jamás se muestran en los cortes finos del cartílago bajo la forma de agujeros ; pero repre-

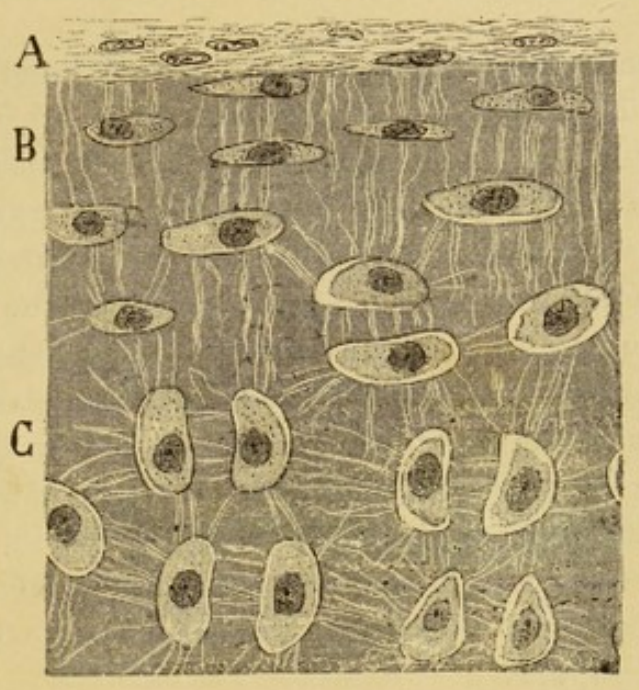


Fig. 94.—Cartílago costal del perro joven. Examen en alcohol : A, pericondrio ; B, células superficiales aplanadas ; C, células profundas. Las fibras blancas que cruzan el fondo son las permeables.

sentan substancialmente la misma disposición, pues á lo largo de dichas fibras se filtran los jugos absorbidos en el pericondrio, y gracias á ellas puede llegar el nutrimiento hasta las células cartilaginosas centrales, que son las más alejadas de la fuente vascular.

Placas fibrosas. — En los territorios más lejanos de las cápsulas, la materia fundamental del cartílago adulto, y particular-

(1) Véase nuestras observaciones insertas en el *Manual de Histología normal* y en *La Crónica Médica*, Valencia, 1887.

mente la del cartílago viejo, presenta unos islotes irregulares colorables en rojo intenso por el carmín.

En estos islotes la materia intersticial se ha transformado en un paquete de fibras gruesas, brillantes, á veces granulosas, frecuentemente entrecruzadas en ángulos agudos. Se ignora la naturaleza de estas formaciones, que no se ven jamás en el cartílago joven.

VARIEDADES CARTILAGINOSAS, RETICULAR Y ELÁSTICA

Cartílago reticular elástico. — De esta modalidad histológica está construída la epiglotis, el cartílago de la oreja, parte del aritenoides y los cartílagos de Santorini y de Vrisberg.

Las *células* son voluminosas (de 15 á 30 μ), de figura aplanada en las zonas superficiales del cartílago y esferoidales ú ovoideas en las profundas. Una espesa cápsula las separa de la materia intersticial, en la cual (y este es el rasgo típico de esta variedad cartilaginosa) se advierten multitud de fibras elásticas finas, dispuestas en red apretada (fig. 95, B). Estas fibrillas son más escasas cerca del pericondrio que en las regiones centrales del cartílago, y en su curso plexiforme se las ve respetar las cápsulas que aparecen formadas por una materia homogénea. Las gotas de grasa intracelulares son la regla en esta variedad cartilaginosa (fig. 95, *b*).

Cartílago fibro-conjuntivo. — Asienta en los discos intervertebrales, meniscos y rodetes articulares de la diartrosis, cartílagos tarsos y nódulos sesamoideos de los tendones.

Las *células* son pequeñas, esferoidales ú ovoideas, y exhiben una fina cápsula envolvente.

La *materia fundamental* consta de hacecillos conjuntivos resistentes y paralelos como los del tendón. Esta disposición obliga á las células á orientarse en series más ó menos regulares, situadas en los espacios interfasciculares.

Como es frecuente ver variada la dirección de los haces conjuntivos en cada plano de estos cartílagos, los corpúsculos se alínean á menudo en series perpendiculares unas á otras.

Propiedades fisiológicas.—Carece el cartílago de nervios y de

capilares sanguíneos, nutriéndose parásitamente de los jugos circulantes por los órganos vecinos. En las ternillas nasales, costales y del árbol aéreo, la materia cartilaginosa yace rodeada de una membrana fibrosa, el *pericondro*, provisto de una red vascular bastante tupida desde la cual, y por mediación de las fibras permeables, el plasma sanguíneo puede irrigar las profundidades del cartílago. A pesar de lo cual, la vitalidad de las células cartilaginosas centrales se ve comprometida, como lo

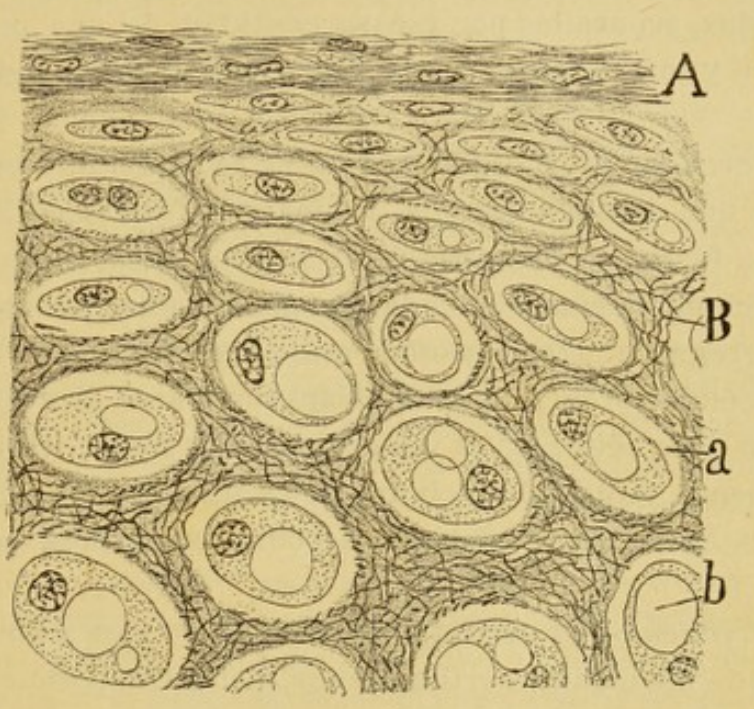


Fig. 95. — Cartílago reticular ó elástico de la oreja del conejo: A, pericondro; B, materia fundamental con las fibras elásticas; *a*, cápsula hialina; *b*, gota de grasa.

prueba lo frecuente que es hallarlas henchidas de gotas grasientas y hasta completamente destruídas por las degeneraciones adiposa y calcánea.

Propiedades químicas. — Es creencia general que la materia fundamental cartilaginosa consta de una materia colágena especial, la *condrina* de Müller, susceptible de convertirse por la cocción en jalea; pero los modernos estudios parecen probar que la condrina es una mezcla de otros principios: el *ácido condrótico*, la *albúmina*, la *cola* y cierta cantidad de sales alcalinas. El

cartílago contendría también la *albumoide*, la *condromucoide* y la *elastina* (Boedecker, Morner, Kössel).

Histogenesis.—El cartílago fetal se forma desde luego alrededor de la notocorda, en lo que, andando el tiempo, serán cuerpos vertebrales. Proviene del mesodermo, y sus rudimentos confúndense, en un principio, con los del tejido conectivo. Las modificaciones ocurridas en los órganos cartilaginosos, son las siguientes:

1.ª *Cartílago primordial.* —Consta de células poliédricas ó estrelladas, separadas por escasa cantidad de una materia homogénea y más ó menos sólida. Las cápsulas no son todavía aparentes.

2.ª *Cartílago fetal.*—Las células se redondean, y en su torno aparece una delgada cápsula. La materia fundamental se acrece por la fusión de las cápsulas de los elementos limítrofes, y á causa de que, después de cada división celular, los corpúsculos hijos segregan nuevas cápsulas, que se reunen á las elaboradas por las células progenitoras. La cápsula marca el trabajo realizado por cada célula en el intervalo de dos segmentaciones; por consiguiente, nada más fácil que deducir, por el examen de las cápsulas, el número de divisiones ocurridas en una familia celular.

El *crecimiento* del cartílago se verifica de tres maneras: por división de las células cartilaginosas, por yuxtaposición de cápsulas sucesivamente elaboradas y por transformación en cartilaginosas de las células más profundas del pericondrio. Este último origen parece ser el más importante, dado que el crecimiento experimentado por el cartílago desde la época embrionaria es enorme, y no podría explicarse por el corto número de divisiones que sufre una célula cartilaginosa primordial (estas divisiones no suelen pasar en conjunto de seis á ocho).

En los cartílagos costales, auriculares, etc., es muy fácil demostrar que una parte de la materia fundamental periférica no es otra cosa que una condensación de los haces conjuntivos del pericondrio. En efecto, dicha materia fundamental periférica atrae, á la manera de los haces conjuntivos, los colores ácidos, en tanto que las cápsulas, es decir, la obra secretoria

de las células, toma con avidez los tintes básicos de anilina (1).

Preparación del tejido cartilaginoso. — *Variedad hialina.* — *Células.* — Para demostrar todos los detalles relativos á las células, convendrá elegir como objeto de examen el cartílago pubiano ó el del femur de la rana. Los cortes, ejecutados en fresco, se examinarán en su propio plasma ó en una gota de licor salino indiferente. A fin de revelar los núcleos y discernir el retículo del protoplasma, se tratarán los cortes por una gota de solución de verde de metilo acetificado.

Podrán también estudiarse las células con provecho en los cartílagos costales de mamíferos jóvenes. Los métodos anteriores son también aplicables aquí.

Para obtener preparados definitivos de células, es preciso que el cartílago haya sido fijado de antemano y colorado después ; de otra suerte, los protoplasmas se retraen, y los núcleos se tiñen imperfectamente. La fijación podrá alcanzarse macerando las piezas cartilaginosas por varias horas en ácido pícrico á saturación, en alumbre en solución concentrada ó también en ácido ósmico por doce horas. El licor de Kleinenberg puede asimismo utilizarse. Después de permanecer varias horas en cualquiera de estos líquidos, se tratarán las piezas por el alcohol, y se teñirán, ya por el picro-carminato, ya por la hematoxilina, bien por las anilinas. La tionina conviene perfectamente para esta coloración, pues merced á su carácter metacromático, tiñe en rojo heliotropo la substancia fundamental y en azul los núcleos.

Todavía dará más bellos resultados nuestro método de triple coloración (pág. 98), pero á condición de no decolorar demasiado con el alcohol.

Cápsulas. — Se demuestran muy bien examinando cortes de cartílago costal humano en una solución salina al 10 por 100. Si los cortes, fijados antes por el alcohol, se tiñen con hematoxilina y se aclaran por el ácido acético, las cápsulas se presentarán de color violeta, tanto más intenso, cuanto más recientes.

Las cápsulas se coloran igualmente bien por el método de Gieson y el nuestro de la triple coloración. En general, todo color ácido (fuchina ácida, azul de índigo, etc.) tiñe bien el pericondrio y regiones cartilaginosas superficiales, en tanto que las cápsulas atraerán los colores basiófilos (fuchina básica, azul de metileno, hematoxilina, etc.).

El método de Mörner, que consiste en teñir los cortes primeramente con violeta de metilo y después con tropoelina, es también excelente. Las cápsulas conservan el violado y la materia intercapsular se muestra amarillenta.

(1) Véase *Terrazas :* Métodos de coloración de la substancia fundamental cartilaginosa. *Rev. trim. microgr.*, 1896.

Fibrillas condrígenas. — Para evidenciarlas, se macerará por unos días en solución salina al 10 por 100 un trozo de cartílago costal ó articular de mamífero. El examen de finos cortes en el mismo vehículo demuestra en la trama cartilaginosa la existencia de hebras sumamente finas. El método de las digestiones artificiales (solución de tripsina en un soluto de ácido salicílico, maceración de los cortes por algunos días en este líquido á la temperatura de 37°, examen de los mismos en agua salada), hará bastante perceptibles las fibrillas de Tillmanns. Las soluciones de hipermanganato de potasa y la cocción no muy prolongada del cartílago, son también útiles bajo este aspecto. En todo caso, se utilizarán cartílagos frescos procedentes de hombre adulto ó de grandes mamíferos. Los cartílagos embrionarios y los de individuos jóvenes muestran difícilmente las fibrillas condrígenas.

Fibras permeables ó conductos de Budge. — El procedimiento más expedito y demostrativo es el de Spina: induración del cartílago fresco en alcohol fuerte y ejecución de cortes finos que se examinarán también en alcobol. Para efectuar cortes perpendiculares en los cartílagos articulares, recomienda Spronck el alcohol con algunas gotas de ácido nítrico. Este licor decalcifica el hueso sin dañar en lo más mínimo las fibras permeables.

Para conservar las fibras permeables en preparaciones definitivas, nosotros nos servimos del fijador de Spronck, compuesto de solución acuosa de ácido crómico (al 2 por 100), 5 cent. cúb.; glicerina, 5; alcohol absoluto, 30. En este líquido permanecerán los cortes de cartílago de seis á doce horas; en él adquirirán color moreno verdoso, y en lo sucesivo podrán soportar, sin detrimento, el agua, glicerina, etc.

Placas fibroides. — Con el fin de ponerlas de manifiesto, se tratará un cartílago costal de hombre adulto por el picrocarminato, y luego por el ácido acético. Las placas fibroides aparecerán coloreadas en rosa, que contrastará con el color blanco del resto de materia fundamental. Si antes de la acción del ácido acético se tiñe la preparación con hematoxilina, la coloración será doble: las cápsulas se mostrarán violadas, rojos los núcleos y placas fibrosas, é incolora la materia fundamental.

CAPITULO VIII

TEJIDO ÓSEO

Definición. — El tejido óseo consiste en una trama compuesta de una materia fundamental laminar, incrustada de sales calcáreas, en cuyo seno se hallan huecos de forma estrellada ocupados por las células.

Caracteres físicos y distribución general. — Reside este tejido en todos los huesos de los vertebrados, excepción hecha de los peces óseos, cuyo esqueleto presenta una estructura semejante al marfil. Macroscópicamente, un corte de hueso manifiesta una trama blanca, dura, incrustada de sales, y numerosas cavidades ocupadas por la médula y los vasos. Cuando estas cavidades son pequeñas, casi invisibles á la simple vista, el hueso se llama *compacto* ; si son más amplias que los tabiques óseos y poseen forma aereolar, el hueso se llama *esponjoso*; y por último, denomínase *reticular* cuando la urdimbre sólida es filamentosa y se dispone en red de tres dimensiones. Estas diferencias macroscópicas no implican diversidad de constitución histológica, porque cada trabécula ósea, cualquiera que sea el hueso de que provenga, presenta exactamente la misma estructura.

Caracteres micrográficos. — El hueso fresco examinado al microscopio, previa decalcificación, nos revela las siguientes partes : materia fundamental, conductos de Havers, lagunas óseas, conductos calcóforos, fibras de Sharpey y células óseas.

Conductos de Havers. — Así llamados en honor de su descubridor Clopton Havers, son unos conductos cilíndricos, de diámetro variable (oscila entre dos centésimas y tres décimas de milímetro), que constituyen en el espesor de la materia fundamental una red de extensas y cuadrangulares mallas. Comunican hacia afuera con la superficie del hueso, desembocando en

los finos conductos nutricios, y desaguan por dentro en el conducto medular ó en las diversas areolas del tejido esponjoso. En la diáfisis de los huesos largos, las redes forman mallas longitudinales y paralelas al eje; en los huesos anchos la reticulación es radiada y parecida á la tela de una araña; en los huesos cortos no existe orientación dominante.

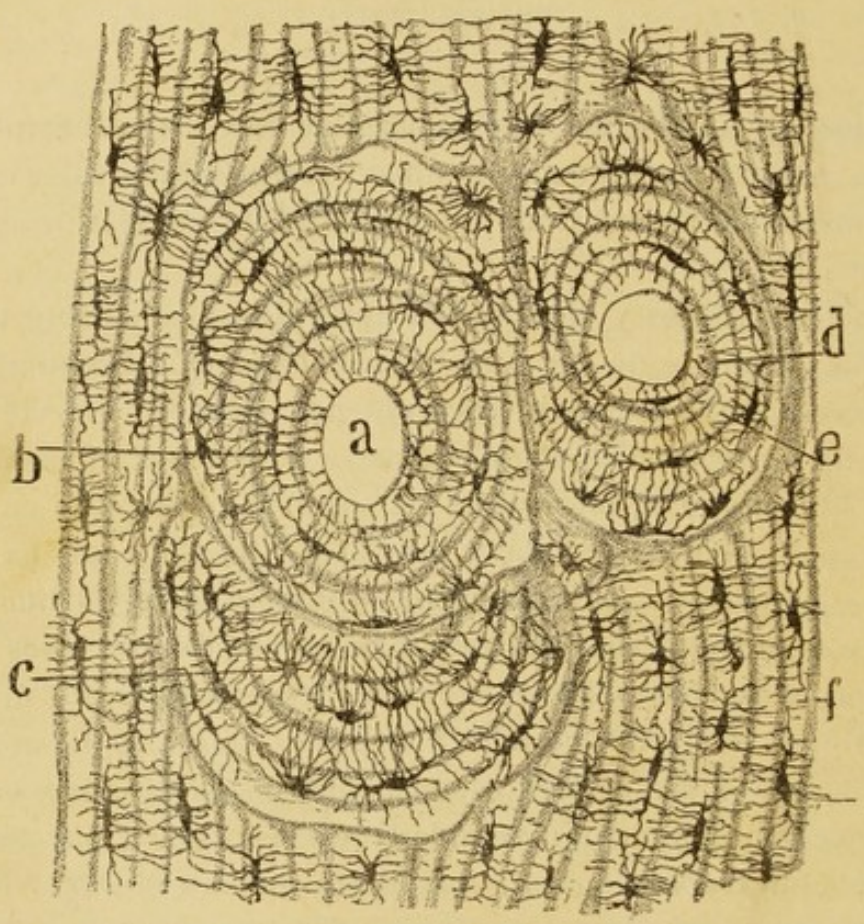


Fig. 96. — Corte transversal de un hueso largo. Las cavidades aparecen negras por estar llenas de aire. — *a*, conducto de Havers cortado de través; *b*, lagunas óseas; *c*, lagunas óseas de un sistema de Havers en parte reabsorbido; *d*, zona obscura de una laminilla; *e*, zona clara; *f*, laminillas fundamentales externas.

Contienen los conductos de Havers de regular calibre una pequeña arteria, una vénula y algunos osteoblastos periféricos, restos todavía de la época osteogénica. Los conductos más finos, encierran exclusivamente un capilar. Ciertos autores mencionan aún cierto espacio linfático que rodearía el capilar, separándole de la superficie ósea.

Materia fundamental. — La substancia que sirve de fondo á las cavidades del hueso no es homogénea, sino estratificada; y los estratos ó laminillas representan hojas cilíndricas íntimamente adheridas entre sí y dispuestas en torno del hueso ó de los conductos de Havers, como las capas concéntricas del tronco de un árbol. Distínguense por su situación, cuatro clases de laminillas: *láminas fundamentales externas* (fig. 96, *f*), las cuales rodean, en número de 10 á 20, la superficie total del hueso; *láminas fundamentales internas*, que en número generalmente menor, constituyen un revestimiento en el conducto central ó en las areolas del hueso; *laminillas ó sistemas de Havers* (fig. 96, *b*, que contornean los conductos de este nombre; y finalmente, *láminas intermediarias*, que son aquellas capas, por lo común interrumpidas, concéntricas á las láminas fundamentales, que rellenan los intersticios existentes entre los sistemas ó laminillas de Havers.

Cuando se examinan las laminillas en cortes óseos finos y conservados en bálsamo del Canadá, nótase que cada una de ellas consta en realidad de dos zonas: una *granulosa* y *obscura*; otra *brillante y finamente estriada* á lo largo (fig. 96). Si la laminilla observada pertenece á un sistema de Havers cortado de través, la zona clara mira hacia adentro y la granulosa hacia afuera; lo contrario sucede si el corte es paralelo ó longitudinal á dicho conducto. Estas propiedades, junto con el aspecto que las laminillas ofrecen en los cortes de hueso, decalcificados y macerados en cloruro de sodio al 10 por 100, han conducido á Ebner y Kölliker á una noción sobre la estructura de las laminillas que ha sido aceptada por casi todos los autores (fig. 97).

Cada lámina está formada de una doble zona de hacecillos conectivos finísimos de 1 á 3 μ de espesor. Semejantes hacecillos cuya fibrilación aparece un poco incierta á consecuencia de los cambios inducidos por la calcificación, afectan en cada zona de las laminillas, dirección diferente, á menudo contrapuesta. La zona llamada granulosa (fig. 97, A), aparece tal por presentar los hacecillos cortados de través; y la zona brillante y estriada debe su aspecto á que dichos fascículos se muestran cortados á lo largo (fig. 97, B). Finalmente, los hacecilios que por su ado-

samiento constituyen cada zona, no marchan precisamente paralelos ; á menudo se cruzan en ángulos agudos dejando unos agujeros para el paso de los conductos calcóforos (fig. 97, *c*) ; mas en todo caso, los haces de una zona afectan una orientación dominante casi perpendicular á la seguida por los de las zonas inmediatas.

Lagunas y conductos calcóforos (fig. 96). — En el espesor de las laminillas y siguiendo su misma dirección, hállanse esculpidas unas cavidades estrelladas donde se alojan las células óseas. Estas cavidades, llamadas *lagunas óseas* ú *osteoplasmas*, son

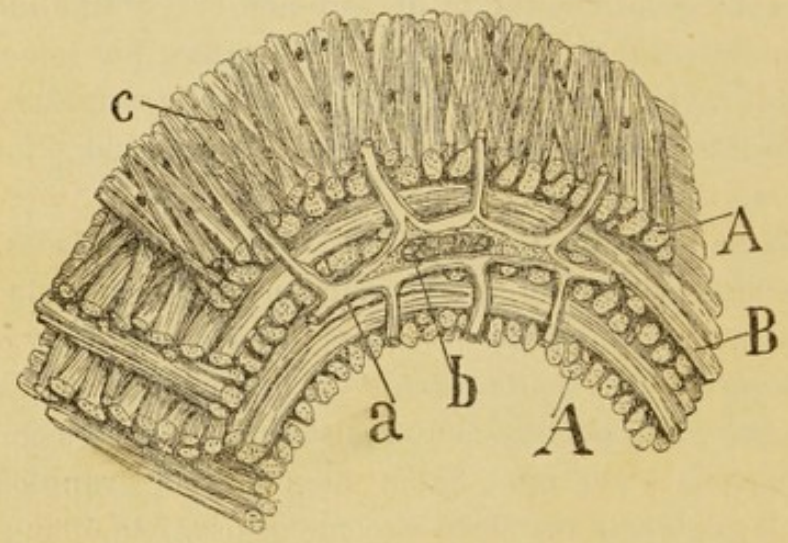


Fig. 97. — Representación esquemática de la estructura de las laminillas de la materia fundamental ósea de un sistema de Havers. — A, haces de las zonas granulosas ; B, haces de las zonas hialinas ó estriadas ; *a*, pared del osteoplasma ; *b*, célula ósea.

aplanadas en el sentido de las laminillas y alargadas en la dirección de los conductos de Havers ó del eje del hueso. Su longitud es de 14 μ, poco más ó menos, y su espesor de 4 μ.

De la periferia de las lagunas óseas brotan numerosos conductitos, los *conductos calcóforos*, de 1 á 2 μ de diámetro, ramificados en su camino y anastomosados con los de las lagunas concéntricas ó exteriores inmediatas (fig. 96). Por su dirección pueden distinguirse los conductos calcóforos en *convergentes* (los que marchan radialmente hacia adentro), los *divergentes* (los que van en sentido contrario á los anteriores) y los *circunferenciales*

(los orientados según el arco de las laminillas para enlazarse con los osteoplasmas del mismo estrato). Los conductitos procedentes de la laminilla más periférica de un sistema de Havers suelen retornar á su punto de nacimiento, anastomosándose con los compañeros (*conductos recurrentes*), y los conductitos convergentes de la primera ó más concéntrica hilera de osteoplasmas desembocan en el conducto de Havers. Finalmente, las lagunas de los estratos limitantes del hueso comunican con la superficie libre.

Tanto las lagunas como los conductos calcóforos se muestran de color negro (á causa del aire que contienen) en las preparaciones de hueso macerado y seco. Sí, á favor del bálsamo líquido ó de una esencia, se expulsa el aire, el corte se aclara y dichas cavidades se dibujan pálidamente, desapareciendo del todo sus contornos. Los cortes de hueso fresco revelan también vagamente los osteoplasmas y conductos calcóforos, advirtiéndose en éstos que contienen, no aire, sino un líquido plasmático transparente.

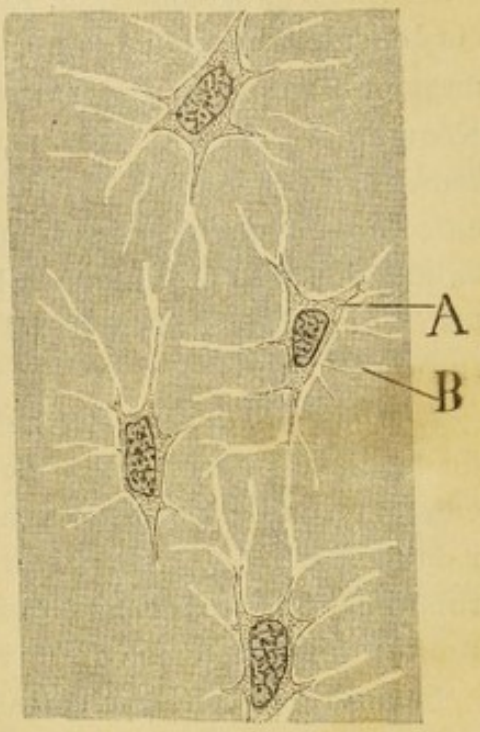


Fig. 98. — Pedazo de una concha de las fosas nasales de un conejillo de Indias de pocos días. — Vista de plano de las células que están coloreadas por el carmín ; A, protoplasma; B, conducto calcóforo. En el arranque de los tubitos penetran apéndices protoplásmicos.

Células óseas (fig. 98).—En los cortes de hueso fresco ó decalcificados por los ácidos, aparecen dentro de las lagunas unos corpúsculos pequeños, fusiformes, llamados, en honor de su descubridor, *células de Virchow*. El núcleo es alargado y más ó menos homogéneo, y el protoplasma, por lo común poco abundante, se acumula en los polos nucleares.

Varía mucho la disposición de estos corpúsculos según la edad

del hueso. En los huesos embrionarios, ó procedentes de mamíferos jóvenes, el protoplasma es relativamente abundante, y se estira en expansiones finas insinuadas en los conductos calcóforos (fig. 98). Semejante disposición se muestra también en los huesos adultos de los urodelos (*pleurodeles Waltii*). En los mamíferos adultos las células aparecen atrofiadas, y de sus expansiones no quedan más que los apéndices polares, libremente terminados en el osteoplasma. En torno de la célula existe un espacio considerable ocupado por el plasma. Membrana celular fundamental no puede discernirse; en cambio, las observaciones de Neuman, Virchow y otros, prueban que existe una cápsula de secreción, prolongada con la capa limitante de los conductitos calcóforos, y que no es más que la zona de materia fundamental calcificada más próxima á la laguna, zona que, bajo la acción de los ácidos, podría aislarse del resto de la substancia intersticial (figura 97, *a*).

Fibras de Sharpey.—Cuando se examina un corte transversal de la diáfisis de un hueso decalcificado, se ven emerger de la cara interna del periostio unas fibras largas, flexuosas, á veces ramificadas, que atraviesan perpendicularmente las láminas fundamentales externas é intermediarias, sin rebasar jamás los límites de los sistemas de Havers.

Estas fibras son fascículos conjuntivos no calcificados, continuados con los del periostio, y los cuales, desde la época osteogénica, quedaron enterrados en el seno de la formación ósea periostal. Faltan constantemente en el hueso endocondral. En ocasiones, como Kölliker ha demostrado, contienen también fibras elásticas.

Caracteres químicos del hueso.—El tejido óseo está construído de dos materiales principales : *osteína*, substancia susceptible de convertirse en gelatina por la cocción, y las *sales*, entre las que dominan el *fosfato y carbonato de cal.* La unión de estas dos especies de materia es muy íntima, y sus proporciones relativas pueden considerarse como constantes é independientes del sexo y edad de los animales. Según Ebner, las sales hallaríanse localizadas en la materia interfibrilar de las laminillas, estando los hacecillos formados exclusivamente de osteína; empero, las ob-

servaciones de Kölliker y las nuestras enseñan que la repartición de ambas substancias es uniforme, comprendiendo hacecillos y materia fundamental (1).

He aquí las proporciones en que, según Berzelius, entran los componentes del hueso :

Substancias orgánicas.	Osteína.	32,17
	Materia irreductible por la cocción . .	1,13
Substancias minerales.	Fosfato de cal.	51,04
	Carbonato de cal	11,30
	Fluato de cal.	2,00
	Fosfato de magnesia.	1,16
	Sosa y clorhidrato de sosa	1,20

Propiedades fisiológicas. — El tejido óseo posee usos, pero no propiedades fisiológicas. Sus células, llegadas á la época adulta, pueden considerarse en vías de atrofia y son incapaces de proliferación. Lo que en dicho tejido vive es la médula y el periostio, á cuyas expensas se regenera el hueso después de una lesión ó fractura. Cuando el hueso es joven, los conductos calcóforos llevan á las células los jugos absorbidos, ora en la superficie perióstica y medular, ora en los capilares de los conductos de Havers; mas en el hueso viejo, esta irrigación nutritiva se dificulta á causa de la obstrucción creciente de muchos conductos calcóforos (sobre todo los que desaguan en los conductos de Havers) y del angostamiento de no pocos osteoplasmas.

Osteogenesis. — El tejido óseo es una formación secundaria y tardía, acaecida en el seno de otros tejidos, el cartilaginoso y fibroso. Cualquiera que sea su asiento, el proceso osteogénico presenta los mismos rasgos esenciales, reduciéndose en el fondo á un cambio en las propiedades fisiológicas de las células conjuntivas, las cuales adquieren la virtud de segregar una materia fundamental calcárea. Las dos formas que suelen distinguirse, á saber : la *osificación endocondral*, y la *periostal* ó á expensas de tejido fibroso, no resultan distintas por el fondo, sino por la forma : en la osificación endocondral la secreción del hueso va precedida de la absorción del cartílago; mientras que en la osteogenesis á expensas del tejido fibroso, no existe trabajo pre-

(1) Véase nuestro *Manual de Histología y técnica*, pág. 475.

vio demoledor, depositándose la materia fundamental en la trama conectiva preexistente.

Osificación endocondral. — El proceso osteogénico no se desenvuelve simultáneamente en todo el espesor de cada cartílago del esqueleto embrionario ; se inicia en ciertos parajes, constantes en número y posición para cada hueso, que se llaman *puntos de osificación.*

Cuando se examina al microscopio un fino corte de un punto ó zona de osificación del cartílago endocondral, atrae nuestra atención una serie de cambios estructurales que enlazan, por suaves gradaciones, el cartílago normal con el hueso neoformado. Estos cambios, reveladores del mecanismo osteogénico, pueden distinguirse por zonas que son, á partir del territorio cartilaginoso indiferente, las siguientes :

Zona proliferante. — Iníciase el proceso osteogénico por el aumento de volumen de las células cartilaginosas, así como por la celeridad de sus divisiones. Abundan en esta zona las células con dos núcleos y las cápsulas que encierran dos ó cuatro células recién engendradas (fig. 99, A).

Zona de células seriadas.—Las familias celulares, fruto de la proliferación, se disponen en series ó hileras paralelas y perpendiculares al plano de osificación. Las células de cada grupo se aplanan y aproximan por sus caras, ganando en talla conforme se acercan á la zona siguiente (fig. 99, B).

Zona de atrofia ó de los grandes condroplasmas. — La seriación celular se mantiene, mas no la disposición de las células, que sufre grandes metamorfosis. Merced á un movimiento de absorción de la materia fundamental, amplíanse los condroplasmas, en cuyo interior se ven los elementos cartilaginosos, marchitos, retraídos, sin señales de proliferación y provistos de un núcleo arrugado, incapaz de teñirse por los reactivos de la cromatina. La materia fundamental comprendida entre las series se estrecha, mostrándose más ó menos calcificada (fig. 99, C).

Zona de las lagunas medulares. — Durante la fase anterior, numerosos capilares brotan de la red del pericondrio, los cuales, escoltados por rico cortejo de corpúsculos conectivos embrionarios, invaden la zona de los grandes condroplasmas, absor-

biendo los tabiques intercavitarios y destruyendo las células cartilaginosas degeneradas (fig. 99, D). Resultado de esta labor demoledora es la construcción de vastos espacios longitudinales más ó menos paralelos, y cuyos contornos festoneados representan todavía los restos de los grandes condroplasmas.

En cada laguna medular adviértese un asa capilar y un conglomerado de diminutos corpúsculos poliédricos, fusiformes ó triangulares, que llenan todo el hueco esculpido en la materia fundamental cartilaginosa. De entre estos corpúsculos (que no son otra cosa, como antes indicamos, que células conjuntivas llegadas del pericondrio) los tangentes á las paredes de la laguna forman un revestimiento más ó menos continuo, adquieren figura estrellada, y se aplican íntimamente á las tiras cartilaginosas limitantes (fig. 99, D). La virtud que tales corpúsculos poseen de segregar la substancia intercelular del hueso, les ha valido el nombre de *osteoblastos*.

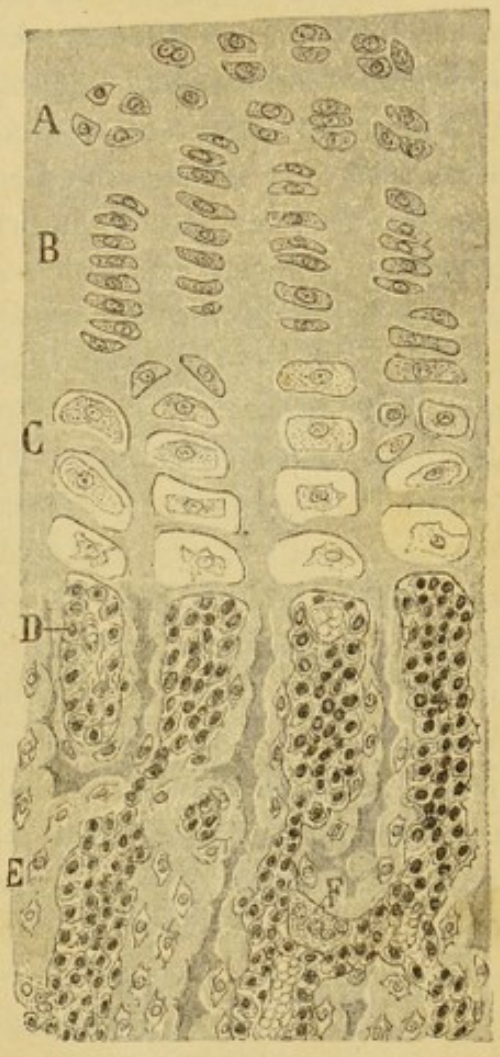


Fig. 99. — Osificación endocondral. — Corte de un metacarpiano de perro recién nacido. Decalcificación en ácido pícrico. — A, zona de proliferación de las células cartilaginosas ; B, zona de las células seriadas ; C, zona de los grandes condroplasmas ; D, zona de los espacios medulares ; E. tiras óseas recién formadas ; F, osteoclasto al nivel de una tira ósea interrumpida.

El trabajo constructor de los osteoblastos comprende dos períodos de desigual actividad. Durante el primero, la cara exterior de estas células segrega un material hialino que no tarda

en atraer las sales calcáreas de los plasmas inter-orgánicos; durante la segunda, la secreción celular amaina y el corpúsculo queda empotrado en la materia fundamental, merced á la actividad secretora despertada en una nueva serie de osteoblastos que han surgido por diferenciación del seno de los corpúsculos embrionarios del espacio medular. Envuelta esta nueva hilera por el material orgánico-calcáreo, aparece otra serie de osteoblastos activos, y así sucesivamente, hasta que el espacio cavernoso agota casi sus células embrionarias. Como cada célula englobada posee forma estelar y sus apéndices se anastomosan en red, la substancia fundamental reserva también unos finos conductos para alojar estas expansiones. Tal es el origen de los conductos calcóforos.

Zona del hueso embrionario.—En los parajes donde la osificación está más avanzada, la trama ósea no presenta exactamente la estructura adulta : falta la estratificación de la materia fundamental, y los conductos de Havers, todavía anchos y anfractuosos, se comunican ampliamente entre sí y contienen una gran cantidad de médula embrionaria. Entre las formaciones óseas que rodean cada conducto vascular, subsisten todavía las *tiras cartilaginosas directrices*, es decir, aquellos trayectos de materia fundamental cartilaginosa que separaban en la fase antecedente los grandes espacios lacunarios.

Osteogenesis periostal.—Mientras en el seno del cartílago ocurren los fenómenos que acabamos de exponer, la superficie del mismo es asiento de otra formación debida á la actividad osteogénica del periostio. Posee esta membrana dos zonas: *superficial ó fibrosa*, pobre en células y capilares, pero rica en hacecillos conjuntivos; *profunda ú osteogénica*, escasa en haces, pero copiosa en corpúsculos embrionarios y capilares. Las células más hondas adquieren forma poliédrica y se adhieren al cartílago, dando origen á una capa casi continua de *osteoblastos periósticos* (fig. 100, B). Estos osteoblastos emiten hacia el cartílago finas expansiones, y no tardan en segregar una materia fundamental afine de las sales y en la que, como ocurre en la formación endocondral, quedarán sucesivamente emparedados. Edifícanse de este modo diversos estratos de materia ósea, en cuyo seno

se observan espacios cavernosos comunicantes con el periostio, y en donde se alojan capilares y una capa de osteoblastos activos (fig. 100, C). El hueso periostal júntase al endocondral, conservando sus caracteres embrionarios durante algún tiempo, hasta que se inicia el proceso de absorción.

Por igual mecanismo se produce la osificación en el seno de membranas fibrosas, tales como las que originariamente constituyen los huesos de la bóveda craneal. Estas membranas, que

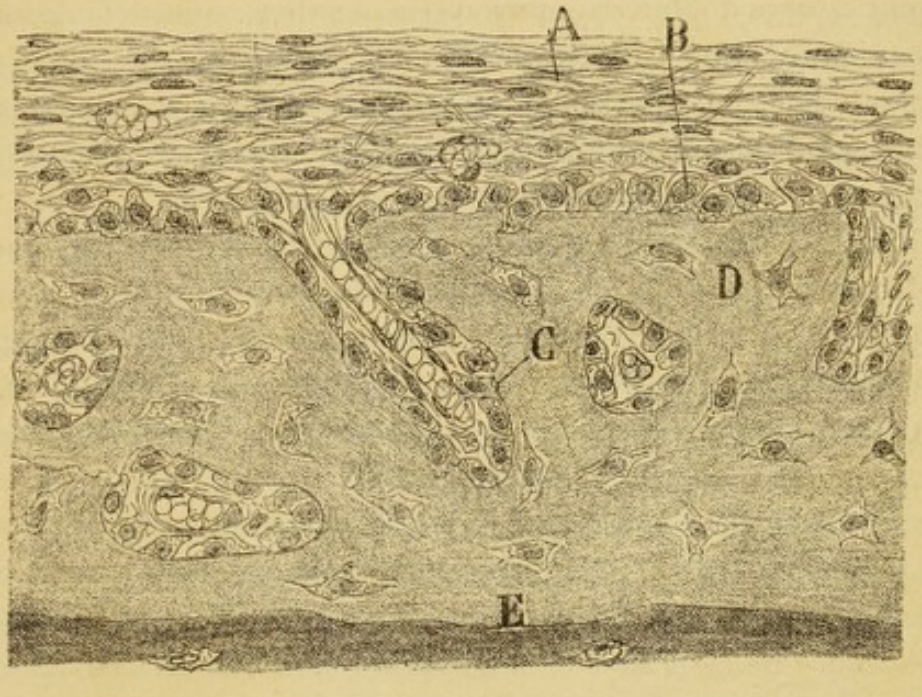


Fig. 100. — Periostio y hueso periostal en vías de formación de un metacarpiano de feto humano. — A, zona fibrosa del periostio ; B. capa germinal ó de osteoblastos ; D, osteoblastos englobados en la materia fundamental.

son verdaderos periostios independientes, se vascularizan en el paraje donde se iniciará la osificación; la cara interna de la capa fibrosa se puebla de osteoblastos, que no tardan en producir el material calcáreo en donde quedarán englobados. Como el depósito ocurre en un tejido fibroso, los haces conectivos serán envueltos con las células en la misma substancia intersticial, lo que explica la abundancia de fibras de Sharpey en la trama de los huesos anchos.

Absorción y construcción definitiva del hueso. — El hueso em-

brionario es una formación transitoria destinada á desaparecer por absorción, para ceder su lugar á una construcción más regular de la trama ósea.

Fijémonos en lo que ocurre en los huesos largos, donde el proceso osteogénico se ha estudiado mejor. Estos órganos poseen dos formaciones óseas : una central, nacida en el cartílago de la diáfisis y extendida hasta las extremidades ; y otra periférica desarrollada debajo del periostio, y prolongada solamente hasta el contorno del cartílago articular. Ambas construcciones ofrecen los caracteres del hueso embrionario, á saber : ausencia de estratificación, células óseas grandes y estrelladas, conductos de Havers anchos, cavernosos y rellenos de médula y osteoblastos. Falta el conducto medular. En las extremidades del hueso subsiste todavía una gran parte del cartílago fetal.

En tal situación, la absorción comienza. Por diferenciación de los osteoblastos de los espacios medulares de la formación endocondral, se engendran unas células grandes, granulosas, multinucleadas, llamadas *osteoclastos* ó corpúsculos de Kölliker, las cuales se apoyan sobre las trabéculas óseas, desgastándolas y corroyéndolas en virtud de una acción digestiva que puede compararse á la realizada por el zoospermo al disolver la membrana del óvulo. Las fosetas labradas por dichas células en la materia ósea, se llaman lagunas de Howship (fig. 91, E).

Fórmase de esta suerte el conducto medular de la diáfisis, el cual va ensanchándose progresivamente, merced al trabajo demolédor de los osteoclastos, hasta destruir toda la formación endocondral y una buena parte de la periostal. Semejante destrucción queda compensada por el depósito de nuevas capas en la zona osteogénica del periostio, así como en torno de las expansiones que esta membrana dirige al espesor del hueso recién formado. Sólo en las epífisis subsistirá la primitiva edificación endocondral, que se transformará, con el tiempo, en la substancia esponjosa del hueso adulto.

No paran aquí las transformaciones óseas. Aun después del nacimiento, prosigue la absorción, sufriendo nuevos retoques la construcción periostal, para dar origen al hueso definitivo. Por este tiempo ocurre la estratificación de la materia funda-

mental, el angostamiento de los conductos de Havers, cuyos osteoblastos desaparecen en gran parte, y la edificación de las láminas fundamentales internas, debida al trabajo de la capa de osteoblastos que envuelve la médula ósea. Testimonio de estos demolimientos y reconstrucciones, son esos sistemas de Havers á medio absorber que nos presentan los cortes de hueso adulto. La línea más ó menos desigual á cuyo nivel las laminillas óseas aparecen interrumpidas por el trabajo demoledor, llámanse *línea de absorción*, y *línea de aposición* el contorno del sistema de Havers más moderno que reemplaza al parcialmente destruído.

En suma ; el modelamiento definitivo del hueso es debido á la colaboración armónica de dos clases de células : los *osteoblastos* que segregan el material organico-calcáreo, y los *osteoclastos* que lo destruyen ó retocan hasta reducirlo á la forma definitiva. Una vez acabada la evolución, el osteoblasto, empotrado en la materia fundamental, pierde la cualidad secretora, así como la virtud proliferante, y no tarda en caer en la atrofia y aniquilamiento. La vitalidad del hueso quedará en adelante encomendada á las células periósticas y medulares, las cuales podrán, en caso de fractura ó de destrucción de aquél, reparar el tejido, ajustándose al mecanismo de la osteogenesis periostal embrionaria. La célula ósea adulta debe estimarse como un elemento degenerado, incapaz de proliferación.

Preparación del hueso. — *Osteoplasmas y conductos calcóforos.*—Uno de los métodos mejores y más expeditos, consiste en incluir en el bálsamo del Canadá seco, es decir, privado de su esencia, cortes convenientemente afilados y pulidos de huesos macerados. Para los detalles del manejo del bálsamo y de la obtención de los cortes de huesos, véase la *Técnica* en la página 99. Este procedimiento muestra perfectamente los conductitos y lagunas, que aparecen negras por estar llenas de aire, pero no presentan con igual claridad las laminillas de Havers. Para poner de manifiesto ambas cosas, debe escogerse el procedimiento de teñido con las anilinas (pág. 100).

Demostración de la textura laminar. — Puede conseguirse fácilmente por el siguiente método, debido á Ebner : Comiénzase por diluir en su volumen de agua destilada una solución saturada de sal común, en cuyo líquido se abandonarán los trozos de hueso destinados á la decalcificación. Para disolver las sales calcáreas, se añadirán al líquido, sucesiva-

mente y por varios días, gotas de ácido clorhídrico, hasta que los huesos se tornen flexibles, constituyéndose lo que se ha llamado el *cartílago óseo*. Entonces se lavan prolijamente en agua corriente y se sumergen en una solución salina igual á la anterior, pero sin ácido, hasta que la pieza haya perdido su acidez, resultado que se obtendrá más seguramente alcalinizando ligeramente con amoníaco el licor salino. Los cortes, que deben ser muy delgados y tangenciales al hueso, se examinarán en agua destilada ó en la misma solución salina. La disociación de las fibrillas se logrará dislacerando los cortes con las agujas ó rascando las secciones longitudinales óseas con el filo de un escalpelo.

Este procedimiento puede simplificarse del modo siguiente, sin que los resultados nos parezcan inferiores : Un corte conveniente desgastado de hueso seco, se deposita en un vidrio de reloj que contenga agua con algunas gotas de ácido clorhídrico. A los pocos minutos el corte, ya decalcificado, se lava muchas veces con agua destilada, y se deja macerar por algunas horas en la solución salina al 10 por 100. La observación del preparado, así como la conservación del mismo, se efectuarán en este mismo licor.

Fibras de Sharpey.—Uno de los mejores métodos que pueden utilizarse para evidenciarlas, es el que acabamos de describir. Es preciso que los cortes sean perpendiculares á la diáfisis de un hueso largo, y que muestren de preferencia las láminas fundamentales externas. Serán útiles también los cortes perpendiculares á los huesos del cráneo, que, por ser de origen exclusivamente fibroso, contienen muchas fibras perforantes.

Para obtener las fibras de Sharpey aisladas ó semiseparadas de las láminas que atraviesan, no hay más que desgarrar con las agujas un corte decalcificado. No es raro encontrar láminas desprendidas que llevan clavadas todavía algunas fibras perforantes. La continuidad de estas fibras con el periostio, se demostrará fácilmente examinando huesos frescos decalcificados, preferentemente los del cráneo en vías de desarrollo (cabeza del perro ó gato de pocos días).

Kölliker propone el siguiente medio de coloración de las fibras de Sharpey : Cortes de cartílago óseo, obtenidos por cualquier procedimiento de decalcificación, son tratados durante algunos minutos por el ácido acético concentrado ; colócanse luego por medio minuto en una solución de carmín de índigo en ácido oxálico, y, por último, se lavan en agua destilada y conservan en glicerina. Las fibras de Sharpey aparecen de rosa pálido, y de azul claro la materia fundamental ósea.

Hay otro medio de demostración de las fibras de Sharpey, que proporciona preparaciones muy demostrativas. Es sabido que estas fibras no están calcificadas, ó si lo están lo son imperfectamente. Por consiguiente, si se destruyen las partes orgánicas del hueso, bien por la ebullición prolongada, bien por la calcinación, todo resto de fibras habrá desaparecido, y el lugar que ellas ocuparon aparecerá lleno de aire y con vigoroso con-

traste. La calcinación (á la que nosotros debemos excelentes preparaciones), se practica depositando una lámina bien seca y afilada de hueso sobre una cápsula de platino calentada al rojo por la llama de gas ó de alcohol. El corte óseo se volverá negro en seguida, pero á los pocos minutos emblanquecerá; entonces es cuando debe trasladarse con cuidado (es sumamente frágil), á un porta-objetos, donde se montará en preparación persistente con ayuda del bálsamo seco, recién derretido por el calor. Las fibras de Sharpey se mostrarán negras, así como las lagunas y conductitos, sobre fondo incoloro.

Células óseas.— Las células óseas pueden examinarse en estado fresco, para lo cual se tomarán delgados pedazos de concha nasal de rata ó de conejillo de Indias, que se examinarán en el licor salino indiferente, previo desprendimiento de la mucosa y periostio por que están revestidos. Asimismo cabrá utilizar pequeños cortes practicados paralelamente á los huesos frescos con una navaja de filo duro. El estudio del núcleo se facilitará mucho, sometiendo estos cortes á la acción de una solución acetificada de verde de metilo. El carmín y la hematoxilina no obran bien sino después de fijadas las células por el alcohol.

Las células óseas podrán estudiarse también en los cortes de hueso fresco decalcificado por el ácido pícrico, crómico, etc. La coloración se efectuará en la hematoxilina, la tionina, la zafranina, con sujeción á las reglas formuladas en las págs. 96 y 97.

Desarrollo del hueso. — El examen debe recaer sobre huesos decalcificados y convenientemente indurados. He aquí el procedimiento de decalcificación más recomendable:

En una solución saturada de ácido pícrico se dejarán macerar por algunos días trozos de huesos en vías de desarrollo. Se preferirán con este fin los metacarpianos y los metatarsianos de feto humano de cinco meses en adelante, los huesos del cráneo, de la mano y pie del conejo, perro, gato, etc., recién nacidos ó de pocas semanas. Se tendrá cuidado de observar el líquido diariamente y de mantenerlo á saturación agregándole un sobrante de cristales de ácido pícrico. Cuando la decalcificación sea completa, se descartará el exceso de ácido pícrico, mediante la maceración de las piezas en el agua (por veinticuatro horas), se fijarán éstas en alcohol absoluto, que se mudará durante dos ó tres días hasta completa deshidratación; luego se tratarán por cuarenta y ocho horas en una mezcla de éter y alcohol, y por último, se impregnarán por varios días en celoidina siruposa. La pieza se pegará con la misma celoidina á la superficie de un corcho, y se someterá todo junto á la inducación en el alcohol flojo. Los cortes microtómicos, que deben ser longitudinales en los huesos largos, se recogerán en el agua, se teñirán por las anilinas (procedimiento de Gieson, coloración triple de Cajal, teñido con zafranina, tionina, etc.), se decolorarán en el alcohol absoluto y se lubrificarán en esencia de bergamota, para montarlos en el bálsamo disuelto, en cloroformo ó xilol.

CAPITULO IX

TEJIDO DENTARIO

Definición. — El tejido dentario es una trama dura, compuesta de un material organico-calcáreo transparente, cruzado por multitud de conductitos, que encierran plasma y los apéndices de ciertos corpúsculos alargados de la pulpa.

Esta definición se refiere al marfil, que representa el tejido principal del diente. El esmalte no es un verdadero tejido, porque no contiene células ; representa en realidad un producto secretorio del epitelio del órgano adamantino de la época embrionaria. Tocante al cemento, debe considerarse como una formación ósea engendrada por el periostio alvéolo-dentario. De todos modos, los caracteres micrográficos de estas tres formaciones son muy distintos, por lo que haremos de cada una de ellas una descripción separada.

MARFIL.—**Distribución y caracteres macroscópicos.**—Reside el marfil en los dientes de la mayor parte de los vertebrados, constituyendo la masa principal de dichos órganos. A la simple vista, muestran los dientes tres porciones : una prolongación profunda de color amarillento y de forma cónica, llamada *raíz ;* un ensanchamiento superior, de color blanco-azulado y aspecto vítreo, llamado *corona*, y una ligera estrangulación intermediaria, correspondiente á la inserción de la encía, designada *cuello*. El interior del diente es hueco y contiene una masa blanda y conjuntivo-vascular, que se conoce con el nombre de *pulpa*.

Caracteres micrográficos del marfil. — Cuando se examina al microscopio un corte transversal de un diente, aparecen dos cosas : ciertos tubitos paralelos, y la materia fundamental transparente.

Los tubos del marfil representan los calcóforos del hueso, con la diferencia de que, en vez de proceder de pequeñas cavidades

ó lagunas óseas, dimanan todos del hueco dentario central, asiento de la pulpa. Al nivel de su arranque, en el interior del diente, dichos tubitos son relativamente espesos, pues miden un diámetro de 2 á 3 μ; pero en su camino divergente hacia la periferia van perdiendo calibre, hasta reducirse cerca del cemento á menos de 0,5 μ. Los conductos del marfil marchan irradiados y más ó menos paralelos, suministrando en su camino infinidad de ramificaciones finas, que, anastomosándose entre sí, constituyen en la substancia fundamental una red complicada. A veces, dichos tubos marchan ondulados, y como las revueltas de muchos de ellos yacen en el mismo plano, el aspecto de las mismas á pequeños aumentos es de bandas ó fajas concéntricas á la cavidad central (líneas de Schreger). Por debajo del cemento, en una faja salpicada de cavidades (fig. 101, *e*), es donde tienen su remate los tubitos del marfil de la raiz del diente; los de la corona acaban debajo del esmalte á favor de penachos de ramificaciones (figura 102, *b*). En el diente seco, los conductos del marfil están llenos de aire, destacándose vigorosamente por tal motivo del fondo general; pero en el diente fresco, dichos tubitos contienen plasma y una prolongación filamentosa transparen-

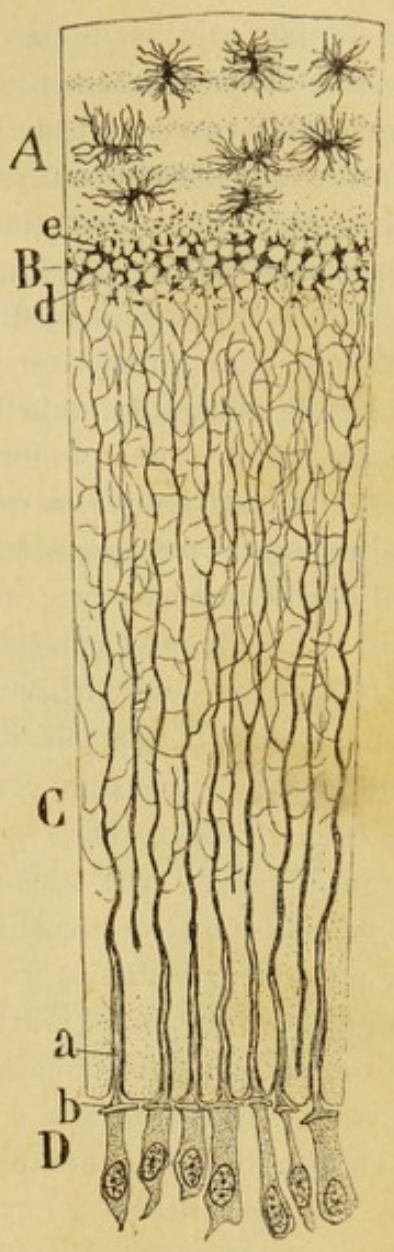


Fig. 101. — Trozo de un corte transversal de la raíz de un diente. En esta figura se han reunido las células periféricas de la pulpa, el marfil y el cemento. — A, cemento; B, zona de los globos de la dentina; C, marfil mostrando sus tubos á lo largo; D, odontoblastos; *a*, expansión periférica de los odontoblastos; *b*, chapa exterior de éstos; *d*, globos de dentina; *e*, espacios interglobulares ó red lacunaria.

te de las células de la pulpa (odontoblastos) (figura 101, *a*).

La materia fundamental es transparente y homogénea á flojos aumentos; con ayuda de objetivos de inmersión se muestra estratificada, pero las zonas no son, como ha demostrado Ebner, rigurosamente concéntricas á la cavidad central. Estos estratos son comparables á las laminillas óseas, constando de fascículos de 2 μ de espesor, cuya dirección general es la del mismo diente (Ebner). Semejantes hacecillos de hebras entrecrúzanse en ángulo agudo dentro de cada lámina, limitando unos estrechos resquicios para el paso de los tubitos del marfil, que atraviesan casi perpendicularmente los estratos (1). Por lo demás, las laminillas del marfil no son nunca tan distintas como las del hueso, á causa del poco contraste que, en punto á dirección, ofrecen los hacecillos de una de ellas con relación á los de las inmediatas.

Debajo del cemento, entre éste y el marfil, se advierten varias zonas de ciertos corpúsculos calcáreos, esféricos, macizos, brillantes, que se conocen con el nombre de *globos de dentina* (figura 101, *d*). Entre tales esferas yacen unos huecos cavernosos, triangulares y escotados llamados *red lacunaria del cemento* ó *espacios interglobulares*. En estas oquedades irregulares, llenas de plasma en el diente fresco, desaguan las últimas ramificaciones de los tubitos del marfil (fig. 101, *e*). No es raro ver por fuera de esta zona cavernosa otra formación lacunaria menos desenvuelta (red lacunaria secundaria).

Cemento.—El cemento es una especie de barniz óseo que recubre la raíz dentaria y cuyo espesor disminuye conforme ésta se acerca á la corona. Visto al microscopio en cortes transversales, exhibe la materia fundamental y los osteoplasmas.

La substancia fundamental es diáfana, ligeramente amarillenta, y se dispone en capas concéntricas al marfil. Estas capas se distinguen en obscuras y claras, y afectan la misma composición que las del hueso.

(1) La opinión de que las láminas del marfil están formadas de hacecillos longitudinales fue ya emitida por nosotros en 1887, en el 6.° cuaderno de nuesta obra: *Manual de Histología normal y Técnica*. Ebner, independientemente de nosotros, ha llegado á este mismo resultado en su Memoria de 1890.

Los osteoplasmas yacen solamente en la porción inferior del cemento, donde las estratificaciones de matería fundamental son más numerosas. Como las del hueso, dichas lagunas afectan una forma estrellada, y de sus contornos brotan finos conductitos calcóforos, que se distinguen por lo tortuoso de su curso y por terminar casi siempre en fondo de saco, sin anastomosarse con los procedentes de vecinos osteoplasmas. Sin embargo, los conductitos emanados de la hilera más baja de lagunillas suelen desaguar en los espacios interglobulares. En estado fresco, los osteoplasmas encierran corpúsculos de Virchow.

Esmalte. — Es una masa vítrea tan dura que raya el acero, constituída por fibras prismáticas exentas de estructura y segregadas en la época fetal por un órgano transitorio llamado *bolsa ó germen adamantino.*

El esmalte posee color blanco azulado, es frágil y de fractura fibrosa, y representa una costra de varios milímetros de espesor que se adelgaza y termina al nivel del cuello dentario.

Un corte perpendicular á la superficie del esmalte, presenta cortados á lo largo los prismas adamantinos, mostrándose como fibas largas (fig. 102, A), paralelas, implantadas por su cabo profundo en el marfil y terminadas libremente en la superficie de la corona. Entre los prismas, adviértese un cemento de unión calcificado, que posee, como ha hecho notar Ebner, mayor resistencia que aquéllos á la acción del ácido hidroclórico diluído, es decir, que cede difícilmente las sales en presencia de los ácidos. Este mismo autor ha probado que la dirección de

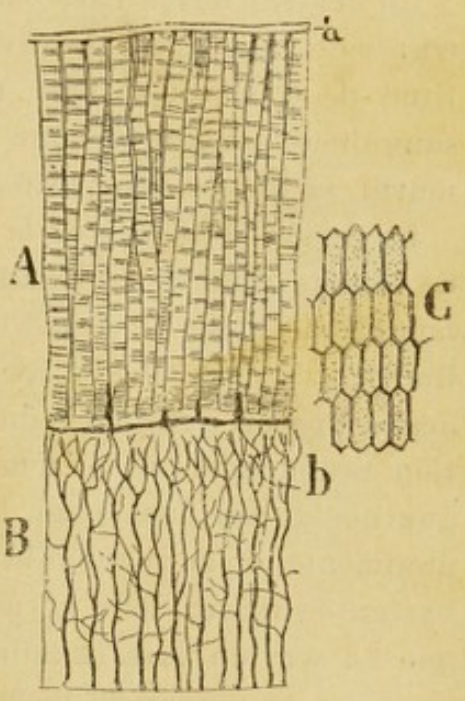


Fig. 102. — Esmalte y terminación del marfil. — A, capa del esmalte que muestra los prismas seccionados á lo largo ; B, parte periférica del marfil ; C, algunos prismas cortados de través ; *a*, cutícula del esmalte ; *b*, penachos periféricos de los tubos del marfil.

los prismas dista mucho de ser paralela ; en realidad, dispónense en eses, cuya dirección es cruzada con relación á la de los grupos ó planos de fibras inmediatas. Los cortes transversales presentan los prismas como campos exagonales, que recuerdan los epitelios. En la superficie del esmalte, existe una zona delgada, hialina, sumamente refractaria á los ácidos, que se designa *cutícula del esmalte* (fig. 102, *a*).

Pulpa dentaria. — En la cavidad central del diente reside un tejido conectivo rico en capilares sanguíneos, que puede considerarse, con ciertas limitaciones, como la representación de la médula del hueso. Consta la pulpa de dos zonas : central y periférica.

La central forma casi toda la pulpa, y se compone de una trama de hacecillos conectivos en cuyas mallas se albergan multitud de corpúsculos fijos, fusiformes ó estrellados. Los vasos sanguíneos constituyen una red tupida, terminada no lejos del marfil, mediante asas periféricas.

La región periférica de la pulpa está compuesta de una hilera de células gigantes, alargadas (fig. 101, D) que se conocen con el nombre de *odontoblastos*. El cuerpo de estos corpúsculos es cilíndrico ó prismático y alcanza longitud desigual ; por abajo acaba por un extremo redondeado ó mediante alguna expansión ramificada en la zona subsiguiente ; por fuera aparece guarnecido por una chapa brillante en contacto con el marfil ; finalmente, en su porción inferior contiene un núcleo ovoideo y bastante robusto. Pero el rasgo más notable de estas células, lo que ha servido para asimilarlas á los corpúsculos óseos, es el apéndice en forma de hierro de lanza que, arrancando de la chapa exterior, se insinúa en los conductos del marfil, para terminar libremente en el interior de éstos (fig. 101, *a*). Considérase esta expansión, que es sumamente pálida y algo estriada á lo largo, como una prolongación del protoplasma (fibras de Tomes).

Caracteres químicos del marfil. — Como el hueso, encierra el marfil osteína y sales. La proporción de éstas aparece en el siguiente cuadro, debido á Bibra :

Substancia fundamental colágena	27,65
Grasa	0,40
Fosfato de cal y fluoruro cálcico	66,72
Carbonato de cal	3,36
Fosfato de magnesia	1,08
Diversas sales	0,83

Se ve por el anterior cuadro que el marfil es más pobre que el hueso en materias orgánicas.

Odontogenesis.—Desde el segundo mes de la vida intra-uterina están constituídos los gérmenes dentarios, que son dos: uno epitelial, llamado germen del esmalte; otro conjuntivo, designado germen del marfil.

Germen del esmalte.—El epitelio bucal situado por encima de la mandíbula se espesa, y de su cara profunda parte una expansión glanduliforme que penetra en el espesor del maxilar, donde no tarda en abombarse, adquiriendo una figura comparable con el fondo de una botella (fig. 103, B). El pedículo que junta la expansión epitelial con el tegumento mucoso (*gubernaculum dentis*) se estira y adelgaza, cayendo en atrofia, mientras que los corpúsculos de la bolsa epitelial experimentan importantes diferenciaciones. Dicha bolsa epitelial consta ahora de tres zonas bien distintas: interna, media ó externa.

La *zona externa* (fig. 103, *a*) consta de una hilera de corpúsculos aplanados irregulares, que no tardan en atrofiarse, sin tomar participación ninguna en la formación adamantina.

La *zona media* es espesa, más ancha en el centro que en los contornos de la invaginación epitelial (*b*); sus elementos, dispuestos en capas irregulares, se retraen y degeneran, dejando entre sus caras anchos espacios llenos de plasma. En ciertos puntos, las células aparecen unidas por puentes comunicantes, restos de los filamentos intercelulares que enlazan entre sí los corpúsculos del cuerpo de Malpigio de la mucosa bucal. Tampoco esta zona ó capa epitelial intermediaria posee virtud odontogenética.

La *zona interna* es la más importante, pues á su cargo corre la secreción de los prismas adamantinos: hállase constituída de una hilera de corpúsculos prismáticos gruesos, provistos de un

núcleo residente cerca del cabo periférico de los mismos. La cara profunda de estas células aparece revestida de una chapa brillante, debajo de la cual, y en el espacio que media entre ella y la superficie del órgano del marfil, se depositarán los prismas del esmalte. Estos se presentan primeramente en lo alto de la corona, y se extienden ulteriormente por los lados, para

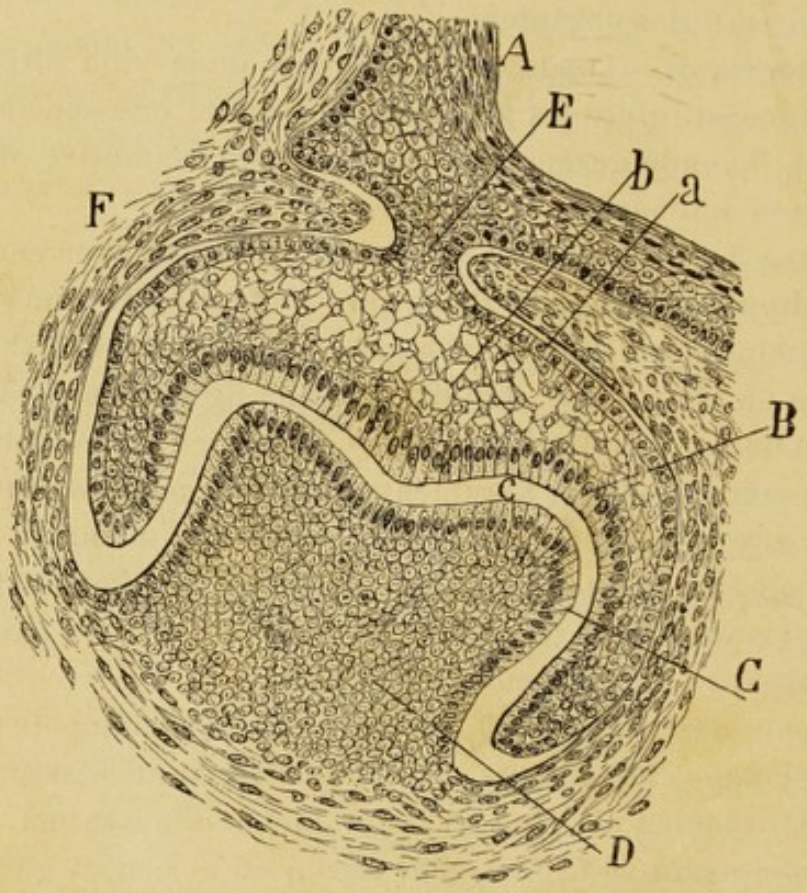


Fig. 103. — Corte de un germen dentario de un feto de ratón. — A, epitelio bucal ; B, bolsa epitelial ú órgano del esmalte ; C, capa de odontoblastos ú órgano productor del marfil ; D, papila dentaria ; E, *gubernaculum dentis* ó puente de unión entre el epitelio bucal y el órgano del esmalte ; *a*, capa externa de este órgano ; *b*, zona media ó degenerativa ; *c*, cavidad donde será segregado el marfil y esmalte.

terminar en delgada capa al nivel del cuello dentario. Examinada atentamente la capa adamantina recién construída, se ve que consta, como el esmalte adulto, de prismas exagonales, cuyos extremos periféricos encajan exactamente en los cabos centrales del epitelio formador; pero sin continuidad de substancia,

pues el esmalte no representa otra cosa que un producto secretorio de la zona interna del germen adamantino. Esta secreción se verifica por estratos sucesivos que se calcifican gradualmente, debiéndose el modelamiento en prismas del producto á que la actividad formadora reside solamente en la cara profunda exagonal del epitelio, y no en el cemento de unión. Ulteriormente, el depósito calcáreo invadirá también los intersticios que separan cada prisma, constituyendo un todo coherente.

Germen del marfil. — Durante el desarrollo del germen del esmalte, el tejido conjuntivo embrionario situado por debajo de éste, crece en forma de papila, empujando el fondo de la bolsa epitelial y obligándola á invaginarse como el fondo de una botella. La papila así formada (D) consta de corpúsculos pequeños, poliédricos, separados entre sí por escasa materia intersticial transparente, así como por algunos capilares sanguíneos. Las capas centrales mantienen durante mucho tiempo su composición embrionaria, pero la hilera celular más periférica no tarda en experimentar cambios interesantes. En efecto, sus elementos (fig. 103, C) se alargan y engruesan notablemente, presentando un cabo interno ó convergente más ó menos redondeado que contiene el núcleo, y un cabo externo ó periférico terminado debajo del epitelio adamantino en un espacio plásmico donde concurrirán el esmalte y el marfil. Estos corpúsculos, que representan una diferenciación conectiva muy importante, se designan con el nombre de *odontoblastos*; á su actividad secretoria específica se debe la producción del marfil.

Los odontoblastos, una vez formados, acrecen su tamaño y emiten por su cabo externo una expansión fina, divergente y sumamente pálida (fibra de Tomes), que se prolonga en el espacio situado por debajo del órgano del esmalte. Al llegar este momento, el cabo externo de los odontoblastos inicia su trabajo secretor, sedimentándose por fuera de los mismos, y entre las espansiones citadas, una corteza de marfil, al principio blanda y como gelatinosa (*membrana preformativa*), pero que no tardará en endurecerse á favor de depósitos calcáreos. Del mismo modo que ocurre en el hueso, las expansiones de los odontoblastos sir-

ven para el moldeamiento de los conductos del marfil, en los cuales quedarán definitivamente englobadas. Una diferencia importante separa, sin embargo, el odontoblasto del osteoblasto : éste, por consecuencia de la interrupción de su actividad secretoria y de la diferenciación en células osteoblásticas de corpúsculos inmediatos, queda enteramente empotrado en el material calcáreo ; mientras que aquél conserva su poder formador durante toda la época evolutiva, y sólo engloba en la substancia fundamental su prolongación periférica.

El marfil suele aparecer antes que el esmalte, iniciándose también en lo alto de la corona, y corriéndose después hasta la raíz del diente. A medida que aumenta el número de capas del marfil, los odontoblastos retíranse hacia adentro, retrayendo progresivamente su expansión protoplásmica periférica, que, en el momento del brote dentario, no parece ocupar más allá del tercio interno de los conductitos de la dentina.

Formación del cemento.—Como consecuencia del excesivo estiramiento longitudinal del órgano productor del marfil, la dentina rebasa por debajo la superficie profunda del germen adamantino, poniéndose una gran parte de ella en contacto con el tejido conectivo de los maxilares. A expensas de esta trama conjuntiva vecina, engéndrase una membrana perióstica (*periostio alveolo-dentario*), que rodea la raíz del diente y ofrece, como el periostio verdadero, una zona profunda, compuesta de osteoblastos. No hay para qué insistir en el mecanismo de la producción del cemento ; baste decir que el proceso es idéntico al de la osificación periostal, puesto que el cemento no es otra cosa que un depósito óseo desprovisto de conductos de Havers.

En el momento de la erupción dentaria, la corona se muestra todavía recubierta por las capas epiteliales media y externa del órgano productor del esmalte ; y los primeros roces con el alimento desprenderán rápidamente estos restos epiteliales, quedando el esmalte al descubierto.

Por igual mecanismo que los transitorios, se engendran los dientes definitivos. No obstante, se cree que no vuelve á repetirse el fenómeno de invaginación del epitelio bucal, formán-

dose el nuevo órgano productor del esmalte á expensas de los restos epiteliales, que, en la época de la formación del *gubernaculum dentis*, quedaron englobados en la trama peri-alveolar. El marfil nace por diferenciación, *ex profeso*, del tejido conectivo vecino del órgano adamantino.

Preparación del tejido dentario. — *Osteoplasmas y canalículos.* — El método preferible será la inclusión de un corte de diente en bálsamo del Canadá privado de su aceite esencial. El manual operatorio es igual al descrito en las págs. 99 y 100. Aquí haremos solamente algunas advertencias. En el diente seco suelen practicarse dos clases de cortes : los longitudinales y los transversales. Estos últimos, si recaen en la raiz, pueden ejecutarse con la sierra-pelo de relojero, tratándoselos en un todo como las secciones de hueso macerado. Pero si se trata de cortes longitudinales ó axiales que comprendan el esmalte, no basta la sierra ordinaria, y hay que apelar para obtener el corte, bien á una sierra de agua y esmeril, bien al desgaste en totalidad, ejecutado por las dos caras opuestas del diente, sobre una piedra de asperón. La sección grosera lograda de este modo, deberá ser adelgazada después en la piedra pomez y pulida en una piedra fina de afilar. Es de advertir, para el mejor desempeño de esta maniobra, que los dientes secos y macerados tienen á menudo resquebrajaduras que se revelan en el curso del desgaste, inutilizando la preparación. Por esta razón, son recomendables los dientes frescos, porque su mayor elasticidad los hace mucho más resistentes á las violencias del frote. Los cortes, suficientemente afilados, deben, antes de su inclusión en el bálsamo, ser sometidos á una maceración prolongada en agua hasta la pérdida completa de sus partes blandas.

El esmalte puede seccionarse paralelamente á su plano, lo que es muy útil para discernir la forma de sus prismas. Para ello se hace saltar, á favor de un martillazo, una esquirla de este tejido. El pedazo obtenido, que ordinariamente es un casquete de esmalte, se desgastará y conservará como los preparados ordinarios de diente ó hueso.

Un buen medio de preparar el esmalte es la disociación. Se consigue fácilmente tratando dientes jóvenes (durante varios días) por el ácido clorhídrico ó crómico al 2 por 100, reactivos que reducen el esmalte á una costra blanda, descomponible en prismas á la menor tentativa de disociación con las agujas.

Pulpa. — El examen de las partes blandas del diente (pulpa, odontoblastos, etc.), se hará en cortes de piezas decalcificacas por el ácido pícrico ó crómico (véase tejido óseo, pág. 287). La disociación de los odontoblastos se ejecutará fácilmente con las agujas, tomando un poco de la zona periférica de una pulpa dentaria macerada por varios días en bicromato de potasa (3 por 100) ó ácido crómico diluido.

El estudio de la evolución dentaria puede practicarse, á falta de fetos humanos de cinco ó más meses, en las mandíbulas del perro recién nacido. Pequeños trozos de estos huesos se decalcificarán en ácido pícrico á saturación, se deshidratarán en alcohol, se incluirán en celoidina y se reducirán á finos cortes microtómicos, que se teñirán con picro-carminato, zafranina, hematoxilina, etc., y conservarán en glicerina ó bálsamo.

CAPÍTULO X

TEJIDO MUSCULAR

Definición. — El tejido muscular es una trama orgánica constituída por la asociación de corpúsculos larguísimos, paralelamente dirigidos, y susceptibles de encogerse bajo la influencia del sistema nervioso.

Clasificación. — Desde el punto de vista anatómico y fisiológico, reviste el tejido muscular dos modalidades : *tejido muscular de fibra lisa* ó de contracción lenta, y *tejido muscular de fibra estriada* ó de contracción rápida. En general, cabe afirmar que la variedad muscular lisa (así calificada por carecer de aspecto estriado), entra en la construcción de los órganos de la vida vegetativa y funciona con independencia de la voluntad; mientras que la variedad estriada forma parte de los órganos de la vida de relación, y se contrae bajo la influencia del sensorio. Existen, empero, excepciones : los músculos lisos de los invertebrados y los vesicales de los vertebrados, obedecen al estímulo de la voluntad, y, al contrario, el corazón y el diafragma, que son músculos estriados, actúan de un modo involuntario. El carácter voluntario ó automático de las contracciones, parece depender, no de la textura del músculo, sino del centro nervioso de donde brota la excitación. Así, todo músculo que pueda ser influído por la vía piramidal del cerebro, será voluntario; en tanto que será automático todo aquel cuya actividad se subordine exclusivamente á centros medulares ó simpáticos.

VARIEDAD MUSCULAR LISA

Caracteres macroscópicos y distribución general. — Examinado á simple vista, se presenta el tejido muscular de fibra lisa como una trama blanda, elástica, ligeramente amarillenta ó amarillo-rosácea y de aspecto fasciculado.

Reside esta variedad muscular en casi todos los órganos de la vida vegetativa, á saber : la túnica media de las arterias y venas, la capa muscular del intestino, la de igual nombre de la vejiga urinaria y matriz, los conductos excretores de las glándulas, los músculos *arrectores pili*, el aparato acomodador de la visión, los bronquios, etc.



Fig. 104. — Fibra muscular lisa del intestino, aislada por el alcohol al tercio.

Caracteres micrográficos. — Cuando se disocia á favor del ácido nítrico al cuarto, ó de la potasa al 33 por 100, un trozo de tejido muscular liso, quedan en libertad multitud de corpúsculos alargados, que, por no ofrecer rayas transversales, se han denominado *fibras musculares lisas*, y también *fibro-células* de Kölliker, en honor del sabio que las descubrió.

Poseen las fibro-células una longitud que oscila entre 3 y 10 centésimas de milímetro; su espesor, medido en la parte más gruesa, es de 6 á 12 μ. Su forma es la de un huso, es decir, abultada en su porción media donde se alberga el núcleo, y adelgazada hacia los extremos, que acaban en puntas algo romas. En los cortes transversales, se advierte que la sección de las fibro-células no siempre es redondeada, sino más ó menos poligonal ; lo que prueba que la verdadera configuración de estos corpúsculos es la prismática con cabos progresivamente adelgazados.

La textura de la fibro-célula debe estudiarse en preparaciones no tratadas por los reactivos disociantes, en aquellas, por ejemplo, en que los paquetes de fibras yacen en su posicion normal, teñidas por el carmín de Grenacher ó por la hematoxilina. El *núcleo* es único, alargado en forma de baston-

cito con extremos redondeados (fig. 104); reside en la región central de las fibro-células, y mide una talla de 14 μ ó más. Con buenos objetivos de inmersión, deja percibir una membrana incolora y un contenido cromático reticulado, cuyos hilos se disponen en gran parte de un modo transversal. No existe nucleo-

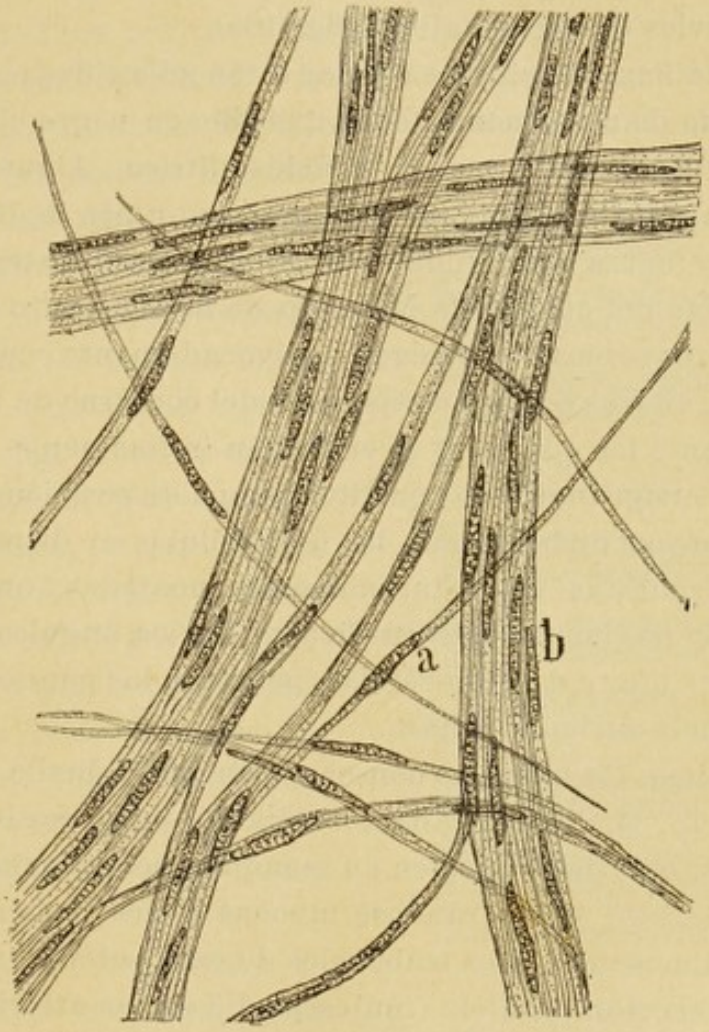


Fig. 105. — Fascículos de fibras musculares lisas de la vejiga de la rana. *a*, fibra suelta; *b*, fascículo.

lo verdadero, pero sí algunas gruesas nudosidades cromáticas. El *protoplasma* es finamente granuloso, excepto en las inmediaciones de los polos nucleares, donde los granos son gruesos y refringentes; esta granulación oculta una trama reticular perceptible solamente con los más fuertes objetivos, y en la cual los hilos son en su mayor parte paralelos á la longitud de la célula,

arrancando del núcleo y terminándose en los cabos del protoplasma. La *membrana* es finísima, elástica y difícil de discernir por su íntima unión con el retículo celular.

Haces de fibro-células.—Las fibras musculares lisas, rara vez se hallan independientes; lo común es que formen haces separados por tabiques de tejido conjuntivo laxo, portadores de los vasos y nervios de algún calibre (fig. 105).

En cada haz, las citadas células están adheridas por sus caras á beneficio de un cemento tenaz que tiñe en negro el nitrato de plata y disuelven la potasa y ácido nítrico. Algunos autores (Barfurth y Kulschinky) afirman que esta unión de las fibro-células se refuerza con ayuda de fibrillas comunicantes, á la manera de las del cuerpo de Malpigio de la piel; pero en nuestro sentir, estos sabios han tomado equivocadamente por filamentos de unión, ciertas espinas ó asperezas del contorno de los elementos mediante las que estos se engranan íntimamente. Por lo demás, tales engranajes no constituyen una disposición general.

Para formar dichos haces, las fibro-células se disponen en series superpuestas y tan íntimamente encajadas, que semejan un epitelio pavimentoso estratificado. En los ángulos, que deja una serie ó hilera de fibro-células, penetran las puntas de los elementos de la serie inmediata.

Por último, los haces no conservan su individualidad en todo su trayecto, sino que acaban, mediante anastomosis, en otros hacecillos, ó se descomponen en manojitos secundarios, los cuales, juntándose y separándose muchas veces, engendran una vasta red muscular. Los trabéculos de esta red afectan á menudo una dirección paralela (túnica media de las arterias, intestino, etc.); en otros casos, carecen de orientación predominante (túnica muscular de la vejiga, etc.).

VARIEDAD MUSCULAR ESTRIADA

Distribución y caracteres macroscópicos. — Reside esta variedad muscular en todos los músculos de contracción rápida, estén ó no sometidos al estímulo de la voluntad. Entre los involuntarios, pueden citarse el corazón, diafragma y músculos fisionómi-

cos, y entre los involuntarios casi todos los del tronco, extremidades, cuello, cabeza, etc.

A la simple vista, el tejido muscular se presenta rojizo, de aspecto fasciculado y dividido en paquetes paralelos, separados por finos tabiques grises. Su consistencia es semiblanda en estado de relajación y dura en el de encogimiento ; su elasticidad y extensibilidad son muy notables.

Caracteres micrográficos. — Los últimos elementos de constitución á que por disociación pueden reducirse los músculos estriados, son unas células larguísimas, multinucleadas, de aspecto estriado, que se designan *fibras musculares ó haces primitivos*. Afectan estos elementos forma prismática, con aristas algo redondeadas (fig. 110); su diámetro oscila entre 20 y 40 μ; su longitud es enorme, alcanzando, según Krause, de 4 á 5 centímetros, y terminando por cabos redondeados y más ó menos adelgazados ; su color es blanco rosáceo ó amarillento en los mamíferos, y casi del todo blanco en los batracios, reptiles y peces.

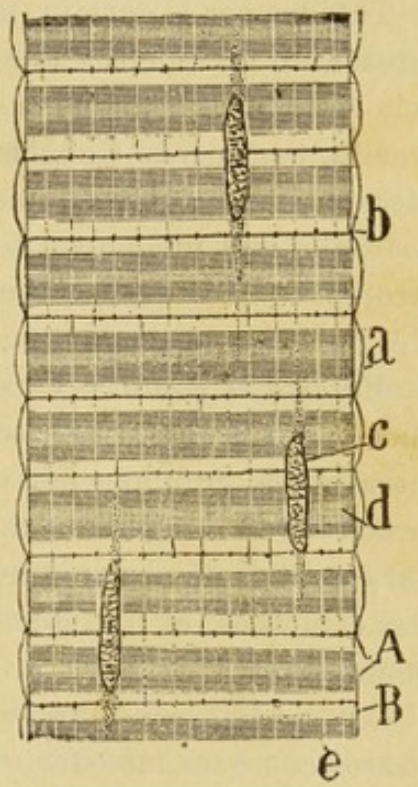


Fig. 106.—Fibra muscular de las patas del hidrófilo. Examen en estado fresco. — *a*, sarcolema ; *b*, línea de Krause ; *c*, núcleo ; *d*, banda de Hensen.—A, banda ancha ó birefringente ; B, banda estrecha ó monorefringente.

Estructura. — Examinada la fibra muscular con ayuda de buenos objetivos, nos revela tres factores de composición : el sarcolema, los núcleos y la materia estriada.

Sarcolema.—Es la membrana fina, homogénea y elástica que rodea la fibra muscular. En las fibras vivas se percibe difícilmente, por estar íntimamente aplicada al material estriado ; pero en los corpúsculos musculares tratados por el agua, dicha

membrana se separa en bolsas ó replegamientos que la hacen claramente reconocible. Cuando se observan las fibras en estado de contracción, se nota que el sarcolema se adhiere solamente al material estriado, al nivel de cierta región de éste, llamada *línea de Krause.*

Núcleos. — Son numerosos, elipsoides, y se orientan paralelamente á la fibra muscular. En los mamíferos, residen los núcleos debajo del sarcolema ; pero en los batracios, reptiles, peces y algunos géneros de insectos, habitan tanto debajo de esta membrana como en el espesor de la materia estriada.

Teñidos por el carmín, la hematoxilina ó el verde de metileno, presentan los núcleos una fina cubierta acromática y un armazón reticular de nucleína, cuyas mallas poseen dirección transversal. Según van Gehuchten, los trabéculos nucléicos ó cromáticos se dispondrían en una espiral de vueltas transversales. De los polos del núcleo surgen unas tiras granulosas, de aspecto protoplásmico, que se continúan con las estrías longitudinales del fascículo muscular (fig. 106, *c*).

Materia estriada. — Esta substancia, así llamada por las bandas ó estrías que la cruzan en dos sentidos perpendiculares, representa el protoplasma de las células musculares. Pero este protoplasma ha sufrido tales diferenciaciones, y ha adquirido tal complicación estructural, que no puede reducirse, sin grandes esfuerzos, al tipo de construcción del cuerpo de las células comunes.

Los aspectos que ofrece la materia estriada, son casi tan diversos como los métodos que para su demostración se han imaginado. Esta diversidad de efectos producidos por los reactivos, así como la extrema delicadeza de muchos detalles de textura—detalles que tocan ya por lo finos en los límites del poder resolvente del microscopio—explican el desacuerdo de los histólogos, en lo tocante á la constitución íntima de la materia estriada. Los sabios que lo fían todo de la acción fijadora del ácido ósmico y alcohol, suponen formado el material estriado de fibras sueltas, paralelas, fácilmente disociables (cilindros de Kölliker) ; los que tienen en más el poder revelador de los ácidos ó del cloruro de oro, imaginan una red de finísimas hebras que se teñi-

rían en violado por este último reactivo ; finalmente, los que se apoyan en los aspectos revelados por la potasa ó el ácido hidroclórico diluído, prefieren la hipótesis de una construcción discóidea, es decir, de una especie de colmena de cajas ó discos huecos, en cuyo interior residiría la materia contráctil.

Nosotros, en presencia de tales dificultades, expondremos primeramente el aspecto que las fibras musculares vivas nos presentan bajo los mejores objetivos; indicaremos luego los cambios que en dichas fibras determinan los reactivos, y señalaremos finalmente, la interpretación que parece más racional en el estado actual de la ciencia.

Examen de las fibras musculares vivas.—Son particularmente propicias para este examen por la magnitud y claridad de sus estrías, las fibras musculares de las patas de los insectos (*Hidrophilus piceus*, etc.). En los mamíferos aparecen los mismos detalles, pero con menos definición á causa de su delicadeza.

Dos clases de bandas cruzan la materia estríada : las transversales y las longitudinales.

Las *bandas transversales* son de dos clases : *anchas ó espesas* (fig. 106, A), birefringentes y más ó menos colorables por la hematoxilina ; *delgadas ó claras*, monorefringentes é incolorable por dicho reactivo (fig. 106, B). Estas dos clases de rayas alternan rigurosamente, conservan un espesor sensiblemente uniforme y penetran en todo el grueso del material estriado.

Enfocándolas cuidadosamente, nos muestran todavía dos nuevas líneas transversales : una finísima, de aspecto granuloso, situada en el medio de la banda clara y llamada *línea de Krause* ó de Amicis (fig. 106, *b*); otra más ancha, colocada en el centro de la banda espesa ó birefringente y designada *raya de Hensen* (fig. 106, *d*). La raya de Krause se adhiere periféricamente al sarcolema, el cual aparece más ó menos plegado al nivel del espacio correspondiente á las otras bandas.

Las bandas longitudinales son también de dos clases : unas anchas, paralelas, más ó menos claras, que corresponden á lo que los autores llaman *fibrillas musculares ó cilindros primitivos* (fig. 106); otras finas, obscuras, alternantes con las anchas, y las cuales representan los *tabiques protoplasmáticos* de cier-

tos autores, ó las *fibras preexistentes* de otros (fig. 106, *e*).

Aspecto de las fibras fijadas por el alcohol y disociadas con las agujas. — Una fibra muscular de insecto ó de vertebrado, tratada de esta suerte, se descompone en una multitud de fibrillas de notable delgadez (*cilindros primitivos*, *columnas musculares*, *fibrillas primitivas*, etc.), de cuya reunión en haz apretado, parece resultar la fibra ó fascículo muscular primitivo. Dichas fibrillas exhiben las mismas bandas que éste, á saber: una ancha, colorable por la hematoxilina; otra estrecha, incolorable por este reactivo. En el fondo de la banda ancha se distingue la línea de Hensen, y en medio de la estrecha la de Krause. Si las fibrillas se estiran considerablemente durante la disociación, las rayas se multiplican todavía: la banda obscura ó ancha aparece descompuesta en 7 rayas, de las cuales 4 son obscuras y 3 claras (figura 107, C); por su parte, la banda clara ó monorefringente, exhibe otras dos líneas vagamente diseñadas y situadas encima y debajo de la línea de Krause (*discos complementarios* ó de Engelmann).

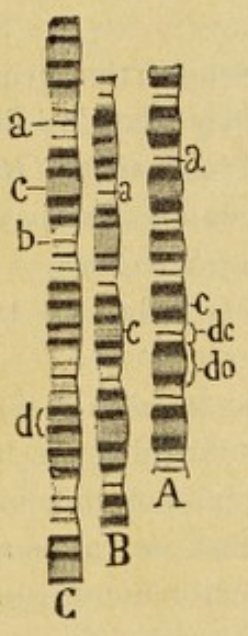


Fig. 107. — Fibrillas primitivas disociadas procedentes de los músculos de las alas del hidrófilo.—A, fibrilla poco estirada; B y C, fibrillas fuertemente tensas. — *a*, raya de Krause; *c*, raya de Hensen; *do*, disco obscuro; *dc*, disco claro; *b*, raya de Engelmann; *d*, desdoblamiento de cada mitad del disco obscuro.

Todas estas rayas se ven con gran precisión en las fibrillas primitivas de las fibras musculares de las alas del hidrófilo (fig. 107). Tales fibrillas son relativamente espesas, se disocian facilísimamente, y sus bandas ó discos obscuros (bandas birefringentes) atraen vivamente la hematoxilina. Por lo demás, dichas rayas aparecen también, aunque con menos precisión, en las fibrillas primitivas del haz muscular de los mamíferos.

Las preparaciones á que nos referimos revelan dos detalles más: que las fibrillas primitivas están pegadas al nivel de la lí-

nea de Krause, y que entre ellas y á lo largo de las mismas existe una materia granulosa, dispuesta en tabiques transparentes cuya falta de cohesión permite la disociación de dichos cilindros primitivos.

En suma ; las preparaciones fijadas en alcohol y disociadas, demuestran que el hacecillo muscular consta de fibrillas paralelas, compuestas á su vez de discos alternados birefringentes y monorefringentes, y separadas por tabiques protoplásmicos granulosos. La estriación transversal del haz muscular depende de que las bandas de igual naturaleza de toda fibrilla primitiva yacen exactamente en el mismo plano.

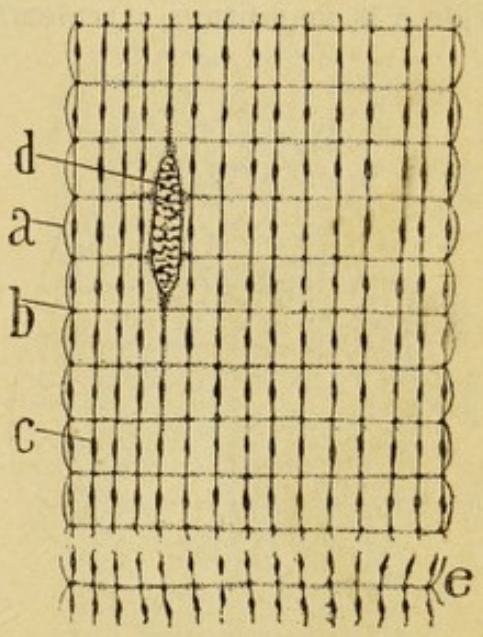


Fig. 108. — Fibra muscular tratada por el cloruro de oro y ácido fórmico (método de Loewit).—*a*. sarcolema ; *b*, línea de Krause ; *c*, fibrillas preexistentes ; *d*, núcleo ; *e*, disco de Bowman visto de perfil.

Aspecto de las fibras musculares tratadas por los ácidos y cloruro de oro. — Impregnando las fibras musculares vivas, bien por el método de Loewit, bien por los de Ciaccio, Melland, Retzius, etcétera, los haces primitivos se hinchan, adquieren color rojo violáceo á causa de la reducción del cloruro de oro, y muestran una singular tendencia á descomponerse, no en cilindros primitivos, sino en discos transversales que interesan todo el espesor del haz (*discos de Bowman*).

Examinado uno de estos haces á lo largo, lo primero que llama nuestra atención, es que los cilindros primitivos ó fibrillas musculares han desaparecido, disueltas por el ácido fórmico ; en su lugar se presentan unos espacios longitudinales, claros, llenos de una materia homogénea y semilíquida (fig. 108). Al nivel de los tabiques protoplásmicos adviértense ahora unos finos hilos longitudinales, que el oro tiñe de violeta (fig. 108, *c*). Semejantes

hebras, que se llaman *fibras preexistentes* ó *protoplásmicas*, exhiben dos clases de engrosamientos fuertemente impregnados : uno fusiforme, que corresponde á la banda ancha (fig. 108, c); otro esferoidal y de menor dimensión emplazado en el paso de dichos hilos por la banda de Krause. Cuando las fibras se hallan en relajación enérgica, el engrosamiento fusiforme suele faltar. Dichos preparados enseñan también que de todas las rayas transversales, la única que ha resistido á la acción de los ácidos es la de Krause (fig. 108, *b*), la cual se muestra granulosa, adherida á la membrana sarcolemática y muy análoga por su aspecto y composición química á las fibrillas de los tabiques protoplásmicos.

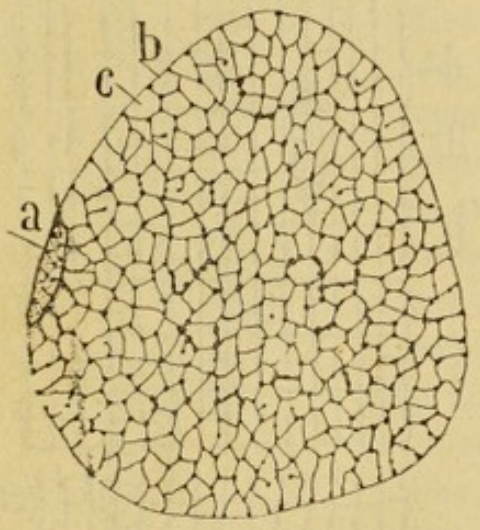


Fig. 109. — Disco de Bowman visto de plano. — *a*, núcleo ; *b*, sarcolema con la red que yace en la línea de Krause ; *c*, campos de Cohnheim.

El examen de plano de los discos de Bowman ó de cortes transversales de los haces musculares (fig. 109), permite reconocer que las líneas de Krause no son discos homogéneos, sino la sección óptica ó vista de canto de una red protoplásmica transversal, formada por finos trabéculos, y por cuyas nudosidades pasan las hebras longitudinales reveladas por el cloruro de oro. Las mallas de este retículo han tomado el nombre de *campos de Cohnheim* y están ocupadas por los cilindros ó fibrillas primitivas de los autores.

Finalmente, tanto las redes transversales como las hebras preexistentes se ponen en relación de continuidad con aquella capa protoplásmica que rodea los núcleos, circunstancia que parece indicar que todo este sistema de trabéculos longitudinales y transversales, no representa otra cosa que un retículo protoplasmático, diferenciado y regularizado.

En suma ; los ácidos asociados al cloruro de oro, así como la potasa, la sosa, etc., revelan en el haz muscular una infinidad

de delicadísimas hebras longitudinales unidas, de trecho en trecho, por redes transversales situadas al nivel de la línea de Krause. Dichas fibrillas son invisibles en las preparaciones tratadas por el alcohol, bicromatos, ácido ósmico, etc., y aparecen emplazadas en lo que ciertos autores llaman *tabiques protoplásmicos* (*sarcoplasma* de Rollet).

Integración de los resultados parciales analíticos y constitución probable del hacecillo muscular. — Sintetizando las revelaciones de los diversos reactivos, y prescindiendo de aquellos efectos ó mutaciones que, por su inconstancia ó por no preexistir en el estado fresco, cabe considerar como artificiales, podremos estimar la trama estriada compuesta de dos sistemas de fibras : uno que tiene el valor de un retículo protoplásmico y que no es otra cosa que la vasta red formada por las fibrillas longitudinales y transversales colorables por el cloruro de oro ; otro constituído por los cilindros primitivos de los autores, y el cual representa una inclusión celular altamente diferenciada. Entre los cilindros primitivos (compuestos, como ya expusimos más atrás, de la superposición de discos birefringentes y monorefringentes) yace un plasma transparente en un todo comparable con el jugo que llena las mallas del protoplasma de las células comunes. Este jugo corresponde al sarcoplasma de Rollet, y en él residen las fibrillas longitudinales y transversales demostradas por los ácidos y cloruro de oro. En los insectos, como hemos descrito en

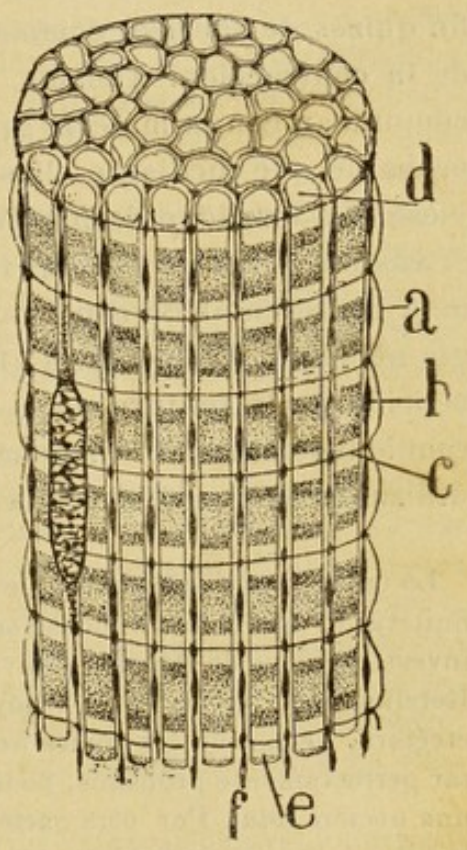


Fig. 110.—*a*, sarcolema; *b*, fibrillas de protoplasma ó preexistentes ; *c*, línea de Krause ó redes transversales ; *d*, fibrilla primitiva que llena el campo de Cohnheim ; *e*, extremo de una fibrilla primitiva.

otro trabajo (1), semejante líquido interfibrilar aloja infinidad de ramillas de tráqueas, las cuales no penetran jamás en los cilindros primitivos. Semejante detalle estructural, manifiesta que el sarcoplasma es la atmósfera nutritiva y respiratoria de tales cilindros; en él se disuelve el oxígeno aportado al músculo, y á él vienen á parar el ácido carbónico y demás productos de la combustión y nutrición. En cuanto á las redes transversales, que, como es sabido, se adhieren íntimamente al contorno de las líneas de Krause de los cilindros primitivos, pueden considerarse como un medio de sujeción transversal de estos, á fin quizás de hacerlos completamente solidarios en el fenómeno de la contracción. Además, dado que las redes transversales comunican con la materia granulosa de la placa motriz, es muy probable que mediante ellas sea transmitida la corriente nerviosa á la totalidad de los cilindros primitivos, con lo cual todo el vasto sistema de fibrillas revelado por el cloruro de oro, viene á representar un conjunto de líneas de descarga de la energía nerviosa. En la figura 110 damos un esquema de esta concepción de la textura de la materia estriada; en él aparecen reunidas cuantas revelaciones positivas se deben á los métodos utilizados en el análisis de la fibra muscular.

La opinión que acabamos de exponer no tiene la pretensión de ser definitiva, ni completa; fúndase en los hechos positivos arrojados por las investigaciones de Brucke, Ranvier, Krause, Kölliker, Rollett, Melland, Retzius, van Gehuchten, Carnoy, Cajal, Macallum, Marshall, Schäffer, etcétera, hechos de los cuales hemos elegido aquellos que, á más de estar perfectamente probados, podían fácilmente conciliarse y fundirse en una noción total. Por otra parte, recientes estudios sobre la textura de la fibra muscular de los insectos nos han convencido de que, en las doctrinas corrientes acerca de este difícil problema, existen exclusivismos de secta inconciliables con lo que se desprende de la observación fría y serena de los hechos. A nuestros ojos, tan exclusivo y parcial es Rollett, cuando niega la preexistencia de las fibrillas y redes reveladas por los ácidos, tomándolas como engrosamientos del sarcoplasma, como Melland y van Gehuchten, al estimar los cilindros primitivos de los autores como

(1) Cajal: Coloration par la méthode de Golgi des trachées et des nerfs dans les muscles des ailes des insectes. *Zeitschrift. f. wissensch. Mikroskopie*, etc., Bd. VII, 1890.

mero enquilema ó jugo intra-protoplásmico del retículo, solamente reductible á fibras por la acción coagulante de los reactivos.

No obstante, y en prueba de imparcialidad, expondremos aquí las opiniones que han aparecido en estos últimos años sobre el difícil y controvertido asunto de la estructura de la materia estriada.

1.° La materia estriada es una reunión de cilindros ó columnas primitivas, compuestos á su vez por la sucesión alternativa de discos mono y birefringentes. Al nivel de las rayas de Krause, tales cilindros se unirían transversalmente entre sí, y á la misma altura quedaría fijado el sarcolema al material estriado. Entre los cilindros ó fibras primitivas, existiría una masa de protoplasma ó *sarcoplasma*, dispuesto en tabiques anastomosados á la manera de panal, y continuados con el acúmulo granuloso perinuclear. Las hebras violadas que en tales tabiques descubre el cloruro de oro, representarían la sección óptica de dichos tabiques, y los granos y redes transversales serían meros espesamientos de protoplasma. A este dictamen se adhieren, con más ó menos distingos, Ranvier, Rollett, Kölliker y Retzius.

2.° El haz muscular posee, como toda célula, un retículo filamentoso, nacido de los núcleos é inserto en el sarcolema. Este armazón fibrilar es colorable por el cloruro de oro, y está formado de hilos longitudinales y paralelos unidos, de trecho en trecho y en sentido transversal, por redes protoplásmicas yacentes al nivel de la línea de Krause. La substancia matriz líquida donde tales fibrillas se contienen, corresponde á los cilindros primitivos de los autores y es reductible á fibras gruesas, verdaderos productos artificiales, por la acción del alcohol. Las estrías claras del fascículo muscular representarían meros efectos ópticos, no correspondiendo á discos especiales. En el centro de estos cilindros obtenidos por coagulación, residirían las fibrillas colorables por el oro. Finalmente, el retículo representa la parte activa del haz muscular; mientras que los cilindros primitivos corresponderían á una materia inerte, líquida durante la vida, y destinada á la nutrición del retículo. Con leves variantes, profesan esta opinión, Melland, Carnoy, van Gehuchten, Marshall, Haswell, Macallum, etc.

3.° La fibra muscular está construída de columnas huecas, unidas entre sí por el sarcoplasma de Rollet. Estas columnas son paralelas, corresponden á los cilindros primitivos de los autores y aparecen segmentadas en cajas discoideas superpuestas (*sarcomeras* de Schäffer). Dentro de las cajas, cuyas paredes superior é inferior no son otra cosa que las membranas de Krause, flota un disco birefringente que desempeña un papel activo en la contracción muscular. Según Krause, el líquido en que se baña el disco birefringente (elemento sarcódico de varios autores) se acumularía en el momento de la contracción en los lados de la caja, con lo cual el diámetro vertical de la cavidad disminuiría ; y al contrario, en estado de relajación, el líquido se reuniría encima y debajo del elemento sarcódico, alargándose la caja muscular.

En sentir de Schäffer, que defiende modernamente algo modificada la hipótesis de las cajas que acabamos de indicar, el elemento sarcódico ó masa birefringente de la sarcomera hállase unida á las paredes laterales de aquéllas á favor de un tabique medio, correspondiente á la línea de Hensen, y en su espesor contendría dos series de conductitos, en los cuales podría penetrar el líquido de la caja. En estado de relajación, el líquido no distiende los citados conductos, acumulándose especialmente en las dos caras de la línea de Krause, y engendrando la llamada banda clara ó monorefringente de los cilindros primitivos; mas en estado de relajación, el licor monorefringente dilata los mencionados tubitos, la banda clara disminuye, y el elemento sarcódico ó cuerpo birefringente de la caja adquiere gran espesor.

Unión de las fibras musculares y tendinosas. — Los haces musculares terminan por cabos redondeados y adelgazados cubiertos por el sarcolema é implantados en los extremos de fascículos

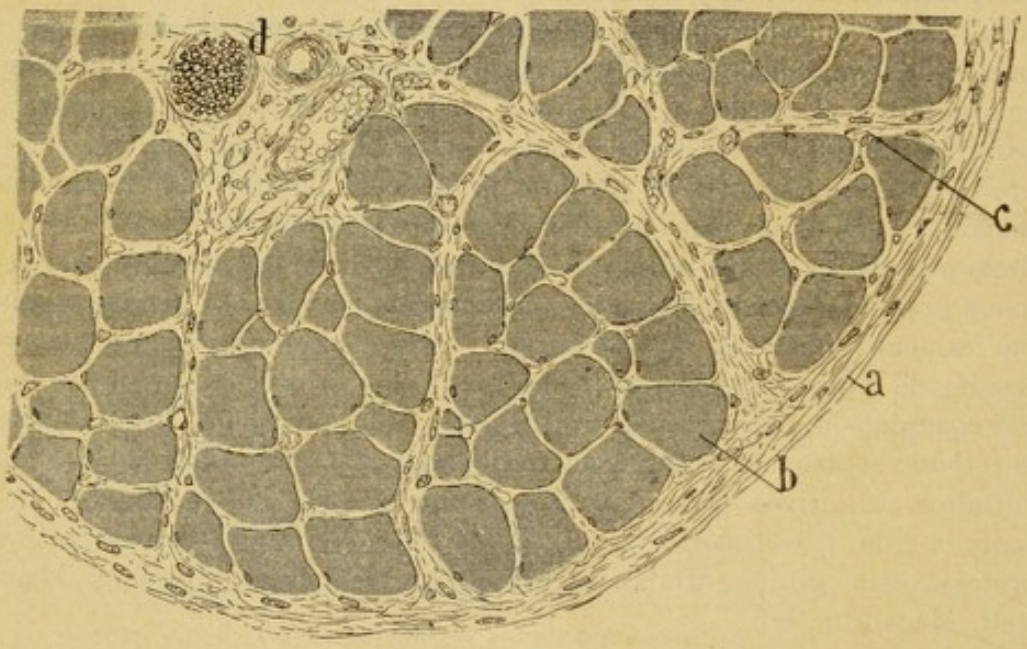


Fig. 111.—Corte transversal de un músculo de mamífero.—*a*, cubierta conjuntiva ó perimisio externo; *b*, fibra muscular; *c*, tabiques que separan los fascículos secundarios; *d*, corte de un nervio y de los vasos nutricios del músculo.

tendinosos; á veces el cabo muscular se muestra ramificado é inserto en el tejido conectivo dermóideo (músculos de la lengua).

Cada haz tendinoso recibe la inserción de una fibra muscular, uniéndose (á beneficio de un cemento sólido soluble en la potasa) la superficie del sarcolema con los cabos terminales de las fibras conjuntivas. Pero más á menudo los manojos tendino-

sos reciben haces musculares, no sólo por sus extremos, sino por sus lados, de manera que un sólo fascículo conectivo secundario transmite la energía de muchas fibras contráctiles.

Asociacion de las fibras musculares.—El haz muscular primitivo ó fibra muscular, se asocia con otros á favor de un tejido conectivo laxo poco abundante (fig. 111), que alberga una red capilar muy tupida y dispuesta en mallas cuadrilongas. Los capilares son tortuosos, á veces helicoides, para adaptarse fácilmente á los estados de retracción y relajación del músculo. Los manojos resultantes de la asociación de las fibras musculares, están individualizados por tabiques conjuntivos espesos, y toman el nombre de *fascículos secundarios*. De la integración de los fascículos secundarios en otras unidades mayores, limitadas por septos conectivos todavía más espesos, y no pocas veces infiltrados por tejido adiposo, resultan unos manojos voluminosos, visibles á la simple vista, y calificados de *haces terciarios*. Y finalmente, el músculo entero está revestido por una fuerte membrana aponeurótica (*perimisio externo*).

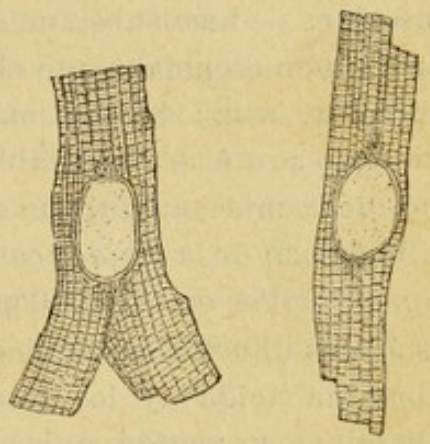


Fig. 112.—Fibras musculares del corazón del conejo. Disociación por la potasa al 40 por 100.

Variedad estriada del corazon. — Pertenece el tejido muscular de esta víscera al tipo estriado y de contracción brusca, pero ofrece algunas particularidades que conviene hacer notar.

En primer lugar, las fibras musculares cardíacas son ramificadas y anastomosadas, y cada haz primitivo, en vez de estar representado por un sólo elemento, consta en realidad de varias células musculares superpuestas. La superficie de contacto de los corpúsculos constitutivos de un haz, es plana y se halla á menudo cortada en escalones ; la unión de estas superficies tiene lugar á favor de un cemento sólido, ennegrecible por el nitrato de plata y soluble en la potasa (fig. 113, *c*).

Consta la fibra cardíaca de sarcolema, núcleo y materia es-

triada. El *sarcolema* es finísimo y no se interrumpe, como creemos haber demostrado (1), al nivel de las suturas ó contactos intercelulares; el *núcleo* es único, ovóideo, voluminoso, y está alojado en el centro de la fibra; y finalmente, el *material estriado* exhibe las mismas bandas que el fascículo muscular ordinario, sin otra diferencia que el ser éstas más finas y difíciles de discernir. El cemento que enlaza dos corpúsculos musculares vecinos, ocupa precisamente el lugar de una línea de Krause.

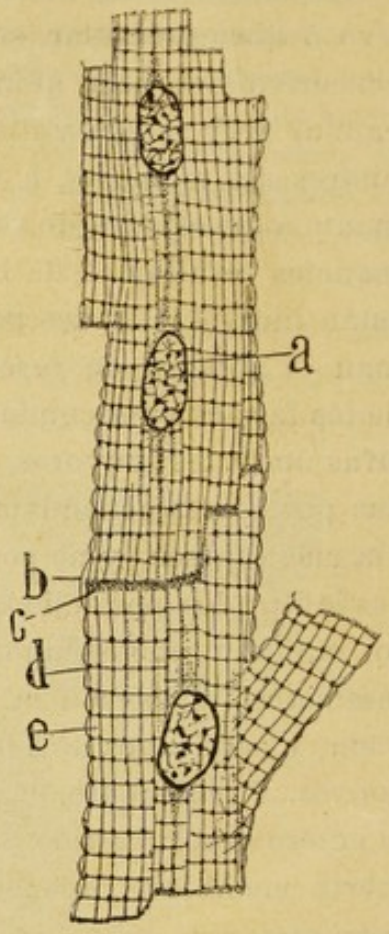


Fig. 113.—Dos fibras musculares del corazón de la vaca teñidas por el cloruro de oro.—*a*, núcleo; *b*, sarcolema que pasa de una fibra á otra; *c*, cemento de unión; *d*, línea de Krause: *e*, fibrilla primitiva.

Caracteres químicos del tejido muscular. — Las substancias que constituyen esencialmente el tejido muscular, son: 1.° La *miosina*, principio protéico coagulable después de la muerte, y al que se debe el fenómeno de la *rigidez cadavérica*; es soluble en sal al 10 por 100, los ácidos diluídos la convierten en albúmina ácida, y los álcalis en albuminatos; reside quizá en la substancia birefringente de las fibras, aunque no debe constituír un factor exclusivo, pues si la miosina es extraída del músculo, la propiedad de la *anisotropia* permanece. 2.° La *musculina* ó albúmina muscular, que coagula á 45° ó 47°. 3.° El *armazón* (*Bundelgerust* de Danilewsky), que es el material que resta en las fibras, una vez extraídas la miosina

(1) Cajal: Textura de la fibra muscular del corazón. *Revista trimestral de Histología normal y patológica*, núm. 1, 1888. Véase también nuestro trabajo: Observations sur la texture des fibres musculaires des pattes et des ailes des insectes (avec 4 planches). *Intern. Monatschrift. f. Anat. u. Physiol.*. 1888, Bd. v.

y demás albuminoides. 4.° La *materia glicógena* que se gasta con el trabajo muscular y reside quizá, como quiere Ehrlich, con el sarcoplasma. 5.° El *ácido* sarcoláctico, engendrado por la fatiga muscular y que desaparece con el reposo, etc.

Propiedades fisiológicas del tejido muscular. — La actividad fisiológica para la que el corpúsculo muscular está especialmente diferenciado es la contracción, que se efectúa, bien por estímulo de los nervios motores, bien mediante excitación directa, eléctrica, química ó mecánica, del material estriado. El encogimiento de la fibra tiene lugar solamente en la dirección de su eje, acortando su longitud y aumentando su grueso. Desde los trabajos de Aeby, confirmados por diversos histólogos y fisiólogos, se sabe que la retracción del haz muscular se determina por espesamientos locales y sucesivos, llamados ondas de contracción, que comienzan al nivel del punto estimulado y se extienden en dirección opuesta hasta las extremidades. Tal es la contracción que se observa en los fascículos musculares aislados y examinados al microscopio ; mas cuando se estimula el nervio que se distribuye por el músculo, en vez de una se producen infinidad de ondas de contracción, tan próximas y rápidas, que cada fibra muscular parece contraerse simultáneamente en todas sus partes.

Los cambios que el microscopio permite reconocer en la materia estriada durante el paso de la onda, se han estudiado atentamente en las fibras musculares de las patas de los insectos ; por desgracia, la observación de estas mutaciones es tan difícil, tan árdua su interpretación racional, que apenas hay dos autores que describan los mismos hechos, ó que describiéndolos les otorguen igual valor. En general, cada autor ha visto en la materia estriada en contracción, el mecanismo fisiológico á que le obligaba su concepción *a priori* de la textura de la fibra muscular.

Dos hechos, sin embargo, aparecen en las descripciones de casi todos los histólogos : 1.° Al paso de la onda, las líneas de Krause se aproximan y adelgazan, y el sarcolema se presenta plegado en rizos transversales. 2.° El disco claro ó substancia isótropa, se estrecha y acaba por desaparecer, presentándose todo el hueco interpuesto á las líneas de Krause como un disco homogéneo,

brillante y notablemente adelgazado (*estado homogéneo* de ciertos autores). Tocante á la importante cuestión de saber cuál de las dos especies de fibras que figuran en el haz muscular (las preexistentes ó finas y los cilindros primitivos) representa el factor activo ó contráctil, y de qué modo colaboran en el fenómeno cada uno de los discos ó rayas antes estudiadas, nada que tenga garantías de certidumbre puede decirse. Acaso sea este un problema insoluble en el estado actual de la técnica. Hacemos, pues, gracia al lector de las innumerables y contradictorias teorías que se han imaginado para explicar mecánicamente los cambios que ofrecen las fibras musculares en sus dos estados de relajación y contracción.

Génesis del tejido muscular. — Proceden las fibras musculares del mesodermo, iniciándose su evolución en las masas de tejido conectivo embrionario que rodean las protovértebras. En un principio, el corpúsculo muscular carece de estrías, y está representado por un elemento cilíndrico, granuloso, provisto de núcleo ovóideo y central. Más adelante, el núcleo se multiplica, y la periferia de la célula exhibe una corteza estriada, que va sucesivamente engrosándose: en el eje reside una sarta de núcleos, así como un cordón protoplásmico indiferenciado. Finalmente, conforme avanza la evolución, la célula se alarga notablemente, el eje protoplásmico se adelgaza hasta desaparecer, y los núcleos, oprimidos en cierto modo por la invasión creciente del material estriado, salen por ciertas discontinuidades ó ventanas de que éste se halla sembrado, para colocarse definitivamente debajo del sarcolema.

El desarrollo del material estriado puede concebirse como un fenómeno de regularización y diferenciación, ocurrido en el seno del retículo protoplásmico embrionario: á expensas del líquido de las mallas protoplásmicas, fórmanse quizá los cilindros primitivos, y mediante el crecimiento y regularización del armazón protoplásmico axial, se crean los hilos finos longitudinales y redes de las membranas de Krause. El mecanismo íntimo de estas metamorfosis, se desconoce en absoluto. Una vez llegada al estado adulto, la fibra muscular representará un elemento fijo, insusceptible de multiplicarse (Bizzozero) como las células nerviosas.

Preparación del tejido muscular. — *a) Fibras lisas.*— Para estudiar las fibras lisas pueden utilizarse cuatro procedimientos principales: la disociación, los cortes, la distensión y el método de Ehrlich.

La *disociación* debe efectuarse químicamente. En un tubo de ensayo que contenga ácido nítrico al cuarto, se abandonarán por dos ó más días pedazos de tejido muscular del intestino, vejiga, etc., de un vertebrado. Al cabo de este tiempo, el cemento de unión es destruído y las fibrocélulas se desprenden y aislan por simple agitación del líquido. La conservación podrá efectuarse en glicerina, previo lavado de la preparación, á fin de purgarla del ácido que contiene. Las preparaciones así obtenidas son muy bellas desde el punto de vista de la disociación; pero se tiñen mal por los reactivos y el núcleo apenas se distingue.

Para obtener elementos cuyos núcleos sean tingibles por el carmín, hematoxilina, etc., convendrá obtener la disociación por el alcohol al tercio, siguiendo el manual operatorio ya descrito con ocasión de la preparación de los epitelios. También la potasa puede aprovecharse como aislador; pero este reactivo es de difícil manejo y todavía altera más profundamente los núcleos que el ácido nítrico.

Los cortes se ejecutarán en trozos de esófago, estómago, intestino, etc., previa induración en el alcohol y englobamiento en celoídina ó parafina. La coloración se efectuará en hematoxilina ó carmín. La hematoxilina con eosina es un buen reactivo, pues colora en rosa el protoplasma contráctil y en violado los núcleos. También es aplicable el método de Gieson y el de la triple coloración.

La *distensión* es particularmente aplicable á membranas transparentes que contienen fibro-células. Supongamos que se trata de la vejiga de la rana : un trozo de este reservorio se extenderá por semidesecación sobre un porta-objetos; luego se lubrificará, durante algunos minutos, por el alcohol absoluto, á fin de fijar sus elementos; en seguida se hará actuar sobre él por breves instantes una solución colorante.

El *Método de Ehrlich* es también aplicable al estudio de las fibras lisas, suministrando espléndidas preparaciones, que tienen la ventaja de mostrar aquellos elementos colorados de azul intenso en medio de otros que no han atraído el color. De esta suerte se forma idea cabal de la morfología de los mismos. El manual operatorio es el del teñido de las fibras nerviosas. Supongamos que deseamos colorar las fibras musculares del intestino del conejo: se comenzará por inyectar en la aorta una solución al medio por 100 de azul de metileno de Ehrlich, se abandonarán al aire por una hora las asas intestinales, y se fijarán en molibdato amónico. Los cortes, obtenidos por endurecimiento en formol, pueden colorarse todavía con carmín de Grenacher (véase, para más detalles, el *Método de Ehrlich*, descrito en la pág. 78).

b) Fibras musculares estriadas.—Conviene estudiarlas en el vivo y tratarlas por diferentes reactivos : cloruro de oro, ácidos, álcalis, alcohol, bicromatos, etc., etc.

Examen en vivo.—A este fin son preferibles las fibras de las patas de los insectos (hidrófilo, escarabajo, cucaracha, etc.). Si operamos en el hidrófilo, debemos comenzar por arrancar una pata al animal y recoger el plasma que rezuma de la herida sobre un porta-objetos. Acto continuo se corta, á favor de tijeras finas, un pedazo del paquete muscular que aparece en el muñón, ó un trozo de los músculos interiores de las patas; se traslada la masa viva rápidamente al porta-objetos y se cubre con una laminilla, evitando ejercer sobre las fibras la menor presión. Si la maniobra se ejecuta con destreza, los haces musculares se mostrarán íntegros, sobre todo en sus porciones centrales, y no será difícil encontrar algunos recorridos por ondas de contracción. La observación se realizará de preferencia en los haces atravesados por ondas lentas ó conmovidos por débiles sacudidas.

Cabe asimismo practicar el estudio de la trama viviente del músculo en las fibras cortadas de través, procedimiento utilísimo para apreciar el valor analítico de los ácidos y de todos los agentes que revelan las redes transversales. Para ello no hay más que picar en menudos fragmentos un trozo de músculo todavía palpitante, á favor de un escalpelo bien afilado y sobre el mismo porta-objetos, lubrificado por una gota de plasma. Entre los pequeños trozos que se presentarán al examen, una vez cubierta (sin presión) la preparación, hallaremos algunos situados de punta, que mostrarán elegantes reticulaciones transversales iguales á las reveladas por el oro.

c) *Preparación por los ácidos.* — Estos agentes acentúan la textura preexistente en los haces vivos, al paso que hinchan la materia miósica y determinan á menudo la segmentación en discos. El procedimiento que muchos autores recomiendan, es la maceración del tejido vivo por veinti cuatro ó más horas, en una solución de ácido clorhídrico al 1 por 1000 ó por 500. El ácido fórmico al 1 por 100, y aun á mayor concentración (1 por 4), da igual resultado, teniendo la ventaja de actuar más rápidamente.

Pero el procedimiento más elegante para demostrar la trama preexistente de las fibras estriadas, es el de la impregnación aúrica asociada á la acción de los ácidos. Los métodos ideados son varios; pero nosotros preferimos, por su gran constancia, el siguiente, casi idéntico al de Loewit. Trozos de músculo vivo se han abandonado por cinco á diez minutos en una solución de ácido fórmico al cuarto; luego se inmergen en cloruro de oro al 1 por 100, en donde permanecen cuarenta ó sesenta minutos, y, por último, se maceran en la obscuridad, de veinticuatro á cuarenta y ocho horas, en ácido fórmico al tercio. Los trozos de músculo adquieren, al cabo de este tiempo, color violeta obscuro, son sumamente friables y se reducen á fragmentos transversales con la mayor facilidad, ya por simple compresión, ya por insistente capolamiento, á favor de un escalpelo bien afilado, sobre un porta-objetos. El examen debe efectuarse en agua ó alcohol con un fuerte objetivo de inmersión, sobre todo si se trata de músculos de vertebrado, cuyos elementos son mucho más finos que los

de los haces de los insectos. La substancia miósica aparecerá hinchada, incolora, con débil índice de refracción, pudiendo faltar por completo en los parajes más enérgicamente atacados por los ácidos. Sobre este fondo incoloro, en gran parte ocupado por el líquido reactivo, destaca la trama fibrilar del haz teñida en violeta. Los cortes transversales presentarán, con gran limpieza, las redes y los campos de Cohnheim; los longitudinales los filamentos preexistentes y sus engrosamientos, que son las partes más enérgicamente impregnadas.

d) Disociación de las fibrillas. — Ya hemos visto por el texto, que las fibrillas preexistentes sólo son en parte disociables por los ácidos y álcalis y que la acción de los coagulantes las fragmenta ó por lo menos las presta una friabilidad que imposibilita aislarlas. Pero no así las fibrillas primitivas, cuya separación es facilísima con ayuda de cualquier agente coagulante: el alcohol, el ácido ósmico, el ácido pícrico, crómico, bicromato de potasa, bicloruro de mercurio, etc. La simple maceración en agua común y aun la coagulación espontánea, son condiciones que pueden determinar la disociación.

Con todo, el medio más seguro y el que permite un estiramiento más fácil y por consiguiente la exhibición de mayor número de estrías en las fibrillas, es el alcohol flojo (de 33 á 50°). Los músculos frescos deberán abandonarse en este líquido por dos ó cuatro días, y serán disociados con las agujas por el procedimiento de la semidesecación. La preparación se teñirá por el carmín ó la hematoxilina y se montará en glicerina.

La *disociación* de las fibrillas por las agujas es facilísima en los músculos de las alas de los insectos, donde la coagulación de la miosina es, digámoslo así, sobre todo en ciertos insectos (muscidos), instantánea. Basta disociar en agua ó en plasma un trozo de músculo torácico de mosca común, para que inmediatamente aparezcan numerosas fibrillas perfectamente aisladas. La descomposición es menos fácil en otros insectos (hidrófilo, escarabajo, etc.), y todavía más dificultosa en los neurópteros, ortópteros, etc.; pero en todo caso se logra con sólo macerar el músculo algunas horas en agua común.

El procedimiento, por decirlo así, clásico de disociación, es el del alcohol al tercio. Supongamos que se trata del hidrófilo: Con unas tijeras finas, se cortan las partes laterales del tórax, cuyo caparazón se levanta por su parte inferior, poniéndose al descubierto unas masas amarillentas, opacas, que se dirigen hacia la raíz de las alas. Con unas tijeras, se tomará un poco de esta materia muscular y se trasladará al alcohol al tercio, donde se abandonará por dos ó tres días. La disociación se operará con las agujas y sin más líquido que el que empapa naturalmente las fibras recién extraídas del reactivo. La maniobra ofrece algunas dificultades que la práctica sólo puede vencer, pues no se trata de un simple desprendimiento de las fibras, cosa facilísima, sino del estiramiento y adherencia de las mismas al porta-objetos, á fin de que, al sufrir la influencia de los reactivos, permanezcan fijas y conserven todas las complicadas es-

trías reveladas por la distensión. Luego, y antes que la preparación se seque (un principio de desecación es favorable), se deposita en ella una ó dos gotas de una disolución concentrada y bien rancia de hematoxilina de Böhmer ; al cabo de algunos minutos, se lava el preparado y se monta en la glicerina ó en el bálsamo. El examen con un objetivo fuerte, mostrará muchas fibras estiradas y constituídas por numerosas bandas superpuestas, unas teñidas intensamente, otras casi absolutamente incoloras (véase la fig. 107).

El procedimiento *de los cortes*, previa fijación al alcohol y teñido, bien en la hematoxilina, bien en las anilinas, será utilísimo, tanto en los músculos de los insectos como en los de los vertebrados, para darse cuenta de la forma y asociación de los haces y de la situación y número de los núcleos. El englobamiento en la parafina proporciona las más bellas preparaciones.

e) *Fibras cardíacas.* —Serán convenientes todos los procedimientos descritos anteriormente, con especialidad el del cloruro de oro. Sólo que, para obtener preparaciones bien demostrativas, se echará mano del corazón del carnero ó del buey y no de la rana ó del conejo, cuyas fibrillas preexistentes són excesivamente delicadas y alterables.

Para la disociación, se recurrirá á la potasa al 33 ó 40 por 100. Los trozos frescos de tejido cardíaco se abandonarán por media á una hora en este reactivo, y luego se disociarán en él á beneficio de las agujas. El examen, que deberá hacerse en el líquido reactivo, mostrará los elementos cardíacos sueltos ó medio desprendidos, y revelará los núcleos sumamente pálidos y homogéneos por disolución de su cromatina.

f) *Unión de las fibrillas estriadas y los tendones.*— Los cortes de preparados (fijados con alcohol ó con ácido ósmico) que contengan ambos tejidos, darán ya una idea aproximada. Los músculos preferibles son los intercostales en su punto de inserción en los cartílagos.

El procedimiento de los ácidos y cloruro de oro es también un buen recurso, pues demuestra claramente la terminación de las fibras preexistentes por dilataciones cónicas y los núcleos del sarcolema. Weisman ha recomendado la maceración de las fibrillas vivas en la potasa al 40 por 100 (por media á una hora).

Tienen estos procedimientos el inconveniente de no mostrar bien la presencia del sarcolema entre el tendón y lo materia estriada. A fin de denunciar esta membrana y refutar la vieja opinión de que las fibrillas musculares se continúan con las tendinosas, Ranvier recomienda un medio singular que consiste en asfixiar una rana, sumergiéndola hasta que quede rígida, en agua á 55°. Examinadas las fibras en su unión con los tendones, se ve el extremo de la materia estriada fuertemente retraído, mientras que el sarcolema permanece en su sitio, fijo al haz tendinoso, al que adhiere mediante una substancia muy tenaz. La potasa recomendada por Weissman, obra, según Ranvier, de la propia manera.

CAPITULO XI

TEJIDO NERVIOSO

Definicion. — Es un tejido de origen ectodérmico, compuesto de corpúsculos muy diferenciados, generalmente estrellados y provistos de largas expansiones ramificadas, una de las cuales, mucho más larga que las otras, tiene por objeto ponerlos en relación dinámica, bien con elementos distantes de igual naturaleza, bien con células de tejidos subordinados (musculares, glandulares y tegumentarias).

Division. — Consta el tejido nervioso de tres factores de construcción : las *células nerviosas*, los *elementos neuróglicos*, y las *fibras nerviosas*. Estas últimas no representan elementos independientes, sino mera continuación del cilindro-eje ó expansión larga de los corpúsculos nerviosos de los centros.

1.° **Células nerviosas.** — Estos corpúsculos, llamados también *neuronas* (Waldeyer), son, por lo común, voluminosos, ricos en protoplasma ; de su reunión resulta la substancia gris del encéfalo y médula, así como la trama de los ganglios simpáticos y raquídeos.

En ellos hay que considerar : la *talla*, la *morfología* y la *estructura*.

Talla. — Llega en las células del asta anterior de la médula, á 70 y más micras; pero existen también estaturas diminutas, como las de los granos del cerebelo y del bulbo olfatorio, que no pasan de 7 μ. La dimensión más común, medida de un extremo á otro del cuerpo celular y sin contar las expansiones, es de 35 á 40 μ.

Forma. — La figura de los corpúsculos nerviosos es muy variable, y con ella se relaciona la especialidad de su función. Bajo este aspecto, distínguense las siguientes variedades celulares : 1.°, *corpúsculos monopolares*, es decir, provistos de una sola

expansión, que suele bifurcarse ó ramificarse á poca distancia de su arranque (espongioblastos de la retina y células piriformes de los ganglios raquídeos); 2.°, *células bipolares* ó sean dotadas de dos apéndices contrapuestos, uno dirigido generalmente hacia una superficie sensible, y otro que marcha hacia regiones más profundas, á veces hacia el eje encefalo-medular (célu-

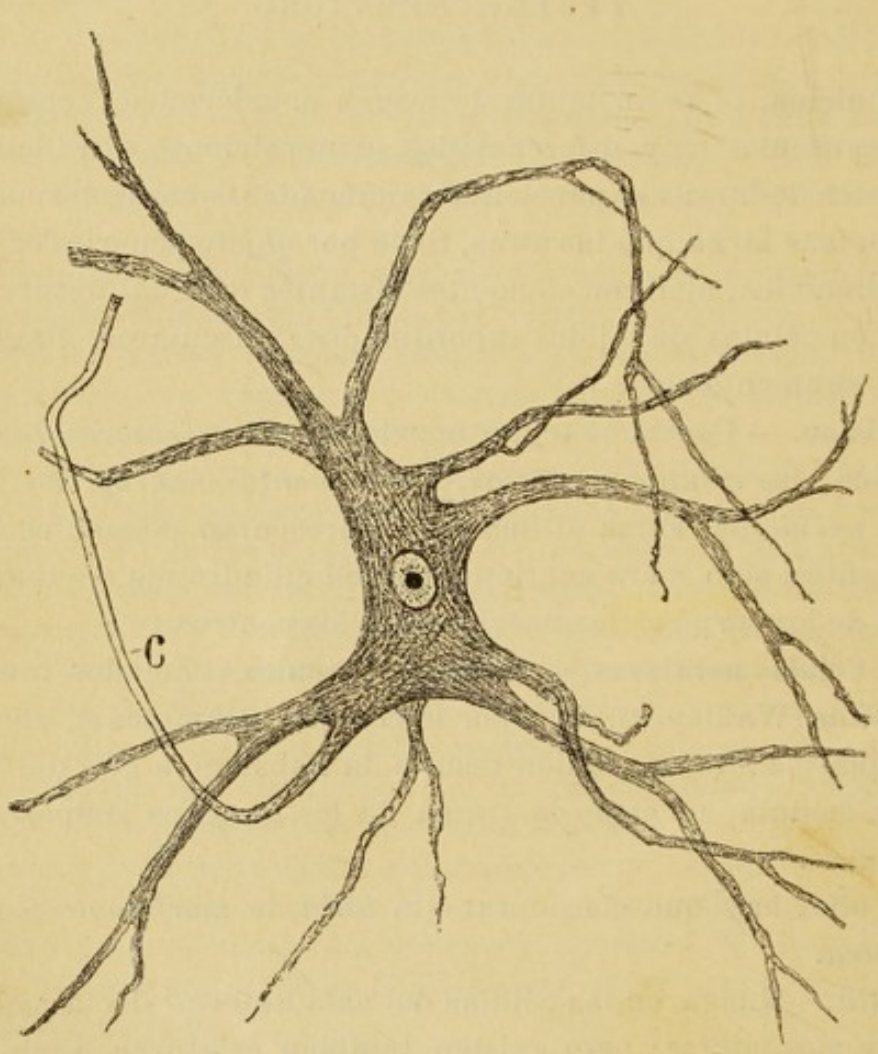


Fig. 114. — Célula nerviosa del asta anterior de la médula espinal del buey. — C, cilindro-eje.

las de la mucosa olfatoria, bipolares de la retina, células del ganglio espiral del caracol, etc.); 3.°, *células multipolares*, así designadas por exhibir tres ó más prolongaciones generalmente ramificadas y terminadas libremente (casi todos los corpúsculos del cerebro, cerebelo, médula y gran simpático) (fig. 114).

En las células multipolares, no todas las expansiones tienen el

mismo aspecto é igual longitud. Desde los memorables trabajos de Deiters, confirmados por Gerlach, Kölliker, Golgi, Ranvier, etc., quedó plenamente demostrado que dichos elementos poseen dos especies de prolongaciones: las *protoplásmicas* ó *ramificadas*, caracterizadas por su cortedad, frecuentes dicotomías y aspecto granuloso y hasta dentellado; y la *nerviosa, cilindro-eje* ó *filamento de Deiters*, cuyas propiedades son: gran longitud y finura, carencia de asperezas y dentellones, y suministrar colaterales nacidas en ángulo recto. (Fig. 115). Golgi probó que las prolongaciones protoplásmicas se terminan libremente por extremos puntiagudos en plena substancia gris; y las presunciones de His y Forel, confirmadas y convertidas en hechos de observación por nosotros,

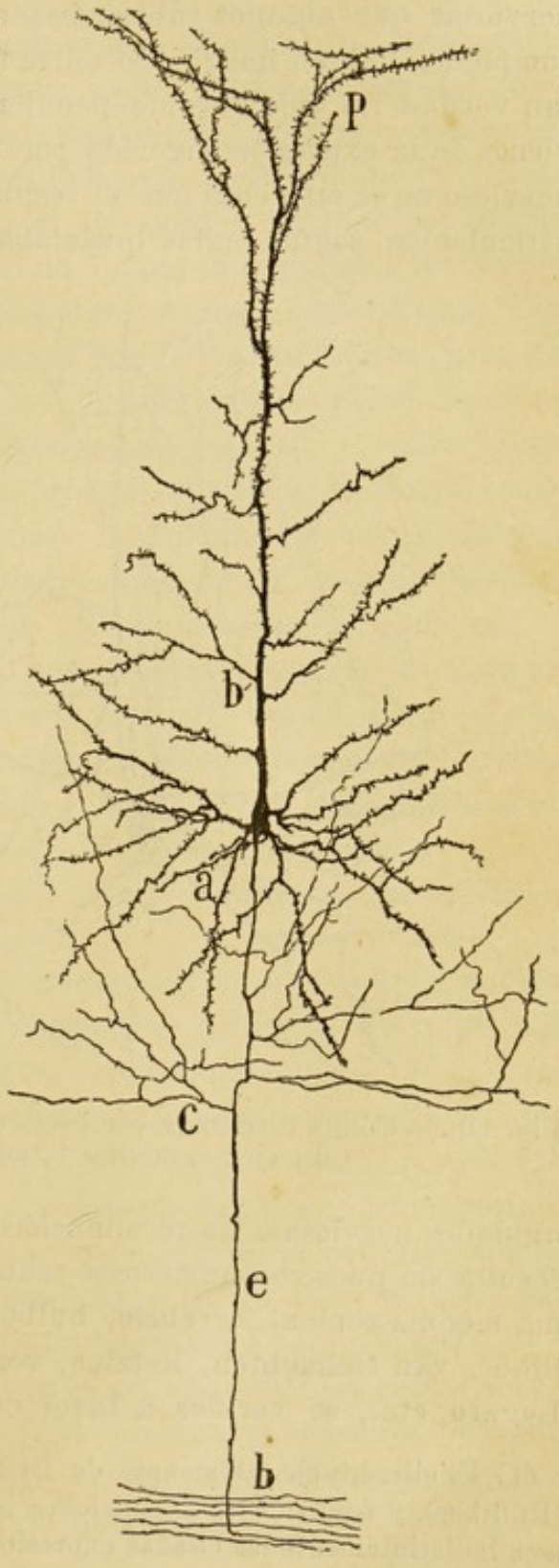


Fig. 115. — Célula piramidal del cerebro del conejo. Tipo celular de cilindro-eje largo. — *a*, expansiones protoplasmáticas basilares; *b*, tallo y sus ramas; *c*, colaterales del cilindro-eje; *e*, cilindro-eje largo; *d*, substancia blanca.

han conducido á admitir igual modo de terminación para el cilindro-eje ó filamento de Deiters (1). No existen, pues, las redes nerviosas que algunos sabios, basándose en observaciones incompletas, habían imaginado entre las células ; éstas representan verdaderas unidades independientes ó *neuronas* — para servirnos de la expresión sugerida por Waldeyer — y cada centro nervioso no es otra cosa que el resultado de la superposición ó articulación, según reglas invariables, de un gran número de

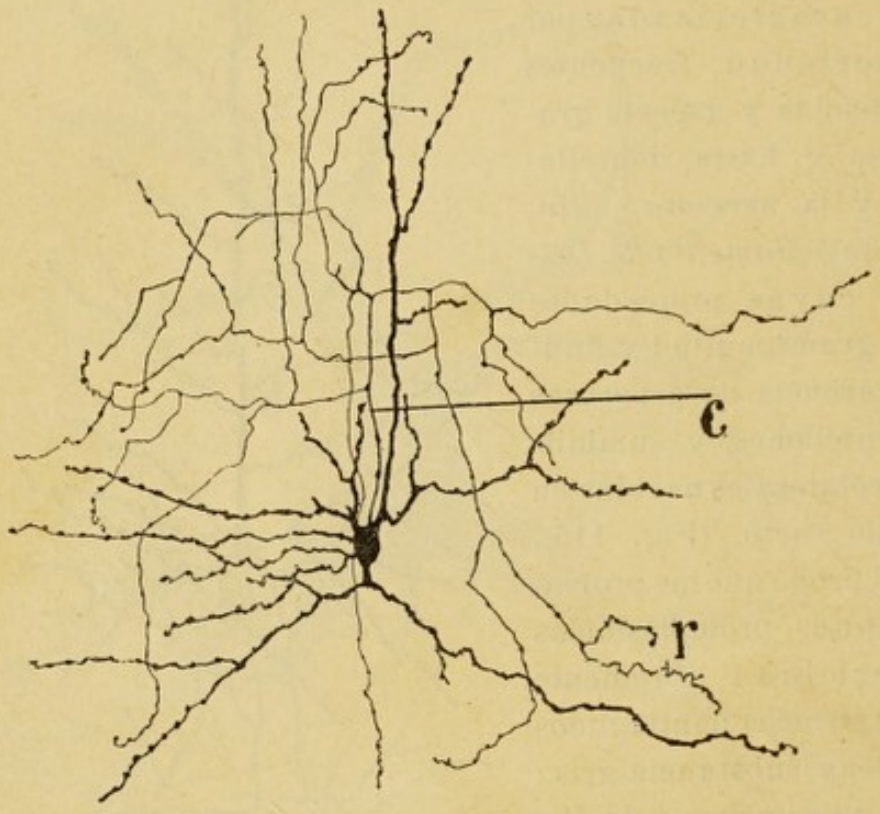


Fig. 116. — Célula de cilindro-eje corto de la corteza cerebral ; *c*, cilindro-eje ; *r*, ramitas terminales de éste.

unidades nerviosas. La terminación de los cilindros-ejes, según resulta de nuestros numerosos trabajos sobre el cerebro, retina, médula espinal, cerebelo, bulbo, confirmados por His, Kölliker, van Gehuchten, Retzius, von Lenhossék, Sala, Falcone, Lugaro, etc., se verifica á favor de arborizaciones ó ramifica-

(1) El cilindro-eje ó filamento de Deiters se denomina también *axon* (Kölliker), y *dendritas* las expansiones protoplàsmicas. Nosotros usaremos indistintamente las citadas expresiones.

ciones libres, varicosas y flexuosas que se aplican, ora al cuerpo de las células, ora á la superficie de las prolongaciones protoplásmicas.

Bajo el aspecto de la longitud del cilindro-eje ó del carácter de las prolongaciones celulares, cabe todavía distinguir tres variedades de corpúsculos multipolares : 1.°, células con expansiones protoplásmicas, cuyo cilindro-eje conserva su individualidad, á pesar de las colaterales que suministra, marchando á distribuirse á otro centro nervioso ó á órganos situados fuera de los centros (*células motrices* de Golgi, *células de cilindro-eje largo*, de Cajal); 2.°, elementos cuyos filamentos de Deiters, poco después de su origen, se resuelven en una extensa ramificación terminal, situada entre los elementos inmediatos ó pertenecientes á la misma masa ganglionar (*células sensitivas* de Golgi, *células de cilindro-eje corto* de Cajal) ; 3.°, elementos cuyas múltiples expansiones no presentan distinción marcada en protoplásmicas y nerviosas, reproduciendo los corpúsculos ganglionares, de apéndices no diferenciados morfológicamente, de los animales invertebrados (gusanos, crustáceos, moluscos ó insectos, etc.). A esta especie pertenecen algunos espongioblastos de la retina, los granos del bulbo olfatorio y las *células especiales* de la primera capa cerebral (*Cajal'sche Zellen de Retzius*).

Estructura.— Comprende lo relativo al núcleo, protoplasma y membrana.

El *núcleo* es voluminoso, esférico, y consta de una fina cubierta acromática, de un contenido grumoso pálido, á veces dispuesto en red, y de un nucleolo robusto, perfectamente circular, homogéneo y colorable por el carmín, hematoxilina y anilinas. Falta, pues, en casi todas las células nerviosas el armazón cromático que tan vivamente se tiñe en otros elementos ; se exceptúan, sin embargo, algunos corpúsculos pequeños del cerebro, cerebelo y retina, cuyos núcleos exhiben una red muy aparente de cromatina, á más de un fino nucleolo (granos del cerebelo y del bulbo olfatorio, células bipolares de la retina, etc.). La concentración de toda la cromatina en nucleolo, es tanto más acentuada cuanto más voluminosa es la célula. Algunos autores, invocando la fácil coloración de dicho grueso nucleolo por las anilinas ácidas,

tienden á estimarlo como formado, no de nucleína, sino de una substancia especial (Levi, Lenhossék).

La *membrana celular* es de extraordinaria finura, y sólo se percibe apelando á los más fuertes objetivos (1'60 apocrom. de Zeiss); á causa de esta delicadeza, ha sido negada por varios

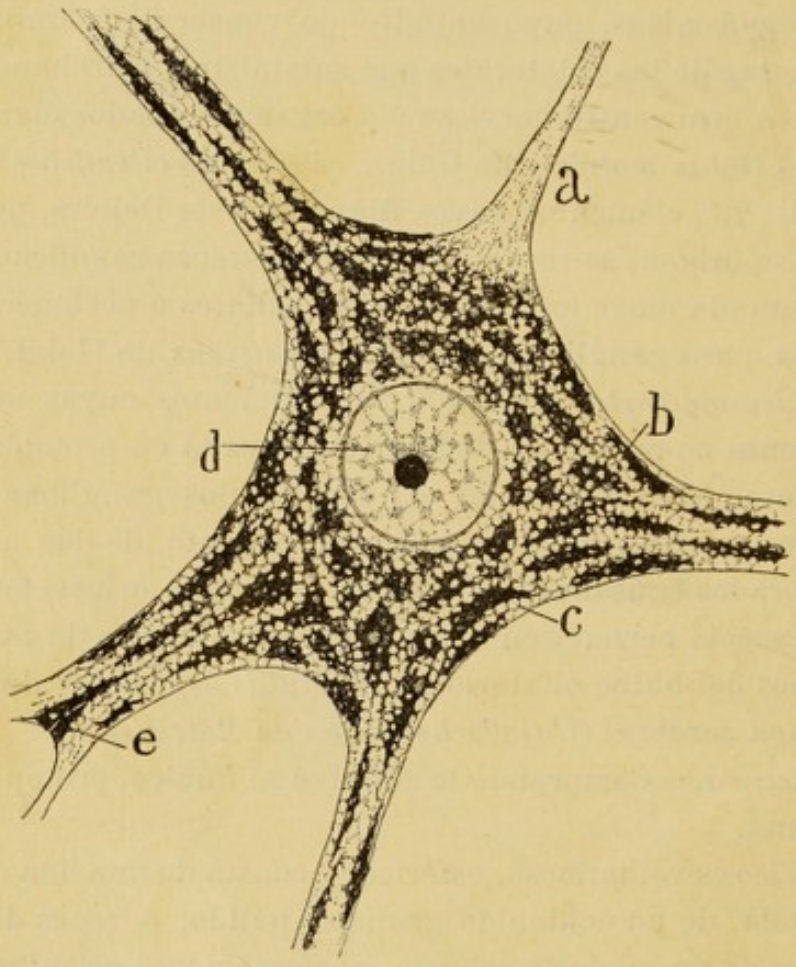


Fig. 117. — Célula motriz de la médula espinal del conejo. Coloración por la tionina.— *a*, cilindro-eje ; *b*, grumo cromático ; *d*, núcleo ; *c*, espongioplasma ; *e*, cono de bifurcación.

autores. Las células del asta anterior de la médula, los corpúsculos de Purkinje y las grandes pirámides del cerebro y hasta de Ammon, son los elementos más á propósito para discernirla. Esta cubierta aparece como una corteza pálida, exenta de gránulos y estrías, que se prolonga en torno de las expansiones protoplásmicas y el cilindro-eje.

El *protoplasma* se muestra finamente granuloso, examinado

en estado fresco y á regulares aumentos. En un lado del cuerpo celular suele existir un islote de granos morenos redondeados, probablemente formados de melanina. A estos granitos se debe, quizá, el color moreno de la substancia gris del cerebro y médula.

Como en todo protoplasma, se ha descrito en el de las células nerviosas un armazón ó espongioplasma de finas hebras, separado por un jugo celular sembrado de inclusiones ó gránulos. Máximo Schültze creía que estas fibrillas eran independientes, y que llegadas al cuerpo celular por las expansiones de éste,

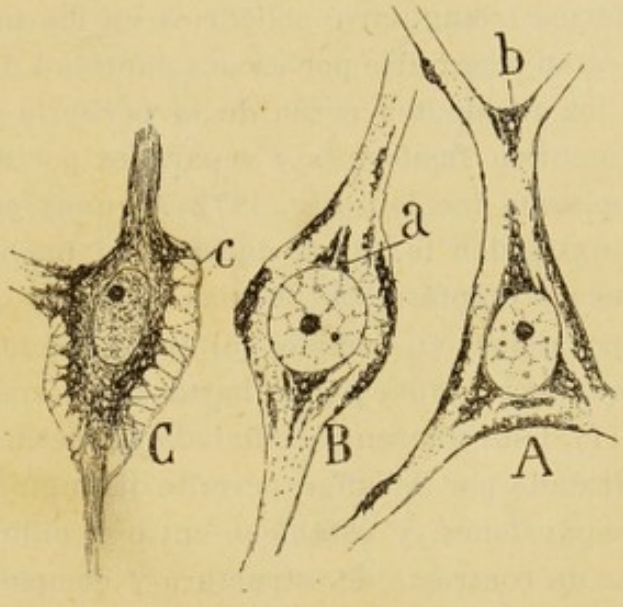


Fig. 118. — Células de mediano volumen (funiculares), de la médula del perro recién nacido (método de Nissl). — A, célula triangular con grumos cromáticos vueltos hacia las expansiones ; B, célula fusiforme con dos capuchones nucleares ; C, célula retraída con vacuolas periféricas.

formaban haces divergentes y entrecruzados en la masa protoplásmica. Entre los filamentos, suponía este sabio la existencia de una substancia granulosa. Semejante opinión es todavía sostenida hoy por Flemming, Ranvier, Kronthal, Dogiel, etc. (figura 114). Sin embargo, el examen del protoplasma nervioso con los mejores apocromáticos, no da una textura fibrilar, sino reticular ó esponjosa, que se prolongaría con una rejilla de mallas longitudinales situada en el axon y expansiones dendríticas. Parecido dictamen han formulado Lenhossék, Held, Bustchli, Marinesco y otros (fig. 117).

Además de este armazón ó espongioplasma, las investigaciones de Nissl, Schäffer, etc., realizadas con un método especial de coloración, han revelado un nuevo factor protoplásmico : los *grumos ó husos cromáticos.*

Cuando se tiñen por el rojo magenta, azul de metileno β, ó la tionina, etc., las gruesas células del asta anterior de la médula, previa induración en alcohol, es advierten, en medio de una masa protoplásmica casi incolora, unos cuerpos fuertemente coloreados, de un tamaño superior al de los gránulos ordinarios, puesto que miden un diámetro d 1 $^1/_2$ á 3 μ. Semejantes *grumos cromófilos* afectan forma triangular ó poliédrica en las inmediaciones del núcleo y están separados por escasa cantidad de substancia pálida ; mas los residentes cerca de la periferia se muestran alargados, á menudo fusiformes y separados por mayor cantidad de protoplasma incoloro (fig. 117). Algunos pocos grumos cromófilos se extienden también, durante un buen trecho, por las expansiones protoplásmicas, en las cuales se disponen en largos husos paralelos ; en cambio, faltan completamente en el cilindro-eje, que se presenta pálido hasta en su mismo cono de origen (fig. 117). Esta diferencia señalada primeramente por Simarro y confirmada por Schaffer, permite distinguir bien ambas especies de expansiones, y establece entre el cilindro-eje y el cuerpo celular un contraste de estructura y composición química, que debe guardar relación con la distinta actividad funcional de ambas partes celulares.

Recientes investigaciones nuestras, nos permiten afirmar que los grumos cromáticos exhiben en su interior un espongioplasma vacuolado, de trabéculos continuados con el armazón del protoplasma. Asimismo hemos notado que los grumos de Nissl no están colocados al azar dentro de la célula, sino que aparecen constantemente emplazados en los parajes por los cuales no pasan nunca los cauces ó líneas de conducción nerviosa (Lugaro, Cajal) ; por donde cabe conjeturar que los tales grumos desempeñan en la fisiología celular un papel pasivo, probablemente de naturaleza nutritiva (fig. 118). Las observaciones de Lugaro, Man, Marinesco y otros, prueban además que los referidos grumos pueden sufrir grandes alteraciones en condiciones patológicas.

Células de neuroglia ó de Deiters. — Entre las células y tubos nerviosos de los centros, residen unos corpúsculos menudos, de cuerpo estrellado y guarnecidos de largas, finas y abundantes expansiones divergentes (fig. 119). En las preparaciones por disociación, previa maceración en bicromato de potasa, se nota que estas expansiones proceden á menudo de eminencias cónicas y aun de verdaderas crestas protoplásmicas, y que en su camino se ramifican una ó dos veces, terminando libremente. El

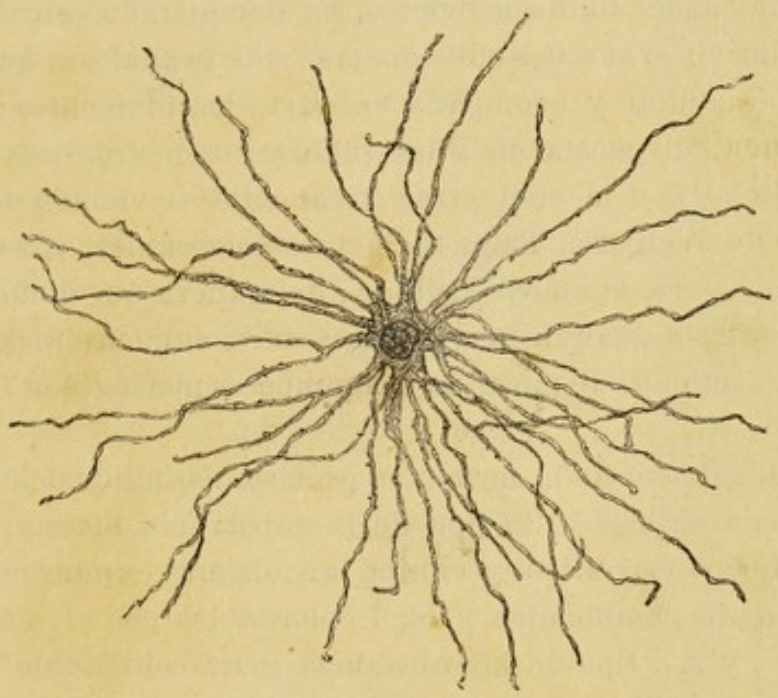


Fig. 119. — Célula de neuroglia de la substancia blanca de la médula espinal. Disociación por el bicromato de potasa diluído. Coloración con carmín.

núcleo ocupa casi todo el cuerpo celular, y á diferencia del de los elementos nerviosos, exhibe una red cromática bien aparente y dispuesta en capa cortical, por debajo de la membrana acromática.

La abundancia, finura, escasas dicotomías y aspecto granuloso y flexuoso de los apéndices de las células neuróglicas, distinguen perfectamente estos elementos de los nerviosos. De la reunión de semejantes apéndices, entrecruzados de mil modos, resulta la trama ó plexo de hilos que separa los tubos de la subs-

tancia blanca y algunas células de la gris. A favor del método de Golgi, se reconoce fácilmente que esta trama es un plexo y no una red como algunos autores habían creído. Por lo demás, hoy se admite, casi sin excepción, que tanto los apéndices neuróglicos, como los de las células nerviosas, acaban libremente sin anastomarse jamás.

Los recientes estudios de Weigert (1895) han puesto de manifiesto una importante particularidad de las fibras neuróglicas. A favor de un método especial de coloración (véase más adelante la técnica del tejido nervioso), ha demostrado este sabio en las células en araña dos substancias : una granulosa, que forma el cuerpo celular y acompaña en parte los filamentos ; y otra homogénea, dispuesta en hilos (filamentos neuróglicos propiamente dichos), y la cual atrae vivamente el violado de metilo (método de Weigert). Tales filamentos coloreables atravesarían de parte á parte el cuerpo celular ; de manera que dicho cuerpo con su materia granulosa, vendría á ser solamente un punto de entrecruzamiento de multitud de filamentos neuróglicos independientes.

Bajo el aspecto de la forma, es preciso distinguir dos tipos de células neuróglicas : 1.°, tipo de la substancia blanca, el cual adopta forma estrellada y exhibe larguísimas expansiones lisas poco ó nada ramificadas y bien coloreables por el método de Weigert ; y 2.°, tipo de la substancia gris, constituído por elementos estrellados alargados ó fusiformes, provistos de expansiones ordinariamente más cortas, erizadas de espinas ó de apéndices verrugosos colaterales, que las prestan aspecto de plumas. Las expansiones de estos corpúsculos atraen poco ó nada el violado de metilo, y representan el armazón que mantiene aisladas las neuronas, las expansiones protoplásmicas y las fibras nerviosas no meduladas (Cajal y Terrazas).

Fibras nerviosas. — Como ya hemos expuesto anteriormente, las fibras nerviosas representan mera continuación de la expansión de Deiters ó cilindro-eje de las células de los centros.

Llámanse *nervios ó cordones nerviosos* los órganos extracentrales construídos por la asociación de las expansiones nerviosas que llevan un mismo camino. La asociación intra-central

(cerebro, médula) de dichos cilindros-ejes, engendra la substancia blanca del eje encéfalo-raquídeo.

Divídense los tubos ó fibras nerviosas en dos variedades: *fibras medulares* ó de los nervios cerebro-raquídeos; *fibras amedulares, de Remak* ó del gran simpático. Las primeras han tomado el apelativo de medulares, por ofrecer una cubierta de mielina, especie de barniz grasiento aislador de la corriente nerviosa; y las de Remak ó amedulares desígnanse así por carecer de dicha envoltura.

Las fibras de Remak son la continuación de los cilindros-ejes de las células de los ganglios del gran simpático, y se encuentran especialmente en los nervios nacidos de este sistema ganglionar; mientras las fibras medulares representan ó la expansión periférica de un corpúsculo sensitivo yacente en los ganglios raquídeos, ó el cilindro-eje de una célula motriz de la médula ó encéfalo, y residen en los nervios ó pares encéfalo-raquídeos.

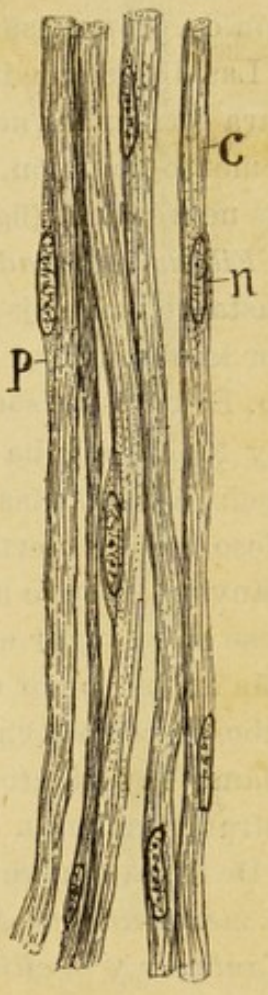


Fig. 120. — Fibras de Remak disociadas de un nervio simpático. — *c*, cilindro-eje; *n*, núcleo; *p*, protoplasma que envuelve un trozo del cilindro-eje.

Fibras amedulares. — Cuando se disocia un nervio emergido de un ganglio simpático, se reconocen unas fibras pálidas, cilíndricas, de 3 á 5 μ de espesor, de contorno neto y exento de membrana aparente. De trecho en trecho, presentan estas fibras ciertos núcleos elipsoides de 20 á 30 μ de largo, por 3 á 5 μ de gruesos, los cuales se superponen estrechamente á las mismas; el protoplasma que los rodea es escaso, granuloso, se acumula algo en los polos nucleares y se prolonga bajo la forma de fina membrana, que recubre una buena parte del cilindro-eje. Ignórase si este forro protoplásmico es continuo ó discontinuo, pues no se aprecian bien los límites de cada terri-

torio celular. Tocante á la fibra nerviosa propiamente dicha, exhibe un aspecto pálido y ligeramente estriado á lo largo ; su contorno está bien deslindado del forro protoplásmico, como lo prueba la circunstancia de que el método de Golgi tiñe la fibra en negro, dejando absolutamente incoloro el núcleo y su expansión de protoplasma.

Las fibras ameduladas se reunen en hacecillos longitudinales para formar los nervios de la vida orgánica ; entre ellas yace un cemento de unión, así como las expansiones de numerosas células neuróglicas (fig. 120).

Fibras meduladas. — Son verdaderos tubos de composición bastante compleja, que se distinguen fácilmente al microscopio por la obscuridad de sus bordes y presencia de un doble contorno. Estos tubos son cilíndricos y de un diámetro oscilante entre 6 y 10 μ. Como ha demostrado Ranvier, de trecho en trecho, es decir, á distancias variables entre $^1/_2$ á 2 milímetros, el tubo nervioso exhibe ciertos cuellos ó estrecheces (*estrangulaciones* de Ranvier), á cuyo nivel la mielina queda interrumpida, observándose en su lugar un disco transversal de cemento. Este disco se tiñe en negro por el nitrato de plata, y destaca en claro en los tubos nerviosos ennegrecidos por el ácido ósmico (fig. 121, *d*). Llámase *segmento inter-anular* el intervalo que existe entre dos estrangulaciones.

De fuera á adentro, los tubos nerviosos tienen que estudiar : la *membrana de Schwan*, los *núcleos*, la *mielina*, la *vaina de Mauthner* y el *cilindro-eje*.

a) *Membrana de Schwan.* — Es una cubierta hialina, elástica, que rodea el tubo nervioso, moldeándose exactamente á la mielina. Al nivel de las estrangulaciones, recibe la inserción de los discos de cemento, y se continúa por fuera de éstos para pasar á otro segmento inter-anular. Resiste esta membrana á la potasa, y no se tiñe por los reactivos colorantes.

b) *Núcleos.*—Cada segmento inter-anular posee un sólo núcleo alargado, adherido exteriormente á la membrana de Schwan, y emplazado por dentro en una foseta ofrecida por un segmento de mielina (fig. 121, *n*). En torno del núcleo se ve un acúmulo de protoplasma extendido por debajo de la vaina de Schwan hasta

una distancia que no es fácil precisar. Lo que puede asegurarse es que este protoplasma se adhiere íntimamente á la membrana citada, de la que al parecer representa una dependencia, mientras que del lado de la mieliena sus vínculos son mucho más flojos. Es imposible confirmar la opinión de Ranvier, á saber : que la capa de protoplasma envuelve los segmentos de mielina, constituyendo un forro para todos los órganos constitutivos de cada segmento inter-anular.



Fig. 121. — Tubo nervioso tratado por el ácido ósmico. — *d*, disco de soldadura y estrangulación de Ranvier ; *c*, cisuras de Lanterman ; *n*, núcleo del segmento inter-anular ; *p*, protoplasma que le rodea.

c) *Mielina.* — Es una materia oleaginosa, sumamente refringente, dispuesta en espesa cubierta en torno del cilindro-eje. En los tubos nerviosos vivos, la capa de mielina es homogénea y de bordes correctos ; mas después de la muerte, esta materia se coagula, afectando la forma de grumos irregulares (anillos, hilos, redes, etc.), que prestan al tubo nervioso aspecto tortuoso y moniliforme.

La mielina ofrece dos clases de interrupciones : interrupciones grandes, transversales, que corresponden á los discos tranversales de cemento (fig. 121, *d*); y discontinuidades finas, oblicuas, muy numerosas, que han sido designadas *cisuras de Schmidt* ó de Lanterman.

Las *cisuras* de Lanterman son circulares y fragmentan la mielina de cada segmento inter-anular en una serie de cilindro-conos superpuestos é imbricados. La materia de estas estrías es clara en las preparaciones tratadas por el ácido ósmico ; pero, en ciertas condiciones, se tiñe en negro por el nitrato de plata, por lo que algunos autores (Koch, Schiefferdeker, etc.), la consideran como un cemento de unión permeable

á los líquidos nutritivos, y análogo al de los discos transversales. En el espesor de este cemento residiría, según Golgi y Rezzonico, un aparato infundibuliforme constituído por un hilo

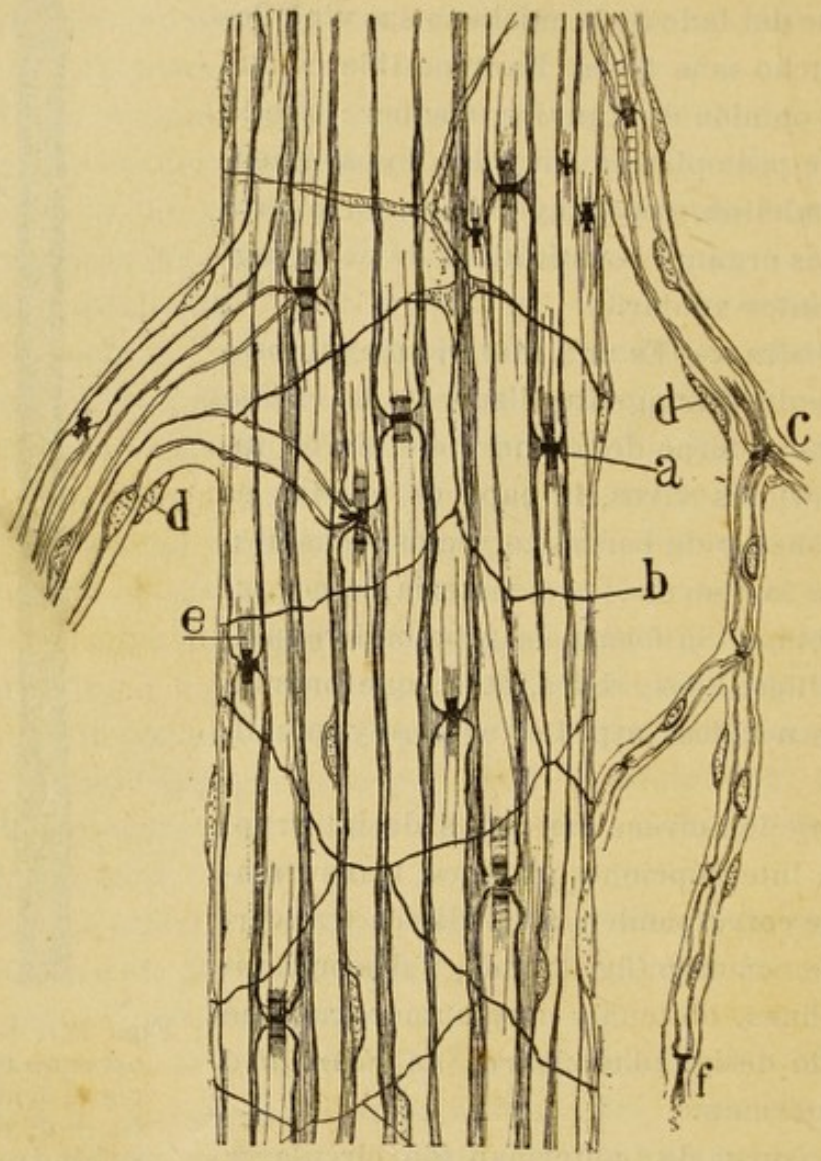


Fig. 122. — Nervio de rana teñido por el nitrato de plata. — *a*, disco de soldadura y estrangulación ; *b*, líneas del endotelio que envuelve el haz nervioso ; *e*, cilindro-eje colorado por el nitrato de plata ; *c*, división de un tubo nervioso.

elástico espiróideo. Gedoelst, en cambio, niega la existencia de esta espira, y admite unos puentes verticales que, pasando á través de la cisura, pondrían en comunicación ciertas redes que, según este autor, constituirían la trama de la vaina de mielina.

Estas y otras disposiciones descritas por ciertos autores, nos parecen productos artificiales debidos á la acción de los reactivos (fig. 123, *f*).

d) *Vaina de Mauthner.* — En torno del cilindro-eje, y debajo de la mielina, existe una capa de líquido transparente, en el cual los reactivos producen precipitaciones protéicas. Este líquido representa un plasma de nutrición del cilindro-eje, y se comunica con el interior de un modo indirecto, á través de las cisuras de Lanterman y de los discos transvesales (figura 123, *d*).

e) *Cilindro-eje.* — Así se designa la expansión celular nerviosa que ocupa el centro del tubo medular y sirve de hilo de collar para los segmentos inter-anulares. Su forma es cilíndrica y uniforme ; su superficie es lisa y su consistencia semiblanda, como lo prueban las deformaciones que dicha fibra sufre tras la menor presión ó estiramiento. Al nivel de las estrangulaciones de Ranvier, el cilindro-eje atraviesa por el centro del disco transversal de cemento, disco cuyo objeto parece ser el mantener la posición axial de la fibra y aislarla de la membrana de cubierta.

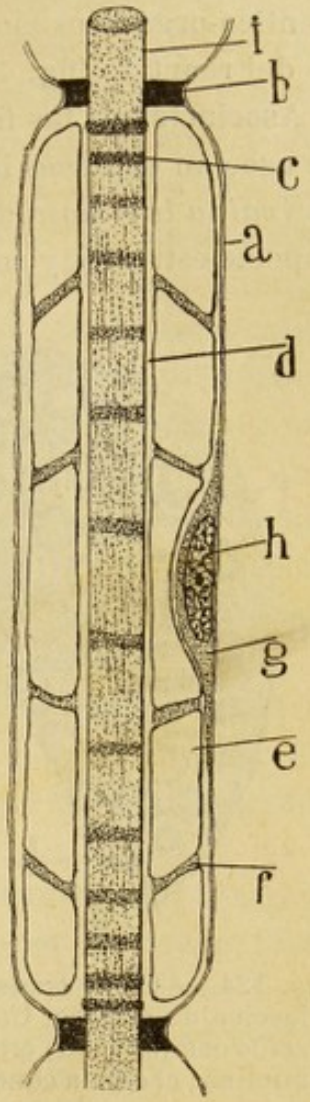


Fig. 123.—Esquema de un tubo nervioso medulado. — *a*, vaina de Schwan ; *b*, disco transversal ; *c*, estría de Frohmann ; *d*, vaina de Mauthner ; *e*, cilindros-conos de mielina ; *f*, cisuras de Lanterman ; *h*, núcleo ; *g*, protoplasma que envuelve el núcleo ; *i*, cilindro-eje.

En estado fresco, el cilindro-eje aparece pálido, finamente granuloso y con estriaciones longitudinales que indican una textura fibrilar. El nitrato de plata lo tiñe en negro ó moreno, pero no de un modo uniforme, sino en bandas alternadas con espacios claros. Estas bandas negras, llamadas *estrías de Fromann*, no

preexisten en el tubo nervioso fresco; así que pudiera suceder que se tratara, como imaginan algunos, de meros depósitos argentico-orgánicos motivados por la acción coagulante y alterante del reactivo (fig. 123, *c*).

Asociacion de las fibras en los nervios. — Los tubos medulados se asocian en haces individualizados por una membrana laminosa (*vaina laminosa* de Ranvier, *perineuro* de Key y Retzius), de aspecto estriado, y compuesta de varias hojas conectivas concéntricas, entre las cuales y revistiendo ciertos huecos anulares que resultan, habitan células endoteliales. La impregnación argéntica revela limpiamente los contornos de estas últimas, como puede verse en la fig. 122, *b*. Entre los tubos nerviosos de cada haz se hallan ciertos corpúsculos neuróglicos provistos de largas expansiones divergentes, las cuales separan las fibras nerviosas impidiendo los contactos. La trama de hilos brillantes y no anastomosados resultante del entrecruzamiento de dichos apéndices neuróglicos, ha sido tomada por Ranvier como un tejido conectivo modificado, aunque igual en el fondo á la variedad laxa (*tejido conectivo intra-fascicular* de Ranvier).

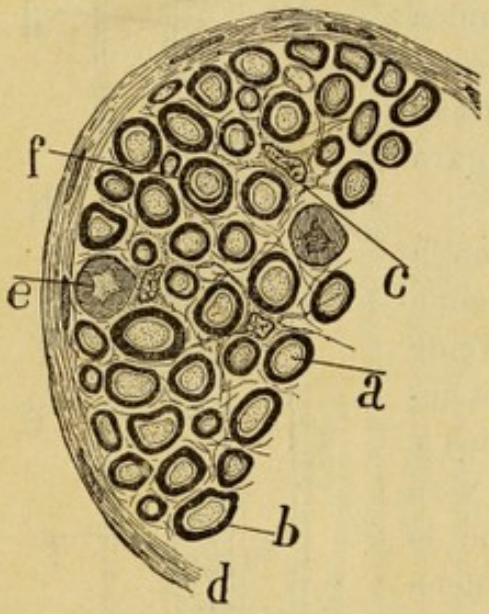


Fig. 124. — Corte transversal de un fascículo nervioso. Coloración con ácido ósmico. — *a*, cilindro-eje ; *b*, mielina; *c*, célula conectiva intersticial ; *e*, corte de un tubo al nivel ó cerca de la estrangulación ; *d*, vaina laminosa.

Los nervios pequeños están constituídos exclusivamente por un haz, y aparecen rodeados por la vaina laminosa citada; pero los cordones nerviosos robustos constan de varios haces, entre los cuales se ven tabiques de tejido conectivo laxo ricos en vasos sanguíneos. Alrededor del nervio existe una membrana conectivo-vascular, continuada con la *pia-mater*, y conocida con el nombre de *neurilema*.

Terminaciones nerviosas.—El origen de las fibras nerviosas ha quedado indicado anteriormente; es siempre el cilindro-eje ó expansión de Deiters de un corpúsculo nervioso. La terminación es también idéntica en todas ellas, verificándose á favor de ramificaciones libres varicosas, exentas de mielina y superpuestas, ora á células glandulares, ora á corpúsculos epiteliales, ora á otros elementos ganglionares. En unos casos, la ramificación nerviosa aparece desnuda, poniéndose directamente en contacto con los elementos (células glandulares, epiteliales de la piel); en otros las ramillas terminales están guarnecidas y protejidas por aparatos especiales (corpúsculos de Krause, Pacini, etc.).

En general, toda fibra nerviosa medulada próxima á su terminación, se aparta del haz de que formaba parte, llevándose consigo una hojuela homogénea continuada con la vaina laminosa, y destinada á reforzar la membrana de Schwan.

Esta fina cubierta adventicia yace á distancia de la vaina de Schwan, y ha sido designada por Ranvier, *vaina de Henle*. En su espesor contiene, de trecho en trecho, unos núcleos alargados (fig. 122, *d*).

El tubo nervioso propiamente dicho, se ramifica repetidamente, engendrando, ya por división en Y, ya en T, ramas hijas sucesivamente más delgadas; tales divisiones se verifican constantemente al nivel de las estrangulaciones, advirtiéndose que los segmentos inter-anulares de los nuevos tubos, son cada vez más cortos y estrechos. Al abordar la fibra el corpúsculo ó el aparato terminal á que va destinada, pierde primeramente la vaina de Henle, que se continúa con la cubierta del corpúsculo inervado, abandona después la corteza de mielina y la cubierta de Schwan, y, reducida á un cilindro-eje desnudo, se dilata en una ramificación varicosa terminal ó se prolonga en un simple tallo acabado por un engrosamiento.

Las terminaciones nerviosas se dividen en cuatro clases: *motrices*, *sensitivas*, *glandulares* y *sensoriales*.

1.° **Terminaciones motrices.**—Tienen lugar, ora en los músculos de la vida de relación, ora en los de la vida orgánica. A los primeros van á parar los tubos nerviosos nacidos en las células

de las astas anteriores de la médula ; en los segundos acaban fibras procedentes de las células del gran simpático.

a) *Terminaciones en las fibras musculares estriadas.* — En el punto donde se ramifica la fibra nerviosa, el haz muscular exhibe una placa redondeada, granulosa y sembrada de núcleos (*placa motriz, colina de Doyère*). Esta placa representa un resto de protoplasma muscular todavía no convertido en material estriado, y sus conexiones son, por fuera, el sarcolema, y por dentro, la

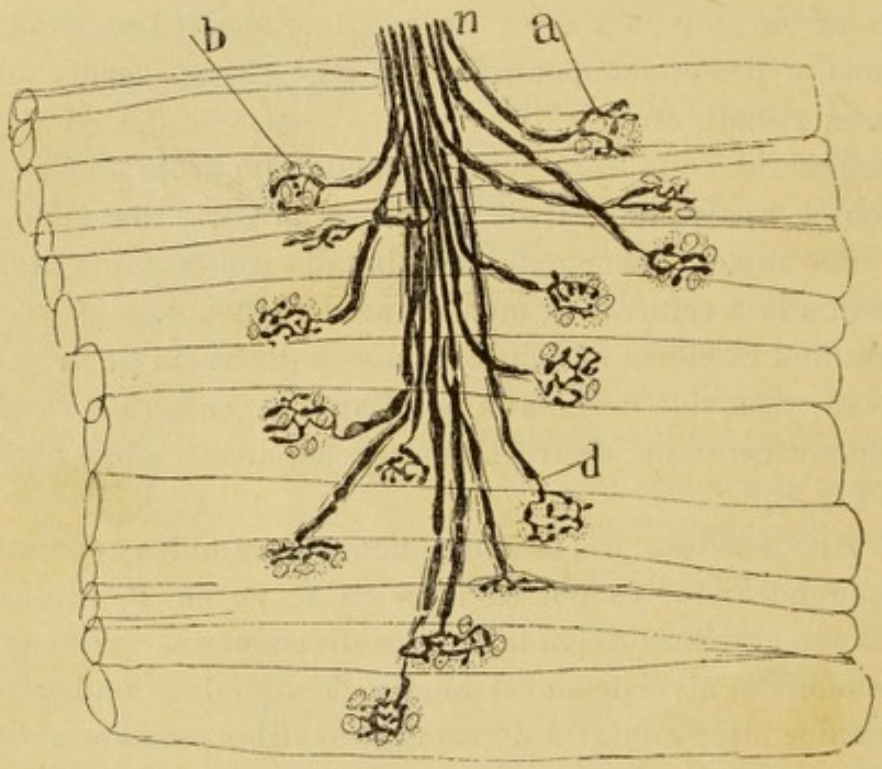


Fig. 125. — Placas motrices de un trozo de músculo intercostal de conejo. — *a*, arborización terminal del cilindro-eje ; *b*, núcleos y materia granulosa ; *d*, punto en que cesa el forro de mielina ; *n*, nerviecito.

substancia estriada. El tubo nervioso aborda oblícua ó perpendicularmente la placa motriz, sobre la cual en algunos casos se bifurca, engendrando dos nuevas ramitas medulares ; la rama ó ramitas terminales, pierden la mielina y vaina de Schwan, penetran en el espesor de la placa y se resuelven en una arborización corta de ramos gruesos, varicosos, á menudo divididos en ángulo recto y costeados por núcleos especiales (*núcleos de la arborización*). Los cabos de tales ramúsculos se muestran á me-

nudo engrosados, y no traspasan nunca los límites de la materia granulosa ni tocan jamás la substancia estriada.

En los mamíferos, la placa, así como la arborización nerviosa terminal, son muy pequeñas; en los reptiles, ambas alcanzan mayor tamaño, presentando la substancia granulosa un contorno desigual y como escotado; finalmente, en los batracios falta por completo la materia granulosa, y la arborización nerviosa terminal se extiende en larguísimas ramitas más ó menos paralelas á la fibra muscular (1). Sobre estos tallos pálidos finales yace algún núcleo prolongado.

b) Terminación de las fibras nerviosas en los músculos lisos (2). — Las fibras nerviosas destinadas á los músculos lisos, son fibras de Remak, nacidas ya del cordón vertebral simpático, ya de ganglios especiales residentes entre las zonas musculares. Desde los trabajos de Klebs y Arnold, confirmados por Loewit, Frankenhauser, Ranvier, etc., se sabe que todo músculo liso ofrece tres plexos nerviosos: uno *fundamental* ó supra-muscu-

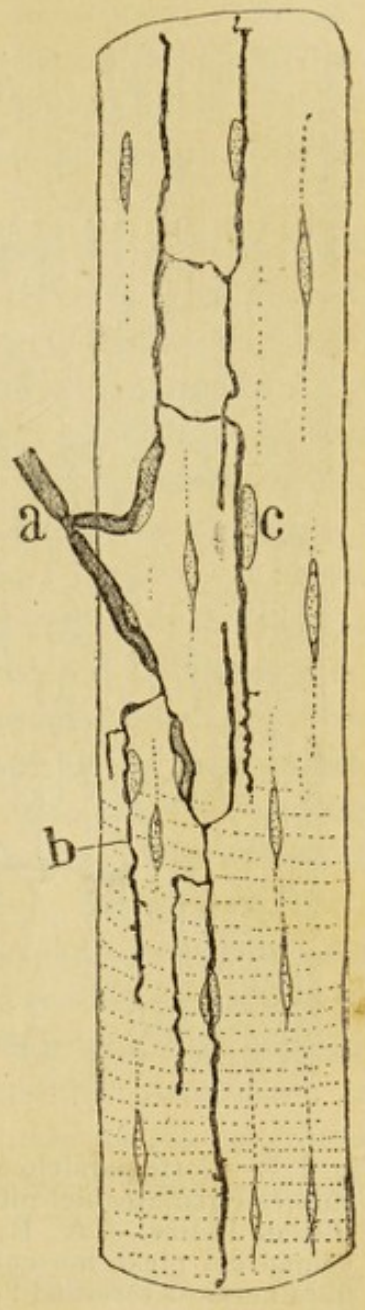


Fig. 126.—Arborización nerviosa terminal de una fibra muscular de rana. Coloración por el cloruro de oro. —*a*, tallo nervioso medulado; *b*, fibras terminales sin mielina; *c*, núcleo de la arborización.

(1) Cajal: Observaciones microscópicas sobre las terminaciones nerviosas en los músculos voluntarios. Zaragoza, 1881.

(2) La verdadera terminación de las fibrillas nerviosas en los músculos lisos, fue primeramente señalada por Arnstein (1887), en la vejiga de la

lar, situado en la superficie del plano muscular, y constituído de gruesos haces de fibras de Remak, entrecruzados en diversos sentidos, y en cuyas nudosidades ó cruzamientos yace un acúmulo de células ganglionares simpáticas; otro *intermediario*, formado de hacecillos más finos, y emplazado entre los paquetes de fibro-células; y finalmente, otro constituído de hebras finas, independientes y ramificadas, que ocupa el cemento de unión de los corpúsculos contráctiles (*plexo intramuscular ó interfibrilar*).



Fig. 127.—Corte paralelo á las fibras musculares circulares del intestino del conejillo de Indias. — A, B, fascículos que venían del plexo muscular profundo; *b*, fibra nerviosa terminal; *a*, últimos ramitos acabados por una varicosidad.

Las fibras de este último plexo representan cilindros-ejes libres, los cuales marchan de modo flexuoso por entre las fibro-células, se ramifican dos ó tres veces en ángulo recto, y sus úl-

rana, sirviéndose del método del azul de metilo. Con este mismo método, las demostramos nosotros también en el intestino y vejiga de los batracios (1888), y últimamente, mediante el de Golgi, en el intestino de los mamíferos. Parecidos resultados á los nuestros han obtenido recientemente Retzius, Berkley y Müller (véase mi folleto *Los ganglios y plexos nerviosos del intestino de los mamíferos*, etc., con 13 grabados, Madrid, 1893.

timas ramitas, que afectan gran delicadeza y aspecto arrosariado, acaban á favor de extremos nudosos, sobre el protoplasma contráctil (fig. 127, *a*). Por lo común, como puede verse en la figura 127, cada fibrilla separada de un hacecillo, origina, merced á sus ramificaciones, una extensa arborización, cuyas ramas, en gran parte paralelas á los intersticios de las fibro-células, pueden tocar un gran número de éstas.

c) *Terminaciones nerviosas en el corazón.* — Se han vertido muchas opiniones, todas hipotéticas, sobre la manera de terminar las fibras de Remak en las células cardíacas de los mamíferos : quiénes, como Ranvier, admiten que los ramúsculos nerviosos ensartan el eje de la materia contráctil; quiénes, como Krause, señalan la existencia de verdaderas placas motrices. Nuestras observaciones, ejecutadas primeramente con el método de Ehrlich y después con el de Golgi (1891), resuelven, á nuestro modo de ver, definitivamente este punto, demostrando que las fibrillas de Remak se comportan en el corazón lo mismo que en los músculos lisos. Los hacecillos de fibras nerviosas, marchan por entre los paquetes de células, disociándose en unos puntos y volviéndose á juntar en otros, constituyendo así, y á consecuencia de cambios de elementos con haces vecinos, una red de anchas mallas, ocupadas por grupos de fibras contráctiles. Por último, los hilos elementales se hacen independientes, se ramifican muchas veces sin anastomosarse nunca y acaban por tallitos finísimos y fuertemente varicosos. Cada célula muscular puede ponerse en contacto con una ó varias ramillas terminales, casi siempre flexuosas y dirigidas en el sentido de los corpúsculos contráctiles. Los cabos terminales aparecen, á menudo, guarnecidos de una varicosidad (1).

Terminaciones sensitivas. — Estas terminaciones son tantas y más que los órganos sensibles. Las principales son : las sensitivas musculares, las musculo-tendíneas de Golgi, las terminaciones intra-epidérmicas y las por corpúsculos especiales.

(1) Véanse mis folletos : *Terminaciones nerviosas en el corazón de los reptiles y batracios* (*Gaz. sanit. de Barcelona*, núm. 12, 1890), y *Terminaciones nerviosas en el corazón de los mamíferos* (*Gaz. sanit. de Barc.*, Abril, 1891.

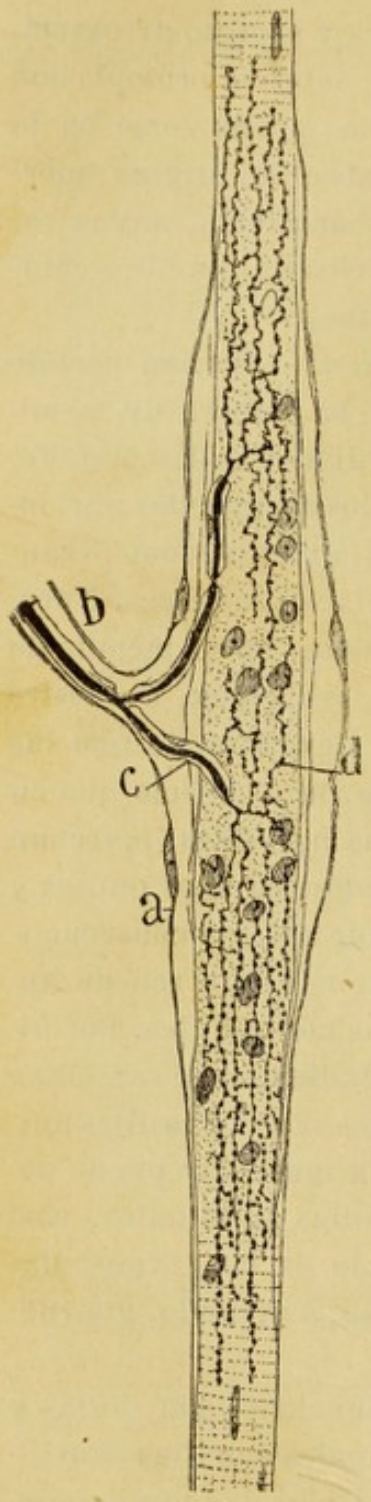


Fig. 128. — Terminación sensitiva muscular del pectoral cutáneo de la rana. Método de Ehrlich. — *b*, fibra nerviosa medulada; *a*, cápsula; *c*, tubo nervioso hijo; *d*, arborización terminal.

Terminaciones sensitivas musculares ó husos de Kühne. — Cuando se examinan las diversas fibras de un músculo estriado, llaman la atención ciertos fascículos primitivos poco numerosos (dos ó tres en el músculo pectoral de la rana), sumamente delgados, y cuya parte central presenta un engrosamiento fusiforme correspondiente á una terminación nerviosa. Estudiando atentamente este engrosamiento, se advierten en él tres partes: las cápsulas, las fibras nerviosas y el material granuloso (fig. 128).

Las *cápsulas* (*a*), que habitualmente son dos, consisten en membranas delgadas, tubulares, separadas entre sí por espacios plasmáticos, anchos en el centro del huso, pero que van estrechándose en los extremos de éste, donde aquéllas se juntan y confunden con el sarcolema. La *fibra nerviosa* es muy robusta, atraviesa las cápsulas, con las que se continúa la vaina de Henle y una vez sobre el material granuloso, se divide en dos ó más ramas meduladas que marchan más ó menos paralelamente al haz muscular. Perdida ya la mielina y membrana de Schwan, cada rama nerviosa se resuelve en una riquísima arborización fuertemente varicosa y extendida sobre toda la región granulosa del huso: las más finas ramillas acaban mediante una varicosidad. Finalmente, el *material granuloso* ocupa todo el espesor del engrosamiento,

está sembrado de núcleos y representa un pedazo de fibra muscular cuyo protoplasma ha conservado sus cualidades embrionarias (fig. 128, *d*).

Los ensayos de coloración que mediante el azul de metileno hemos practicado en el músculo pectoral cutáneo de la rana, nos han permitido descubrlr en dichas fibras musculares otra terminación nerviosa. Esta terminación se parece en un todo á la motriz, y yace en aquel paraje de los husos musculares donde la materia estriada no está recubierta por las cápsulas ni por la ramificación sensitiva. Por donde resulta que cada huso muscular mantiene conexión con dos fibras: la *sensitiva*, arborizada en el engrosamiento capsulado supradicho y destinada á conducir al sensorio noticias tocantes al tanto de contracción del músculo; y con la *motriz* ó centrífuga, en virtud de la cual el huso muscular será también susceptible de contraerse como los demás haces estriados. Parecidos hechos han descrito en los mamíferos Kerschner y Rufini.

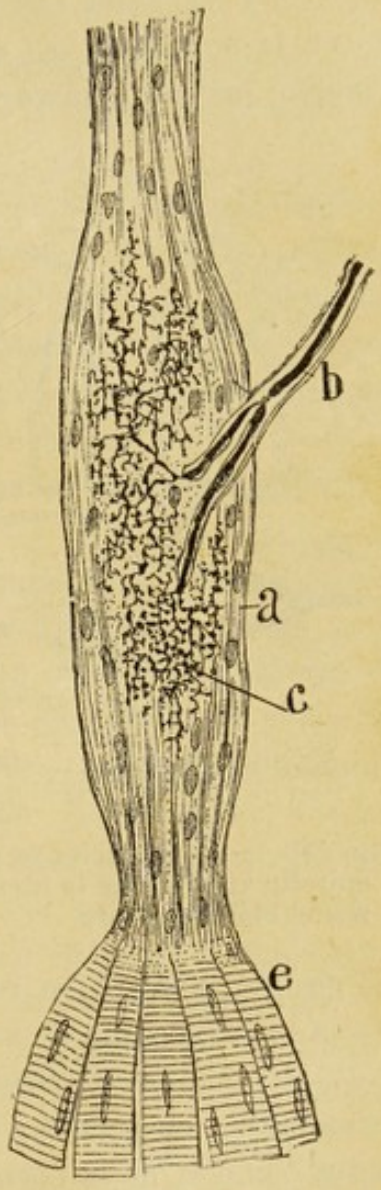


Fig. 129. — Organo musculotendíneo de Golgi. Coloración por el cloruro de oro.

Organos musculo-tendinosos de Golgi. — En ciertos tendones, y en la vecindad de las fibras musculares, se ven unos cuerpos fusiformes recubiertos de endotelio y enlazados con una arborización nerviosa sensitiva. Estos cuerpos representan en realidad un haz tendinoso especial, el cual por una de sus extremidades se continúa con los fascículos comunes del tendón, y por la otra recibe la inserción de un grupo de fibras musculares estriadas (fig. 129).

El tubo nervioso aborda oblícua ó perpendicularmente el cuerpo fibroso susodicho ; la vaina de Henle se continúa con la membrana endotelial de éste ; y la fibra nerviosa dicotomizada una ó dos veces, acaba por perder la mielina y por engendrar una extensa y varicosa ramificación completamente libre, y situada en la superficie del huso por debajo de su cápsula. Según Ciaccio, las ramillas varicosas y libres de la arborización penetrarían entre los hacecillos fibrosos del huso tendinoso y constituirían en torno de ellos verdaderas espirales.



Fig. 130. — Terminaciones nerviosas en el epitelio anterior de la córnea. Coloración por el cloruro de oro.

El oficio de tan singulares terminaciones ha sido muy discutido. Nosotros nos inclinamos al parecer de Ciaccio, quien las considera de naturaleza sensitiva, atribuyéndolas la misión de noticiar al sensorio del cuánto de estiramiento del tendón durante la contracción del músculo, haciendo así posible, por acción refleja, la adecuación de la energía de éste á la resistencia de aquél.

Terminaciones sensitivas intra-epidérmicas. — Este modo de terminación es peculiar de los epitelios pavimentosos estratificados como el de la córnea, piel, esófago, etc.

En la córnea es donde mejor pueden estudiarse tales arborizaciones sensitivas, las cuales se coloran muy bien tanto con el azul de metileno, como con el cloruro de oro. Por la periferia de esta membrana penetran varios tubos medulares, los que, perdiendo á poco trecho la mielina y vaina de Schwan, recorren, bajo la forma de fibras pálidas, el espesor de la córnea, constituyendo, al anastomosarse entre sí, una red de anchas mallas

cuyas nudosidades presentan la disposición de pequeños kiasmas (fig. 130). Las fibras constitutivas de este plexo son gruesas, marchan en zig-zag, carecen de núcleos y muestran claramente las hebras axiles que las constituyen, envueltas y ligadas por una materia granulosa acumulada en esferas, y especialmente ávida del oro y azul metileno. Designase esta red, que yace entre las láminas conectivas de la córnea, con el nombre de *plexo fundamental.*

Los tallos de este plexo suministran ramitas mucho más delgadas, que atraviesan en escalera las capas corneales y, anastomosándose entre sí por debajo de la basal, forman una red aplanada mucho más rica y tupida que la anterior, que se ha llamado *plexo sub-basal.* Las trabéculas de esta red son menos flexuosas que las del plexo fundamental, y encierran en sus nudosidades ó pequeños kiasmas, uno ó dos núcleos envueltos en cierta cantidad de materia granulosa.

De la red sub-basal arrancan fibras sumamente finas y varicosas formadas al parecer de uno ó dos filamentos axiles primitivos. Estas hebras llevan un curso tortuoso, atraviesan la basal y, entrecruzándose por debajo de los pies de la primera fila de células epiteliales, constituyen un tercer plexo mucho más delicado que los anteriores y exento de núcleos : llámasele *plexo sub-epitelial.* Las fibrillas constructoras de este plexo, después de raras ramificaciones, recodan bruscamente, marchan verticalmente por entre las células epiteliales, moldeándose á sus contornos, y rematan, ya entre los elementos de las capas profundas, ya en la misma superficie del epitelio, mediante ligeros engrosamientos, ó á favor de una esférula de materia aurófila.

En el epidermis de Malpigio de la piel, hállanse también parecidas terminaciones. Gruesas fibras meduladas, llegan de lo hondo del dermis, bifúrcanse una ó dos veces, y, en pleno cuerpo papilar, las ramas resultantes pierden la mielina y se acercan al epidermis. Antes de penetrar en éste, los cilindros-ejes desnudos se ramifican, y los ramúsculos, cuya dirección es vertical, se insinúan entre las células epidérmicas, subdivídense una ó dos veces y acaban por series de gránulos ó por cabos varicosos

situados en las inmediaciones del *stratum granulosum*. En su trayecto intra-epidérmico, las fibrillas nerviosas están alojadas en el cemento semilíquido de unión, y no parecen enlazarse con ninguna célula epidérmica.

Terminaciones parecidas han descrito Retzius en el esófago y mucosas pavimentosas, y van Gehuchten en la piel y mucosas de varios mamíferos.

Corpúsculos de Meissner. — Habitan en las papilas de la piel, particularmente en la cara palmar de los dedos, en el dermis labial, mamelón y órganos genitales externos.

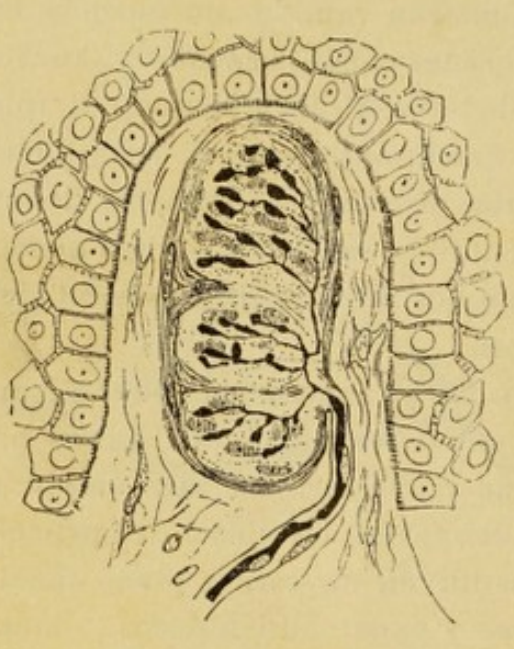


Fig. 131. — Corpúsculo de Meissner de una papila digital. Coloración por el cloruro de oro.

Estos corpúsculos afectan figura ovóidea, á veces tuberosa y lobulada, y yacen perpendicularmente orientados en la cima de las papilas, casi tocando el epidermis. No todas las papilas de las referidas regiones las contienen, pues existen algunas (papilas vasculares) provistas exclusivamente de un asa capilar. El diámetro de los corpúsculos de Meissner es sumamente variable, oscilando entre 30 á 50 μ de longitud por 20 á 30 de anchura.

Constan estos corpúsculos: de una cápsula fibrosa, gruesa y abundante en núcleos, continuada con la cubierta de Henle de las fibras nerviosas aferentes; de una masa central construída de células irregulares ordenadas en pilas verticales apretadas é imbricadas, y cuyos núcleos, alargados transversalmente, prestan al todo aspecto groseramente estriado; y de una ó varias fibras medulares que abordan el corpúsculo á diversas alturas, serpenteando á menudo por cima de la cápsula, y penetrando, perdida ya la mielina, entre las pilas de células, donde forman

una rica y complicada arborización. Los tallos terminales son varicosos; caminan transversalmente, y acaban por abultamientos lenticulares ó simples engrosamientos irregulares, situados en los espacios cóncavos que separan los corpúsculos centrales. Este modo de terminación por meniscos táctiles, recuerda los corpúsculos de Merkel de las aves, que no son en realidad sino una forma más simple y menos irregular de los órganos de Meissner. Dogiel ha teñido recientemente estas arborizaciones con el azul de metileno, mostrando en ellas un número de ramillas terminales varicosas más considerable que el revelado por el cloruro de oro.

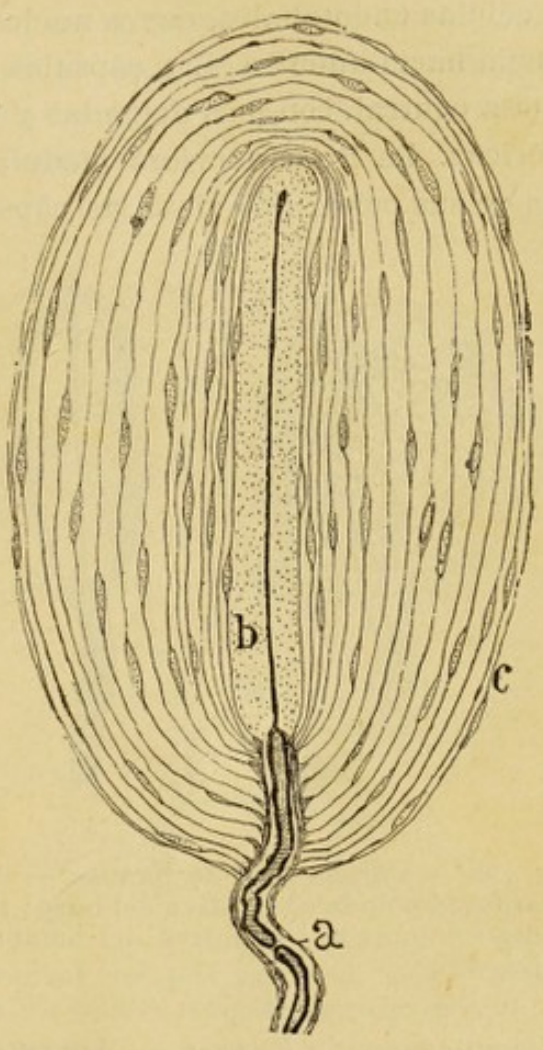


Fig. 132.—Corpúsculo de Pacini del hombre.—*a*, vaina de Henle del tubo nervioso; *b*, materia granulosa central; *c*, cápsulas.

Corpúsculos de Pacini. — Son unos cuerpos oblongos, de 1 á 2 milímetros de longitud, que se encuentran en las regiones profundas del dermis de la piel, particularmente en la del pulpejo de los dedos; hállaselos también, aunque en escaso número, en los nervios articulares, en los distribuídos por los huesos, ligamentos interóseos de la pierna y antebrazo, órganos genitales externos, perimisio interno de los músculos, etc.

Se componen los corpúsculos de Pacini: de una masa central

granulosa, prolongada según el eje mayor del corpúsculo y redondeada por sus extremos, y de una serie de cápsulas concéntricas, verdaderas láminas de tejido conjuntivo, separadas por espacios linfáticos y revestidas en su cara interior por una capa de células endoteliales, cuyos núcleos aplanados forman prominencia hacia adentro. Las cápsulas próximas á la materia granulosa central, son más delgadas y están más juntas que las periféricas. La fibra nerviosa medular aborda el corpúsculo por uno de sus polos, atraviesa las cápsulas, y, al llegar á la substancia granulosa, pierde la mielina y la membrana de Schwan. El cilindro-eje, después de recorrer casi toda la longitud de la materia granulosa pálida, termina en el espesor de ésta por ligera intumescencia. La membrana de Henle, que acompaña al tubo nervioso, y que por cierto es sumamente gruesa, se continúa con las diversas cápsulas conectivas (fig. 132).

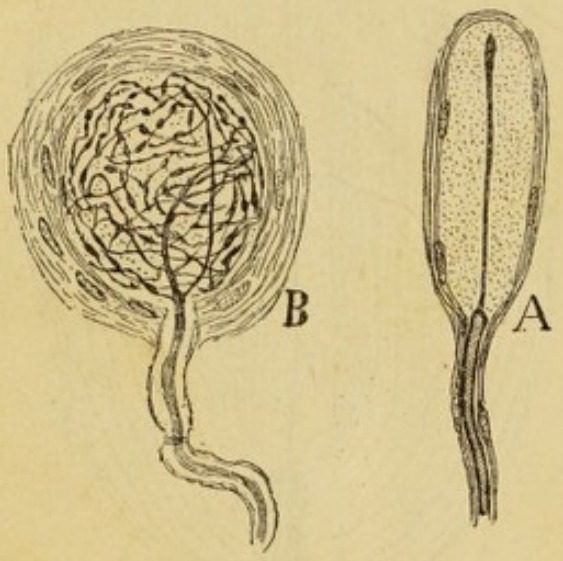


Fig. 133. — Corpúsculos de Krause. — A, corpúsculo de la conjuntiva del buey; B, corpúsculo de la conjuntiva del hombre (Dogiel).

Corpúsculos de Krause. — Aparatos más sencillos y menos voluminosos que los de Pacini, están situados, de ordinario, en el dermis de la conjuntiva, mucosa lingual, órganos genitales externos, etc. El tamaño de estos corpúsculos, oscila entre 40 y 50 μ de longitud por 20 ó 30 μ de anchura.

Desde el punto de vista estructural, se conocen dos variedades de corpúsculos de Krause. La variedad más simple, se compone : de una cápsula conectiva, expansión de la vaina de Henle ; de una masa granulosa interior, prolongada en forma de maza ; y de una fibra nerviosa aferente que, desnudándose de sus cubiertas al abordar el corpúsculo, acaba, cerca del polo

superior de la masa granulosa, á favor de ligero espesamiento (figura 133, A).

La variedad compleja posee una talla algo mayor, y reside en la conjuntiva ocular y órganos genitales externos (fig. 133, B). El tubo nervioso aferente, en vez de terminar en la materia granulosa por simple tallo longitudinal, se ramifica en ésta repetidas veces, y los ramúsculos acaban por extremos engrosados y perfectamente libres (Retzius, Dogiel, etc.).

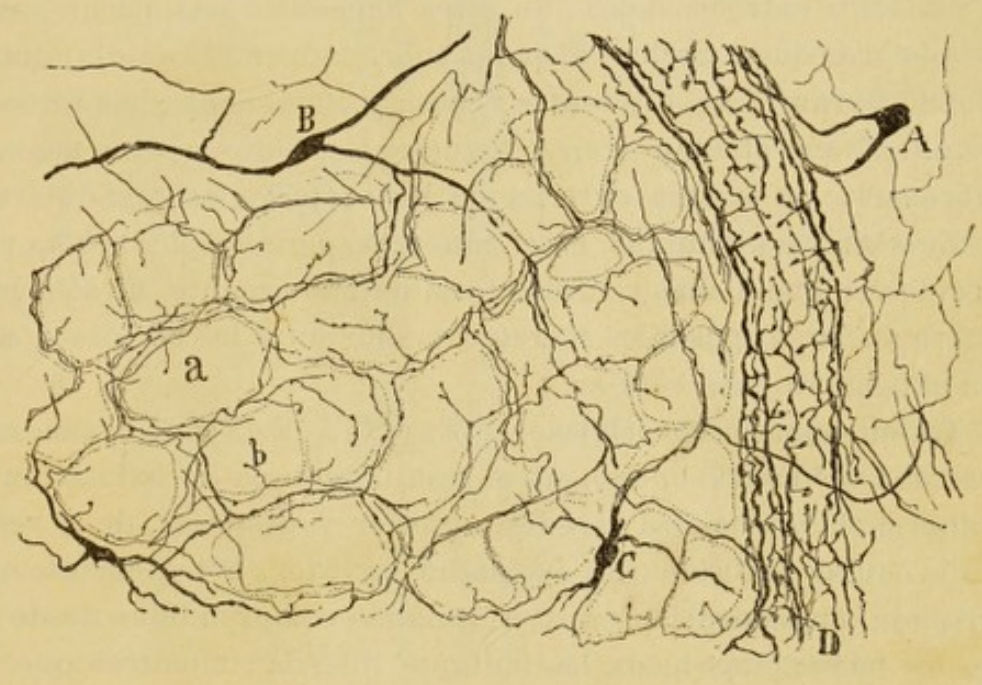


Fig. 134. — Plexo nervioso terminal del páncreas. — *a*, acini no teñidos ; *b*, ramita terminal ; A, B, células simpáticas intersticiales.

Dogiel describe también en la conjuntiva terminaciones nerviosas por ovillos ó apelotonamientos complicados de ramillas, sin aparato protector propiamente dicho.

Terminaciones glandulares. — Este tema ha sido muy debatido hasta estos últimos años, en que los métodos de Ehrlich y de Golgi han permitido obtener coloraciones absolutamente correctas de las fibrillas terminales, aclarando definitivamente la cuestión. Como hemos demostrado primeramente nosotros para las glándulas salivares, y han confirmado y ampliado Fusari y Panasci, Retzius, Müller, Cl. Sala, Dogiel, etc., las fibras nerviosas

destinadas al tejido glandular, acaban libremente sobre las células secretoras, sin penetrar en el protoplasma.

Las fibras originarias provienen del gran simpático, y están por tanto, desprovistas de mielina ; algunas representan quizás simples expansiones finas de ciertas células nerviosas multipolares, yacentes entre los acini de las glándulas (Cajal (1), Cl. Sala). Todas estas fibras constituyen primeramente un plexo tupido, situado por fuera del epitelio en pleno tejido conectivo, plexo cuyas trabéculas son en su mayor parte haces de fibrillas complejamente entrecruzados ; de estos hacecillos se separan algunas hebras que marchan aisladas sobre la membrana glandular donde se ramifican diferentes veces ; y, finalmente, las últimas ramillas, que afectan gran delgadez y aspecto varicoso, acaban libremente en la cara externa de los corpúsculos glandulares.

En algunas glándulas, en el páncreas, por ejemplo, nos ha parecido ver que dichas ramillas terminan libremente, no sólo por fuera de los corpúsculos secretores, sino entre los mismos ó sea en el cemento intercelular.

Terminaciones sensoriales.—*a*) RETINA.—Esta membrana, expansión del nervio óptico, es el resultado de la aproximación y adherencia de las dos paredes, anterior y posterior, de la vesícula ocular embrionaria. La pared anterior, notablemente engrosada, engendra las capas retinianas comprendidas desde la de los bastoncitos hasta la limitante interna ; mientras que la pared posterior origina solamente la capa epitelial ó pigmentaria. En el curso del desarrollo, las capas retinianas anteriores (desde la granulosa interna hacia adelante) de los mamíferos son invadidas por los capilares sanguíneos, mas no por los elementos conjuntivos mesodérmicos.

Estudiaremos en la retina, de acuerdo con los autores más modernos, diez capas ó zonas distintas, que, contando de dentro á afuera, son : 1.°, *limitante interna ;* 2.°, la de las *fibras del nervio óptico ;* 3.°, la *capa de células ganglionares ;* 4.°, *capa plexiforme interna ;* 5.°, *capa de las células bipolares* ó de los *granos internos ;* 6.°, *capa plexiforme externa* ; 7.°, *capa de los*

(1) Cajal : *Nuevas revelaciones del método de Golgi*, Barcelona, 1889.

cuerpos de las células visuales ó zona de los granos externos; 8.°, *capa limitante externa*; 9.°, *capa de los conos y palitos* ó bastoncitos; 10, *capa pigmentaria*.

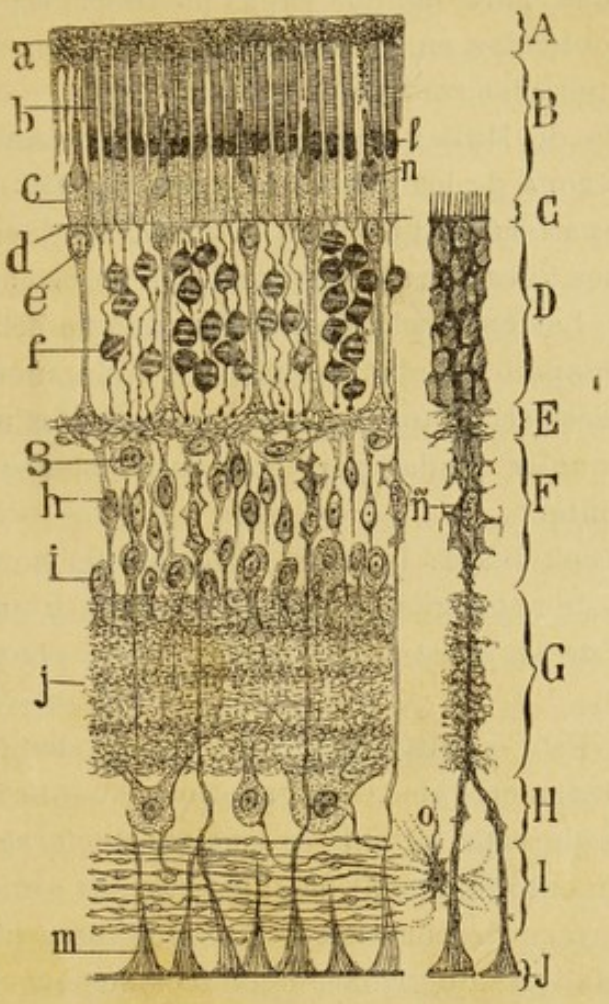


Fig. 135. — Corte perpendicular de la retina del perro. — A, capa pigmentaria; B, de los bastones y conos; C, limitante externa; D, de los granos externos; E, plexiforme externa; F, de los granos internos; G, plexiforme interna; H, de las células ganglionares; I, de las fibras del nervio óptico; J, capa limitante interna.

a, Células pigmentarias; *b*, segmento externo de un bastón; *c*, cono; *d*, limitante externa; *e*, núcleo del cuerpo del cono; *f*, núcleo del cuerpo del bastón; *g*, célula horizontal; *h*, célula bipolar; *i*, espongioblasto ó célula amacrina; *j*, zonas granulosas ó pisos de la plexiforme interna; *m*, cono terminal de una fibra de Müller; *o*, célula de neuroglia; *ñ*, núcleo de las fibras de Müller. A la derecha de la figura, se ve una fibra de Müller ó célula epitelial.

Elementos neuróglicos ó de sostén.— Los principales son las células epiteliales ó fibras de Müller, elementos gigantes, alargados, que, arrancando de la zona limitante interna y cruzando perpendicularmente las capas nerviosas, se terminan al nivel de la limitante externa. Las limitantes mismas no representan otra cosa que la reunión en un plano delgado, de las chapas ó membranas en que rematan por sus extremos las citadas fibras de Müller. En su curso á través de la retina, las células epiteliales ofrecen diversos aspectos; comienzan á favor de un cono de base interna al nivel de la limitante (figura 135), marchan trazando alguna curva

por la zonas ganglionar y de fibras ópticas, y en las capas centrales de la retina emiten dos clases de expansiones : apéndices finos, granulosos, rizados, para las dos capas plexiformes ; expansiones laminosas moldeadas en fosetas y dispuestas en una trama como esponjosa para las zonas de los granos.

El cuerpo de la célula de Müller posee un núcleo prolongado residente al nivel de la zona de los granos internos (fig. 135, *ñ*).

Por último, de la chapa terminal externa ó limitante externa parten hacia afuera finos hilos que sirven para separar los conos y bastones (fig. 135, C). Las expansiones partidas de una célula de Müller, tocan las emanadas de las vecinas, pero sin anastomosarse jamás. Los huecos resultantes alojan los elementos nerviosos de la retina, los cuales quedan perfectamente aislados dinámica y anatómicamente.

A más de las células epiteliales, la capa de fibras del nervio óptico contiene células de neuroglia en forma de araña y enteramente iguales á las de la substancia blanca de los centros (figura 139, A).

Capa pigmentaria.—Está constituída por un estrato de células alargadas que contienen cristales de pigmento en su interior. La extremidad externa de estas células es maciza, encierra el núcleo y forma un pavimento exagonal bastante regular ; mientras que la interna aparece descompuesta en numerosos hilos granulosos, á veces portadores de granos melánicos, los que, insinuándose entre los conos y bastones, forman á los extremos de éstos una atmósfera pigmentaria absorbente de la luz (fig. 135, *a*).

Capa de los bastones y conos, llamada también *membrana de Jacob.*—Por fuera de la limitante externa y entre las expansiones profundas de las células pigmentarias, se ve una hilera de elementos alargados, rectilíneos y dispuestos como las estacas de una empalizada. Estos corpúsculos se distinguen por su forma en dos variedades : los *bastones* y los *conos*.

Los *bastones* son filamentos cilíndricos, de contorno rectilíneo y de una longitud de 60 μ por 2 ó 2 y medio μ de anchura ; están mezclados á los conos é implantados perpendicularmente sobre la limitante interna ; constan de dos segmentos que se distinguen por sus diversas propiedades, aunque son continuos substancial-

externa

mente : el *externo* y el *interno*. El *externo* es hialino, birefringente, colorable en negro por el ácido ósmico, incolorable por el carmín, y ofrece ciertos canales delgados, longitudinales, que le prestan aspecto estriado á lo largo. El agua salada le descompone en discos transversales sumamente delgados, especie de chapas epiteliales reunidas por un cemento sumamente alterable ; y á su alrededor existe una membrana homogénea formada, según Kühne, de *neurokeratina*. El *segmento interno* es más grueso, algo abultado en su región central, de aspecto granuloso, colorable por el carmín é incolorable por el ácido ósmico. Cerca de su continuación con el externo encierra un glóbulo alargado, de forma semi-elipsoidea (corpúsculo semi-elipsoideo), constituído por una materia poco afine del carmín y hematoxilina y estriada finamente en sentido longitudinal (fig. 135, *l*).

La retina fresca es de un color rojo uniforme, excepto en la *fovea centralis*. Esta coloración se debe á la presencia de una materia colorante sensible á la luz actínica, exclusivamente depositada en los artículos externos de los bastones (*púrpura visual*, *rodopsina*, *foto-estesina*, etc.).

Los *conos*, más cortos que los bastones y mucho menos numerosos que éstos, excepto en la foseta central donde se encuentran de un modo exclusivo, son elementos gruesos y de una forma que puede compararse con la de una botella. También poseen los conos dos segmentos de propiedades análogas á las de los bastones (fig. 135, c) ; sólo que el interno, que corresponde á la parte más gruesa, encierra un corpúsculo elipsoideo mucho más robusto.

Capa limitante externa (fig. 135, *d*). — Es una cutícula recta, finísima, formada por la reunión de las chapas que guarnecen exteriormente á las fibras de Müller. Esta chapa está acribillada de agujeros para el paso de las prolongaciones profundas de los conos y bastones.

Capa de los cuerpos de los elementos visuales.—Los cuerpos de las células visuales, llamadas también *granos externos*, representan la prolongación protoplásmica profunda de los conos y bastones. Es preciso distinguir el cuerpo del cono del cuerpo del bastón.

El del cono yace cerca de la limitante, poseyendo un núcleo

grueso y ovoideo; por abajo el protoplasma se continúa en fibra recta, la cual, al llegar á la zona plexiforme externa, experimenta una dilatación cónica (*pie del cono*) de cuyo contorno basilar emergen algunas fibrillas horizontales libremente terminadas (fig. 135, *e*).

El *cuerpo del bastón* (fig. 135, *f*) reside á distintas alturas de la zona que estudiamos, y encierra un núcleo ovoideo de menor tamaño que el del cono, y cuya cromatina homogénea está dispuesta en zonas transversales alternadas con fajas acromáticas. Siendo los cuerpos de los bastones más numerosos que los de los conos, se ven obligados á constituir muchas hileras, las cuales son tanto más abundantes cuanto más finos se muestran los bastoncitos. El protoplasma se estira en dos fibras, ascendente y descendente : la expansión ascendente, fina y varicosa, se continúa con un bastoncito ; mientras que la descendente también delicada, baja hasta la zona plexiforme externa, donde acaba mediante una esferita completamente libre y exenta de ramillas.

Capa plexiforme externa. — Es el punto de entrecruzamiento de numerosas expansiones protoplásmicas, emanadas de las células de la capa subyacente (granos internos), así como de muchas fibrillas basilares procedentes de los pies de los conos.

Esta zona debe dividirse en dos pisos : *superior* é *inferior*. Cada uno de ellos es paraje de empalme de una categoría particular de células nerviosas.

El *piso superior* es el punto de reunión y contacto (fig. 137, *x*) de las esférulas terminales de los bastoncitos y de los penachos ascendentes de ciertas bipolares (bipolares para bastón). El *piso inferior* (fig. 137, *z*) es el punto de concurrencia y contacto de los pies y fibrillas basilares de los conos por un lado, y de las expansiones superiores aplanadas de ciertas bipolares, por otro (bipolares para cono).

Capa de las células bipolares ó de los granos internos.—Es esta zona la más complicada de la retina, debiendo subdividirse, para el mejor orden descriptivo, en tres subzonas : 1.°, subzona de las *células horizontales* (sub-reticulares, estrelladas, etc., de ciertos autores); 2.°, de las *células bipolares*; y 3.°, de los *espongioblastos*.

a) Células horizontales.—Estudiadas por Krause y Schiefferdecker en casi toda la serie de los vertebrados, sólo han sido conocidas regularmente después de los trabajos de Tartuferi, Dogiel y los nuestros. En los mamíferos, estas células forman dos variedades, amén de alguna subvariedad menos importante : células horizontales pequeñas ó externas, y células horizontales grandes ó internas.

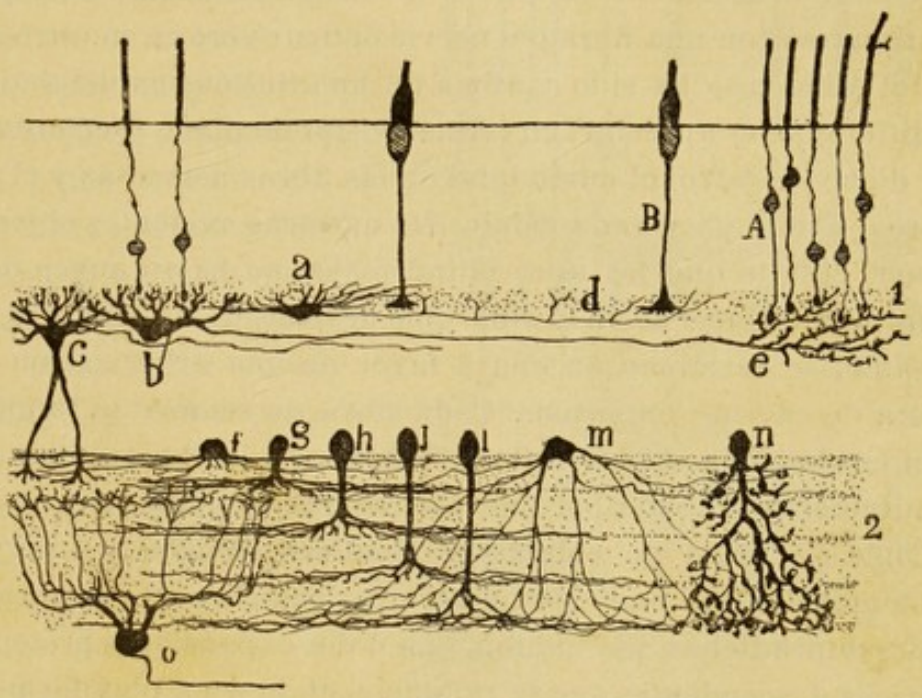


Fig. 136.—Corte perpendicular de una retina de mamífero.—A, cuerpo de los bastones ; B, cuerpo de los conos ; *a*, célula horizontal pequeña ; *b*, célula horizontal grande ; *c*, célula horizontal con expansión protoplásmica descendente ; *e*, arborización terminal de un cilindro-eje de célula horizontal ; *f*, *g*, *h*, *j*, *l*, *m*, *n*, variedades de espongioblastos ; *o*, célula ganglionar bi-estratificada.

Las *células horizontales pequeñas* son aplanadas, estrelladas, y yacen inmediatamente debajo de la zona plexiforme externa. De su periferia brotan numerosas expansiones divergentes y ramificadas que constituyen, debajo de los pies de los conos, un plexo muy tupido. El cilindro-eje es fino, diríjese horizontalmente por la zona referida, y á distancia variable acaba descomponiéndose en algunas ramitas terminales ; en su trayecto emite numerosas colaterales ramificadas y libres (fig. 136, *a*).

Las *células horizontales grandes* (fig. 136, *b*, *c*), yacen por lo

general en un plano más interno que las precedentes, de las que se distinguen además por su gran robustez. Sus expansiones protoplásmicas son espesas, horizontales, y acaban á no mucha distancia á favor de ramitas cortas, digitiformes y ascendentes. La expansión nerviosa es robusta y horizontal, y fue ya vista por Tartuferi. Dogiel, que la ha impregnado recientemente con el azul de metileno, supone que tras un curso horizontal variable, desciende bruscamente á través de las capas retinianas, para continuarse con una fibra del nervio óptico; pero en nuestro sentir, el sabio ruso ha sido víctima de una ilusión, explicable por lo difícil que es apreciar, en retinas vistas de plano y coloreadas por dicho reactivo, el curso total de las fibras nerviosas y el plano real donde yace cada célula. De nuestras recientes observaciones, resulta que los tales cilindro-ejes no bajan nunca de la zona plexiforme externa, sino que después de un trayecto larguísimo, se terminan en ella á favor de una arborización varicosa de enorme extensión. Cada fibra de semejante ramificación envía hacia el piso de las esférulas de los bastoncitos una ramita corta acabada por una varicosidad (fig. 136, *e*).

Como variedad de células horizontales grandes ó internas, debe mencionarse una especie caracterizada, aparte las propiedades supradichas, por exhibir una ó dos expansiones protoplasmáticas descendentes que se ramifican en la zona plexiforme interna (fig. 136, *e*). Tartuferi y Dogiel creen que todas las células horizontales grandes poseen expansiones descendentes; pero nuestras investigaciones ponen fuera de duda la existencia de células de esta especie, exentas de tales apéndices.

b) *Células bipolares.* — Como han demostrado Tartuferi y Dogiel, estas células son fusiformes y poseen dos expansiones: ascendente y descendente. La descendente es siempre única y acaba, á distintas alturas de la zona plexiforme interna, por un penacho aplanado; la ascendente es á menudo múltiple, y forma una abundante ramificación que se dispone horizontalmente en el piso inferior de la zona plexiforme externa (fig. 137, *e*, *f*). Nuestras indagaciones nos permiten añadir á la descripción de dichos autores los siguientes datos:

1.° Tanto el penacho formado por la expansión ascendente

como el constituído por la descendente, acaban por ramitas varicosas y libres. No existen, por tanto, las redes que dichos sabios, influídos por el ambiente científico en que escribieron, han descrito en los planos de arborización de tales expansiones.

2.° Las células bipolares no son todas iguales, existiendo entre ellas notables diferencias de forma y de magnitud. Las principales variedades son:

1.° Células bipolares de penacho ascendente fino, terminado libremente entre las esferitas de los bastones (figura 137, *e*). Como éstas se alojan precisamente entre las fibrillas de dicho penacho, y como hasta ellas no llegan las expansiones de otros elementos, no queda más recurso que considerar tales bipolares como los corpúsculos destinados á recoger la actividad específica acarreada por los bastoncitos. De aquí el nombre de *bipolares para bastones* que nosotros las hemos dado.

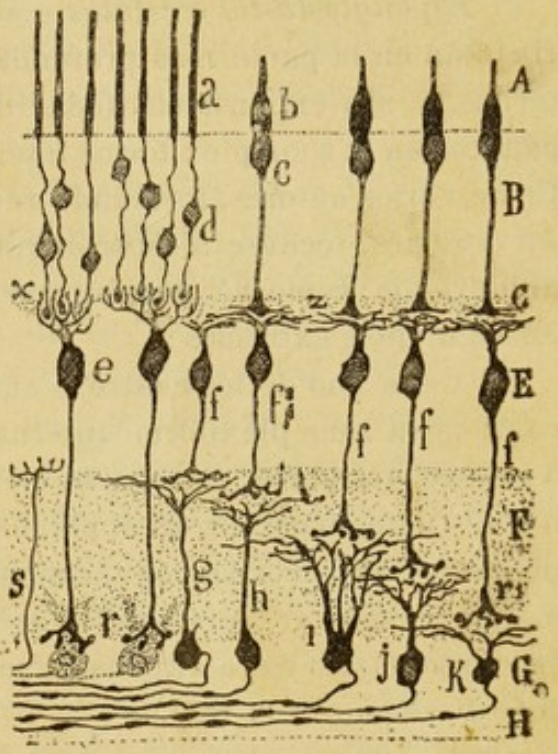


Fig. 137. — Células de la retina de un mamífero. — A, capa de los conos y bastones; B, cuerpos de células visuales; E, capa de las bipolares ó granos internos; F, capa plexiforme interna; G, capa de las células ganglionares; H, capa de las fibras del nervio óptico; *a*, bastones; *b*, conos; *d*, grano del bastón; *c*, grano del cono; *e*, bipolares para bastones; *f*, bipolares para cono; *g*, *h*, *i*, *j*, *k*, células ganglionares; *r*, arborización terminal de la expansión descendente de bipolares para bastones; *s*, fibra centrífuga.

2.° Células bipolares de penacho aplanado, ramificado en el piso segundo de la zona plexiforme externa, paraje donde se dilatan las fibrillas basilares de los conos (fig. 137, *f*). Esta coincidencia de posición nos ha hecho calificar dichas células de *bipolares para los conos*, porque, dada la disposición de su penacho externo, sólo con éstos pueden conexionarse.

3.° El penacho inferior de todas, ó al menos de la mayor parte de las bipolares para bastones, se aplica al cuerpo de las células de la capa ganglionar, mientras que el penacho descendente de las bipolares para conos, se termina sobre uno cualquiera de los pisos de arborización que contiene la zona plexiforme interna (figura 137, *f*).

c) *Espongioblastos ó células amacrinas* (1) (fig. 136, *f*, *g*, *h*)—Habitan en la parte más profunda de la zona de los granos internos, y sus expansiones todas dirígense hacia abajo, ramificándose en la zona plexiforme interna, donde acabarían, en sentir de varios autores, formando redes horizontales. Nuestras observaciones, tocante á estos singulares corpúsculos (exentos de cilindro-eje, como ha demostrado Dogiel), nos permite afirmar los siguientes extremos:

1.° Cada uno de los cuatro ó cinco pisos de arborización que contiene la zona plexiforme interna, posee sus amacrinas propias, ó en otros términos, entre estos elementos cabe distinguir cuatro ó cinco categorías, según el plano de la zona mencionada á donde envían su arborización terminal. Hay, pues, espongioblastos ó amacrinas cuyo tallo ó tallos se ramifican en el primer piso; espongioblastos cuya expansión se arboriza en el segundo, y así sucesivamente (fig. 136).

2.° Además de las amacrinas, que sólo suministran ramitas para un piso de la zona plexiforme interna, y que por tal disposición, pueden calificarse de *estratificadas*, existen otras cuyas expansiones se distribuyen por casi todo el espesor de dicha zona, por lo que pueden llamarse *amacrinas difusas* (fig. 136, *m*, *n*). No obstante, la mayor parte de las ramitas de éstas se acumula en el piso más inferior.

3.° A cada piso de la zona plexiforme interna donde se acumulan tantas arborizaciones de amacrinas, vienen á converger por debajo extensas ramificaciones horizontales formadas por las expansiones protoplásmicas de los corpúsculos ganglionares.

(1) Como lo característico de los espongioblastos es carecer de cilindro-eje ó expansión larga, nosotros los hemos designado *células amacrinas* de α, partícula privativa, μακρός largo, é ινος fibra. Véase Cajal: *La rétine des vertebrés. La Cellule*, tomo IX. 1892.

En resumen ; cada piso parece constar : de un plano externo formado por las ramitas de las amacrinas ; un plano interno constituído por las arborizaciones de las células ganglionares mono-estratificadas ; y un plano medio donde se alinean los penachos inferiores de las células bipolares para cono y acaso (aunque esto no está probado aún) algunos otros pertenecientes á las de bastón. Estos tres plexos de fibras no están rigurosamente separados, pues las ramas de cada uno suben ó bajan en diferentes puntos, entrelazándose íntimamente y formando una especie de fieltro tupidísimo.

Recientes estudios nuestros (1) realizados en la retina de las aves, nos han probado la existencia de un tipo especial de espongioblastos, que hemos llamado *espongioblasto de asociación*. Trátase de células piriformes, de cuya expansión única y descendente brotan dos clases de expansiones : dos ó tres cortas, groseras, con aspecto de apéndices protoplásmicos, que se ramifican en el plano más externo de la capa plexiforme interna ; y un axon ó prolongación larguísima, horizontal, que caminando por el espesor del cuarto externo de la citada plexiforme, se dilata en una arborización horizontal sumamente tupida. Esta arborización entra en relación con los tallos descendentes de un grupo de amacrinas, situado á gran distancia ; acaso se pongan también en relación con las expansiones descendentes de las bipolares. Detalle interesante : con los somas de los referidos espongioblastos de asociación, mantienen conexión las arborizaciones terminales de las fibras centrífugas (fig. 138).

Capa plexiforme interna (fig. 137, F). — Con lo anteriormente expuesto, queda substancialmente descrita esta zona retiniana. Ella representa el punto de empalme de tres epecies celulares : los *espongioblastos*, las *células bipolares* y los *corpúsculos ganglionares*. En los mamíferos, esta capa encierra, además, aunque con rareza, algunos espongioblastos horizontales, cuyas ramas se pierden en uno de los varios pisos antes descritos.

A fin de multiplicar las superficies de influencia y evitar las comunicaciones en masa que hubieran perjudicado á la indivi-

(1) *Cajal* : Nouvelles contributions a l'étude histologique de la rétine, &. *Journal de l'Anat. et de la Physiol*, &. Tomo XXXII, núm. 5, 1896.

dualidad y pureza de las transmisiones, la naturaleza ha dispuesto que los encuentros de tales elementos se verifiquen en ciertas zonas ó pisos concéntricos. Cuanto más pequeñas y numerosas son las células bipolares de un animal, mayor es el espesor y número de pisos de la zona plexiforme interna.

Capa de las células ganglionares (fig. 137, *g*, *h*, *i*, *j*).—Así llamada por contener una ó dos hileras de células nerviosas, gruesas, granulosas y en un todo comparables á las de las astas anteriores de la médula. Como es bien sabido, tales células poseen un cilindro-eje continuado con una fibra del nervio óptico, un cuerpo ovoideo, piriforme ó semilular, y expansiones protoplásmicas, que partiendo exclusivamente de la cara superior de aquél, se arborizan en plexos horizontales á distintas alturas de la capa plexiforme interna. También aquí cabe hacer distinciones según la forma de la arborización protoplásmica superior. Todas las células ganglionares pueden distribuirse en tres clases:

1.ª *Células mono-estratificadas* (fig. 137, *g*, *h*, *d*), cuyo ramaje protoplasmático se extiende por un solo piso de la zona plexiforme interna. Siendo cuatro ó cinco estos pisos, hay células cuya arborización se terminará en el primero ; otras que enviarán sus expansiones al segundo ; otras que las remitirán al tercero, y así sucesivamente.

2.ª *Células poli-estratificadas* (fig. 136, *o*), cuyo ramaje protoplásmico forma dos ó más plexos concéntricos correspondientes á igual número de pisos de la capa plexiforme interna.

3.ª *Células difusas*, cuya arborización ascendente es laxa y se distribuye, sin estratificarse, en casi todo el espesor de la zona mencionada. Tocante al tamaño, podrían distinguirse las células ganglionares en pequeñas, medianas y gigantes.

Entre las células ganglionares, yacen también algunas amacrinas diminutas, de penacho singularmente delicado y extendido por el piso cuarto de la zona plexiforme interna (*amacrinas dislocadas*).

Capa de las fibras del nervio óptico. — La mayor parte de los cilindros-ejes constitutivos de esta zona, son simple continuación de las expansiones inferiores ó funcionales de las células ganglionares. Pero una porción de los tales, debe considerarse

como *fibras centrífugas*, cuyo origen es preciso buscar en los centros ópticos. Estas fibras, descubiertas primeramente por nosotros en la retina de las aves, adivinadas también por Monakow por inducciones basadas en estudios de anatomía patológica, y confirmadas por Dogiel, son gruesas, cruzan perpendicularmente la zona plexiforme interna, y acaban entre los cuerpos de los espongioblastos á beneficio de una ramificación corta, de ramitas espesas y fuertemente varicosas. Un estudio cuida-

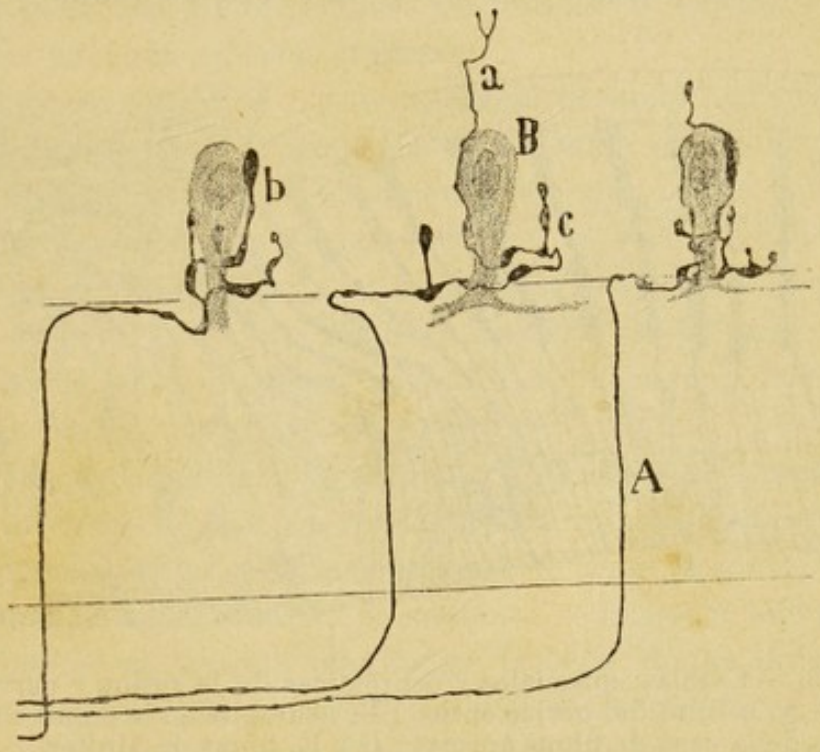


Fig. 138.— Fibras centrífugas de la retina de las aves. Coloración por el método de Ehrlich-Bethe. — A, fibra nerviosa; B, célula rodeada por la arborización; *a*, *b*, *c*, ramitas varicosas terminales.

doso de estas ramificaciones en la retina de las aves (fig. 138, *b*), demuestra que la mayor parte de las ramitas terminales engendra un nido en torno de los cuerpos de los espongioblastos de asociación; otras ramitas se distribuyen por entre las amacrinas ordinarias (*c*). La extensión de la arborización terminal varía en las distintas especies animales; breve y casi reducida al nido pericelular en los pájaros y gallina, alcanza mayor extensión y difusión en la paloma, donde es facilísima de teñir con el azul de metileno.

Entre las fibras nerviosas de la capa que estudiamos, se ve un gran número de células de neuroglia, las cuales son también muy abundantes en la papila y espesor del nervio óptico (figura 139, C). Estas células en araña, poseen numerosísimas expansiones granulosas que, interponiéndose á los cilindros-ejes, impiden el contacto de éstos.

Limitante interna. — Está constituído exclusivamente por la reunión en membrana continua de los extremos internos de las fibras de Müller (fig. 135, J), y es una cutícula hialina y correc-

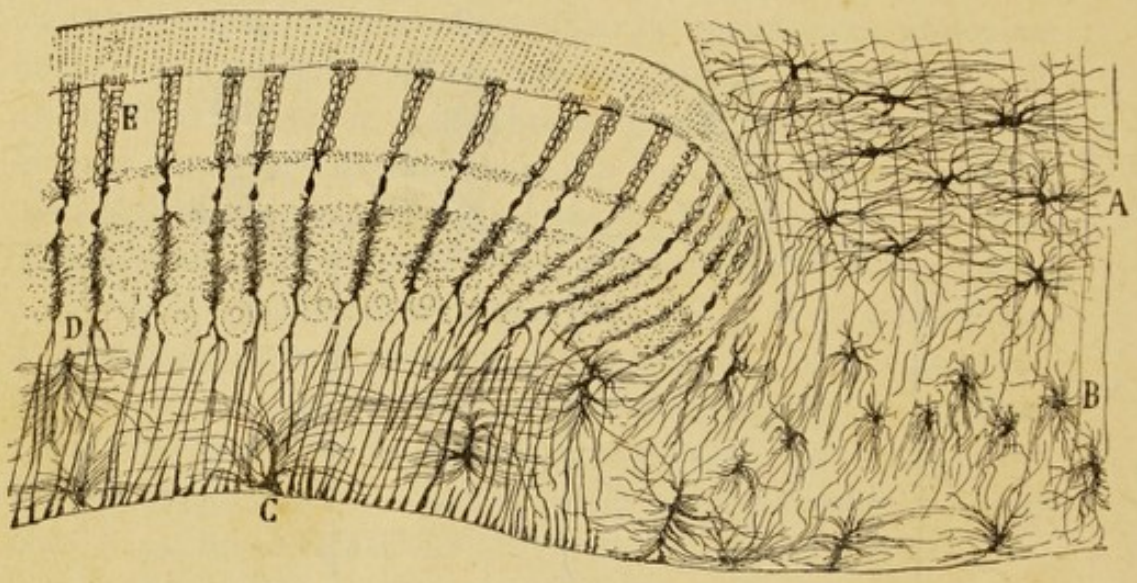


Fig. 139. — Células epiteliales y neuróglicas de la retina y nervio óptico. — A, células del nervio óptico ; B, neuroglia de la papila ; C, neuroglia de la capa de fibras ópticas ; D y E, fibras de Müller.

tamente contorneada, cuya cara interna es libre, mientras que la externa recibe el cono terminal de las citadas fibras.

Marcha de las excitaciones luminosas en la retina. — Después de lo expuesto, nada más fácil que seguir el camino de la impresión recolectada por los bastones y conos. Mas como las conexiones de unos y otros son diversas, y es sumamente probable que cada especie de células visuales sea afectada por una cualidad diversa de la luz (los bastones por la intensidad luminosa incolora, los conos por los colores), conviene investigar separadamente el camino de la impresión recibida por ambas especies de corpúsculos visuales (fig. 140).

Inpresión recibida por los bastones. — Es llevada primeramente á la zona plexiforme externa, donde la toman las bipolares de penacho ascendente ó de bastón, para conducirla al cuerpo mismo de las células ganglionares gigantes; desde este punto, el movimiento es trasladado á lo largo de los cilindros-ejes de la capa de las fibras ópticas, corre después por los nervios y cintas ópticas, y acaba en los cuerpos geniculados externos y tubérculos cuadrigéminos anteriores, donde se pone en conflicto con los penachos protoplásmicos periféricos de ciertas células nerviosas yacentes en estos órganos.

En el lóbulo óptico de las aves, donde nosotros logramos por primera vez precisar el modo de terminación de las fibras del nervio óptico, éstas se descomponen en magníficas arborizaciones libres, cada una de las que pone en relación con la expansión protoplasmática de varias células fusiformes. Cosa análoga se observa en el tub. cuadrig. anterior de los mamíferos, donde recientemente hemos acertado á impregnar las fibras ópticas terminales (fig. 140, *g*).

Impresión recibida por los conos. — Es desde luego conducida al piso profundo de la zona reticular externa, donde la recogen los penachos aplanados de las bipolares de cono; después, según sea la bipolar impresionada, la corriente se dirige á uno de los varios plexos de la zona plexiforme interna, donde la reciben los penachos protoplasmáticos de las células ganglionares. Finalmente, los cilindros-ejes de éstas se encargan de la conducción ulterior hasta los centros ópticos (fig. 140, *b*, *d*).

De la disposición de las vías conductrices retinianas y centrales, se siguen las siguientes importantes consecuencias :

1.ª Las impresiones suscitadas en las células visuales son siempre recogidas por expansiones protoplásmicas, llevadas por cilindros-ejes y aplicadas por arborizaciones de fibras nerviosas; es decir, que los corpúsculos retinianos, como los del bulbo olfatorio y los de todos los demás centros donde el sentido de la corriente es manifiesto, poseen un aparato de *absorción de corrientes* (cuerpo celular y expansiones protoplásmicas), y otro de *conducción y aplicación de las mismas* (cilindro-eje y su arborización final.

2.ª La conmoción retiniana no se propaga por una sola línea radial de elementos, sino por un grupo de células empalmadas; de suerte que cuanta más profundidad alcanza el movimiento, mayor número de elementos participan en la conducción. Por ejemplo: la impresión aportada por un cono, es recogida por varias bipolares de penacho aplanado; y como éstas envían por abajo el penacho terminal á pisos distintos de la zona plexiforme interna, resulta que pueden participar en la conducción diversas ganglionares, tantas por lo menos como bipolares. Por

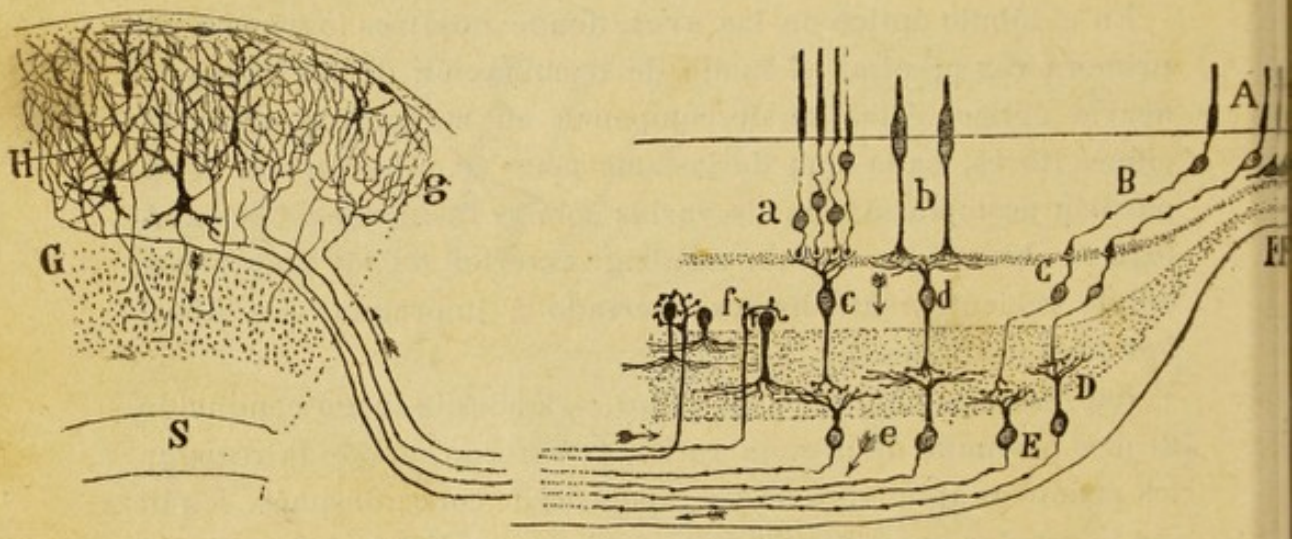


Fig. 140. — Esquema de la marcha probable de las corrientes en la retina y centros ópticos. — A, conos de la foseta central; B, cuerpo de los conos; C, enlace entre los conos y las bipolares de la foseta; D, unión de las bipolares con las células ganglionares; F, foseta; H, células nerviosas del tubérculo cuadrigémino anterior; *a*, cuerpos de bastón; *b*, cuerpos de cono de una región ordinaria de la retina; *c*, bipolar para bastones; *d*, bipolar para conos; *e*, células ganglionares; *f*, arborizaciones, sobre los espongioblastos, de fibras llegadas de los centros ópticos.

último, en los centros ópticos, cada fibra de la cinta óptica toca, por sus extensas arborizaciones libres, á varios corpúsculos ganglionares.

3.ª Los centros nerviosos obrarían también sobre la retina á favor de las fibras centrífugas, por las cuales llegaría una corriente destinada á difundirse por los espongioblastos. El objeto de esta influencia es actualmente desconocido.

Foseta central de la retina. — El paraje de esta membrana

correspondiente al extremo posterior del eje del globo ocular, presenta un punto adelgazado, producido por una excavación de 1 á 2 milímetros de diámetro, á cuyo nivel la capa ganglionar, la plexiforme interna y una buena parte de la de los granos internos, han desaparecido ó disminuído notablemente de espesor (figura 140, F). En cambio, la zona de los cuerpos de las células visuales alcanza un gran derarrollo, y las fibras descendentes de los conos, marchan oblícuamente hacia los bordes de la foseta y en dirección radiada. En la capa de los conos y bastones no existen más que conos, los cuales son aquí mucho más finos que en el resto de la retina (fig. 140, A).

Nuestras observaciones en la retina de las aves y reptiles, donde la *fovea* se halla muy desarrollada, nos permiten afirmar un hecho de cierta importancia, á saber : que el pie terminal de los conos, al llegar á la zona plexiforme externa, no suministra ramillas, sino que forma una especie de grano abrazado inferiormente por un diminuto penacho, continuado con las bipolares de la zona subsiguiente. De este modo, el movimiento recogido por un cono se propagaría sin comunicaciones laterales á una sola bipolar, y ésta lo transmitiría quizás á una sola célula ganglionar también, lo que explicaría la notable acuidad visual de la *fovea centralis*. Por lo demás, los penachos descendentes de las bipolares, las células ganglionares, etc., se disponen substancialmente como en el resto de la retina; solamente que, á consecuencia de la pérdida de substancia que representa la foseta, todos estos elementos están inclinados hacia afuera, y muchos de los enlazados dinámicamente con los conos de la *fovea*, se ven obligados á residir en los bordes de ésta, y hasta en zonas más lejanas.

Terminaciones nerviosas olfativas.—La estructura de la región superior de la mucosa nasal, único paraje donde yacen los corpúsculos nerviosos olfativos, es bastante bien conocida desde las ya antiguas y memorables indagaciones de Máximo Schültze.

Dos principales especies celulares arregladas en una sola capa, constituyen el epitelio nasal : los *corpúsculos epiteliales* ó de sostenimiento ; las *células nerviosas* ó bipolares.

Las *células epiteliales* (fig. 141, A) son prismáticas, y ofrecen

en sus caras numerosas fosetas ó moldes en hueco, para adaptarse á los corpúsculos bipolares, á los que aislan por completo. Parécense en esto tales células á las fibras de Müller de la retina y su misión no parece ser otra que impedir los contactos de los corpúsculos nerviosos, imposibilitando toda comunicación horizontal de corrientes.

Las *células bipolares* ó corpúsculos olfativos poseen un cuerpo diminuto, oblongo ó fusiforme, casi exclusivamente formado por el núcleo. De la delgada capa protoplasmática envolvente parten dos expansiones: *externa* é *interna* (figura 141, B). La *externa* es gruesa, y acaba en la misma superficie libre del epitelio, mediante algunos apéndices libres, finísimos, no vibrátiles y extendidos casi horizontalmente por la capa de mucina que moja exteriormente el epitelio. La *interna* es finísima, varicosa, con todas las apariencias de filamento nervioso (circunstancia que ya hizo notar Schültze), y prolongándose hasta la parte inferior del epitelio, se continúa con una fibrilla del nervio olfatorio (figura 141, C).

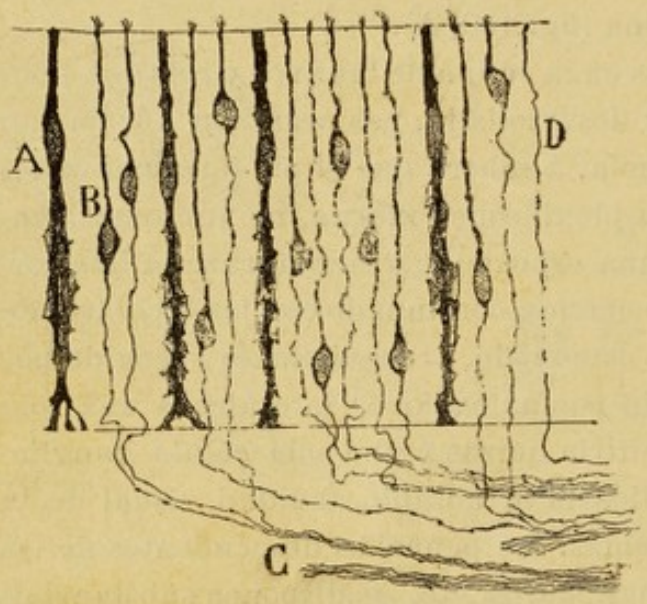


Fig. 141. — Células de la mucosa olfatoria del ratón de ocho días.—A, célula epitelial ó de sostenimiento; B, células bipolares; C, haces nerviosos olfatorios; D, terminación libre de una fibra quizá de naturaleza sensitiva (fibra de Brunn).

Por el dermis de la mucosa corren numerosos haces de fibras olfatorias, separadas por una trama conectiva y abundantes glándulas tubulosas (glándulas de Bowmann).

La continuación de la expansión profunda de la célula bipolar con una fibra olfatoria, fue ya sospechada por Schültze. Pero la demostración absoluta del hecho ha exigido la invención de mé-

todos analíticos especiales (método de Ehrlich y el de Golgi), y sólo ha sido llevada á cabo en estos últimos años, gracias á las investigaciones de Arnstein, Grassi y Castronovo, las nuestras y las de van Gehuchten.

Nuestras observaciones sobre este punto prueban, no sólo la continuación de una fibra de los nervios olfatorios con una célula bipolar de la mucosa, sino también la perfecta unidad é independencia de aquélla durante todo su itinerario hasta el bulbo, donde cesa, á beneficio de una arborización libre. Las redes y ramificaciones que algunos autores habían descrito en el trayecto intra ó extra-epitelial de las fibrillas olfatorias, no han podido ser confirmadas con los nuevos métodos de coloración (1).

Terminaciones nerviosas en el oído interno. — La parte fundamental del caracol membranoso, es el órgano de Corti, punto donde se verifica la impresión de las ondas sonoras, y de cuya estructura, en extremo compleja, no señalaremos aquí más que los datos esenciales.

Sobre la membrana basilar yace una bóveda ó túnel prismático, de curso espiral, construído de dos hileras de pilares que, por su posición respecto del eje del caracol, se distinguen en internos y externos (fig. 142). Dichos pilares son células epiteliales diferenciadas en una materia dura, homogénea y elástica, excepto cerca de sus extremos inferiores, donde conservan todavía el núcleo y un resto del antiguo protoplasma. Insértanse por abajo sobre la membrana basilar, á cierta distancia unos de otros, y reúnense por arriba, ofreciendo el extremo superior de los internos una cavidad donde se aloja la cabeza de los externos. Por fuera de estos últimos, se halla una formación epitelial, cuya altura va disminuyendo sucesivamente conforme se aleja del túnel de Corti. Esta capa epitelial se compone de dos clases de células: 1.ª, las de *Deiters* ó de sostén (D), muy alargadas, provistas de un extremo inferior grueso, implantado en la membrana basilar, y de otro más delgado, dirigido hacia arriba y terminado en la superficie epitelial; y 2.ª, las *ciliadas* ó corpúsculos *acústicos*, distribuídos en tres ó cuatro series alternas con

(1) *Cajal:* Origen y terminación de las fibras nerviosas olfatorias. *Gaceta sanitaria municipal.* Barcelona, 1890.

los elementos anteriores, y que se distinguen por ofrecer un cuerpo grueso, corto, terminado hacia arriba por un mechón de pestañas y hacia abajo por un cabo redondeado, sostenido por las células de Deiters (C). Por dentro del pilar interno existe otro revestimiento epitelial menos extenso, que consta de : una hilera de *células ciliadas* análogas á las anteriores (G), y varias filas de elementos no pestañosos (células de *sostén*), cuya altura va decreciendo por dentro hasta igualar á la de los corpúsculos aplastados del surco espiral interno (S).

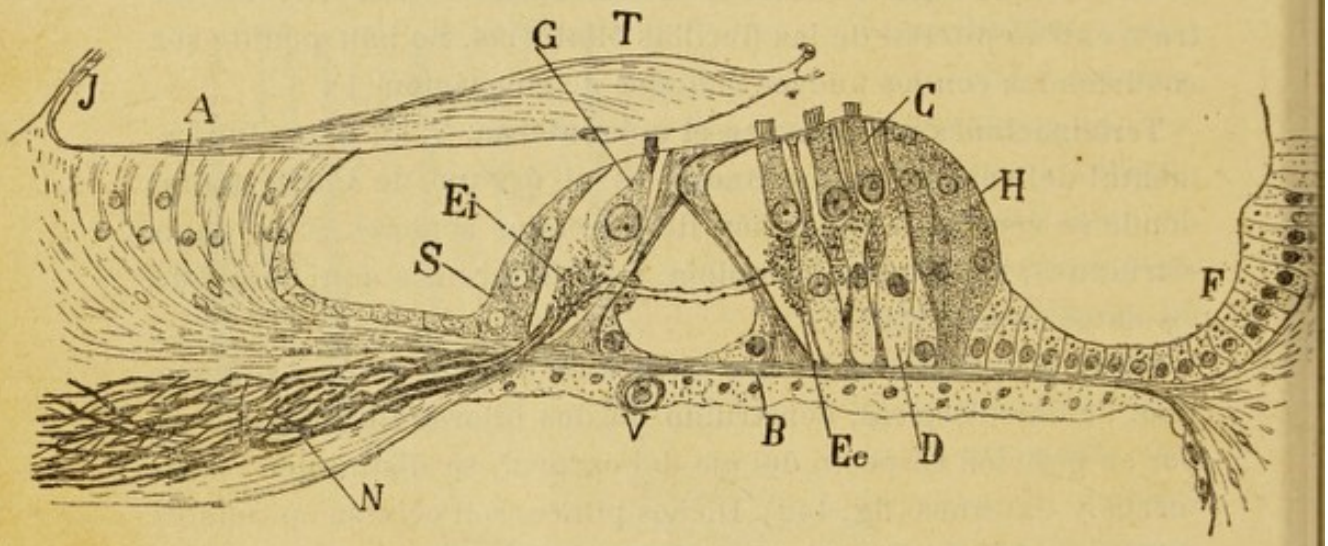


Fig. 142. — Corte del órgano de Corti del hombre (según Retzius). — A, cresta espiral ; B, membrana basilar ; C, células ciliadas externas ; D, células de sostenimiento ; Ei, manojo nervioso espiral interno ; Ee, manojo nervioso espiral externo ; F, epitelio del surco espiral externo ; H, células de apoyo de Hensen ; N, nervio coclear por encima del ganglio ; T, membrana tectoria ; V, vaso espiral ; J, arranque de la membrana de Reissner.

Terminación en el caracol de las fibras del nervio coclear. — El problema de la terminación del nervio coclear ha sido resuelto en estos últimos años por Retzius, cuyos estudios han sido confirmados por van Gehuchten, von Lenhossék y nosotros. Como se ve en la fig. 143, B, el nervio coclear proviene de las células bipolares del ganglio espiral del caracol; las expansiones descendentes de estas células van hacia el bulbo para constituir la raíz coclear del acústico, y terminar en los núcleos acústicos ventral y lateral yacentes al lado externo del cuerpo restiforme; mientras que las expansiones ascendentes ó periféricas penetran

por entre las dos hojas de la lámina espiral ósea, llevando una dirección radiada, ganan después la membrana basilar, é ingresan, finalmente, en el epitelio del órgano de Corti. Tanto la expansión descendente como la ascendente poseen vaina de mielina, que cesa en la ascendente cerca del paraje de ingreso en la membrana basilar. Como se advierte en la fig. 143, donde hemos representado el órgano de Corti seccionado según el plano de la

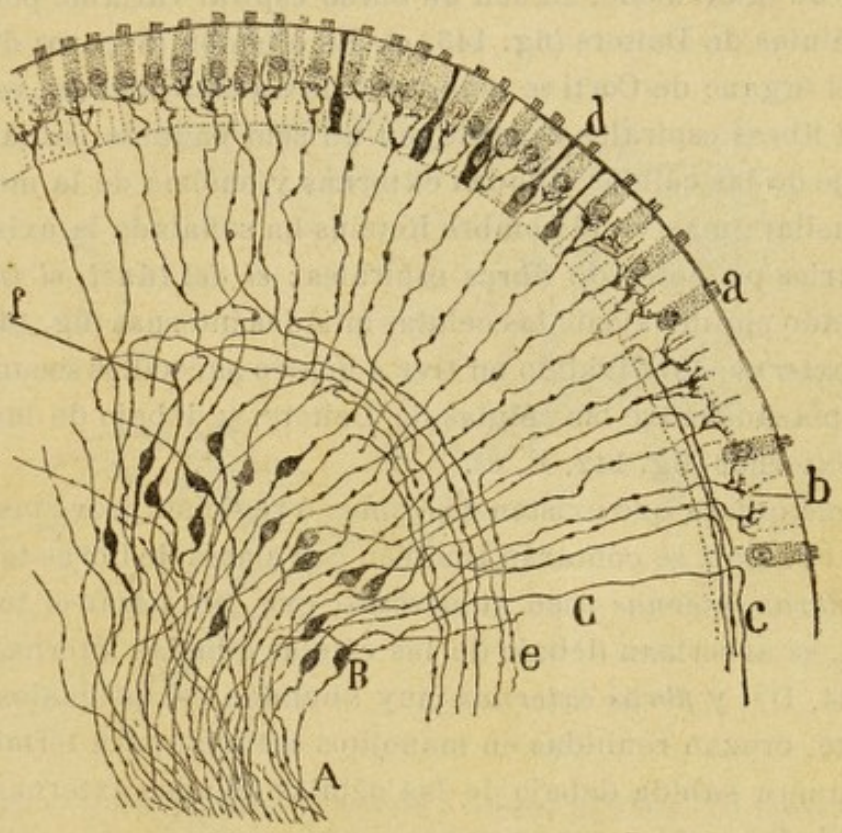


Fig. 143. — Corte de plano de una vuelta de espiral del órgano de Corti del ratón de cinco días. — A, nervio coclear; B, trozo de ganglio espiral; C, fibras que forman debajo del epitelio del órgano de Corti un haz espiral; *a*, células ciliadas; *b*, terminaciones nerviosas; *d*, células de sostenimiento.

membrana basilar, no todas las expansiones ascendentes van desde luego al epitelio terminal; algunas, llegadas que son á la porción externa del ganglio espiral, se doblan para acabar sin duda en parajes mucho más altos del caracol; otras se bifurcan al mismo nivel, engendrando ramas generalmente desiguales, que acaso se terminen, después de un curso espiral variable, en zonas distantes del órgano de Corti.

En cuanto á las fibras que marchan directamente al órgano de Corti, las investigaciones de Retzius han demostrado que se comportan también de dos maneras : unas, las más, ganan el epitelio y se terminan por debajo de las *células ciliadas*, á favor de un penacho de hilos varicosos, ascendentes, que se ponen en íntimo contacto con el cabo inferior y caras laterales de dichos corpúsculos acústicos ; y otras, menos numerosas, antes de arborizarse de igual modo, siguen un curso espiral variable por entre las células de Deiters (fig. 143, *c*). En el ratón de pocos días, en que el órgano de Corti se muestra todavía embrionario, estas últimas fibras espirales constituyen un solo paquete, situado por debajo de las células ciliadas externas y encima de la membrana basilar; mas en el hombre Retzius ha señalado la existencia de varios paquetes de fibras espirales : *el del túnel, el interno*, colocado por debajo de las células ciliadas internas (fig. 142, E, *i*) y *el externo*, subdividido en tres ó cuatro hacecillos secundarios y emplazado entre las células de Deiters, y debajo de las ciliadas externas (fig. 142, E, *e*).

Como quiera que existen dos zonas ó regiones provistas de células ciliadas, se contarán también dos clases de fibras terminales : *fibras internas* poco numerosas, que, sin pasar el túnel de Corti, se arborizan debajo de las células ciliadas internas (figura 144, D) ; y *fibras externas* muy abundantes, las cuales, en el adulto, cruzan reunidas en manojitos el túnel, para terminar de la manera sabida debajo de las células ciliadas externas (figura 144, E).

De lo expuesto resulta que el nervio coclear no es comparable al olfatorio. En la mucosa olfatoria la expansión protoplásmica ó periférica de las células bipolares se pone directamente en relación con el mundo exterior ; mientras que en el órgano de Corti esta misma expansión, nacida también de corpúsculos nerviosos bipolares, se relaciona con una categoría especial de elementos intermediarios, las *células ciliadas*, que son las encargadas de recoger y transformar las ondulaciones sonoras. Bajo este aspecto, el caracol membranoso se parece á la retina, donde se halla también una clase especial de células colectoras, los conos y bastones, destinados á llevar la impresión lumino-

sa á los corpúsculos bipolares yacentes en capa más profunda.

Las prolongaciones internas de las células bipolares del ganglio espiral, que forman el nervio coclear, abordan el bulbo raquídeo, donde se bifurcan en rama ascendente y descendente; éstas, así como sus innumerables colaterales, se ramifican en *ganglio ventral y en el lateral del acústico*. En este punto la excitación acústica es tomada por unos gruesos corpúsculos esfe-

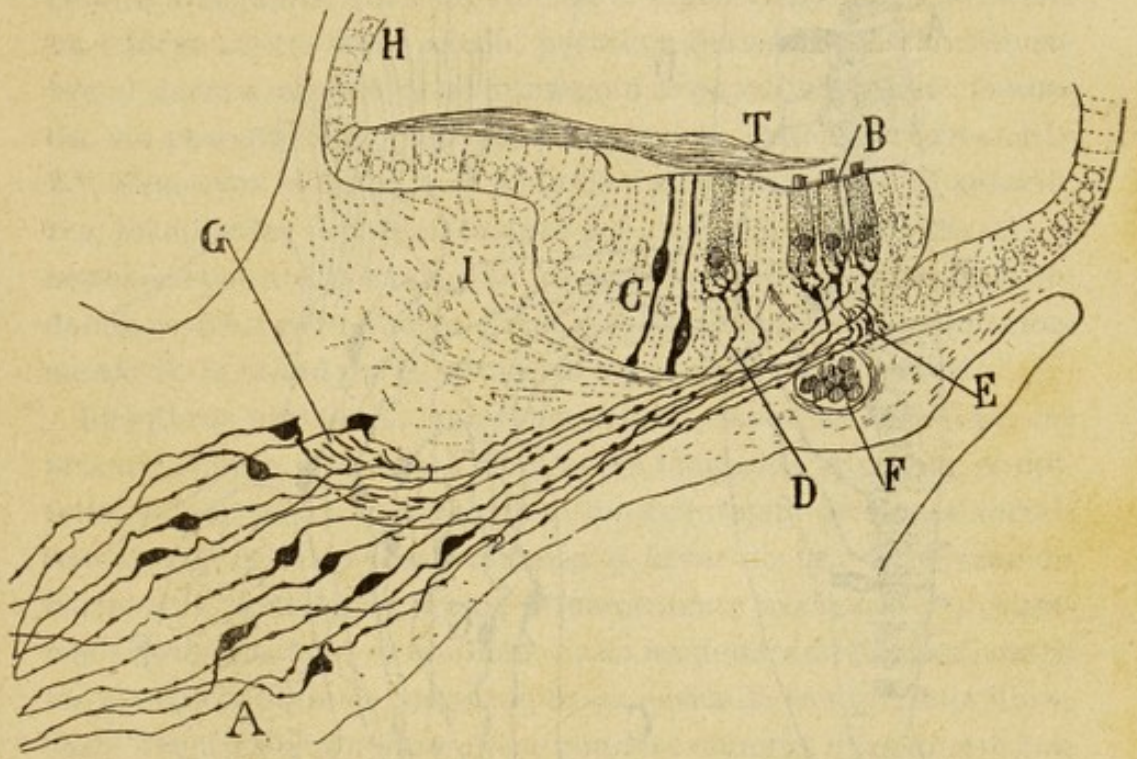


Fig. 144. — Corte del ganglio espiral y órgano de Corti del ratón de cinco días. — A, células bipolares del ganglio espiral; B, células ciliadas externas; C, células de sostenimiento; D, arborización terminal de una fibra nerviosa acústica; E, manojo nervioso espiral; F, vaso espiral; G, fibras que marchan en espiral á ramificarse á regiones distantes del órgano de Corti; H, membrana de Reissner; T, membrana tectoria.

roidales ó fusiformes yacentes en dichos focos, y es llevada al tubérculo cuadrigémino posterior (Held, Kölliker, Cajal) (1).

(1) Véase, para el estudio de las vías acústicas centrales, Cajal: Apuntes para el estudio del bulbo raquídeo, cerebelo y origen de los nervios craneales, etc. *Anales de la Sociedad Española de Historia Natural*, 1895, y, mejor, la traducción alemana notablemente aumentada de este opúsculo, titulada: Beitrage zum Studium des Medulla Oblongata, &. Traducción de Johannes Bressler. Leipzig, 1896.

Terminaciones del nervio vestibular.—Procede este nervio de un ganglio especial situado en el fondo del conducto auditivo interno, el *ganglio de Scarpa ó vestibular.* Como las células del

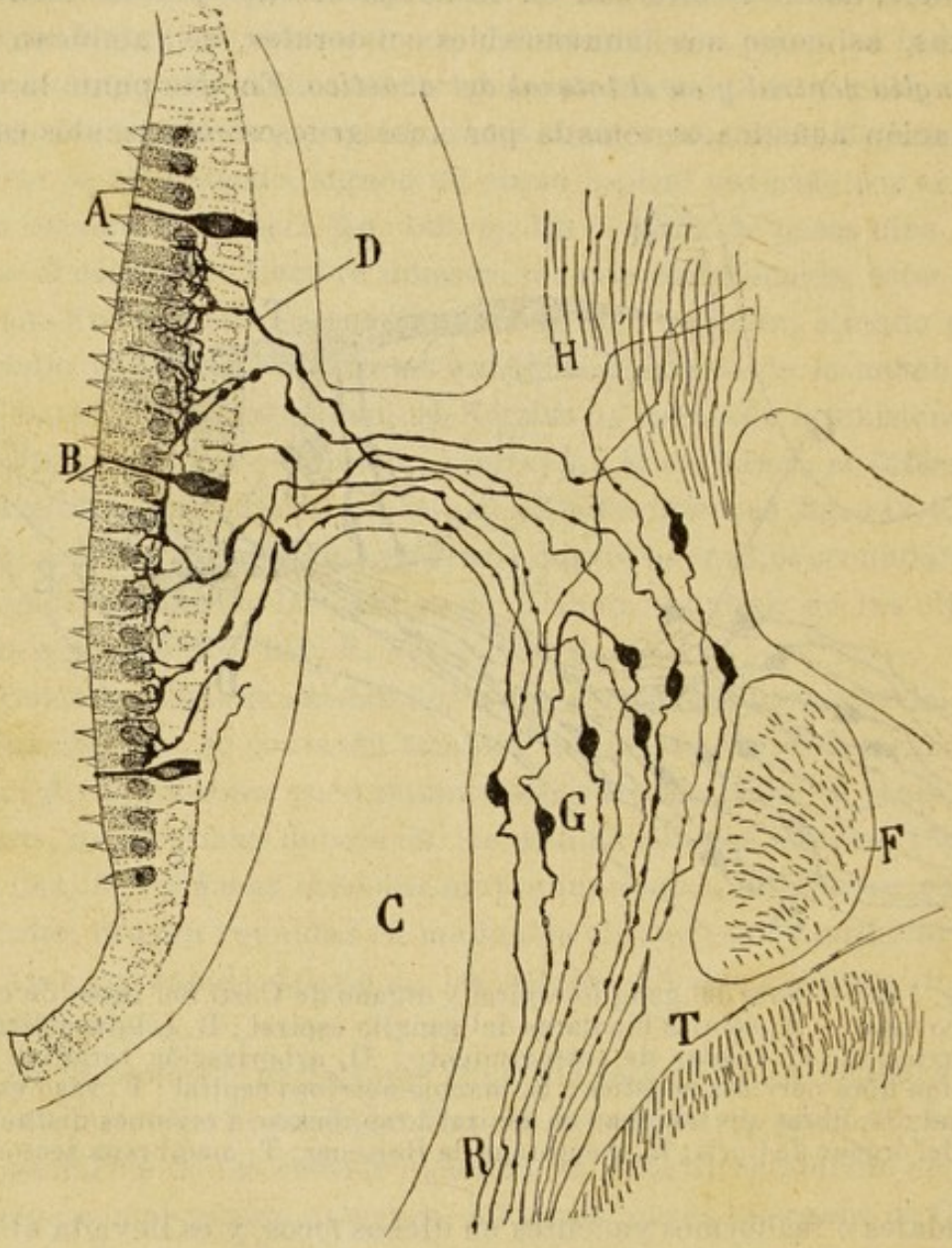


Fig. 145. — Ganglio vestibular y mancha acústica del utrículo del ratón de cuatro días.— A, células ciliadas ; B, células de sostenimiento ; D, fibra nerviosa terminal ; G, ganglio vestibular ; F, corte del nervio facial ; T, bulbo raquídeo al nivel de la rama descendente del trigémino; G, cartílago.

coclear, las de este ganglio poseen dos expansiones polares : una *periférica*, que se dirige á la *mácula acústica* del utrículo y

crestas de los conductos semicirculares ; otra *central*, que constituye la raíz vestibular del acústico y tiene su terminación en los ganglios de Deiters, Bechterew y núcleo descendente del bulbo.

En la fig. 145 representamos el corte de la *mácula acústica* del ratón de pocos días. Esta mácula es una parte engrosada del epitelio del utrículo, y está construída, como todo epitelio sensorial, de dos clases de células : 1.°, *elementos de sostén*, es decir, células alargadas, que ocupan todo el espesor epitelial y ofrecen : un cuerpo vuelto hacia abajo, portador del núcleo y yacente sobre el dermis mucoso, y un vástago ó expansión superior acabada, sin pestañas ni placa aparente, en la superficie libre (B) ; 2.°, *elementos ciliados*, más gruesos y granulosos que los anteriores, terminados superficialmente por una gruesa pestaña (A) y acabados por abajo á favor de un extremo redondeado y espeso, donde se alberga el núcleo. Estas células no suelen pasar inferiormente de la mitad de la altura de los corpúsculas de sostén.

Las fibras nerviosas, que representan, como hemos dicho, las prolongaciones periféricas de células bipolares, abordan el epitelio, se bifurcan á menudo en el límite inferior de éste, y terminan debajo de las células ciliadas á favor de una arborización horizontal, de ramas gruesas y fuertemente varicosas (D). Algunos ramitos ascienden también, como ha mostrado Retzius, entre las células epiteliales, llegando hasta cerca de la superficie libre. Cada arborización horizontal se pone en relación de contacto con los cabos inferiores de tres ó más células ciliadas. El conjunto de estas ramificaciones constituye, según han indicado Niemack y Lenhossék, un plexo nervioso horizontal extendido por debajo de los cabos de los elementos ciliados.

Por lo demás, iguales terminaciones nerviosas y la misma estructura exhiben las crestas acústicas de los conductos semicirculares.

Las prolongaciones centrales de las células bipolares del ganglio de Scarpa, engendran el *nervio vestibular* y marchan al bulbo raquídeo á un foco especial llamado *ganglio de Deiters*, en el cual, según han mostrado las investigaciones de Kölliker, de Held y de Cajal, se bifurcan, produciendo una rama ascendente y otra descendente, ricamente arborizadas en dicho foco.

Como nuestras indagaciones han revelado, la rama ascendente se distribuye especialmente por el ganglio de Bechterew (prolongación posterior del de Deiters), penetrando después en el cerebelo, donde tiene su especial terminación.

Terminaciones nerviosas en los órganos del gusto. — El aparato terminal del gloso-faríngeo, lo constituyen ciertos órganos en forma de tonel, llamados *yemas* ó *botones gustativos*, situados en el epitelio del surco que rodea á las papilas caliciformes y fungiformes de la lengua. En el conejo, el aparato terminal gustativo está representado por dos placas redondeadas, colocadas á los lados de la lengua y cubiertas de crestas paralelas (*órgano foliado*).

Cuando se examina al microscopio un corte fino del *órgano foliado* del conejo, se ve que en cada surco interpapilar el epitelio posee varias hileras de yemas gustativas (fig. 146). Estas yemas afectan figura oblongada, se extienden desde el tejido conectivo á la superficie libre, y constan de dos clases de células : *las de sostén*, gruesas, pálidas, á veces vacuoladas, ricas en protoplasma y yacentes en la periferia del acúmulo celular (A); y las *bipolares* (B)situadas en el centro, mucho más delgadas y provistas de un cuerpo ligeramente engrosado por el núcleo, de un extremo superior adelgazado y prolongado hasta la superficie libre, de la cual emerge bajo el aspecto de fina pestaña, y de un cabo inferior más espeso, terminando libremente cerca del dermis. Las células epiteliales comunes llenan los espacios que median entre los botones gustativos, y, en el vértice de éstos, reservan un espacio circular, el *poro gustativo* (fig. 146, I), por donde las partículas sápidas pueden directamente impregnar las pestañas de las células bipolares.

Los filamentos nerviosos han sido estudiados por varios autores, particularmente por Arnstein, Lenhossék, Retzius, Fusari y Panaszi, Jaques, etc., los cuales se han servido ya del método de Ehrlich, ya del de Golgi. Los resultados conseguidos por estos observadores, concuerdan en lo substancial, y han conducido á admitir en el aparato gustativo dos clases de fibras terminales :

1.° *Fibras intragemmales* (G), es decir, fibrillas finas, numerosas, que, después de circular reunidas en hacecillos por debajo

del epitelio, abordan el cabo inferior del botón ó yema gustativa y engendran una arborización varicosa, libre y muy complicada que abraza con sus giros y revueltas la superficie de las células bipolares.

Cuando las fibras impregnadas son muy numerosas, como aparece en la figura 146, J, el plexo terminal es tupidísimo, y no yace solamente por fuera de las bipolares sino también entre ellas.

2.° *Fibras intergemmales* (E). — En los espacios epiteliales que separan los botones gustativos, se ven además unas fibras rectas ó casi rectas, poco ramificadas, las cuales se extienden desde los manojitos nerviosos sub-epiteliales, hasta la misma superficie libre, donde acaban por un extremo varicoso, á menudo doblado ó dispuesto en zig-zag.

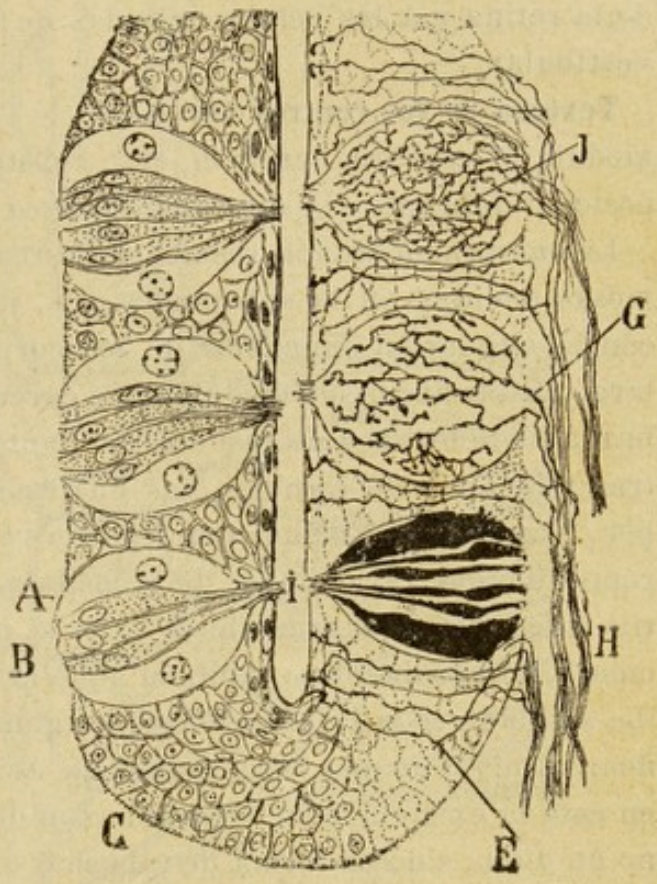


Fig. 146.—Corte vertical de un repliegue epitelial del órgano foliado del conejo. A la izquierda se ven los botones gustativos teñidos por el carmín, á la derecha se muestran teñidos por el método de Golgi. —A, célula de sostenimiento; B, células bipolores; C, epitelio pavimentoso; E, fibras nerviosas intergemmales; G, arborizaciones nerviosas intragemmales; J, un botón gustativo donde el plexo nervioso aparecia teñido por completo; H, haces nerviosos que corren por el dermis; I, poro gustativo (según Retzius y Lenhossék).

Ignórase cuál es la significación de estas últimas fibras. Tocante á las primeras ó intragemmales, los autores están de acuerdo en considerarlas como terminaciones sensoriales específicas, destinadas á noticiar al sensorio de las cualidades sápidas de los alimentos y bebidas.

De lo expuesto resulta que, en el aparato gustativo terminal, la impresión no es recibida directamente por los nervios, sino por unos corpúsculos intermediarios, las *células bipolares*, en un todo análogas, bajo el aspecto funcional, á los bastones y conos de la retina y á las células ciliadas de los aparatos acústico y vestibular.

Textura de los centros nerviosos. — Todo centro nervioso, la médula, el cerebro, cerebelo, etc., consta de dos tramas de composición diferente : la *substancia blanca* y la *substancia gris*.

La *substancia blanca* resulta de la reunión de las fibras nerviosas nacidas en la substancia gris, y las cuales se continúan con la expansión funcional de los corpúsculos de cilindro-eje largo. Estas fibras son meduladas y carecen de núcleos, de membrana de Schwan y de cisuras de Lanterman, pero poseen estrangulaciones de Ranvier, las cuales se ponen de manifiesto por el método de Ehrlich. Como puede verse en la fig. 147, donde reproducimos varios tubos de la médula espinal, el azul de metilo tiñe muy intensamente el axon al nivel de las estrangulaciones, comprobándose también aquella ley, más atrás enunciada, á saber : toda bifurcación ó emergencia de colateral se verifican al nivel de una estrangulación. Asimismo cabe establecer en ésta la existencia en torno del axon de un cemento dispuesto, no en disco, sino en forma de tubo más ó menos prolongado, mediante el cual se juntan los extremos de la mielina, que se hallan mucho más separados entre sí en los tubos centrales que en los periféricos. En ciertas fibras, la porción del axon rodeada del cemento, aparece decolorada, con lo que la estrangulación resulta formada por dos bandas azules limitadas por una zona incolora ó débilmente teñida (1). Entre ellas existe un plexo tupido formado por el entrecruzamiento de las expansiones de las células neuróglicas.

La *substancia gris* está constituída por las siguientes partes : 1.°, células nerviosas de cilindro-eje largo; 2.°, células nerviosas de cilindro-eje corto; 3.°, fibras nerviosas terminales arribadas de otros centros; y 4.°, un plexo de finas ramitas colaterales

(1) Cajal : El azul de metileno en los centros nerviosos, *Revista trimestral micrográfica*, núm. 4, 1896.

emanadas, tanto de los tubos de la substancia blanca contigua, como del trayecto *intra-gris* de los cilindros-ejes largos, cuyas células de origen habitan en la substancia gris. En algunas par-

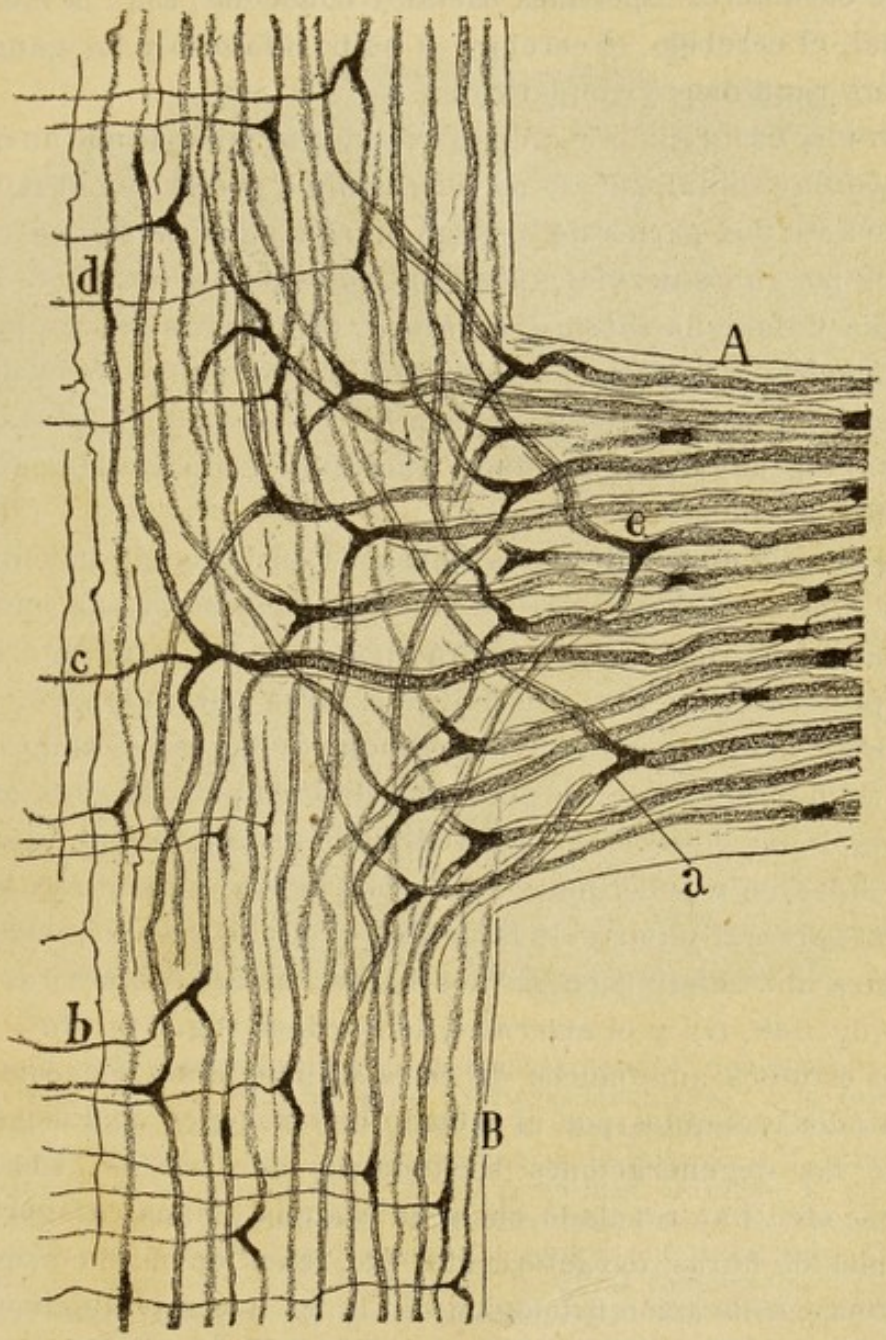


Fig. 147.—Raíces sensitivas medulares de la rana adulta y de gran talla. Corte longitudinal del cordón posterior de la médula espinal. Método de Ehrlich-Bethe. Obj. 1'30, Zeiss.—A, raíz posterior; B, cordón posterior; *a*, bifurcación de una radicular en plena raíz; *b*, colaterales sensitivas; *c*, colateral de la bifurcación; *d*, estrangulación sin colateral; *e*, bifurcación desigual.

tes de los centros, la substancia gris contiene también células de neuroglia.

Los centros de substancia gris, cuya disposición estructural ofrece caracteres especiales bastante conocidos, son : la médula espinal, el cerebelo, el cerebro, el bulbo olfatorio y los ganglios cerebro-raquídeos y simpáticos.

MÉDULA ESPINAL.—Cuando se examina al microscopio un corte de médula espinal, teñido por el carmín ó por la hematoxilina, obsérvanse dos partes de aspecto diverso : una periférica constituída por tubos nerviosos longitudinales paralelos al eje de la médula y llamada *substancia blanca;* otra central formada por células nerviosas y un plexo de fibrillas ó ramificaciones de cilindros-ejes (astas de substancia gris). En el eje de la substancia central ó gris yace un conducto fino prolongado con las cavidades del encéfalo.

Topografía de la substancia blanca.—Considerando el conjunto de la substancia blanca, se ve que está dividida en dos mitades laterales por dos surcos longitudinales medios, uno anterior y otro posterior (fig. 148). Un delicado surco antero-lateral, poco aparente y correspondiente al arranque de las raíces anteriores, (*a*) y otro postero-lateral, más acusado y emplazado en la emergencia de las posteriores, (*b*) subdividen cada mitad de substancia blanca en tres cordones : *anterior*, *lateral* y *posterior*. En la región cervical y parte de la dorsal, el cordón posterior todavía muestra una subdivisión en dos haces : el *interno* ó *cordón* de Goll (fig. 148, G), y el *externo* ó de Burdach (fig. 148, B).

Los estudios anatómicos de estos últimos años, así como los resultados obtenidos por el método embriológico de Flechsig y el de las degeneraciones secundarias de Gudden, Charcot, Turck, etc., han revelado en la substancia blanca categorías ó sistemas de fibras, caracterizados por tener un mismo origen é idéntica significación fisiológica. En la fig. 148 reproducimos estos sistemas de fibras, que son : 1.°, la *vía piramidal directa*, manojo descendente emplazado en el fondo de la cisura anterior, por dentro del cordón anterior (fig. 148, I); 2.°, la *vía piramidal cruzada*, manojo descendente mucho más robusto, situado en el espesor del cordón lateral, junto al posterior (fig. 148, J);

3.°, la *vía cerebelosa ascendente*, que yace superficial por fuera de la vía piramidal cruzada (fig. 148, C); 4.°, el *fascículo antero-lateral ascendente* ó de Gowers (fig. 148, D), vía colocada por

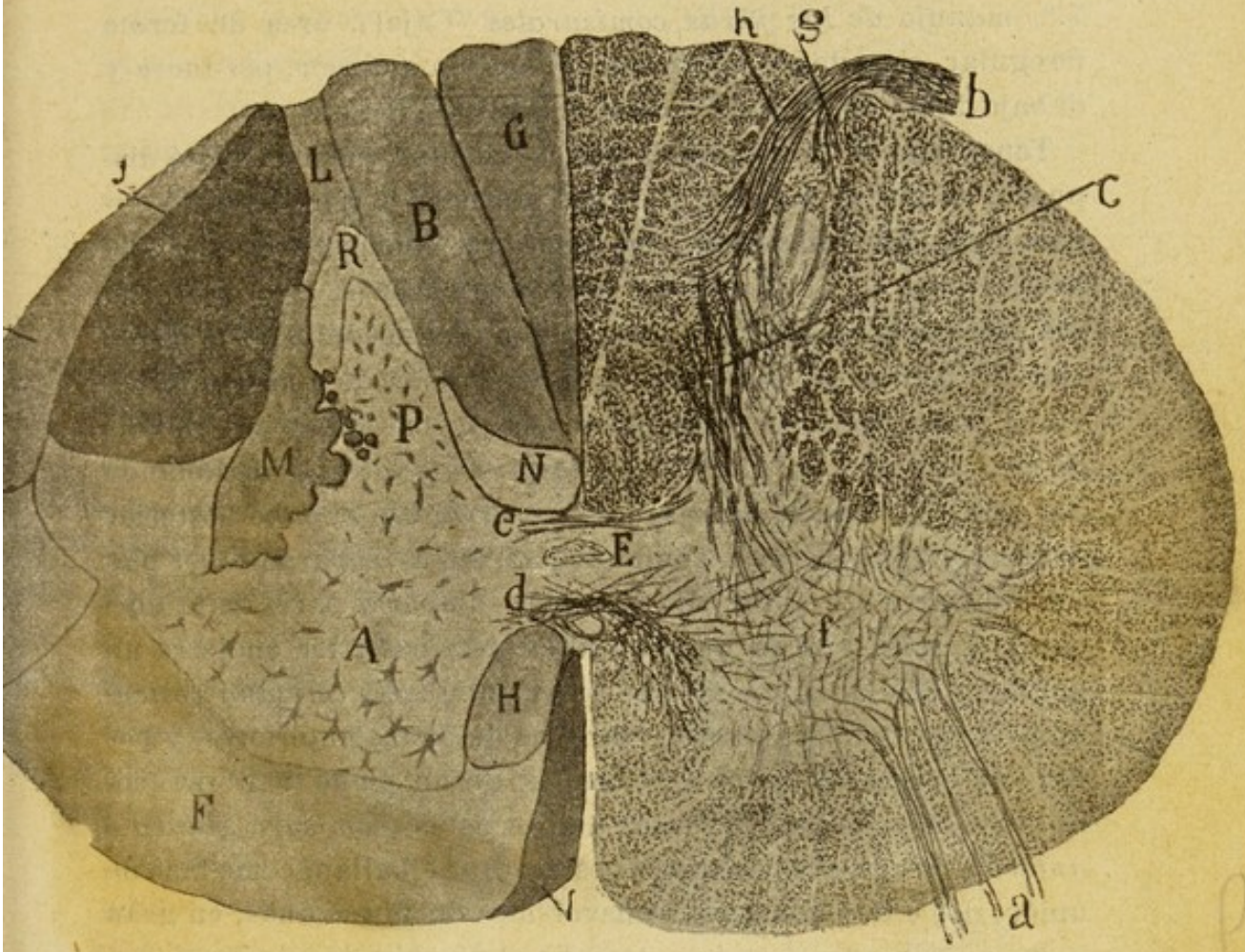


Fig. 148. — Corte transversal de la médula cervical del hombre. A la derecha representamos las fibras nerviosas meduladas; á la izquierda los diversos manojos en que se divide la substancia blanca. — A, asta anterior; B, asta posterior; R, substancia de Rolando; B, cordón de Burdach; G, cordón de Goll; J, vía piramidad cruzada; I, vía piramidal directa; C, fascículo cerebeloso ascendente; D, fascículo de Gowers; F, porción fundamental del cordón antero-lateral; M, manojo del asta posterior; H, manojo de fibras comisurales; L, zona marginal de Lissauer; N, porción fundamental del cordón posterior; *a*, raíz anterior; *b*, raíz posterior; *c*, haz reflejo-motor; *d*, comisura anterior; *e*, comisura posterior; *f*, fibras del asta anterior.

delante de la precedente y dirigida también al cerebelo (Lowenthal, Mott, etc.); 5.°, la *zona limitante del cordón lateral* (figura 148, M) ó *manojo del asta posterior* (Cajal), vía corta emplazada

por dentro de la piramidal cruzada, tocando á la substancia gris del asta posterior; 6.°, *zona marginal de Lissauer* (figura 148, L), campo formado por fibras finísimas, situado detrás de la substancia de Rolando, junto á la entrada de la raíz posterior; 7.°, *manojo de las fibras comisurales* (Cajal), área de forma irregular, situada en lo interno del cordón anterior, por fuera y debajo de la vía piramidal directa (fig. 148, H), etc.

Topografía de la substancia gris. — La substancia gris está dispuesta en un eje vertical, del cual proceden cuatro aletas ó expansiones, llamadas *astas*, dos anteriores, anchas, redondeadas, penetrantes, en el espesor del cordón anterior (A); dos posteriores, más delgadas, que ingresan en el espesor del cordón posterior. El *asta porterior* comprende dos zonas de apariencia diversa : *asta posterior propiamente dicha*, constituída por células de mediana talla (fig. 148, P); y *substancia gelatinosa* de Rolando (fig. 148, R), especie de casquete que recubre el cabo posterior del asta y que consta de células pequeñísimas, separadas por plexos fibrilares apretados. En la región lumbar y parte de la dorsal, la porción interna de la base del asta posterior encierra un acúmulo celular vertical, que se ha designado *columna vesiculosa* de Clarke. Finalmente, entre las dos astas anteriores, y por bajo del fondo del surco anterior, existe un plano de fibras meduladas (*d*), que parece juntar ambas astas (*comisura blanca ó anterior*) y entre las dos astas posteriores se hallan, como lazo de unión, dos ó tres cordones transversales de fibras finas, en gran parte ameduladas, que han tomado el nombre de *comisura posterior ó gris* (*e*).

Textura de la substancia blanca. — Al microscopio aparece formada esta substancia por una infinidad de tubos nerviosos verticales, paralelos, de calibres muy distintos y separados por una trama tupida de células de neuroglia. Cada tubo nervioso contiene un cilindro-eje colorable por el carmín, la vaina de Mauthner y algunas estrangulaciones prolongadas que se pueden distinguir en dos especies : estrangulaciones rectas exentas de colateral; y estrangulaciones angulosas de las cuales brota una fibrilla colateral.

Como dejamos dicho más atrás, el azul de metileno tiñe inten-

samente estas estrangulaciones, denunciando la existencia de un forro de cemento destinado á juntar los cabos de la mielina.

Cuando se examina, con ayuda del método de Golgi, la substancia blanca medular de embriones de ave ó de mamíferos, así como la de mamíferos recién nacidos, se advierte que las fibras nerviosas que la forman no son otra cosa que cilindros-ejes de células de la substancia gris, los cuales, después de marchar transversalmelte hacia la periferia, se hacen verticales para reingresar, tras un curso más ó menos largo en el espesor de las astas medulares.

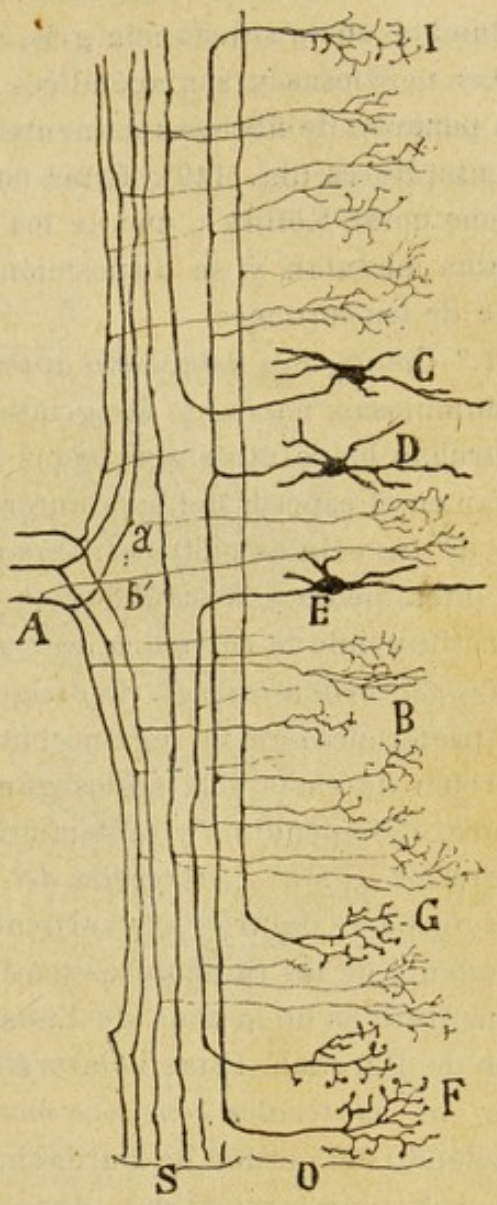


Fig. 149. — Corte longitudinal del cordón posterior. Figura semi-esquemática. — A, raíz posterior; B, arborizaciones de las colaterales de la substancia blanca; C, D, E, células nerviosas del asta posterior, cuyo cilindro-eje va á la substancia blanca; O, substancia gris; S. substancia blanca.

La mayor parte de estos cilindros-ejes acaban mediante arborizaciones extensas, varicosas y libres en el interior de la materia gris, donde se ponen en íntimo contacto con corpúsculos nerviosos. Representan, pues, estos cilindros-ejes verdaderas comisuras arciformes longitudinales, tendidas entre dos ó más pisos de la substancia gris, disposición adivinada ya por los anatómicos antiguos, pero sólo probada hoy por las investigaciones de Golgi y las nuestras.

Todas las fibras de la substancia blanca emiten de trecho en trecho finas ramitas colaterales, las cuales, penetrando horizontalmente en la substancia gris, se terminan en torno de las células nerviosas y sus apéndices protoplásmicos, á beneficio de un penacho de fibras sumamente varicosas, espesas y completamente libres (fig. 149). Estas colaterales constituyen, como ha hecho notar Kölliker, uno de los factores más importantes de la trama medular, y su disposición y conexiones varían en cada uno de los cordones.

1.° *Colaterales del cordón anterior* (fig. 150, B). — Son las más voluminosas, nacen de los gruesos cilindros-ejes de este cordón; marchan hacia atrás agrupadas en haces irregulares y se ramifican en el espesor del asta anterior y más especialmente en torno de las células motrices. Una parte de estas colaterales gana la línea media y se ramifica en el asta anterior del otro lado, constituyendo la *comisura anterior de colaterales* (C). 2.° *Colaterales del cordón lateral*. Se dirigen hacia adentro y se ramifican de preferencia en la región central de la substancia gris. Una porción de estas colaterales gana la comisura gris, cruza por detrás del epéndimo y se ramifica en la substancia gris del asta posterior (F). 3.° *Colaterales del cordón posterior*. Nacen de la mayor parte del trayecto vertical de las ramas ascendente y descendente de las radiculares sensitivas, así como de fibras cortas constitutivas de la zona de Lissauer y porción anterior del cordón de Burdach. Estas colaterales forman cuatro grupos, á saber: *a*) *colaterales sensitivo-motrices* ó largas (H), las cuales, naciendo del cordón de Burdach, cerca de la entrada en éste de las radiculares sensitivas, dirígense hacia adelante, ramificándose en torno de las células motrices; *b*) *colaterales cortas* destinadas á la substancia de Rolando y asta posterior (G); *c*) *colaterales de la columna de Clarke* (J), las cuales brotan de la porción interna del cordón posterior y reunidas en haz postero-anterior, se arborizan en torno de las células de dicha columna (en la región cervical y dorsal estas colaterales se ramifican en un foco gris central en las inmediaciones del epéndimo); *d*) *colaterales para la comisura posterior* (D), las cuales, después de pasar por la porción más posterior del rafe, se arborizan en el asta

posterior del otro lado. Se ve, por lo expuesto, que la comisura posterior está constituída por tres manojos de colaterales : anterior, nacido del cordón antero-lateral; medio, brotado de la porción más posterior del lateral; posterior partido de la porción más interna del posterior : todas estas colaterales cruzadas se distribuyen en la substancia gris del otro lado en los parajes que indica la fig. 150.

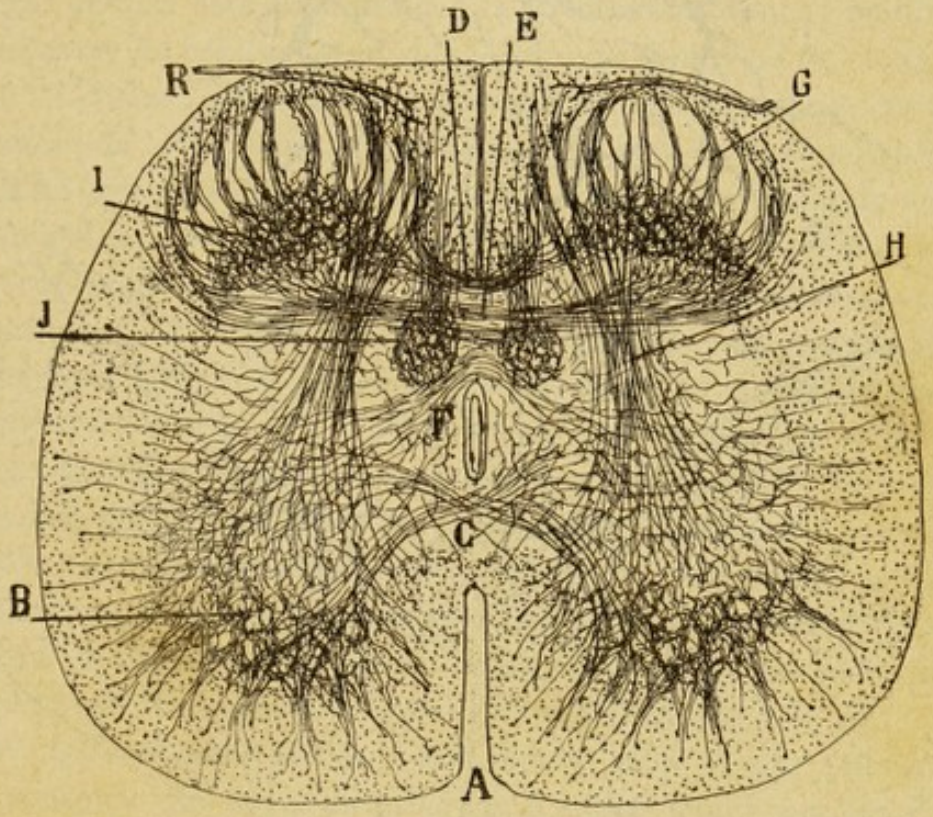


Fig. 150. — Conjunto de las fibras colaterales de la médula espinal lumbar del perro recién nacido.—A, surco anterior de la médula ; B, colaterales del cordón anterior ; C, colaterales de la comisura anterior; D, manojo posterior de la comisura posterior ; E, manojo medio de esta : F, manojo anterior de la misma ; I, colaterales ramificadas en el asta posterior ; H, manojo reflejo-motor ; J, colaterales para la columna de Clarke ; G, colaterales del cordón posterior que cruzan en arcos la substancia de Rolando ; R, raíz posterior.

Textura de la substancia gris. — Prescindiendo de la neuroglia, la substancia gris de la médula se compone : 1.°, de células nerviosas y sus expansiones protoplásmicas ; 2.°, de los cilindros-ejes que estas células dirigen á la substancia blanca ; 3.°, de ramificaciones de colaterales llegadas de la substancia

blanca ; 4.°, de arborizaciones finales de cilindros-ejes arribados de la substancia blanca ó de las raíces posteriores; 5.°, de colaterales emitidas, á su paso por la substancia gris, por algunes cilindros-ejes destinados á la blanca.

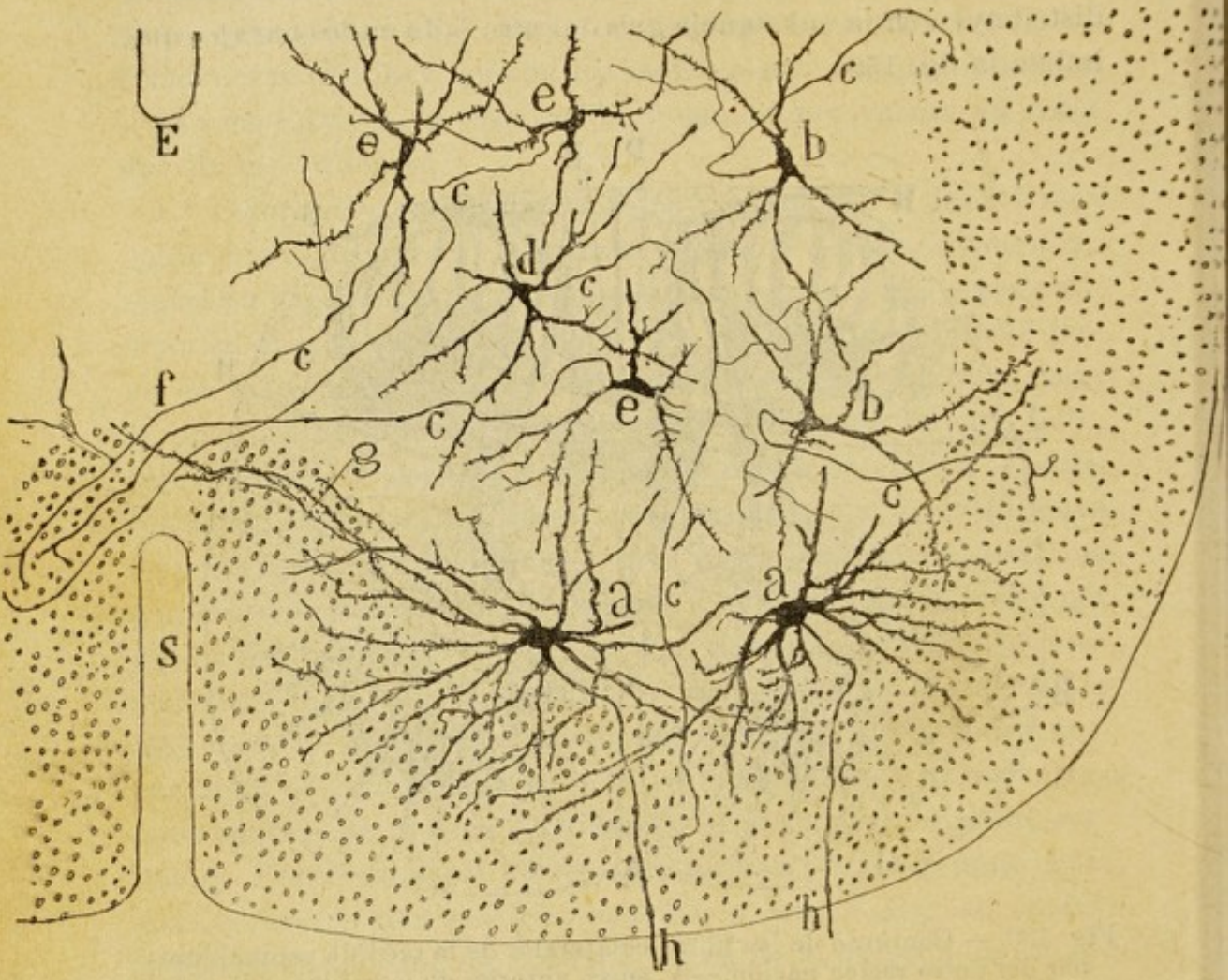


Fig. 151. — Células del asta anterior de la médula espinal del embrión del pollo. — *a*, células radiculares ó motrices ; *b*, células del cordón lateral ; *d*, célula del cordón anterior ; *e*, células comisurales ; *f*, cilindros-ejes de la comisura anterior ; *g*, expansiones protoplásmicas que cruzan el rafe ; E, epéndimo ; S, surco anterior. La letra *c* marca los cilindros-ejes.

Las propiedades morfológicas de los corpúsculos nerviosos discrepan poco en ambas astas, excepción hecha de la substancia de Rolando, donde habitan algunos elementos específicos ; por lo cual la distinción que se establece en asta anterior y posterior tiene una significación más topográfica que estructural. La úni-

ca distinción que cabe trazar entre las células, estriba en el comportamiento de su cilindro-eje. Bajo este aspecto, nosotros separamos cinco especies ganglionares que aparecen representadas en la figura 151 : 1.ª, *células radiculares;* 2.ª, *células comisurales;* 3.ª, *células de los cordones;* 4.ª, *células pluricordonales;* 5.ª, *células de cilindro corto.* Salvo la especie última, cuyo cilindro-eje se pierde en la substancia gris, las cuatro primeras envían esta expansión á la substancia blanca, pudiendo calificarse de *células de cilindro-eje largo* (*motrices* de Golgi).

1.ª *Células radiculares.* — Son corpúsculos gigantes, los más grandes de la médula, habitantes en la parte antero-externa del asta anterior. Poseen un cilindro-eje espeso, comunmente exento de colaterales, que atraviesa radialmente el cordón antero-lateral para ingresar en la raíz motriz del par raquídeo correspondiente. Las expansiones protoplasmáticas son espesas y sumamente ramificadas, pudiéndose distinguir en *antero-externas, posteriores* é *internas.* Las internas son las más interesantes, pues, dirigiéndose á la línea media, penetran en el asta anterior opuesta, después de entrecruzarse con las correspondientes del otro lado (nuestra *comisura protoplásmica,* confirmada por van Gehuchten y Sala). Las expansiones antero-externas terminan en los intersticios del cordón antero-lateral, y las posteriores acaban en distintos parajes del asta anterior (fig. 151, *a*).

2.ª *Células comisurales.* — De menor talla y más pobres en expansiones que las anteriores, ya demostró Golgi que yacen en todo el espesor de la substancia gris y que su cilindro-eje, una vez cruzada la línea media anterior (comisura blanca), se continúa con una fibra longitudinal del cordón antero-lateral del otro lado. Nosotros hemos demostrado que no se trata generalmente de una simple continuación, sino de una división en T, es decir, que el cilindro-eje comisural, llegado á substancia blanca del lado opuesto, se divide en fibra ascendente y descendente (fig. 151, *e*).

3.ª *Células de los cordones ó funiculares.*—Así designamos las células, muy numerosas, de talla mediana, esparcidas por todo el espesor de la substancia gris, cuyo cilindro-eje se continúa con una fibra vertical de la substancia blanca de su lado respectivo.

En el *asta anterior* casi todos los corpúsculos de esta clase envían el cilindro-eje al cordón anterior y porción anterior del lateral, á esa zona extensa que los neurólogos designan *porción fundamental del cordón antero-lateral* (fig. 151, *b*, *d*).

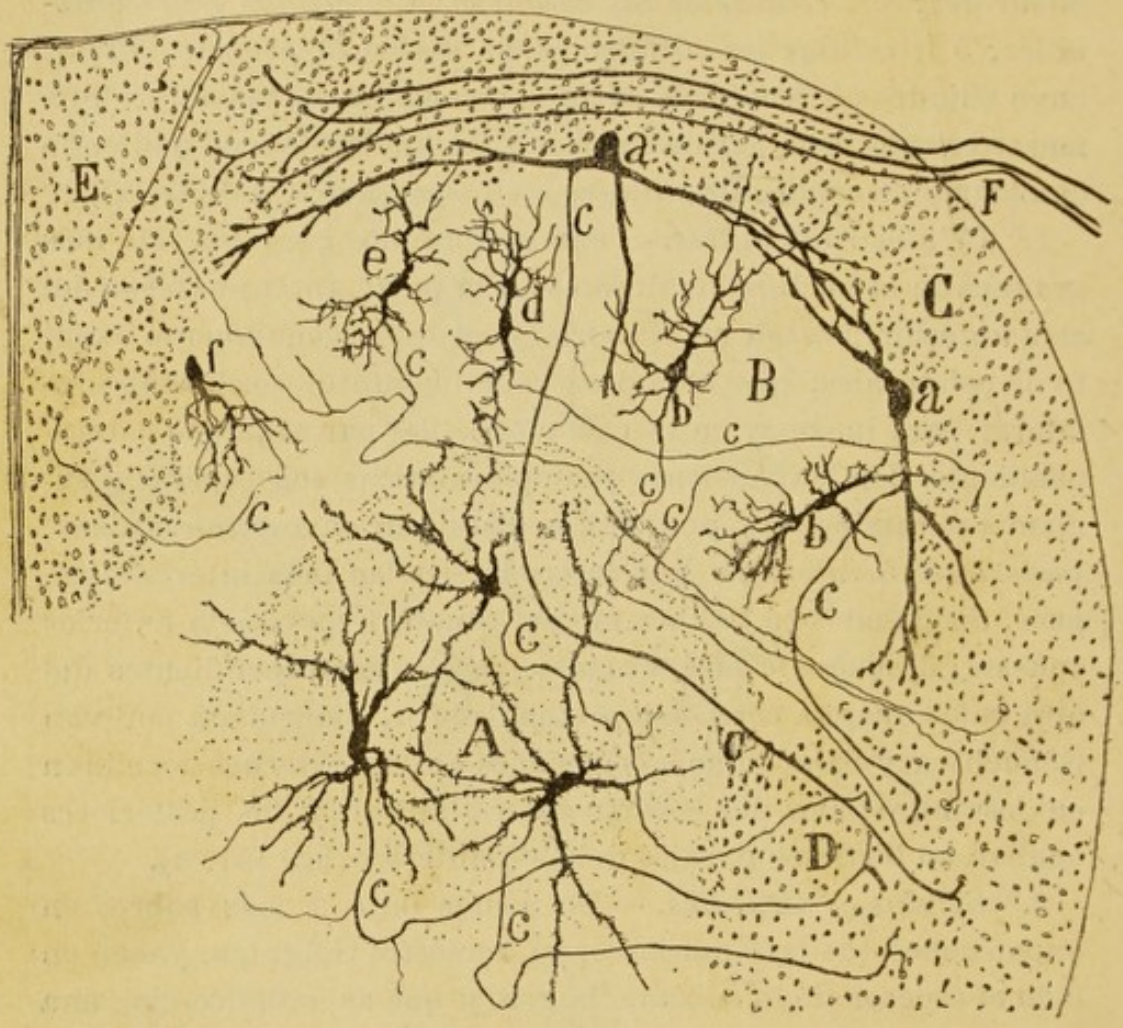


Fig. 152. — Células del asta posterior y substancia de Rolando. Médula espinal del embrión de pollo de diecisiete días. — A, asta posterior; B, substancia de Rolando; C, cordón posterior; E, cordón de Goll; F, fibras de la raíz posterior; D, manojo del asta posterior; *a*, células marginales de la substancia de Rolando; *b*, células de esta substancia cuyo cilindro-eje va al manojo del asta posterior; *d*, célula cuya expansión nerviosa va al cordón lateral en su parte más posterior; *e*, célula cuyo cilindro-eje engendraba dos fibras, una para el cordón lateral y otra para el de Burdach; *f*, células cuyo cilindro-eje va á la parte profunda del de Goll. — Nota: la letra *c* señala los cilindros ejes.

Las *células cordonales del asta posterior* remiten el cilindro-eje á un paraje especial del cordón lateral, *á la zona limitante del cordón lateral* de ciertos autores, zona que, por contener exclu-

sivamente cilindros-ejes del asta posterior, nosotros hémosla calificado de *manojo del asta posterior* (fig. 152, D).

Las *células cordonales de la substancia de Rolando* son numerosísimas, y se caracterizan por su talla diminuta y por lo enredado y varicoso de sus expansiones protoplásmicas (fig. 152, B). El cilidro-eje de tales corpúsculos es extraordinariamente fino y marcha en diversidad de direciones; en unas células se continúa con una fibra de la substancia marginal de Lissauer; en otras va al manojo del asta posterior; en algunas ingresa en el cordón de Burdach. La substancia de Rolando está rodeada de una hilera de gruesas células fusiformes, fronterizas del cordón posterior (*células marginales*), y cuyas expansiones funcionales se incorporan al *manojo del asta posterior* (fig. 152, *a*). Finalmente, en la región lumbar, una parte de las células de la columna de Clarke, se dirigen hacia afuera y engendran la vía cerebelosa ascendente.

4.° *Células pluricordonales.*—Así calificamos, para evitar perifrasis, ciertos elementos primeramente hallados por nosotros, cuyo cilindro-eje se divide en la substancia gris en dos ó tres fibras constitutivas de otros tantos tubos de diferentes cordones. Así, por ejemplo : se ven elementos de esta especie, cuya expansión funcional emite una fibra para el cordón anterior de su lado y otra para el anterior del opuesto; se hallan también otros cuya expansión nerviosa se divide en fibra para el cordón posterior y fibra para el lateral, etc. (fig. 152, *e*).

Raíces posteriores.—Se sabe que las fibras de las raíces posteriores ó sensitivas proceden de las células monopolares de los ganglios raquídeos. Ranvier demostró primeramente que la única expansión de dichas células se bifurca originando : una rama dirigida hacia adentro y continuada con un tubo de la raíz posterior, y otra rama dirigida hacia afuera y prolongada con una fibra sensitiva del par raquídeo correspondiente.

El comportamiento de las raíces posteriores en el espesor de la médula ha sido uno de los asuntos más difíciles y controvertidos de la anatomía. Afortunadamente, nuestras investigaciones en los embriones de ave y mamífero, confirmadas por Kölliker, van Gehuchten, Retzius, Lenhossék, Cl. Sala, P. Ramón, han re-

suelto definitivamente lo más esencial del problema, y los antiguos esquemas, fundados en observaciones incompletas ó en prejuicios de escuela han sido totalmente abandonados.

Las fibras de la raíz posterior abordan el cordón posterior, y llegadas oblícuamente á su espesor, se bifurcan en Y, constituyendo una rama ascendente y otra descendente, ambas longitudinales y continuadas con fibras del cordón posterior. Estas ramas penetran probablemente en la substancia gris, después de un trayecto de muchos centímetros á lo largo de la blanca, y acaban por arborizaciones libres situadas entre los elementos del asta posterior (fig. 149, A, y 152, F).

Tanto del tallo como de las ramas ascendente y descendente, brotan en ángulo casi recto colaterales finas, las cuales, penetrando en la substancia gris, terminan por elegantes, varicosas y complicadas arborizaciones libres, en contacto con los cuerpos de las células del asta posterior y anterior (fig. 149, *a*, *b*).

Una buena parte de las colaterales de las raíces posteriores se reune, como hemos dicho anteriormente, en un haz antero-posterior que, después de cruzar el asta posterior, se esparce en abanico por toda el asta anterior, formando arborizaciones que rodean las células motrices. Este haz, que nosotros hemos llamado *sensitivo-motor* (*reflejo-motor* de Kölliker), representa un conductor de gran importancia, pues por su mediación se ponen en comunicación las raíces sensitivas con las motoras. La excitación sensitiva es recibida de las colaterales del haz mencionado por los cuerpos y ramas protoplásmicas de las células motrices, que la reflejan por las raíces anteriores hasta los músculos (figura 150, H).

Las demás colaterales del cordón posterior proceden también en su mayor parte de las ramas ascendentes y descendentes de las radiculares sensitivas, y su misión parece ser llevar el movimiento centrípeto á las células de los cordones, es decir, á las de la substancia de Rolando, asta posterior y substancia gris central ó intermedia ; y como las expansiones nerviosas de estos corpúsculos, después de formar parte de la substancia blanca, terminan probablemente en pisos distintos de la gris, resulta que á favor de aquellas colaterales, la conmoción sensitiva podría

difundirse sobre una extensa zona de la médula espinal. Sospéchase, aunque no se sabe de cierto, que las células de los cordones, así como las comisurales, llevan su influencia á los focos motores de la médula, representando, por tanto, una vía sensitiva de segundo orden interpuesta entre cada raíz posterior y todos los focos motrices de la médula espinal.

Sistemas de fibras de la substancia blanca. — Como ya dijimos anteriormente, las fibras de la substancia blanca no tienen el mismo origen ni igual terminación.

Entre ellas hay que distinguir las *vías cortas* y las *vías largas*. Las *vías cortas* están constituídas por los cilindros-ejes de las células comisurales y de los cordones, y corresponden á la región fundamental del cordón antero-lateral, al manojo comisural del cordón anterior, al manojo del asta posterior, á la zona marginal de Lissauer, etc.

Las *vías largas* son : 1.°, la *vía piramidal* directa y cruzada, cuyas fibras proceden de las pirámides de la zona motriz del cerebro, bajan á lo largo del bulbo y médula y se terminan, á favor de arborizaciones libres, en todos los focos motores ó células radiculares del bulbo y médula espinal ; 2.°, la *vía cerebelosa ascendente*, cuyas fibras parten de las células de la columna de Clarke, y de otros puntos de la substancia gris, y suben hasta el vermis del cerebelo, donde no se sabe cómo terminan ; 3.°, las *vías sensitivas de los manojos de Goll y de Burdach*, las cuales están constituídas por las ramas ascendente y descendente de las radiculares posteriores ; estas ramas, después de un trayecto más ó menos largo, ingresan en la substancia gris del asta posterior. Créese que las fibras ascendentes sensitivas más largas se prolongan por arriba hasta dos núcleos del bulbo, los *focos del cordón de Goll y de Burdach*, donde se resuelven en arborizaciones libres ; de tales focos surge una nueva corriente sensitiva (*lemnisco interno*) que desagua en el cerebro en toda la región psicomotriz.

Cerebelo. — Cuando se corta transversalmente una laminilla cerebelosa, aparecen tres capas superpuestas : la primera ó superficial, es de substancia grisácea, y se llama *capa molecular ;* la segunda, gris, amarillenta ó rojiza, y se denomina *de los gra-*

nos ó granulosa ; la tercera ó profunda, situada en el eje de cada laminilla, se llama *zona de substancia blanca* (fig. 153).

Lo que se conocía de la construcción de estas capas antes de la aplicación de los nuevos métodos, era muy poca cosa. En la *zona molecular*, se describia una masa granugienta sembrada de pe-

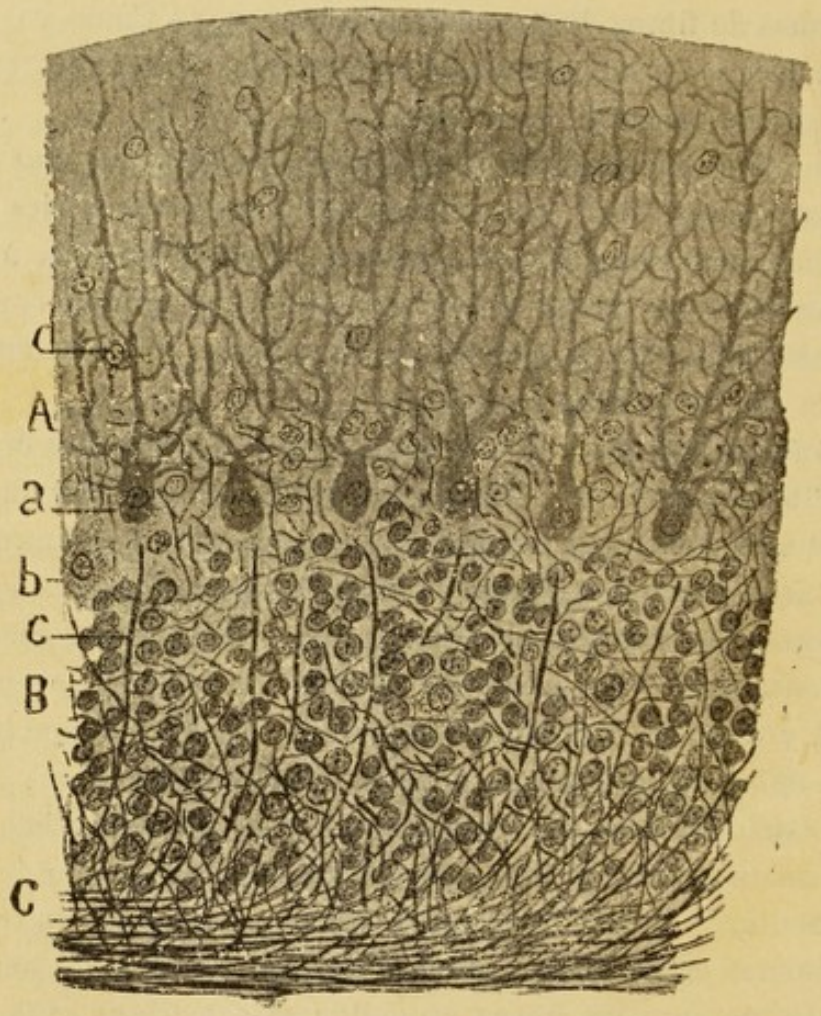


Fig. 153.—Corte transversal de una laminilla cerebelosa. Coloración por el método de Weigert-Pal y carmín de Grenacher. — A, capa molecular ; B, capa de los granos ; C, capa de substancia blanca ; *a*, célula de Purkinje ; *b*, célula de Golgi ó de cilindro-eje corto.

queños corpúsculos nerviosos de forma indeterminada. En la zona *de los granos*, se señalaba la existencia de unos corpúsculos pequeños, abundantísimos, mas sin poder definir su naturaleza. Y, entre ambas zonas, se sabía que existían unas células grandes, ovoideas, cuyas expansiones protoplásmicas se perdían, ignorán-

dose cómo, en la capa molecular, y cuyo cilindro-eje descendía hasta la substancia blanca. Golgi añadió importantes datos con su valioso método, aunque sin resolver el problema de las conexiones intercelulares ni el de la marcha y terminación de muchas fibras nerviosas. En tal estado publicamos nosotros nuestros trabajos, de los cuales vamos á extractar lo más interesante.

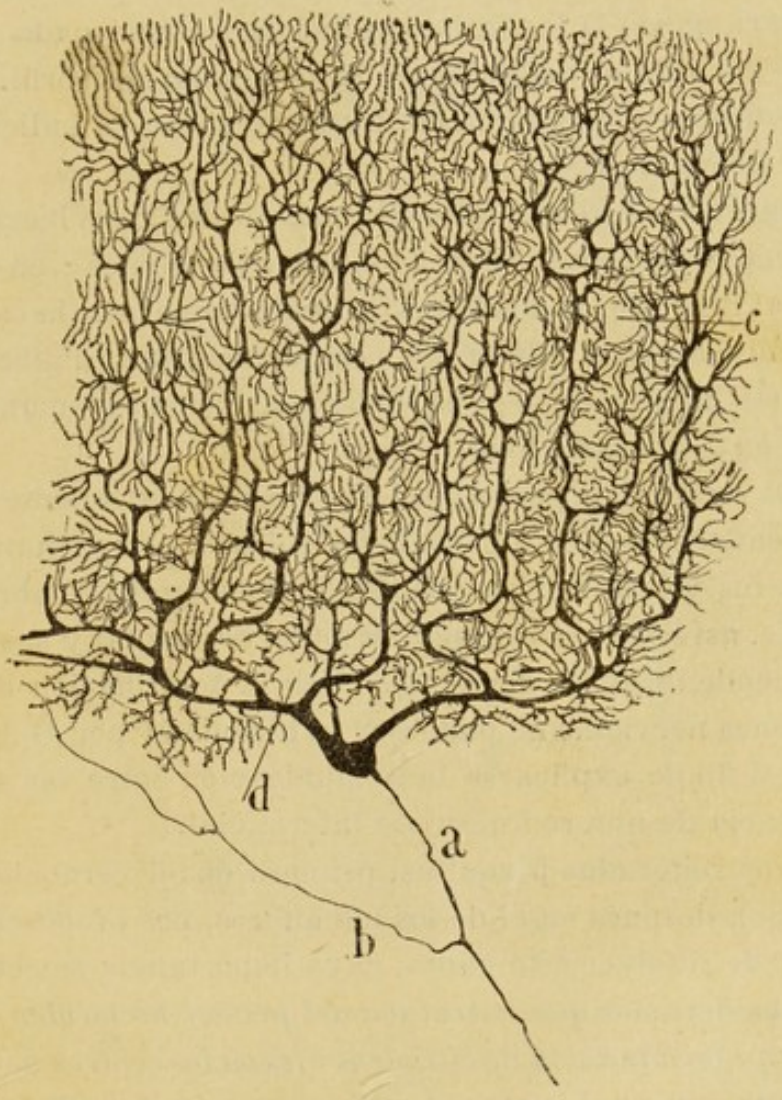


Fig. 154.—Células de Purkinje del cerebelo humano. Método de Golgi.—*a*, cilindro-eje ; *b*, colateral de éste.

Zona molecular.—Contiene dos especies celulares : las *células de Purkinje* y las *pequeñas estrelladas*.

Células de Purkinje. — Aparecen en las buenas preparaciones como Golgi las ha descrito (fig. 154). De lo alto del cuerpo,

parte uno ó varios tallos, que penetrando en la zona molecular, se dilatan en una riquísima arborización aplanada, prolongada hasta la misma superficie del cerebelo. Todas las ramillas de este ramaje terminan libremente, y en su curso presentan perpendicularmente insertas infinidad de espinas colaterales. Lo más interesante de la disposición de las arborizaciones de estos corpúsculos es el aplanamiento y su perfecta orientación transversal ; por manera que si la laminilla cerebelosa es seccionada á lo largo, todas las células de Purkinje se presentan de perfil. Por lo demás, semejante aplanamiento transversal fue ya indicado por Henle y Obersteiner.

El cilindro-eje de las células de Purkinje adquiere luego vaina de mielina, y desciende hasta la substancia blanca ; en su trayecto y al nivel de las dos ó tres estrangulaciones de la capa medular, emite algunas colaterales ascendentes, que, ramificándose en la parte inferior de la capa molecular, constituyen una arborización en gran parte longitudinal.

Células estrelladas pequeñas.—Corpúsculos estrellados, transversalmente aplanados, de pequeño volumen, cuya naturaleza nerviosa fue ya reconocida por Golgi, pues logró descubrir el cilindro-eje, así como determinar su curso horizontal y sus colaterales ascendentes y descendentes. Mas la terminación de estas expansiones nerviosas no pudo ser evidenciada por Golgi, que admitía, á fin de explicarse la comunicación entre las células, la existencia de una red nerviosa intersticial.

Nuestras reiteradas pesquisas, primero en el cerebelo de las aves (1888), después en el de los mamíferos, nos proporcionaron el placer de resolver este punto, cuya importancia se echará de ver si consideramos *que se trataba del primer hecho bien establecido de una terminación de cilindros-ejes en los centros nerviosos*. Hasta entonces se había seguido el trayecto, á mayor ó menor distancia, de las fibras nerviosas de la substancia gris, pero nadie había sido testigo de su modo de terminar. Desde luego, reconocimos que los cilindros-ejes de las células estrelladas medias é inferiores poseen un cilindro-eje larguísimo, arciforme, no sólo paralelo á la superficie cerebelosa como habían descrito Golgi y Fusari, sino rigurosamente transversal, es decir, paralelo al plano

del ramaje de las células de Purkinje. Pero el hecho más impor-

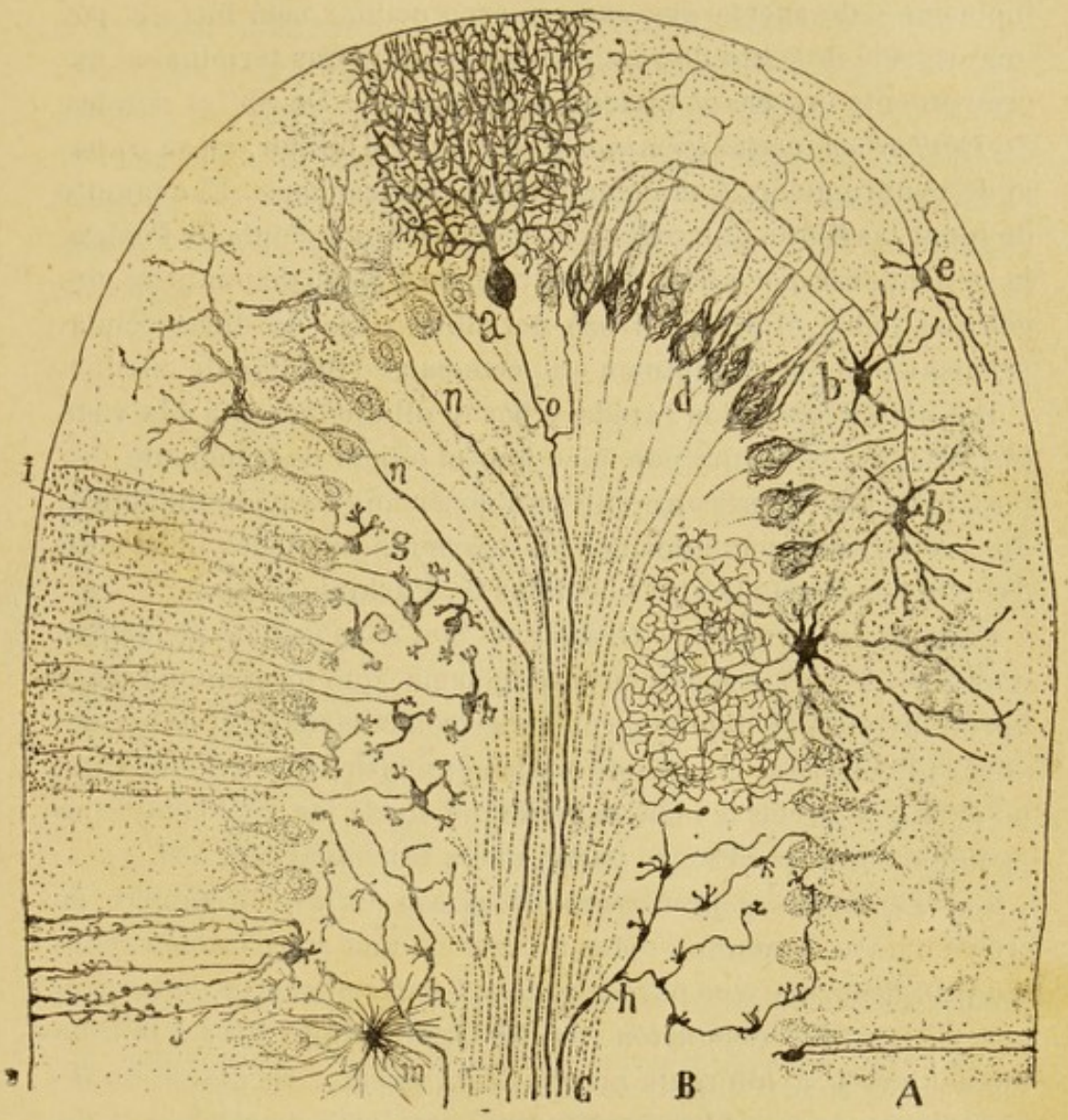


Fig. 155. — Corte transversal semi-esquemático de una circunvolución cerebelosa de mamífero. — A, zona molecular ; B, zona de los granos ; C, zona de substancia blanca ; *a*, célula de Purkinje vista de plano ; *b*, células estrelladas pequeñas de la zona molecular ; *d*, arborizaciones finales descendentes que rodean las células de Purkinje ; *e*, células estrelladas superficiales ; *g*, granos con sus cilindros-ejes ascendentes bifurcados en *i* ; *h*, fibras musgosas ; *j*, célula neuróglica en penacho ; *n*, fibras trepadoras ; *m*, célula neuróglica de la zona de los granos ; *f*, células estrelladas grandes de la zona de los granos.

tante consiste en que todas las ramitas colaterales descendentes, así como la arborización final de semejante fibra nerviosa, consti-

tuyen, ramificándose alrededor de los cuerpos de las células de Purkinje, un plexo espesísimo, íntimamente superpuesto al protoplasma ; de suerte que cada cuerpo celular está forrado por una especie de cesto de ramificaciones nerviosas terminales excesivamente espesas y varicosas (fig. 155, *d*). De ahí el nombre de *Endkörben* (*cestos terminales*) dado por Kölliker, en su trabajo de confirmación, á tan singulares arborizaciones. El conjunto de todas las fibras que rodean el cuerpo de una célula de Purkinje se condensa por abajo, constituyendo á modo de punta de pincel que rodea el primer trozo del cilindro-eje de dicha célula, precisamente en el punto en que éste carece todavía de mielina.

Por esta descripción rápida y por el dibujo que está á la vista (fig. 155, *d*), se comprende bien que el objeto de semejante disposición no puede ser otro que establecer una relación dinámica, una verdadera comunicación de corriente entre los elementos estrellados susodichos y las células de Purkinje.

Capa de los granos. — *Granos.* — Son corpúsculos pequeñísimos (de 4 á 6 μ), escasos en protoplasma, que forman una masa apretadísima por debajo de la zona molecular. Golgi habia demostrado en estos elementos varias expansiones ; sin embargo, no acertó á precisar bien la terminación de las prolongaciones protoplasmáticas ni logró perseguir la funcional (fig. 155, *g*).

Las *expansiones protoplasmáticas* son cortas, en número de tres ó cuatro, y acaban todas á favor de una arborización reducida, digitiforme, que parece rodear ó tocar el cuerpo de los granos vecinos. La *expansión nerviosa* es finísima, sube á la zona molecular, y á diferente altura de la misma, se divide en T, constituyendo una fibra longitudinal, es decir, paralela á la dirección de la laminilla cerebelosa, y, en consecuencia, perpendicular al ramaje de las células de Purkinje. Esta fibra, llamada también *paralela*, no emite rama ninguna en su trayecto y se prolonga hasta el confin de la laminilla cerebelosa, donde acaba tocando casi en la substancia blanca, á beneficio de un engrosamiento varicoso y libre. De lo que se deduce que la fibra paralela producida por la bifurcación del cilindro-eje de los granos, representa una arborización nerviosa terminal reducida á su mayor simplicidad (fig. 156, *b*). Claro está que, dada la enorme

longitud de una laminilla del cerebelo de los mamíferos adultos, no es posible la completa persecución de una fibra paralela; mas, afortunadamente, en los vertebrados inferiores (reptiles y batracios), y aun en los fetos de pequeños mamíferos, dicha persecución es relativamente fácil. Digamos de pasada, que la disposición de los granos y sus fibras, así como la de las células de Purkinje y tubos de la substancia blanca, es esencialmente idéntica de todos los vertebrados, según han demostrado las indagaciones de mi hermano.

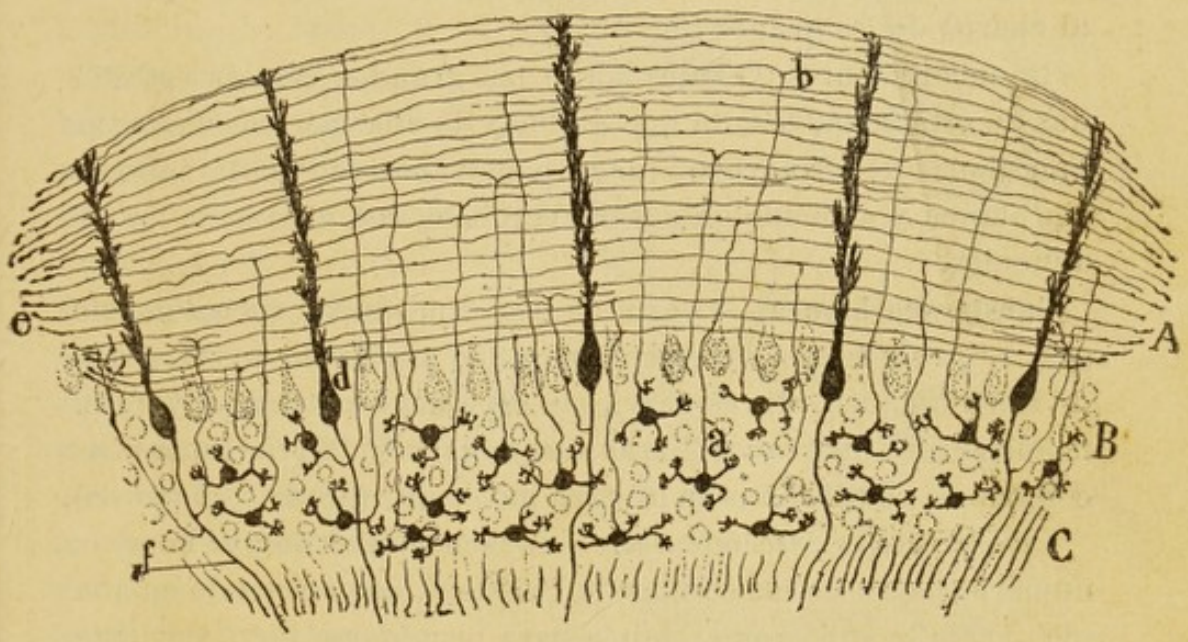


Fig. 156.—Corte longitudinal de una circunvolución cerebelosa. Figura semi-esquemática.—A, zona molecular; B, zona de los granos; C, zona de substancia blanca; *a*, cilindro-eje ascendente de un grano; *b*, bifurcación de este cilindro-eje y formación de una fibra paralela; *d*, célula de Purkinje vista de perfil; *e*, extremidad granulosa terminal de las fibrillas paralelas; *f*, cilindro-eje de un célula de Purkinje.

Si consideramos ahora que el infinito número de las fibrillas paralelas descansan sobre las espinas y asperezas que lateralmente ofrecen las ramas protoplásmicas de las células de Purkinje; si recordamos que no existen en la zona molecular otros elementos con los cuales puedan (al menos de tan directa y eficaz manera) establecer conexión, vendremos naturalmente á la conjetura, que las tales fibrillas representan un medio de unión por contacto entre los granos y las células de Purkinje.

Células estrelladas grandes. — En la zona de los granos habitan también unas grandes células, pocas en número y bien descritas por Golgi. Su ramaje protoplasmático diverge en todas direcciones, invadiendo á veces una gran parte de la zona molecular ; su cilindro-eje flexuoso se consume luego en una infinidad de ramificaciones que se pierden entre los granos. Golgi pensó que esta arborización nerviosa abocaba á una red compleja donde se encontrarían casi todas las fibras nerviosas del cerebelo ; pero, en mi sentir, su terminación tiene lugar libremente mediante extremos varicosos, arciformes y superpuestos al cuerpo de los granos (fig. 155, *f*).

De mis recientes trabajos sobre las grandes células estrelladas de esta zona, resulta que algunas de ellas pertenecen al tipo ganglionar de *cilindro-eje largo*, penetrando éste en la substancia blanca y saliendo quizás del cerebelo, con alguno de los pedúnculos.

Substancia blanca.—Consta de tres especies de fibras nerviosas : 1.ª, cilindros-ejes descendentes que provienen de las células de Purkinje ; 2.ª, fibras nerviosas espesas, ascendentes y ramificadas entre los granos (fibras *musgosas*) ; 3.ª, fibras espesas ascendentes, ramificadas en la capa molecular (fibras *trepadoras*).

Cilindros-ejes descendentes.—Los hemos descrito ya. Pocos en número, bajan de las células de Purkinje, convergiendo en abanico hasta la substancia blanca para terminarse fuera del cerebelo, en otros centros nerviosos.

Fibras musgosas.—Gruesas, finamente ramificadas, las dimos este nombre por la singularidad que ofrecen de presentar, de trecho en trecho, ciertos espesamientos nudosos, erizados de cortas expansiones divergentes á manera de rosáceas, y semejantes al musgo que cubre los árboles (figs. 155 *h*, y 157).

No pasan estas fibras y sus ramificaciones de la capa de los granos, y se terminan, ya por nudosidades libres, ya á beneficio de rosáceas ascendentes análogas á las citadas. Mediante estas ramitas, dichas fibras parecen ponerse en relación con las ramificaciones protoplásmicas de los granos, á los que conducen corrientes de otros centros nerviosos actualmente indeterminados. Es probable también que las ramificaciones terminales, á veces bastan-

te extensas, de las fibras musgosas se hallen destinadas á relacionarse con el cuerpo y ramas de las células de Golgi (fig. 157, *a*).

Fibras trepadoras.—Son unas fibras espesas, meduladas, poco ó nada ramificadas á su paso por los granos, las cuales, una vez arribadas á la zona molecular, se aplican al tallo ascendente de las células de Purkinje, remontando por él como las lianas á lo largo de las ramas de un arbol tropical. Su terminación tiene lugar mediante una arborización varicosa y plexiforme aplicada á las gruesas ramas primarias y secundarias de los corpúsculos de Purkinje, por cuyo motivo, cuando se impregna sólo dicha arborización, muestran sus ramos una orientación que traduce fielmente la de las expansiones protoplasmáticas de aquellos elementos. Semejante disposición constituye otro caso elocuentísimo de enlace nervioso por contacto, donde, como en la placa de Rouget de los músculos, un cilindro-eje se arboriza sobre una célula gigantesca, á la que lleva una excitación originada en otros centros (fig. 158, *a*). La arborización terminal de las fibras trepadoras ofrece en el cerebelo humano un gran desarrollo, como puede verse en la figura 158.

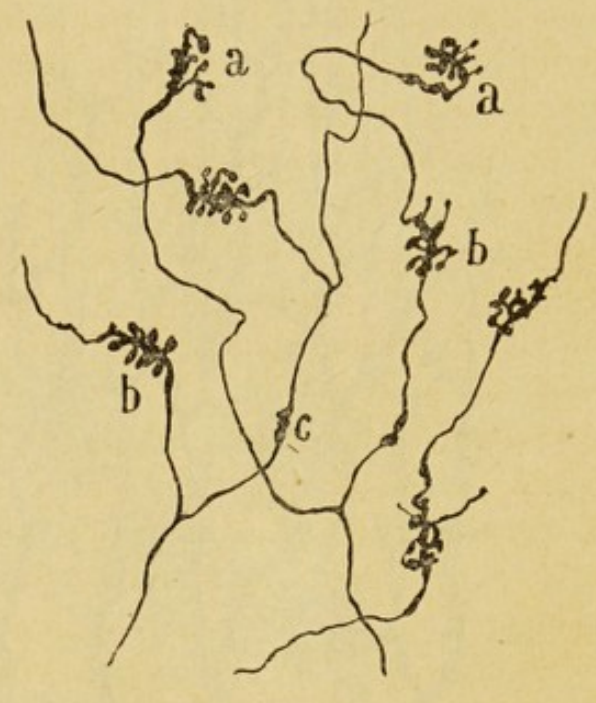


Fig. 157.—Fibras musgosas del gato adulto. Cromato de plata. —*a*, arborización terminal ; *b*, arborización colateral ; *c*, nudosidades.

Cuando se estudia un corte de laminilla cerebelosa teñida por el método de Weigert-Pal (fig. 153), se advierte entre los granos un plexo de fibras meduladas que disminuye progresivamente en riqueza hacia la capa molecular, en la cual sólo se ven junto á las células de Purkinje algunas pocas fibras longitudinales.

La comparación de estas preparaciones con las obtenidas por el método de Golgi, enseña que las fibrillas paralelas de la capa molecular, las arborizaciones trepadoras, los pinceles descendentes ó cestas terminales, carecen de mielina ; pero que poseen esta envoltura los cilindros-ejes de las células de Purkinje, y el trayecto de las fibras musgosas y trepadoras.

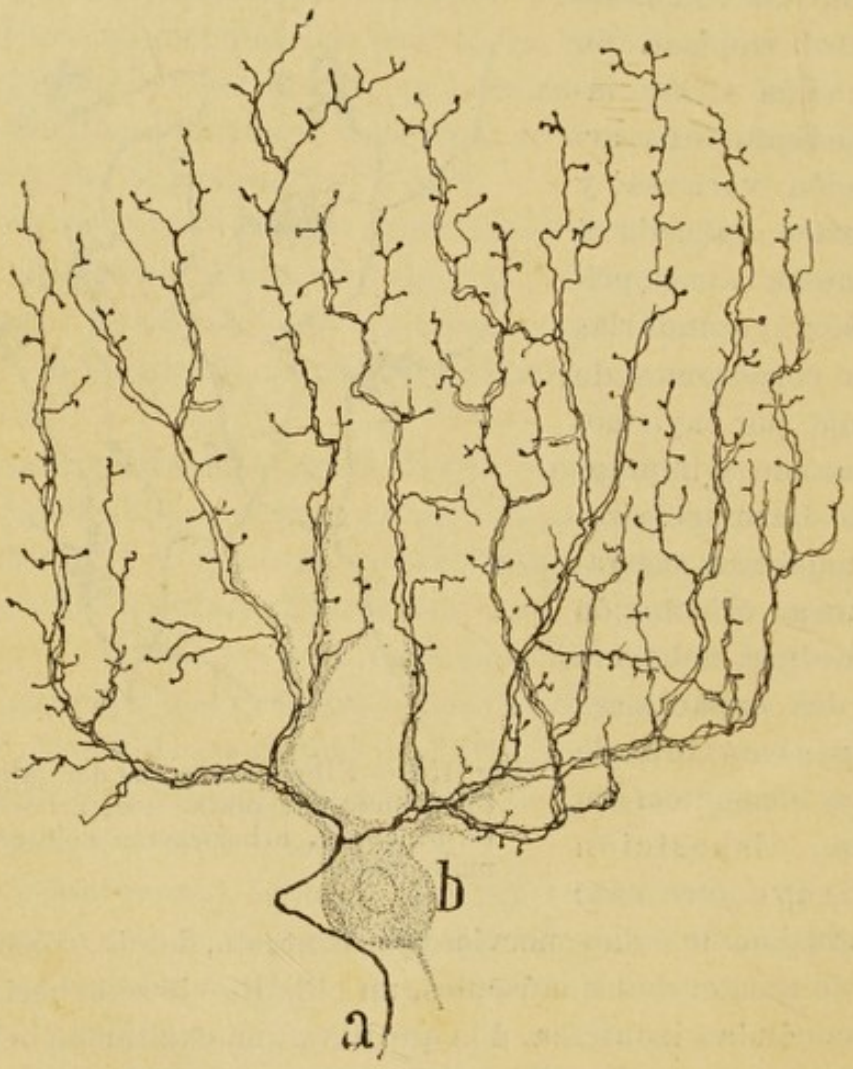


Fig. 158. — Fibra terminal trepadora del cerebelo humano. — *a*, fibra nerviosa ; *b*, corpúsculo de Purkinje.

Neuroglia del cerebelo.—Posee el cerebelo tres especies de células neuróglicas : 1.°, los corpúsculos de forma de horquilla, cuyo cuerpo reside en la zona de las células de Purkinje y cuyas ramas, en número de dos ó más, ascienden por la capa molecular y se terminan, mediante ensanchamientos, en la superficie cerebe-

losa (fig. 159, *a*) ; 2.°, las células estrelladas de la capa de los granos, notables por presentar en sus apéndices excrecencias laminares y alcanzar algunas de sus más largas expansiones la zona molecular (fig. 159, *b*) ; 3.°, los corpúsculos estrellados de la subs-

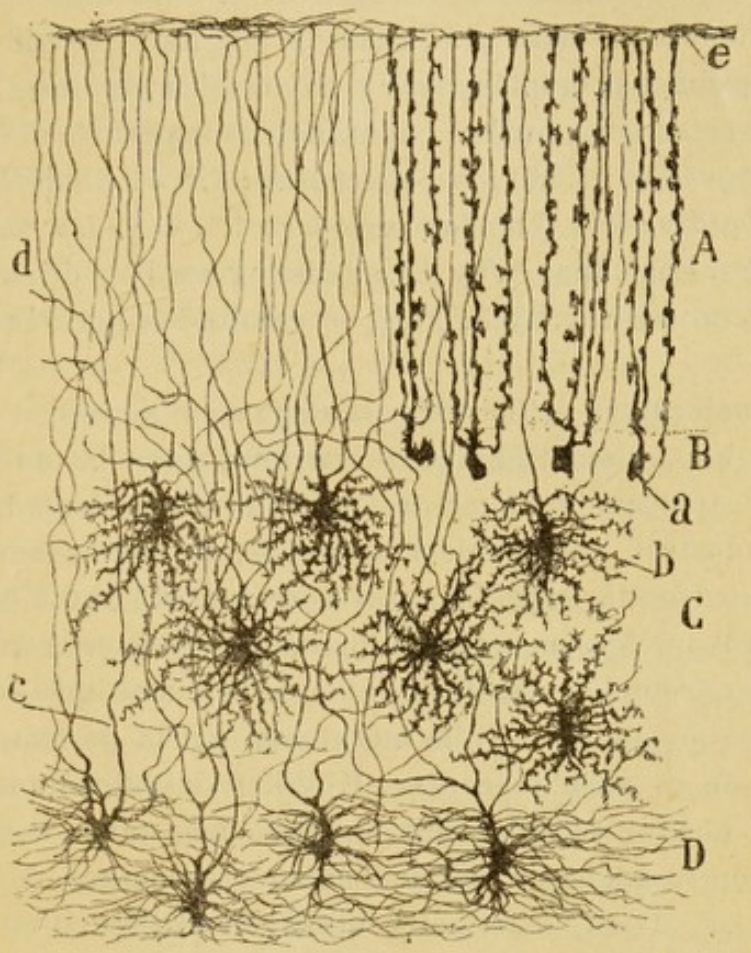


Fig. 159. — Neuroglia del cerebelo. (Reunión de las revelaciones de los métodos de Weigert y de Golgi). — A, zona molecular; B, células de Purkinje; C, zona de los granos; D, substancia blanca; *a*, células de penacho; *b*, células estrelladas con expansiones cortas para los granos y largas para la capa molecular; *c*, expansiones largas para la capa molecular procedentes de neuroglia de la substancia blanca; *d*, fibrillas ascendentes colorables por el método de Weigert; *e*, neuroglia limitante.

tancia blanca, provistos de largas y lisas expansiones separatorias de los tubos nerviosos. De todas estas células, sólo el tipo tercero es coloreable por el método especial de Weigert (fig. 159) (1).

(1) Véase el trabajo de Terrazas : La neuroglia del cerebelo, etc., *Revista trimestral micrográfica*, tomo II, núm. 2, 1897.

Corteza cerebral. — La substancia gris de las circunvoluciones, exhibe una textura idéntica en lo esencial en todos los mamíferos y en cualquiera región cerebral en que se estudie. Las ventajas que el cerebro humano posee sobre el de los mamíferos, no afectan ni á la morfología ni al enlace de las células, sino al número de éstas y á la mayor longitud y ramificación de las expansiones protoplásmicas y colaterales nerviosas.

En la corteza cerebral se cuentan de la superficie al centro las siguientes capas : 1.ª, ó *zona molecular* ; 2.ª, ó *zona de las pequeñas pirámides* ; 3.ª, ó *de las grandes ;* 4.ª, ó *de los corpúsculos polimorfos*. Las capas 1.ª y 4.ª se distinguen bien de sus limítrofes ; pero no así la 2.ª y 3.ª, que se confunden por suaves transiciones.

Zona molecular. — Cuando esta capa se examina en cortes de cerebro simplemente teñidos con carmín, ó con las anilinas, exhibe una apariencia finamente granulosa ó reticulada. Acá y allá se muestran unos núcleos pequeños, correspondientes á células de neuroglia, especialmente abundantes junto á la pía-mater, y otros núcleos mayores, sumamente escasos, rodeados de un cuerpo protoplásmico triangular ó fusiforme que corresponden probablemente á células nerviosas. En la porción más superficial de la zona molecular, Kölliker descubrió una porción de fibras horizontales con mielina, que más tarde confirmaron Exner, con su método al ácido ósmico y amoníaco, y Edinger, Obersteiner, Todlt, Martinotti, etc., con el procedimiento más valioso de Weigert-Pal (fig. 160, *a*).

Poco ó nada se sabía tocante al origen de estas fibras nerviosas, de las cuales sólo algunas parecen descender á capas más hondas de la corteza, hasta que hace cuatro años, Martinotti, haciendo uso del método de Golgi, demostró dos hechos importantes : que algunas de tales fibras se acodan, para hacerse verticales y continuarse con cilindros-ejes ascendentes procedentes de ciertas pirámides, y que la mayor parte de las fibras horizontales de la citada zona, se ramifican repetidamente como si fuesen arborizaciones terminales de cilindros-ejes.

Nuestros estudios sobre esta zona, han revelado la existencia de los siguientes elementos :

1.° *Células poligonales.*—Son de mediano tamaño (fig. 160, D), y de sus ángulos brotan varias expansiones protoplásmicas ramificadas en el espesor mismo de la capa molecular ; el cilindro-eje es corto y se descompone en una ramificación extensa relacionada al parecer con los penachos terminales de las pirámides.

2.° *Células especiales de la corteza (Cajal'sche Zellen de Retzius).* — Son células ya fusiformes, ya triangulares, ya estrelladas, tendidas horizontalmente en el espesor de la capa molecular y caracterizadas por poseer expansiones larguísimas parecidas á cilindro-ejes y ramificadas en ángulo recto. Las más finas de estas ramificaciones no pueden distinguirse de las ramillas nerviosas que circulan por esta zona y acaban libremente en ella, después de un trayecto horizontal variable. La ausencia de diferenciación entre expansiones protoplásmicas y nerviosas, aproxima estos singulares corpúsculos á los espongioblastos de la retina ó á los granos del bulbo olfatorio (fig. 160, A, B) (1).

La reunión de todas estas fibras nerviosas autóctonas, junto con las que ascienden de las zonas subyacentes, constituye en la primera capa cerebral un plexo apretadísimo, por entre cuyas mallas pasan las ramas terminales de los penachos ascendentes de las pirámides (fig. 160). Es imposible no considerar esta singular disposición, que por cierto se halla con los mismos caracteres en todos los vertebrados, como un importante ejemplo de transmisión nerviosa por contacto, comparable á la que se verifica en el cerebelo, entre las fibrillas paralelas y las arborizaciones protoplásmicas de las células de Purkinje. Este contacto sería transversal ú oblícuo, para lo cual las ramas terminales

(1) Recientemente hemos coloreado estas células en el gato y conejo con el azul de metileno, y los datos conseguidos coinciden con los del método de Golgi. Las expansiones son al principio lisas, pero después de algunas ramificaciones se tornan fuertemente varicosas y acaban libremente. Como en ninguna parte de su trayecto revelan dichos apéndices estrangulaciones, y como en las preparaciones del método de Ehrlich los tubos nerviosos medulares carecen de varicosidades, se confirma nuestra presunción de que las referidas expansiones son homólogas de los apéndices ramificados de las amacrinas retinianas. Así es que, las de la corteza, podrían llamarse *amacrinas cerebrales.*

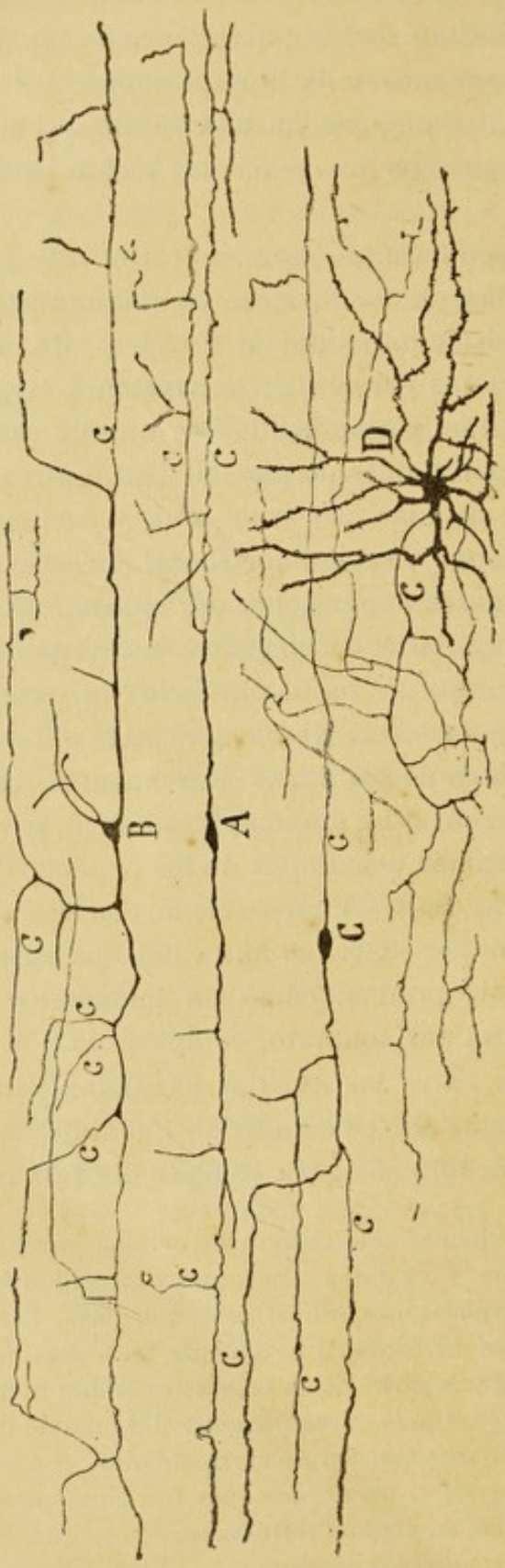


Fig. 160. — Elementos de la zona molecular cerebral. — A, B, C, células especiales de dicha zona; D, célula poligonal ó de cilindro-eje corto. — Nota: Todas las expansiones marcadas con *c*, presentaban la fisura de cilindros-ejes.

de las pirámides poseen unas espinas colaterales cortas, en cuyos intervalos parecen ser cogidas estrechamente las más finas fibrillas nerviosas exentas de mielina.

Zona 2 ó de las pirámides pequeñas. — Consta de muchos elementos poliédricos ó piramidales, de pequeña ó mediana talla (de 10 á 12 μ).

Toda célula piramidal, ya pertenezca á ésta ó á las demás capas cerebrales, posee caracteres morfológicos generales que conviene reseñar antes de proceder al examen particular de cada capa. El cuerpo es cónico ó piramidal, con una base inferior, de la que parte siempre el cilindro-eje. Las expansiones protoplásmicas son muy numerosas, y deben distinguirse por su origen, en : *tallo ascendente ó expansión primordial; colaterales del tallo*, y *expansiones basilares ó procedentes del cuerpo celular* (figs. 161 y 162, A). *El tallo* es espeso, y dirígese á lo alto del cerebro, paralelamente al de las demás pirámides, y en cuanto llega á la zona molecular, se descompone en un espléndido penacho de ramas protoplásmicas, terminadas libremente entre las fibrillas nerviosas de dicha zona. La reunión de todos los penachos periféricos, da origen á un plexo protoplásmico tupidísimo, al cual se debe el aspecto finamente reticulado que muestra esta parte de la corteza en las preparaciones ordinarias al carmín. *Las expansiones laterales del tallo* proceden, en ángulo recto ó agudo, al nivel de un ensanchamiento, dirígense á los lados, y acaban libremente tras algunas dicotomías (fig. 162, B). *Las expansiones basilares* proceden del cuerpo y se dirigen, ya hacia los lados, ya hacia abajo, ramificándose sucesivamente y perdiéndose en las inmediaciones.

Si se examina una pirámide con buenos objetivos de inmersión, se advierte que, á excepción del cuerpo y región inicial del tallo, todas las expansiones dendríticas están erizadas de espinas, perpendicularmente implantadas y terminadas por una varicosidad. En la fig. 159, reproducimos algunas células, en las cuales el azul de metileno reveló dicho detalle con extraordinaria claridad.

Las expansiones protoplásmicas delgadas, exhiben, además, coloreadas por el método de Ehrlich, un aspecto sumamente va-

ricoso, tomado como disposición normal por Dogiel, Renaut y otros. Tales varicosidades que atraen vivamente el azul y se hallan á menudo ahuecadas por una vacuola clara, deben estimarse como alteraciones provocadas por la acción del aire (al cual hay que exponer mucho rato las células en fresco para lograr el teñido), pues no aparecen en las preparaciones de Golgi, en las cuales la coloración va precedida de la acción de un fijador enérgico, ni se ven tampoco en las primeras fases del teñido de Ehrlich, cuando la acción perturbadora del aire es todavía poco acentuada.

El *cilindro-eje* de las pirámides procede, como hemos dicho, de la base de las mismas ó del origen de una expansión protoplásmica basilar; dirígese hacia abajo, cruza todas las capas cerebrales y aborda la substancia blanca, donde se continúa con un tubo nervioso. Creíase por los autores que esta continuación se verificaba siempre por un acodamiento; pero nosotros hemos demostrado que, á veces, tiene origen por una bifurcación, originándose, por tanto, dos tubos de la substancia blanca. Durante su trayecto por la substancia gris, el cilindro-eje emite colaterales finas en número de 6 á 10, que, desprendiéndose en ángulo recto, y marchando, ya horizontal, ya oblícuamente, acaban por dos ó tres ramúsculos muy delicados. Las colaterales nacen al nivel de estrangulaciones intensamente coloreables con el azul de metileno, conforme se ve en la fig. 163, *b*. El origen del axon atrae poco el color, pero éste se colorea intensamente cerca del origen de la vaina medular (fig. 163, *a*).

Capa 4 de las grandes pirámides (capa *ammónica* de Meinert). — Sólo se distingue de la zona anterior por el gran tamaño de sus corpúsculos (de 20 á 30 μ) y por la mayor longitud y espesor del tallo periférico de los mismos. Hacia afuera, esta capa se confunde por gradaciones suaves de tamaño celular, con la precedente; por dentro, aparece mejor limitada, aunque no es raro ver pirámides grandes, dispersas en plena zona de los elementos polimorfos (fig. 162, B y 161, C).

El cilindro-eje es muy espeso; desciende casi rectilíneamente, y al llegar á la substancia blanca, se continúa, generalmente, con una fibra de proyección. En ocasiones se bifurca ó suminis-

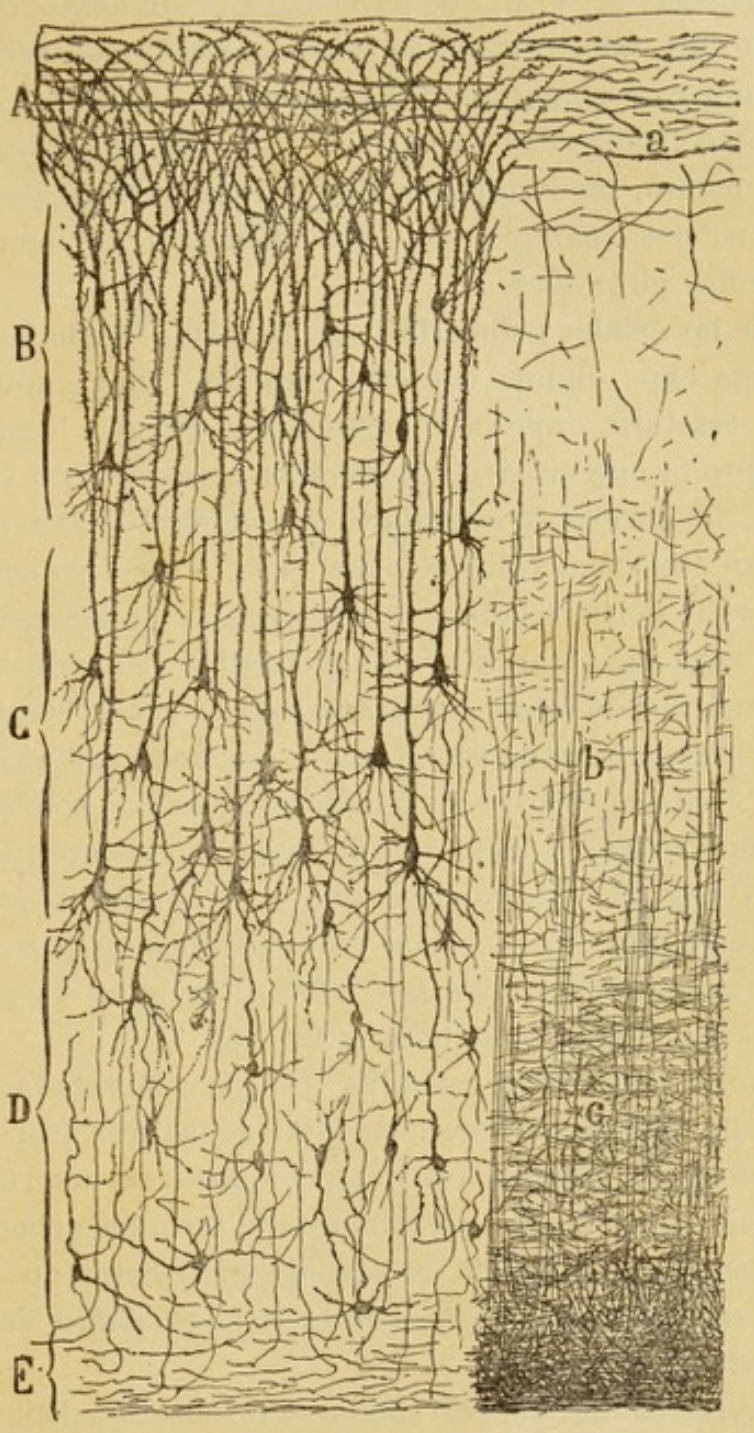


Fig. 161. — Corte de la corteza cerebral del conejo de ocho días. La porción derecha de la figura representa las fibras nerviosas meduladas reveladas por el procedimiento de Weigert ; la porción izquierda muestra las células nerviosas tales como aparecen por el método de Golgi.— A, capa molecular ; B, capa de pequeñas pirámides ; C, capa de pirámides grandes ; D, capa de células polimorfas ; E, substancia blanca ; *a*, fibras meduladas de la capa molecular ; *b*, haces de cilindros-ejes ; *c*, plexos de colaterales.

tra una gruesa colateral, que parece destinada á formar el cuerpo calloso (fig. 162). Durante el trayecto por la substancia gris, estos cilindros-ejes emiten 6 ú 8 colaterales horizontales ú oblícuas, dicotomizadas dos ó tres veces ; las más finas ramitas acaban libremente, mediante una nudosidad. El tallo ascendente, las expansiones basilares, etc., se comportan igualmente que en las pequeñas pirámides.

Capa de las células polimorfas (fig. 161, D). — Se hallan incluídas en esta capa alguna que otra pirámide, ya gigante, ya de mediana estatura, cuyo tallo periférico se dirige á la zona molecular ; pero la mayor parte de los elementos que aquí yacen son ovoideos, fusiformes, triangulares ó poligonales. Dos notas caracterizan casi todas estas células : la falta de orientación rigurosa del tallo periférico (hay excepciones); y la circunstancia de que éste rara vez alcanza la zona molecular, punto de encuentro de los penachos de todas las pirámides. No pocas veces falta el tallo periférico, estando representado por dos ó más expansiones cortas y oblícuas, y no es raro hallar células con tres expansiones protoplásmicas espesas, dos de las cuales alcanzan la substancia blanca. El cilindro-eje es fino y descendente, suministra tres ó cuatro colaterales, varias veces ramificadas, y se continúa bien por acodamiento, bien mediante división en T, con uno ó dos tubos de la substancia blanca (fig. 162, C).

Células de cilindro-eje corto (fig. 162, E).—Mezcladas, aunque en pequeño número, con los elementos de las tres últimas capas de la corteza, se hallan dos especies celulares, caracterizadas por la particularidad de que su cilindro-eje termina arborizándose en el mismo espesor de la substancia gris. Estas dos especies son : los *corpúsculos sensitivos de Golgi*; las *células de cilindro ascendente* de Martinotti.

Los primeros (fig. 162, E) suelen ser robustos, poligonales, y enviando expansiones protoplásmicas en todos sentidos. El cilindro-eje, procedente ya de la parte superior, ya de la inferior, ya de la lateral del cuerpo, marcha en dirección variable, y se descompone, á poco trecho, en una arborización libre, varicosa, cuyas ramitas envuelven los cuerpos de los corpúsculos vecinos.

Las células de cilindro-eje ascendente fueron mencionadas

primeramente por Martinotti (fig. 162, D). Nosotros, que las hemos estudiado en los mamíferos de pequeña talla, las hemos ha-

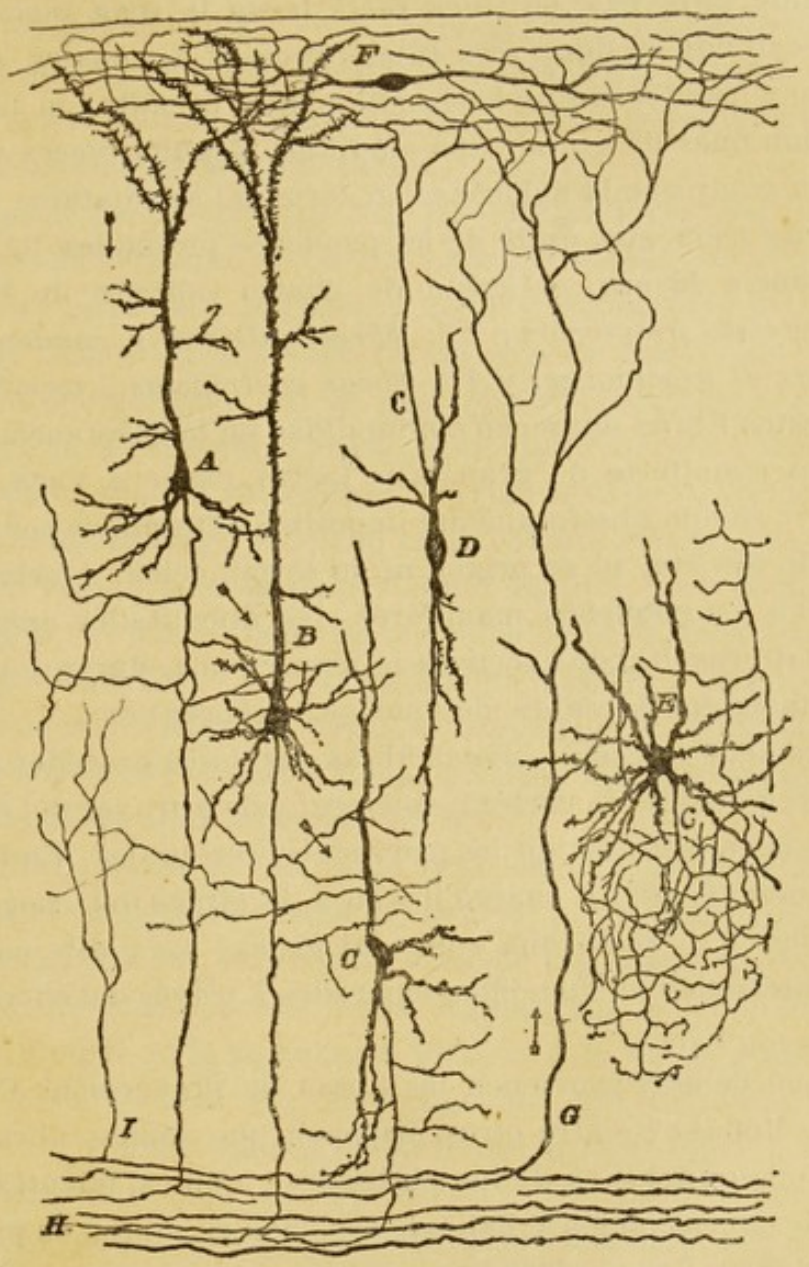


Fig. 162. — Diversos elementos constitutivos de la substancia gris cortical.—A, pirámide mediana ; B, pirámide grande ; C, célula de la capa de elementos polimorfos ; E, célula de cilindro-eje corto ; D, célula de Martinotti ó de cilindro-eje ascendente ; *f*, célula especial de la primera capa molecular ; G, fibra nerviosa terminal ; H, substancia blanca ; I, colateral de la substancia blanca.

llado en las tres capas inferiores, pero, sobre todo, en la zona de los corpúsculos polimorfos. Son ora fusiformes, ora triangulares,

con expansiones protoplásmicas ascendentes y descendentes. El cilindro-eje, que no es raro ver salir de un tallo protoplásmico ascendente, sube casi en línea recta hasta la zona molecular, donde se divide en dos ó tres ramas gruesas, las cuales, extendiéndose y ramificándose horizontalmente, constituyen una arborización final de grandísima amplitud. Algunas veces nos ha parecido notar que la arborización terminal se dilataba, no en la primera zona, sino en la de las pequeñas pirámides (fig. 162).

Substancia blanca. — Consta de cuatro especies de fibras: 1.°, *fibras de proyección;* 2.°, *fibras callosas ó comisurales;* 3.°, *fibras de asociación;* y 4.°, *fibras centrípetas ó terminales.* Todas estas fibras aparecen confundidas en la substancia blanca de los mamíferos de gran talla (perro, carnero, vaca, hombre, etc.), siendo absolutamente imposible determinar por la observación directa, ni su origen ni su terminación. Afortunadamente, en los pequeños mamíferos, las dificultades analíticas amenguan, resultando hacedera la persecución, durante un trecho bastante considerable, de muchas de estas fibras.

Fibras de proyección.—Estas fibras nerviosas proceden de todas las regiones de la corteza, convergiendo á través del cuerpo estriado para ingresar en los pedúnculos cerebrales. En los pequeños mamíferos, en cuanto llegan á la altura del cuerpo calloso, emiten á veces una colateral gruesa para este cuerpo; luego descienden en manojitos separados á través del cuerpo estriado.

¿De qué células provienen las fibras de proyección? Ciertos autores, Monakow entre otros, suponen que dichas fibras son continuación exclusiva de las pirámides gigantes, mientras que las fibras de asociación y callosas tendrían su origen en pirámides pequeñas. Las observaciones que nosotros hemos realizado tocante á este punto, aunque distan mucho de ser completas, nos parecen establecer de manera indudable que las fibras de proyección dimanan tanto de pirámides grandes como de pirámides pequeñas, sin excluir siquiera algunos corpúsculos polimorfos; y esta procedencia de células de dimensión variable podría servir para explicar por qué los hacecillos de fibras de proyección que descienden por el cuerpo estriado, contienen mezclados ci-

lindros-ejes gruesos y delgados. En cuanto á la terminación inferior de estas fibras, nada puede decirnos la observación directa por los métodos anatómicos. Pero la anatomía patológica y el método de Flechsig nos enseñan que una buena parte de ellas constituye la llamada *vía piramidal*, camino descendente de las incitaciones motrices voluntarias.

Fibras de asociación (fig. 162, H).—Estas fibras tienen probablemente su arranque en las tres capas de células cerebrales (piramidales pequeñas, grandes y células polimorfas); pero hasta hoy sólo hemos logrado observar *de visu* su enlace con los corpúsculos polimorfos y con tal cual pirámide gigante. Llegadas que son á la substancia blanca, estas fibras marchan más ó menos horizontalmente por encima del cuerpo calloso, y después de un trayecto variable, penetran en la corteza gris de una circunvolución vecina, ó en la de un lóbulo distinto, pero siempre del hemisferio del mismo lado. La terminación se verifica á favor de arborizaciones libres que se extienden preferentemente por la zona molecular. Algunas fibras de asociación se bifurcan en su camino por la substancia blanca, pudiéndose distribuir por dos ó más regiones apartadas del cerebro.

Las fibras de asociación aumentan en número proporcionalmente á la cantidad de substancia gris; por eso en el hombre y grandes mamíferos, donde ésta aparece replegada en circunvoluciones, las fibras de asociación forman por su abundancia la masa principal de la substancia blanca. A parte de otras condiciones, cabe afirmar que la inteligencia está en razón directa del número y complicación de las fibras de asociación. Los grandes cerebros del elefante, ballena, etc., así como el del buey, caballo, etc., poseen muchas células de proyección, pero relativamente escasas células de asociación.

Colaterales de las fibras de asociación.—La aplicación del método de Golgi á los mamíferos pequeños y recién nacidos nos ha permitido hallar un hecho de cierta importancia : la existencia, en muchas fibras de asociación, de ramitas colaterales finísimas, ascendentes y ramificadas en las diversas capas de la corteza gris superpuesta (fig. 162, *i*). Eligiendo para el examen ciertas regiones favorables, por ejemplo, la cara interna de los hemisfe-

rios, se advierte que algunas colaterales alcanzan la misma zona molecular, donde acaban por extensas arborizaciones libres, disposición que aparece también de un modo evidente en la corteza cerebral de los reptiles.

Fibras callosas.—Yacen debajo de las de asociación, y en los pequeños mamíferos constituyen un plano transversal bien limitado que sirve de cubierta á los ventrículos laterales. Llama desde luego la atención en las buenas impregnaciones del cuerpo calloso, la extrema delicadeza de sus fibras: diríase que son meras colaterales de cilindros-ejes. En las preparaciones ejecutadas con el método de Weigert-Pal, ofrecen también una vaina de mielina singularmente delgada. Proceden las fibras callosas de todos los parajes de la corteza de un lado y se terminan en todos los del otro, salvo la región esfenoidal de los hemisferios, donde las fibras comisurales marcha aparte, constituyendo la comisura anterior.

Cuando se examinan cortes transversales del cerebro de un ratón recién nacido, y caso de que el cromato de plata se haya fijado con cierto exclusivismo en las fibras callosas, se advierte que muchas de éstas emiten, de preferencia en ciertos parajes, unas finísimas colaterales que se comportan á la manera de las procedentes de las fibras de asociación. Generalmente, cada fibra callosa suministra dos, ó lo más tres, de tales filamentos que, ascendiendo en ángulo casi recto, se pierden en la substancia gris superpuesta, donde acaban libremente. Hay divisiones que parecen verdaderas bifurcaciones, resolviéndose la fibra comisural en una que sigue el trayecto horizontal primitivo y otra que ingresa en la substancia gris.

El origen y terminación de las fibras callosas, son problemas por resolver. De algunas de ellas podemos asegurar que representan colaterales de fibras de proyección ó de fibras de asociación. Otras quizá sean la continuación de cilindros-ejes, directos, nacidos en células corticales del otro lado.

Fibras arborizadas en la substancia gris (fig. 162, G, y figura 163, C).—Hemos dicho ya hace poco, que en la corteza gris penetran fibras de asociación procedentes de territorios más ó menos lejanos de un mismo hemisferio, y que estas fibras se arborizan

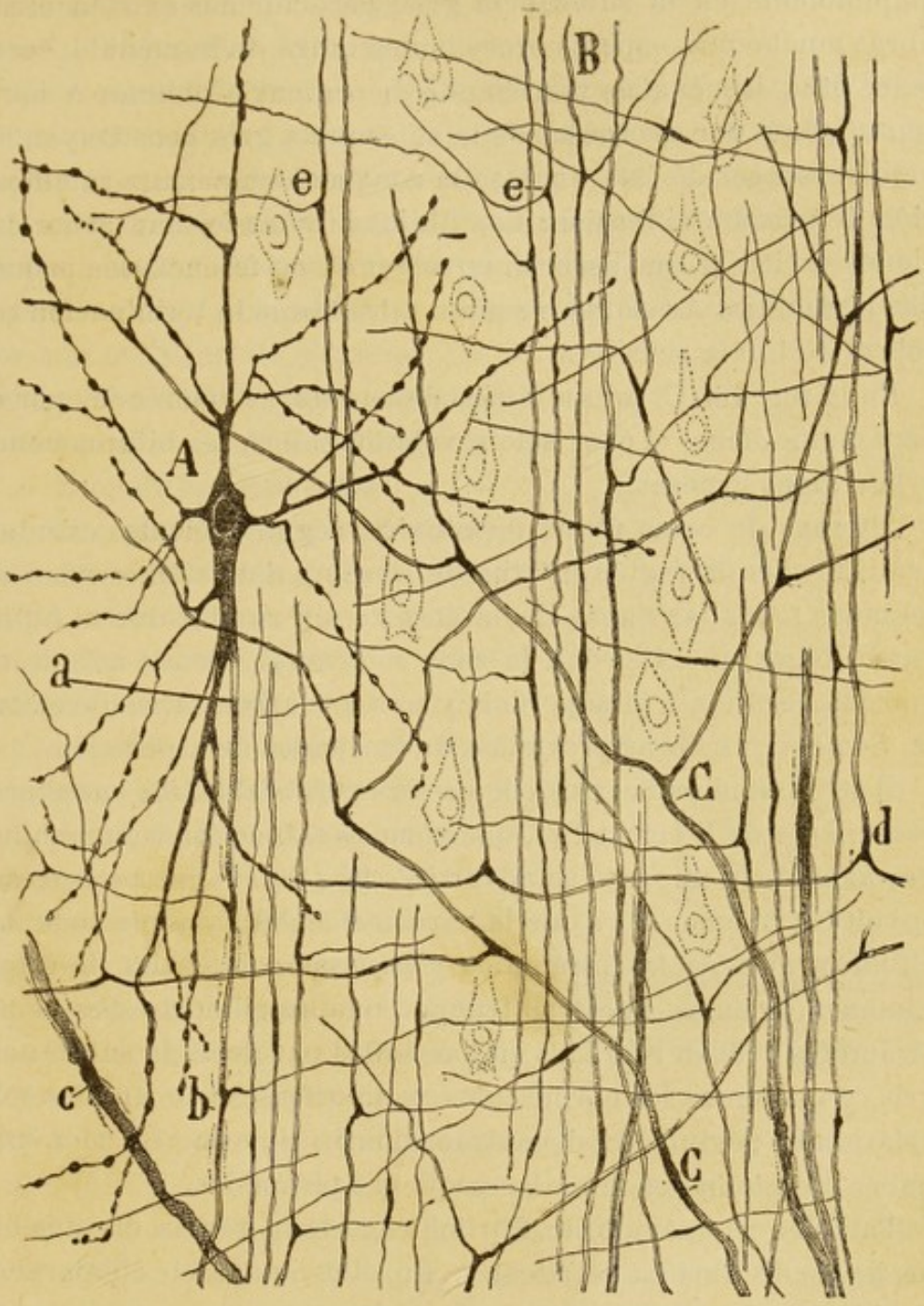


Fig. 163. — Corteza cerebral del gato adulto. Método de Ehrlich. Fibras nerviosas de la capa de los elementos polimorfos. — A, célula fusiforme de cilindro-eje largo ; B, haces de cilindros-ejes de células piramidales ; C, fibra gruesa llegada de la substancia blanca y bifurcada repetidas veces ; *a*, cilindro-eje de un corpúsculo polimorfo ; *b*, colaterales de éste ; *c*, estrangulación corta de un tubo robusto ; *e*, colaterales de prolongaciones nerviosas de pirámides ; *d*, bifurcación anticipada de un cilindro-eje.

ampliamente en la substancia gris; pero además existen otras fibras mucho más espesas procedentes quizá de la médula, cerebelo, etc., las cuales, marchando de ordinario oblícua ú horizontalmente por el espesor de la substancia gris, constituyen en todo el espesor de ésta, incluso la zona molecular, una ramificación de enorme extensión. Las últimas ramas forman arborizaciones varicosas que parecen envolver de preferencia las pequeñas pirámides. Acaso representan tales fibras la terminación cerebral de la vía sensitiva.

En la fig. 163 C, presentamos dichas fibras coloreadas por el azul de metileno, el cual sólo revela los tallos, las bifurcaciones y las ramas gruesas.

Algunas de estas fibras terminales, según recientes estudios realizados en la región interna del cerebro del ratón, cruzan en manojos todas las capas de la corteza sin ramificarse ni bifurcarse, hasta que abordan la zona molecular, donde adquieren marcha paralela á la superficie y parecen arborizarse libremente. Semejantes fibras provienen de fascículos de asociación.

Si se examina un corte de la corteza cerebral teñido por el procedimiento de Weigert-Pal, que como es sabido impregna en negro-azulado la mielina, se advertirá (fig. 161, *b*) que poseen esta envoltura muchas fibras de la capa molecular, y sobre todo, los cilindros-ejes de las pirámides y gruesas colaterales de éstos. Llamará, además, nuestra atención, que los cilindros-ejes de las pirámides cruzan reunidos en hacecillos paralelos la substancia gris, y que entre los corpúsculos polimorfos existe un plexo de colaterales meduladas de extraordinaria riqueza. La zona más pobre en mielina es la de las pequeñas pirámides.

También el método de Ehrlich (fig. 163), revela claramente los haces de fibrillas verticales. En ellos aparecen colaterales, nacidas al nivel de estrangulaciones intensamente coloreadas de azul, y á menudo dispuestas en ángulo obtuso.

Bulbo olfatorio. —El órgano, impropiamente llamado *nervio olfatorio*, se termina encima de la lámina cribosa del etmoides por un ensanchamiento grisáceo, el *bulbo olfatorio*, en el cual penetran los pequeños fascículos nerviosos emanados de las fosas nasales. Recuérdese que estas fibras nerviosas aferentes no

son otra cosa que las expansiones profundas de las células bipolares de la mucosa olfatoria.

Un corte transversal del bulbo olfatorio nos ofrecerá diversas capas concéntricas, que son, partiendo de la superficie: 1.°, *zona de las fibras nerviosas olfatorias;* 2.°, *zona de los glomérulos;* 3.°, *zona molecular;* 4.°, *zona de las células mitrales;* 5.°, *zona de los granos* y fibras nerviosas profundas.

1. **Zona fibrilar superficial.** — Está exclusivamente compuesta por una multitud de pequeños fascículos de fibras olfatorias, dispuestas en plexo complicado y flojo.

2. **Zona de los glomérulos.** — Así llamada, por contener unas masas esferoidales ú ovoideas que recuerdan, á primera vista, los glomérulos del riñón. La trama de tales órganos sólo puede discernirse en las preparaciones teñidas con cromato argéntico (figs. 164 y 165, A).

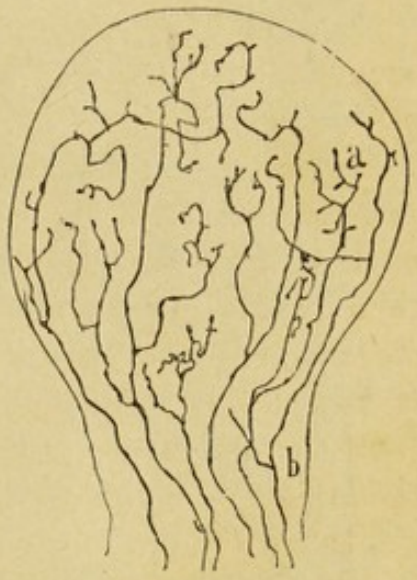


Fig. 164. — Glomérulo del bulbo olfativo del ratón de pocos días. Arborizaciones nerviosas de las fibras olfativas.

Como ya demostró Golgi en 1874, cada glomérulo es el punto de encuentro de dos clases de fibras: las ramificaciones terminales de las fibrillas olfatorias, y ciertas arborizaciones varicosas, en forma de penachos, continuadas con un grueso tallo protoplasmático originado en los corpúsculos mitrales (células de la capa 4). Entre estas dos especies de fibras no se establecería, según Golgi, ninguna conexión dinámica; pues que las fibrillas olfatorias, llegadas al glomérulo, después de ramificarse y de constituir una red nerviosa, se continuarían con otras fibras nerviosas centrípetas emergentes de dicho órgano.

Nuestros estudios sobre el bulbo olfatorio de los mamíferos, y los de mi hermano sobre el de las aves, reptiles y batracios, han puesto en claro tres hechos de alguna trascendencia fisiológica, hechos posteriormente confirmados por las indagacio-

nes de van Gehuchten y Martín, las de Retzius y las de Kölliker.

a) Que las fibrillas olfatorias se terminan libremente en los glomérulos, á favor de arborizaciones libres, varicosas, espesas, sumamente flexuosas, sin que jamás se observe la salida de ninguna de estas ramillas del territorio glomerular ; *b*) que no llegando de la substancia gris del bulbo olfatorio á los glomérulos más expansiones (susceptibles de recoger las excitaciones sensoriales en éstos depositadas), que las protoplásmicas de los corpúsculos mitrales de la capa 4, ó las de ciertos elementos de la zona 3, no queda más recurso que asignar á dichas expansiones protoplásmicas un oficio conductor, porque de otra suerte la corriente sensorial quedaría interrumpida en la misma superficie del bulbo ; *c*) que la dirección de la corriente es celulípeta en las expansiones protoplásmicas y celulífuga en los cilindros-ejes (fig. 168, B).

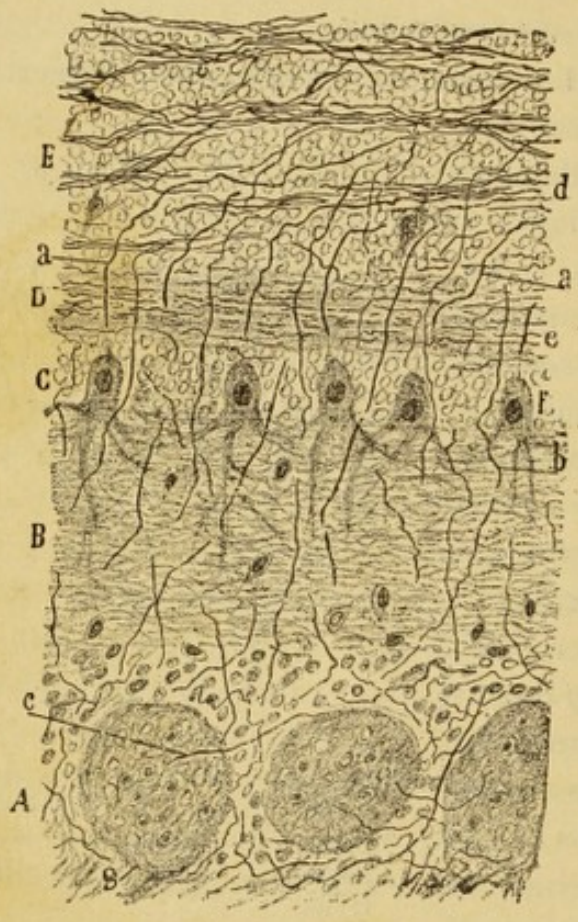


Fig. 165.—Corte de bulbo olfatorio de rata de un mes. Método de Weigert-Pal, y carmín aluminoso.— A, capa de los glomérulos ; B, capa molecular ; C, capa de las células mitrales ; E, capa de los granos ; *a*, fibra de mielina que corresponde al cilindro-eje de las células mitrales ; *b*, cilindro-eje de las células empenachadas inferiores.

3. **Capa molecular** (figs. 165, B y 166, B).—Es una faja de aspecto finamente granuloso, situada por dentro de la zona glomerular. El cromato de plata revela en ella algunas células nerviosas pequeñas ó fusiformes, las cuales se caracterizan por enviar

á los glomérulos subyacentes un tallo protoplásmico empenachado. Hacia lo profundo, éstas células emiten un cilindro-eje fino que, una vez llegado á la zona de los granos, se dobla para marchar de adelante á atrás é ingresar en los paquetes de tubos medulados acumulados en el eje del bulbo (fig. 166, *d*).

4. **Capa de las células mitrales.** — Se trata de células gigantes, ya triangulares, ya en forma de mitra, que fueron bien descritas por Golgi. De su cara inferior brota la expansión más interesante, es decir, aquel tallo de marcha divergente el cual, después de cruzar la zona molecular, termina á beneficio de un elegante penacho varicoso, en el espesor de los glomérulos, donde se pone en íntimo contacto con las últimas ramificaciones de las fibras olfatorias (fig. 168, C). De los lados de las células mitrales, brotan expansiones más ó menos oblícuas, que se ramifican y pierden en la zona molecular contígua. El cilindro-eje es espeso, surge del polo interno de la célula, recoda á poco trecho y se continúa, después de adquirir dirección antero-posterior, con un tubo robusto de la substancia blanca del bulbo (capa 5)· Del trayecto ulterior de tales cifras brotan en ángulo recto colaterales, vistas primeramente por mi hermano, y descritas más amplia y completamente por van Gehuchten y Martín. Semejantes colaterales marchan á la periferia y se arborizan en el espesor de la zona molecular (fig. 168, *e*).

5. **Zona de los granos y fibras meduladas.** — Se trata de una trama de tubos nerviosos, en su mayor parte autero-posteriores, salpicada de islotes ó aglomeraciones de células nerviosas. En esta zona hay que estudiar los *granos*, las *células nerviosas estrelladas* y las *fibras nerviosas*.

Granos. — Estos corpúsculos son pequeños, esféricos, poliédricos ó triangulares, y tan numerosos, que puede decirse que constituyen casi exclusivamente los islotes celulares de la zona que estudiamos. Tienen expansiones protoplásmicas, ya centrales, ya periféricas, pero carecen de cilindro-eje ; por cuya curiosa particularidad pueden considerarse como análogos á los espongioblastos de la retina (nuestras células *amacrinas*). Las *expansiones centrales* son dos ó tres, ofrecen gran finura y acaban, á poco trecho, en el mismo espesor de los islotes celulares

profundos, á favor de finas ramificaciones (fig. 162, *f*). La *expansión periférica* es gruesa, y tanto más corta cuanto más próximo yace el grano á la zona molecular ; después de cruzar perpendicularmente la capa de los granos y la de las células mitrales, esta expansión alcanza la zona molecular, donde termina, á fa-

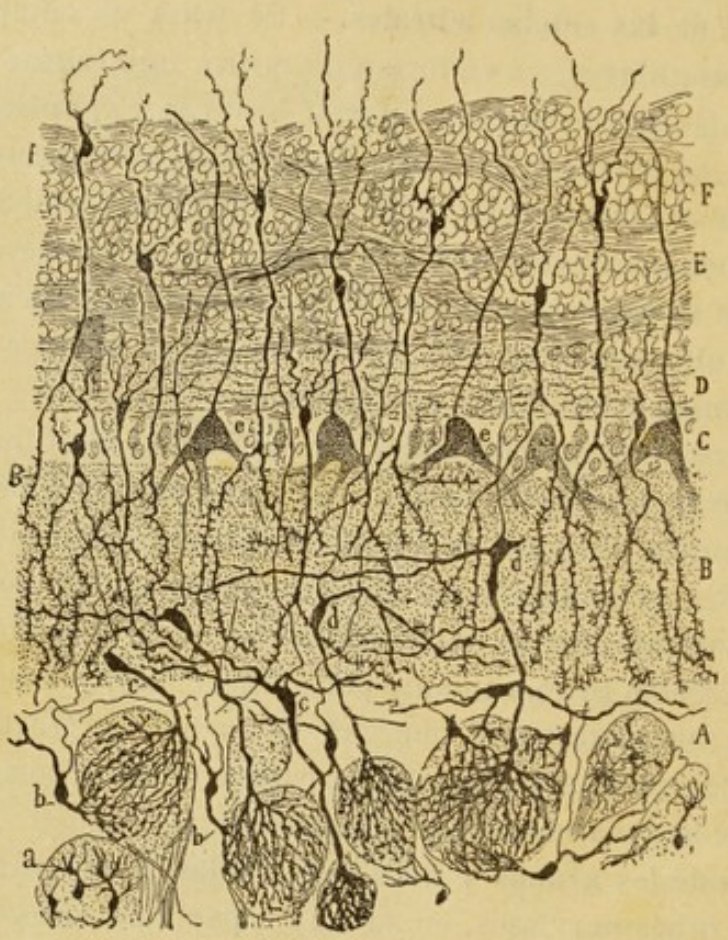


Fig. 166. — Corte antero-posterior del bulbo olfatorio de la rata. — A, capa de los glomérulos ; B, capa molecular inferior ; D, capa molecular superior ; C, capa de las células mitrales ; E, capa de los granos y fibras nerviosas ; F, islote de granos ; *a*, pequeñas células del interior de los glomérulos ; *b*, célula empenachada inferior ; *c*, otra igual colocada por encima ; *d*, células empenachadas medias ; *e*, mitrales ; *f*, grano con sus expansiones superiores ; *g*, arborización inferior espinosa de los granos.

vor de un penacho de ramillas divergentes, de contornos espinosos, que parecen ponerse en contacto con las expansiones protoplásmicas laterales de los corpúsculos mitrales y empenachados pequeños (fig. 166, *g*).

Células estrelladas. — Corpúsculos de gran talla descubiertos

por Golgi, que se hallan en escaso número y esparcidos irregularmente por la capa de los granos. Su cilindro-eje, según Golgi, formaría una red en el espesor de dicha capa ; pero nosotros lo hemos visto terminar siempre en la zona molecular, á beneficio de magníficas arborizaciones libres (fig. 167, *a*). Según van Gehuchten, á más de esta especie de células estrelladas, exis-

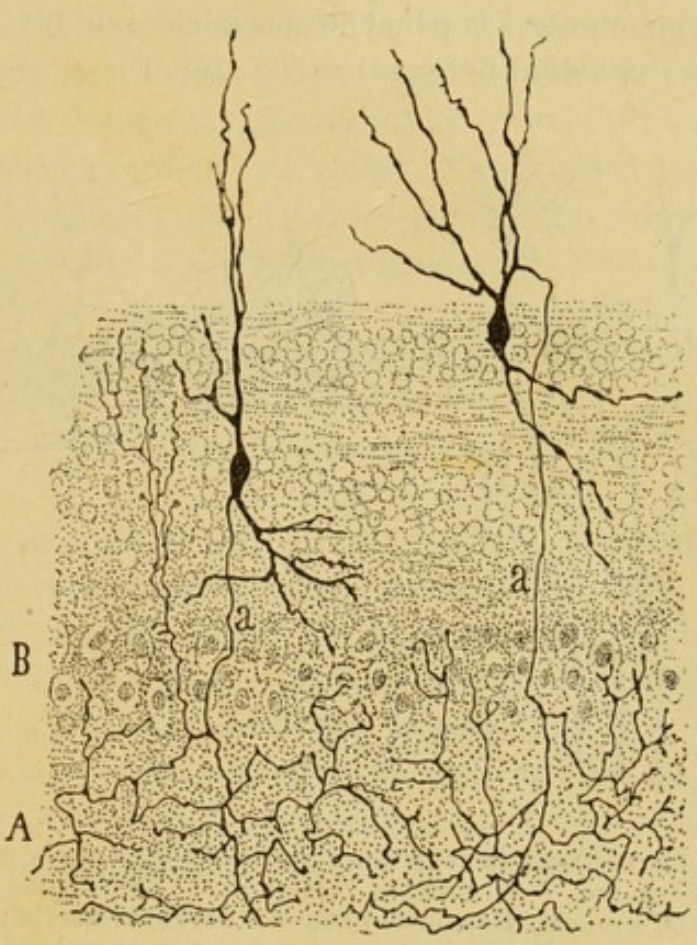


Fig. 167.—Dos grandes células estrelladas del bulbo olfatorio del perro recién nacido.—A, capa molecular inferior ; B, capa de las células mitrales ; *a*, cilindro-eje periférico.

tiría otra residente de preferencia al nivel de los corpúsculos mitrales, y caracterizada por la riqueza extraordinaria de sus expansiones protoplasmáticas.

Fibras nerviosas.— Casi todas las que forman los hacecillos que separan las agrupaciones de granos, son simple continuación de los cilindros-ejes de las células mitrales y fusiformes de

la zona molecular. Pero existen también fibras nerviosas centrífugas que se arborizan libre y extensamente entre los granos, á los que conducen probablemente alguna acción del cerebro.

Las fibras nerviosas nacidas de las células mitrales, marchan reunidas en lo que se llama la *raíz externa* del nervio olfatorio, suministran colaterales en todo su camino, y terminan, como ha señalado C. Calleja, á beneficio de arborizaciones libres, que se ponen en relación con los penachos periféricos de las pirámides de la región esfenoidal del cerebro (fig. 168, F).

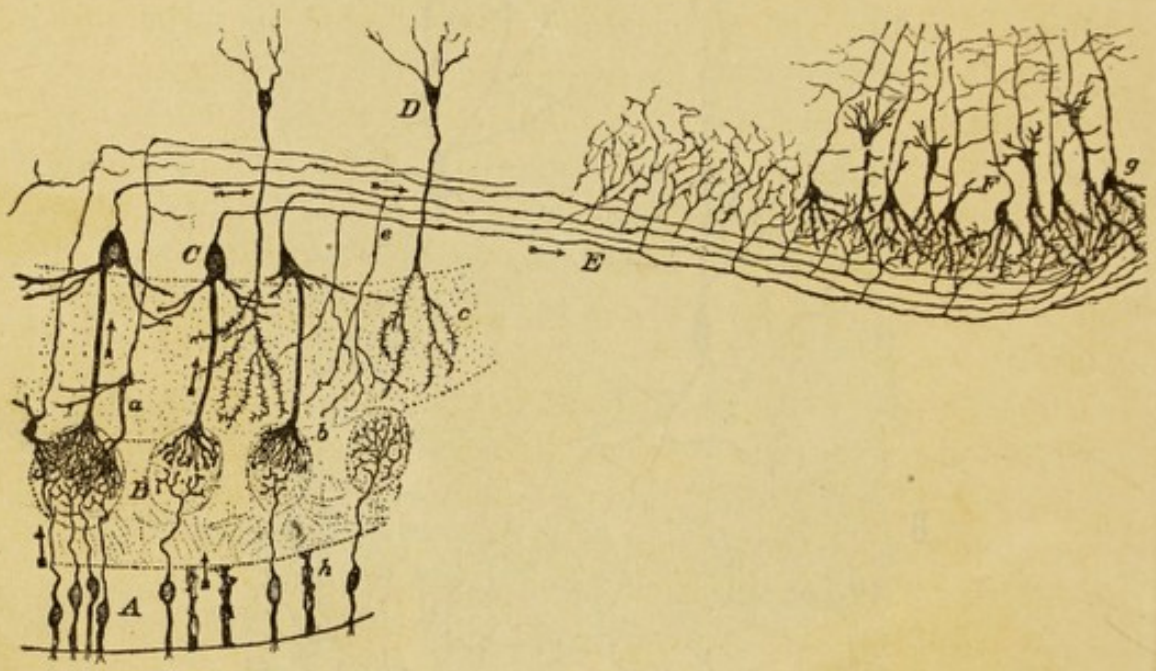


Fig. 168. — Esquema de la estructura del bulbo olfatorio y corteza esfenoidal del cerebro. — A, mucosa olfatoria ; B, glomérulos ; C, células mitrales ; D, granos ; E, raíz externa del nervio olfatorio ; F, pirámides de la corteza esfenoidal que reciben por sus penachos las arborizaciones colaterales y terminales de las fibras llegadas del bulbo olfativo. Nota : Las flechas indican la dirección del movimiento nervioso.

Marcha de las corrientes en el bulbo.— De todo lo expuesto se infiere que la transmisión del movimiento olfativo no es individual, es decir, que no va de una fibra olfativa aferente á una célula mitral, sino de un grupo de fibras olfativas á un conjunto de corpúsculos nerviosos. Esto explica en alguna manera el carácter indeterminado de las impresiones olorosas. En su camino, la excitación olfativa recorre las siguientes neuronas ó unidades

nerviosas : las células bipolares de la mucosa ; las células mitrales con sus cilindros-ejes terminados en la corteza esfenoidal ; en fin, las células piramidales de esta corteza del cerebro (fig. 168).

En la fig. 165 reproducimos un corte de bulbo olfatorio, teñido por el procedimiento de Weigert-Pal. En él se ve que poseen envoltura medular las fibras de las células mitrales y empenachadas de toda clase, y los tubos de la substancia blanca separatoria de los granos. Esta envoltura falta en las fibras olfatorias.

Ganglios nerviosos.— Son pequeños centros nerviosos, situados fuera del eje encefalo-raquídeo y en el itinerario ó punto de cruce de los cordones nerviosos. Distínguense dos variedades principales de ganglios : los *cerebro-raquídeos* y los *simpáticos*.

Ganglios espinales ó cerebro-raquídeos.— Hállanse en el trayecto de las raíces posteriores ó sensitivas de los nervios raquídeos, y en todos los pares craneales sensitivos. A esta variedad pertenecen, por tanto, el ganglio de Gaserio, el de Andersch, el plexiforme y el yugular del pneumogástrico, el geniculado del facial, etc.

Cuando se practica un corte en un ganglio raquídeo, se advierten dos zonas : una cortical, grisácea y rica en células nerviosa ; otra central, constituída esencialmente por tubos medulares. En torno del ganglio se halla una cubierta conjuntiva, especie de cápsula continuada con el neurilema.

Las *células nerviosas* son voluminosas (de 20 á 50 milésimas), redondeadas ó ligeramente poliédricas. En ellas se encuentra una cubierta ó cápsula protectriz de naturaleza fibrosa, revestida interiormente por un endotelio ; un protoplasma abundante fuertemente granuloso y manchado, en uno de sus lados, por un acúmulo de granos melánicos, y un núcleo esferoidal, voluminoso, provisto de un nucleolo grueso y fácilmente colorable por el carmín y anilinas básicas (fig. 169).

Todas estas células son monopolares, como reconocieron Ranvier, Lenhossék, Retzius, etc., y su expansión única y espesa, tras un curso variable dentro del ganglio, se bifurca, engendrando : una *rama fina* destinada á la médula espinal, en la cual penetra constituyendo la raíz posterior ó sensitiva de los nervios raquídeos ; otra *rama gruesa* que se dirige á la periferia, ingre-

sando en el par raquídeo correspondiente, y ramificándose en la piel ó acabando en un aparato sensitivo terminal (corpúsculos de Pacini, Meissner, etc.). Tanto el tallo de origen como las ramas de bifurcación, están envueltas por una vaina de mielina. La división dicotómica se verifica al nivel de una estrangulación (figura 169, *d*, *e* y 170, A).

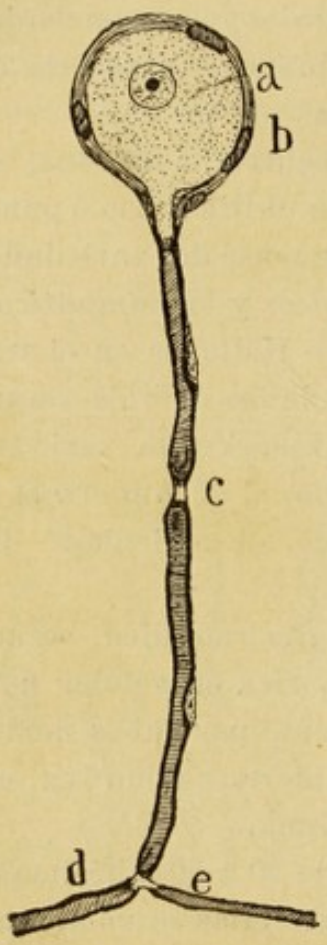


Fig. 169. — Célula monopolar de un ganglio raquídeo de conejo joven. Disociación en presencia del ácido ósmico.—*a*, cápsula de la célula; *c*, estrangulación de la fibra; *d*, rama gruesa ó periférica; *e*, rama fina ó central.

Es difícil comprender la utilidad de la mencionada disposición monopolar de los corpúsculos ganglionares sensitivos. Si, como parece probable, suponemos que la corriente sensitiva aportada de la periferia por la expansión externa no necesita ir al cuerpo celular, sino que deriva inmediatamente por la otra prolongación para ingresar en la médula espinal, la disposición monopolar tendría por objeto establecer en el centro del ganglio un camino más directo para la excitación centrípeta. Para comprender esto, hay que recordar que, en los peces, en los cuales los corpúsculos sensitivos son bipolares, las dos expansiones trazan numerosas flexuosidades dentro del ganglio, á fin de acomodarse á las curvas de las células esféricas esparcidas por todo él. La huída del soma á la periferia y la creación de un largo pedículo á fin de permitir el establecimiento de las dos ramas en el centro del ganglio, es decir, en una región exenta de cuerpos celulares, suprime las flexuosidades del conductor sensitivo y acorta, por tanto, la distancia que en su propagación á la médula debe recorrer la onda sensitiva.

El cuerpo celular posee conexiones especiales. Por debajo de

la cápsula endotelial y conectiva existen íntimamente aplicadas al protoplasma unas ramificaciones nerviosas varicosas finas, dispuestas en cesta pericelular, las cuales fueron señaladas primeramente por Ehrlich en la rana, por nosotros en la rata, y recientemente por Dogiel en el gato. Algunas de dichas arborizaciones parecen provenir de fibras del gran simpático, á cuyo parecer se inclina también Dogiel ; de otras se ignora el origen.

Además de las citadas cestas pericelulares simpáticas, existirían otras, procedentes de las ramificaciones intraganglionares de ciertos corpúsculos monopolares ; pero esta aserción de Dogiel no ha sido todavía confirmada. Tampoco se ha logrado fijar las propiedades de ciertos corpúsculos de forma multipolar, escasísimos en número, señalados en los ganglios raquídeos por diversos autores. Añadamos todavía que en la rana, como Lenhossék ha demostrado, el protoplasma de los corpúsculos sensitivos contiene un centrosoma ; en los mamíferos no es posible comprobar la existencia de este órgano.

Ganglios simpáticos.—Por tales deben tenerse no sólo los ganglios de la cadena vertebral, sino todas las intumescencias nerviosas que se ven en el curso periférico de los nervios craneales y en el espesor de algunos plexos. Pertenecen, por ejemplo, al tipo estructural simpático, el ganglio oftálmico (Cajal, Retzius), el ganglio esfeno-palatino (van Gehuchten, Retzius, Cajal), los ganglios cardíacos, los del plexo celíaco, hipogástrico, etc.

Cuando se examina al microscopio un ganglio simpático, se advierte que consta de acúmulos celulares voluminosos, separados por haces de fibras nerviosas.

Las fibras son de dos clases : *meduladas*, las cuales llegan al ganglio por los *rami comunicantes* y son, según nuestras observaciones, continuación de tubos de las raíces anteriores ; *amielínicas* ó de Remak, mucho más numerosas, de aspecto varicoso, y nacidas ya en el mismo ganglio simpático, ya en focos simpáticos vecinos (fig. 170, D, y 171, A).

Las células son estrelladas, afectan una talla muy variable y poseen, como las de los ganglios raquídeos, una cápsula envolvente fibroso-endotelial, un protoplasma granuloso provisto de grumos cromáticos apretados y difusos, aparentes por el mé-

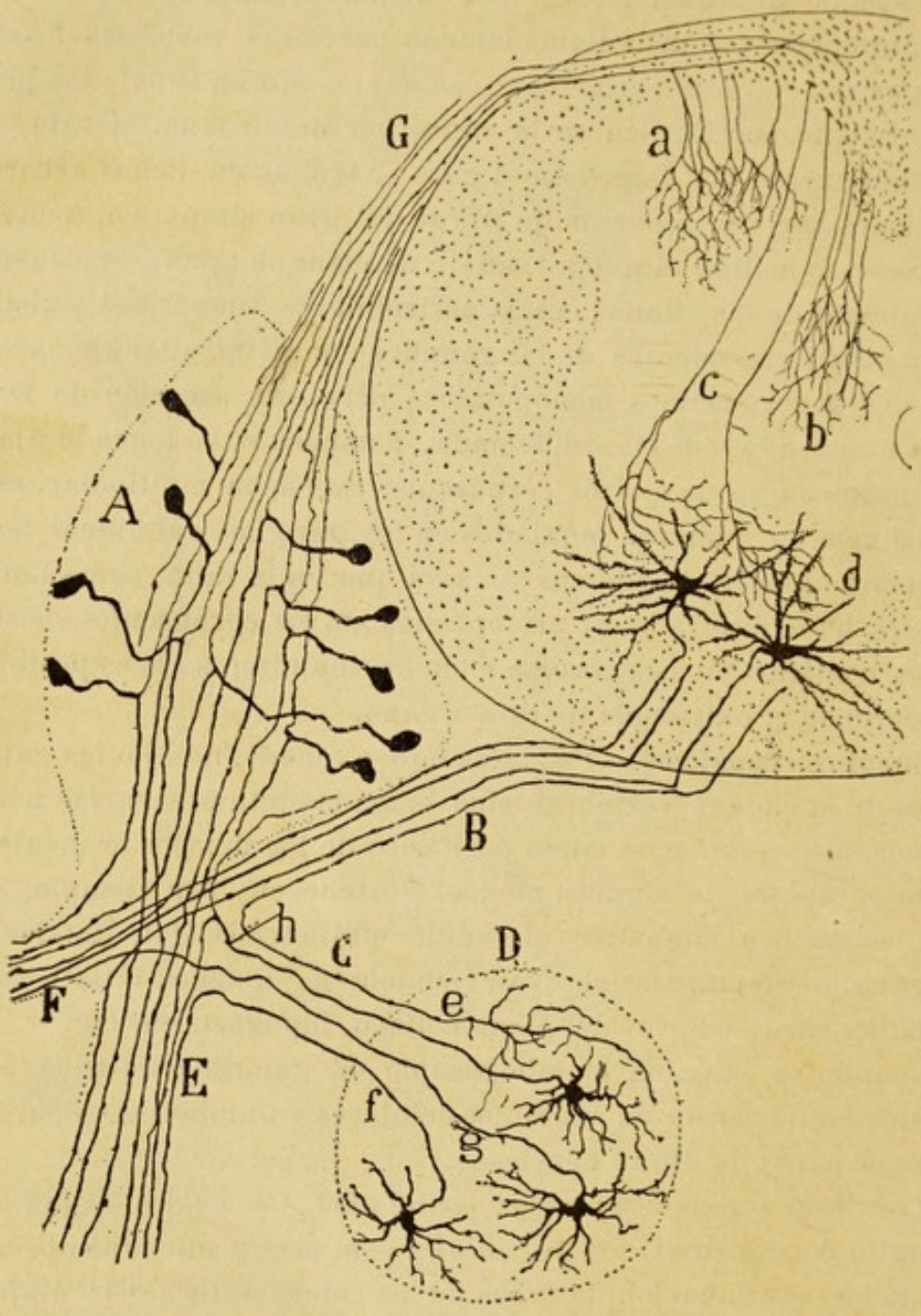


Fig. 170. — Corte de la médula espinal dorsal del ratón recién nacido. Figura semi-esquemática.—A, ganglio raquídeo ; B, raíz motriz ó anterior ; C, ramo comunicante del gran simpático ; D, ganglio simpático ; E, rama anterior del par raquídeo ; F, rama posterior de éste ; *a*, colaterales del cordón posterior y raíces sensitivas para el asta posterior ; *c*, colaterales sensitivo-motrices ; *b*, colaterales para la substancia gris central ; *d*, células radiculares ó motrices ; *e*, fibra de la raíz anterior ramificada en el ganglio simpático ; *f*, *g*, expansiones nerviosas de células simpáticas ; *h*, bifurcación de una de estas expansiones.

todo de Nissl, y un núcleo pobre en cromatina, pero que encierra un nucleolo recio y fuertemente colorable por las anilinas básicas.

Las expansiones celulares son numerosas, oscilando por lo común entre 4 y 10. Cuando no se había aplicado al estudio de las células simpáticas otro método que la disociación, creíase que todas las prolongaciones tenían carácter de nerviosas y se continuaban con fibras de Remak. La aplicación de nuestro método de impregnación doble á los ganglios simpáticos del perro y á los de embriones de ave, nos ha permitido refutar esta opinión, conduciéndonos á identificar en lo morfológico las células simpáticas con las del eje cerebro-raquídeo. Después de algunas vacilaciones, logramos demostrar que toda célula simpática posee dos clases de expansiones : *protoplásmicas* ó cortas, ramificadas repetidamente y terminadas libremente en el espesor del ganglio (fig. 170, D), y una *expansión nerviosa*, gruesa, lisa, que sale del ganglio simpático, continuándose con una fibra de Remak. Durante su trayecto intra-ganglionar, esta prolongación no se ramifica, y al emerger del ganglio sigue uno de estos dos caminos : ó se incorpora al par cerebro-raquídeo correspondiente para constituir los nervios llamados *rami comunicantes*, ó se dirige á un ganglio simpático vecino, formando los cordones anastomóticos longitudinales de la cadena simpática. Las fibras de Remak de los *rami comunicantes* marchan con las dos ramas del par raquídeo hacia la periferia, y distribúyense en la túnica muscular de las arterias y en todos los demás músculos de fibra lisa (fig. 170, *f*, *g*).

Entre las células simpáticas existe un plexo de arborizaciones nerviosas descubierto por nosotros y bien descrito por Fusari, plexo que contiene : fibras colaterales de cilindros-ejes de paso, acaso de los nacidos en otro ganglio ; fibras terminales y colaterales procedentes de tubos nerviosos medulados, llegados de la raíz anterior y nacidos verosímilmente en corpúsculos motores especiales del asta anterior (fig. 171, E). Mediante estas últimas ramificaciones, el gran simpático puede ser influído por la médula espinal y por el bulbo raquídeo ; y á favor de las primeras, una fibra de Remak puede conducir una parte de

la excitación que la recorre á otros ganglios simpáticos, haciendo á éstos solidarios de su actividad (fig. 171, E). En otros términos, en cada ganglio se originan fibras simpáticas motrices directas (las incorporadas á los *rami comunicantes*), y fibras motrices indirectas ó de asociación interganglionar (las que pasan-

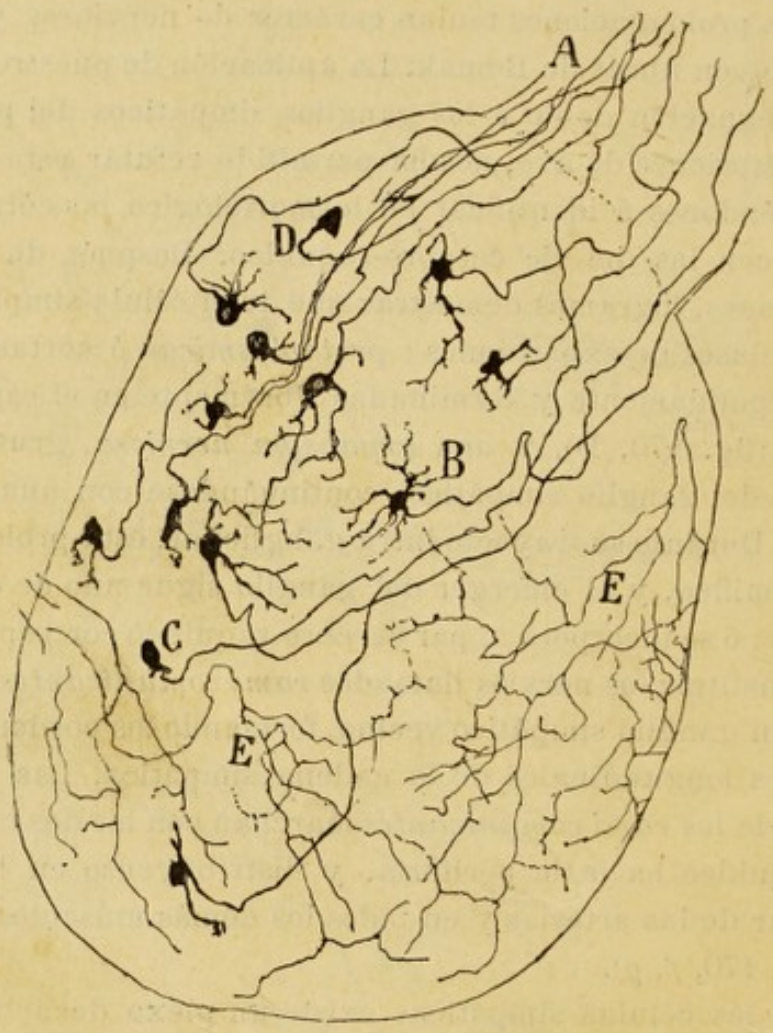


Fig. 171. — Células del ganglio cervical superior del gran simpático del ratón recién nacido.—A, nervio ascendente ; B, D, células simpáticas ; E, ramificaciones nerviosas terminales cuyas fibras de origen vienen de otros ganglios y de las raíces anteriores.

do por el cordón longitudinal, llevan la excitación á otros focos simpáticos). Acaso estas últimas fibras constituyan también en definitiva, y después de suministrar colaterales intraganglionares, los axones de ramos simpáticos viscerales ó de *rami comunicantes* correspondientes á metameras lejanas.

Añadamos, para terminar, que cada ganglio simpático está envuelto en una túnica fibrosa continuada con el neurilema, y que entre las células y fibras se hallan unos corpúsculos neuróglicos recios, pobres en expansiones.

Caracteres químicos del tejido nervioso. — El análisis de la médula y encéfalo dan una composición inmediata de gran complicación. Figuran en la substancia gris y blanca la *albúmina*, la *lecitina*, el *protagón*, la *colesterina*, la *cerebrina*, la *neurina*, el *ácido glicero-fosfórico*, y numerosos compuestos inorgánicos, como el *fosfato de potasa*, el *de sosa*, el *de hierro* y el *de magnesia*, el *cloruro de sodio*, el *sulfato potásico* y el *ácido fosfórico libre*. La *cerebrina* y *colesterina* abundan especialmente en la substancia blanca, y la *lecitina* en la gris. Ewald y Kühne han hallado además un nuevo producto llamado *neuro-keratina*, caracterizado por resistir á la digestión artificial y parecerse notablemente á la keratina de los epitelios.

Propiedades fisiológicas del tejido nervioso. — La propiedad específica del tejido nervioso es la capacidad de transmitir, bajo una forma todavía desconocida, los cambios dinámicos ocurridos, ya en los órganos de los sentidos, ya en los centros nerviosos. Desde el punto de vista del origen del movimiento, cabe distinguir tres sistemas nerviosos : el *sensorial* ó *sensitivo-sensorial*, por virtud del cual toda mutación ocurrida en la periferia de nuestro organismo ó en el interior de nuestros músculos es trasladada al sensorio ; el *motor* ó *centrífugo*, representado por los nervios motores y glandulares, cuya misión es conducir á los órganos subordinados (músculos, glándulas) las excitaciones producidas en los centros ; y el *sistema intermediario* ó de asociación, representado por una gran parte de las células del encéfalo y médula (exceptuadas las vías sensitivas y motrices directas), y cuyo oficio parece ser poner en relación tal orden de excitaciones sensitivo-sensoriales con determinados conductores centrífugos ó motores.

En los nervios, el papel transmisor está representado por el cilindro-eje ; las demás partes constitutivas del tubo nervioso desempeñan oficios de nutrición ó de protección. Así, la mielina sirve verosímilmente de materia aisladora de la corriente nervio-

sa ; la vaina de Schwan semeja un aparato protector de la fibra y contentor de la mielina ; los discos de soldadura sirven para mantener el cilindro-eje en su posición central y dar acceso á las corrientes de imbibición ; las cisuras de Lantermann parecen desempeñar este mismo papel, facilitando, por su permeabilidad á los plasmas nutritivos, la fácil renovación del líquido que baña el conductor nervioso. No entraremos en el estudio del mecanismo del acto reflejo, ni de las propiedades eléctricas y fisiológicas del tejido nervioso, cuestiones muy importantes que no cabe abordar aquí, dada la concisión que nos hemos impuesto, y que además pertenecen de derecho á la fisiología. Por ahora expondremos solamente algunas de las inducciones fisiológicas más verosímiles derivadas de nuestros recientes estudios sobre la morfología y conexiones de las células nerviosas.

1.° Las corrientes nerviosas no marchan en sentido indiferente al través de las células ; el cilindro-eje es recorrido siempre por un movimiento *celulífugo*, y las expansiones protoplásmicas por un movimiento *celulípeto*, ó en otros términos, las expansiones protoplásmicas y cuerpo celular recogen las corrientes, y el cilindro-eje las transmite á otros corpúsculos (Cajal, van Gehuchten) (1).

2.° La relación entre los elementos nerviosos de los centros

(1) En los casos en que el axon procede de una expansión protoplásmica y á gran distancia del soma, la fórmula citada no puede explicarse en todo su rigor ; por esta razón nosotros hemos modificado la antigua fórmula, demasiado exclusiva, por esta otra, aplicable á todos los casos sin excepción : *el soma y apéndices protoplásmicos tienen conducción axípeta*, es decir, que conducen siempre hacia el axon ó expansión funcional, *en tanto que el axon posee conducción dendrífuga ó somatófuga* (según su punto de emergencia), es decir, que la onda por él circulante puede llegar indiferentemente, ora del soma, ora de una prolongación dendrítica. La dislocación del axon en muchas células (corpúsculos monopolares raquídeos, granos del cerebelo, células de cayado del lóbulo óptico, etc.), así como las disposiciones singulares adoptadas tanto por las ramificaciones nerviosas, como por las dendríticas, están regidas por las tres leyes económicas siguientes : ahorro del espacio destinado á las células, ahorro de materia de los conductores, ahorro de tiempo de conducción (1).

(1) Para más detalles sobre este punto, consúltese nuestro artículo : Leyes de la morfología de las células nerviosas. *Revista trimestral micrográfica*, núm. 1, 1897.

se verifica por contacto ó articulación entre arborizaciones nerviosas, de una parte, y el cuerpo celular y expansiones protoplásmicas, de otra. El movimiento nervioso se transmite, pues, del cilindro-eje de una célula á las expansiones protoplásmicas de otra.

3.° En las células bipolares (acústicas, olfatorias, retinianas, bipolares sensitivas de los vermes, según Lenhossék y Retzius, bipolares sensitivas de los ganglios espinales de los peces, etc.), la expansión periférica suele ser gruesa y debe considerarse como de significación protoplásmica, pues está destinada á recoger las corrientes (movimiento celulípeto). En las células unipolares de los ganglios espinales de los batracios, reptiles, aves y mamíferos, la expansión periférica del brazo único puede estimarse como rama protoplásmica ú órgano de transmisión celulípeta, y la central, más fina, como fibra nerviosa ú órgano de transmisión celulífuga. El tallo que soporta las dos expansiones no existía en la época embrionaria, formándose por estiramiento del cuerpo celular.

4.° La morfología de la célula nerviosa es independiente de su volumen y calidad fisiológica (motora, sensitiva, etc.), y parece guardar relación con el número y situación de las arborizaciones que la rodean. Así, las células desprovistas de expansiones protoplásmicas directas (células ganglionares sensitivas) ó que ofrecen un solo tallo de aspecto protoplásmico (muchos espongioblastos retinianos), sólo se relacionan con una ó dos especies de fibras nerviosas terminales. En cambio, las células de la médula espinal, cerebro y cerebelo, ricas en apéndices protoplásmicos, reciben la influencia de numerosas fibrillas nerviosas aferentes.

5.° El alargamiento radial de las pirámides cerebrales y la diferenciación de las prolongaciones protoplásmicas en basales, somáticas laterales, colaterales del tallo y penacho terminal, parecen tener por objeto mantener conexiones bien separadas con fibrillas nerviosas terminales de origen diverso, las cuales, por lo común, se arborizan en pisos distintos de la corteza cerebral.

6.° El movimiento nervioso puede comenzar en una sola célula periférica, por ejemplo, en un cono de la foseta central de la

retina, en una célula ciliada acústica, etc.; pero en cuanto es transmitido á los centros, el número de células nerviosas que intervienen en su conducción crece en avalancha, por cuanto las arborizaciones centrales de cada cilindro-eje tocan al cuerpo y expansiones de un gran número de elementos ganglionares; por lo cual resulta muy verosímil que, en el trabajo cerebral, la representación ó la percepción sensorial más sencilla (visual, táctil, acústica, etc.) sea una resultante de la actividad de miles de células nerviosas (1).

7.° Las células neuróglicas quizás sirven, como ha indicado mi hermano, no sólo de sustentáculo á las células y fibras, sino, muy especialmente, de medio aislador de los conductores nerviosos.

Desarrollo del tejido nervioso.—Este tejido representa una diferenciación del *ectodermo*, y su formación se inicia en el embrión de pollo á las veinticuatro horas de la incubación, bajo la forma de un surco de la hoja externa (surco primitivo), el cual, por fusión de sus bordes, no tarda en convertirse en conducto.

Semejante conducto representa la cavidad del epéndimo; sus paredes, construídas de células epiteliales ectodérmicas, forman la médula y el encéfalo primordiales.

Las *fases iniciales* del desarrollo del tejido nervioso han sido bien estudiadas por W. His en la médula espinal. Según este embriólogo, ya desde la fase de surco primitivo, el epitelio ectodérmico destinado á engendrar la médula, consta de dos clases de células: *elementos epiteliales* de figura alargada, extendidos desde el epéndimo hasta la superficie ectodérmica, y *células germinales*, de forma esférica, situadas cerca de la cavidad ó surco medular, y caracterizadas por sus frecuentes mitosis (fig. 172, A).

(1) Según resulta de los cálculos de los fisiólogos, la velocidad de transmisión de la corriente nerviosa es de unos 30 metros por segundo. Este movimiento sería oscilatorio, pero de una naturaleza especial, con una longitud de onda de unos 18 milímetros. Como estas ondas son recogidas por la extensa superficie de las expansiones protoplásmicas para concentrarse en el cilindro-eje, es de presumir que la tensión del movimiento nervioso sea mayor en éste que en aquéllas y que la velocidad de transmisión en el axon sea superior á la del soma y prolongaciones dendríticas.

Fase de los neuroblastos. — El surco medular se ha cerrado, convirtiéndose en conducto, y las dos clases de células constitutivas de sus paredes se transforman sucesivamente. La *célula germinal* emigra hacia la región media del epitelio y emite una expansión gruesa, que se estira progresivamente, y que no es otra cosa que el cilindro-eje primordial. En esta fase, la célula toma el nombre de *neuroblasto* (His). Por su parte, las células epiteliales se alargan, distinguiéndose en dos segmentos: interno, liso, portador del núcleo, separado de las células epiteliales vecinas por espacios irregulares llenos de neuroblastos; y el externo ó periférico, á menudo ramificado y orlado de apéndices espinosos que, poniéndose en contacto con los emanados de células vecinas, engendran una trama como esponjosa, en cuyo seno se formará la substancia blanca (figura 172, D).

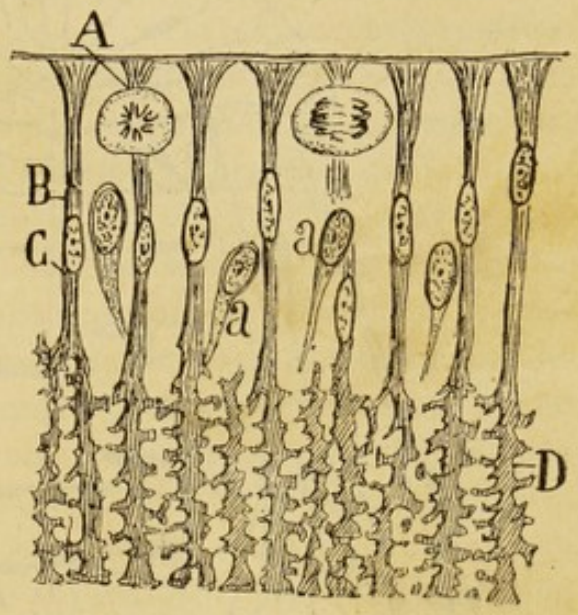


Fig. 172.—Corte esquemático de la pared del surco medular. — A, células germinales; B, epitelio; C, núcleo de las células epiteliales primitivas; D, porción externa de éstas; *a*, neuroblasto (según W. His).

Fase de la formación de los apéndices protoplasmáticos. — En la fase anterior, el cuerpo del neuroblasto se muestra desnudo, piriforme, y el cilindro-eje, todavía muy corto, acaba, como nosotros descubrimos y han confirmado His, Retzius, Lenhossék, etc., mediante una masa cónica orlada de apéndices y crestas ramificadas (fig. 173, *h*), especie de arborización terminal rudimentaria (*cono de crecimiento* de Cajal). Mas luego, ora en el cuerpo celular, ora en el arranque del cilindro-eje, aparecen una ó varias expansiones espinosas, cortas, groseras, que no tardan en estirarse y ramificarse para formar el conjunto de las ramas protoplásmicas (*e*). Sólo más adelante, cuando estos apéndices están casi del todo modelados, se

muestran las colaterales del cilindro-eje (Cajal, Lenhossék, Retzius) y la arborización nerviosa terminal.

Formación de la neuroglia. — Al principio no existen, como armazón del tejido nervioso, más que las células epiteliales mencionadas, las cuales se extienden desde la cavidad central á la

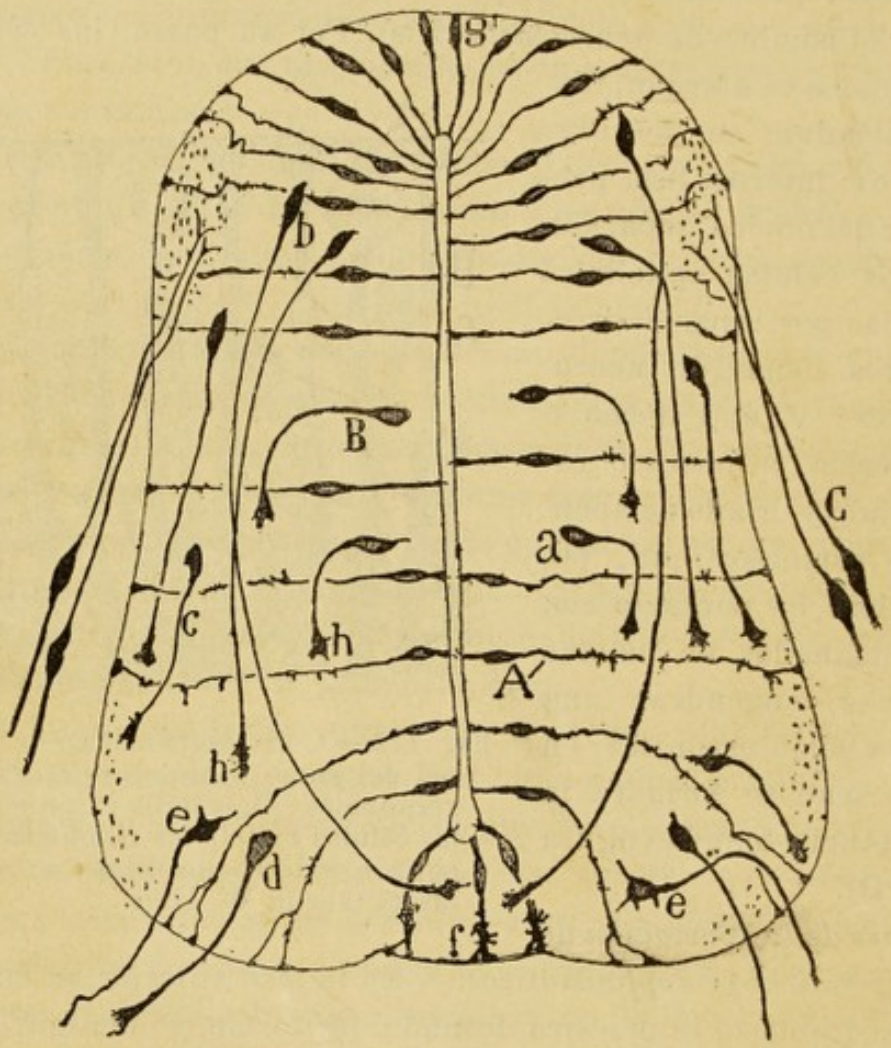


Fig. 173.—Corte transversal de la médula espinal del pollo, al tercer día de la incubación. — A, células epiteliales ; B, neuroblastos ; C, raíces posteriores ; *a*, neuroblasto muy joven ; *c*, neuroblastos de los cordones ; *b*, neuroblasto comisural ; *d*, neuroblasto radicular ó motor ; *e*, aparición de las expansiones protoplásmicas ; *h*, cono de crecimiento.

superficie medular, donde rematan por engrosamientos cónicos de base periférica. En el encéfalo de los peces, batracios y reptiles, esta disposición se mantiene toda la vida, no existiendo en ellos más neuroglia que la representada por los apéndices peri-

féricos de las células epiteliales; pero en la médula y encéfalo de las aves y mamíferos en curso de evolución, este revestimiento epitelial se atrofia; sus expansiones divergentes, en lugar de alcanzar la superficie de los centros nerviosos, se terminan por un penacho de apéndices libres, flexuosos, diseminados en plena substancia gris ó blanca.

Antes de sobrevenir esta atrofia de las expansiones periféricas del epitelio, las células neuróglicas ó en araña aparecen, presentándose en gran número, tanto en la substancia gris como en la blanca. En el embrión de pollo, desde el décimo día de la incubación, se encuentran ya, en el espesor del asta anterior, corpúsculos neuróglicos casi del todo modelados.

¿De dónde provienen las céulas de neuroglia? Cuestión es esta sumamente debatida, y que sólo en estos últimos años se ha planteado en condiciones de solución. Prescindiendo de opiniones y ciñéndonos á lo que resulta de nuestras investigaciones en los embriones de ave y de mamífero, diremos que las células de neuroglia no son otra cosa que células epiteliales emigradas de su yacimiento originario (superficie interna de los centros nerviosos), y transformadas en corpúsculos estrellados por atrofia de sus prolongaciones central y periférica, y por la producción de apéndices secundarios, finos y numerosos. Durante un cierto tiempo, las células epiteliales dislocadas ó retraídas hacia la periferia, conservan todavía su prolongación radial ó externa inserta en la pia-madre (fig. 174, E) y cierta orientación convergente al epéndimo; mas en el estado adulto, casi todas las células han perdido estos caracteres, mostrándose pequeñas, resueltamente estrelladas y á veces provistas de tal cual apéndice grueso que se fija en el endotelio de los capilares sanguíneos (fig. 174, G).

En la médula adulta de los batracios (Cl. Sala. Lenhossék) y en la de los reptiles (Cajal, Retzius), se revela como disposición constante un estado de transición entre la neuroglia puramente epitelial de los embriones y la neuroglia de los mamíferos adultos; puesto que se encuentran células epiteliales en curso de emigración que conservan la morfología primitiva y se terminan todavía, mediante apéndices radiados, en la *pia-mater*.

Desarrollo de los ganglios raquídeos.—Las investigaciones de His han puesto de manifiesto que los gérmenes de los ganglios raquídeos son células epiteliales emigradas del ectodermo, de los lados del surco primitivo. Tales elementos adquieren, desde luego, una figura bipolar, de cuyas dos expansiones, la externa

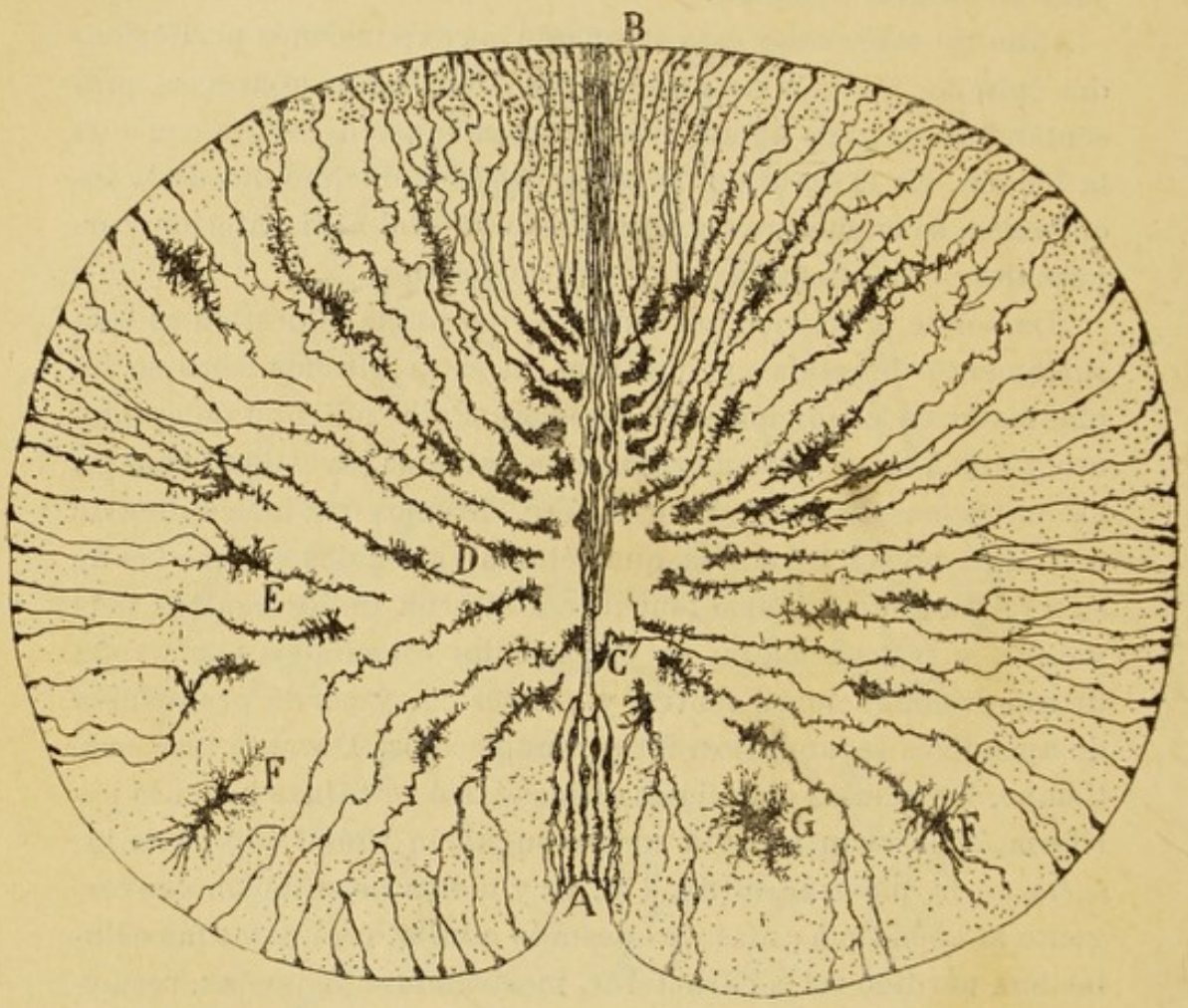


Fig. 174. — Células epiteliales y neuróglicas de la médula espinal de ratón recién nacido.—A, surco anterior donde termina un haz de células epiteliales sin transformar ; B, surco posterior con otro haz de células epiteliales apenas modificadas ; C, célula epitelial definitiva ; D, células epiteliales que emigran para transformarse en neuróglicas ; E, células neuróglicas más avanzadas en evolución ; F, G, células neuróglicas casi adultas.

se dirige á la médula, y la interna hacia la periferia. Esta disposición bipolar originaria, revelada por His en los mamíferos, fue confirmada también por nosotros en los embriones de ave y de reptil, y por Lenhossék, Retzius, Cl. Sala, etc., en los de ba-

tracio y pez. En algunos peces, la fase de bipolaridad es permanente y se la halla en el estado adulto ; pero en los batracios,

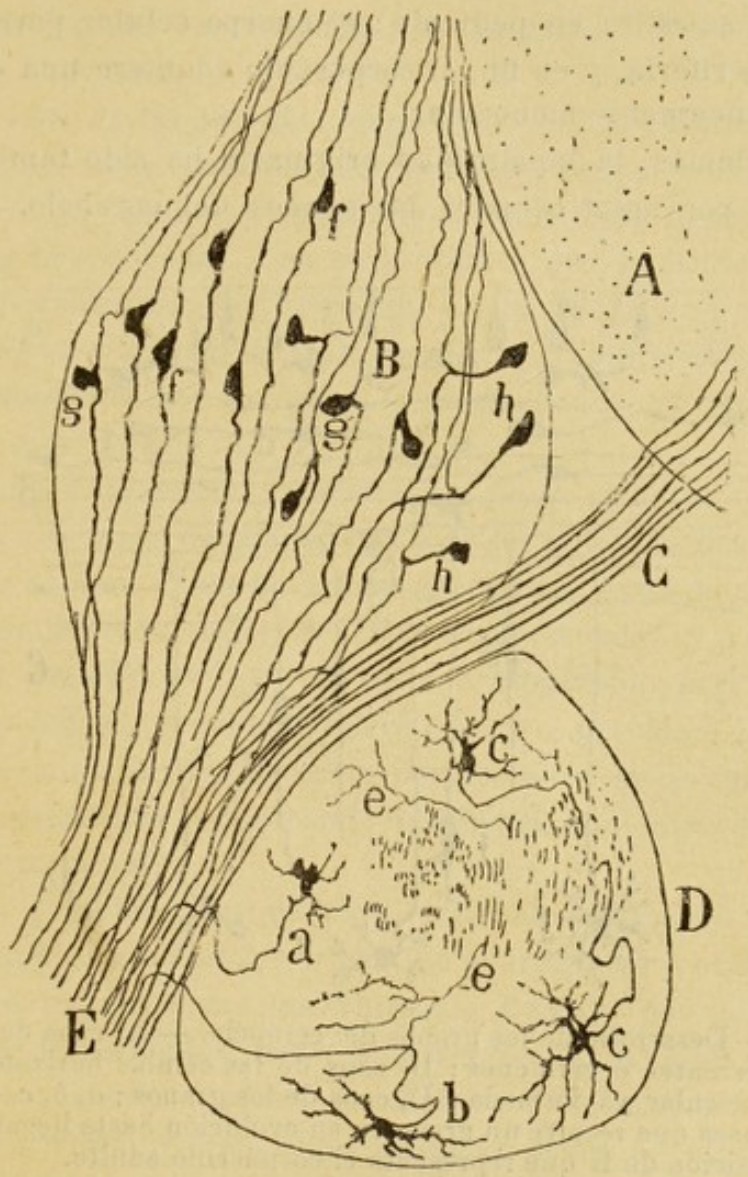


Fig. 175.—Corte de un ganglio raquídeo de embrión de pollo del décimo quinto día de incubación. — A, médula espinal ; B, ganglio raquídeo ; C, raíz anterior ; D, ganglio simpático ; E, par raquídeo ; *a*, *b*, células simpáticas cuyos cilindros-ejes marchan al par raquídeo ; *c*, células cuya expansión nerviosa ingresaba en el cordón longitudinal de la cadena simpática ; *e*, colateral de este cordón ; *f*, células bipolares sensitivas ; *g*, aparición de la monopolaridad ; *h*, células monopolares completas.

reptiles, aves y mamíferos, la bipolaridad se transforma en monopolaridad. En el embrión de pollo, por ejemplo (fig. 175, *f*), se

ve que las dos expansiones, situadas al principio en los polos de la célula ganglionar, se dirigen progresivamente á un lado de ésta; luego el protoplasma, de donde dichas prolongaciones arrancan, se estira en pedículo; el cuerpo celular parece huir hacia la periferia, y en fin, el corpúsculo adquiere una configuración francamente monopolar.

Por lo demás, la bipolaridad originaria ha sido también demostrada por nosotros para los granos del cerebelo. Aquí la

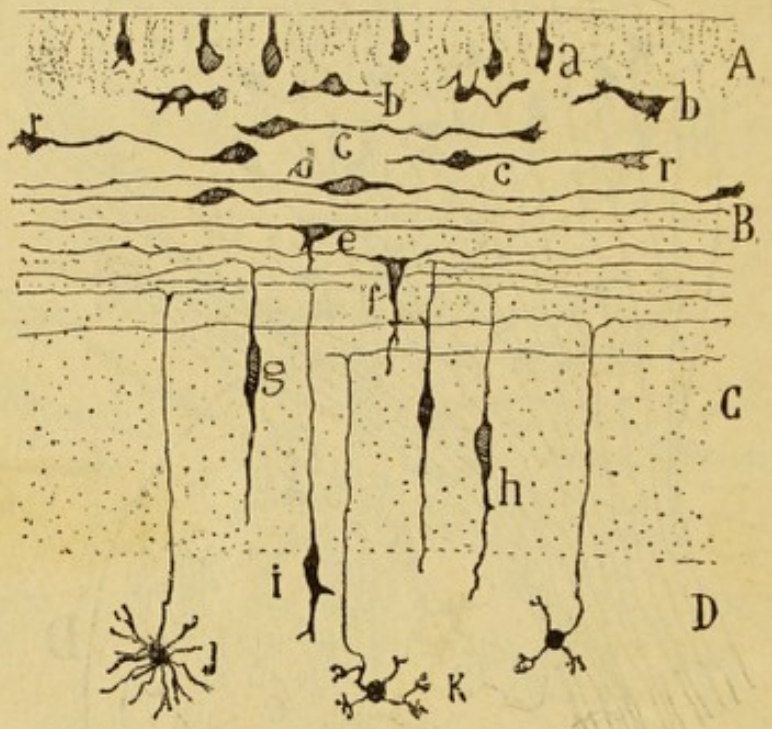


Fig. 176.—Desarrollo de los granos del cerebelo. — A, capa de las células indiferentes ó gérmenes; B, capa de las células horizontales; C, capa molecular ya formada; D, capa de los granos; *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, *f*, *g*, *h*, *i*, *j*, fases que recorre un grano en su evolución hasta llegar á la forma y posición de K que representa el corpúsculo adulto.

transformación monopolar ocurre como en los ganglios raquídeos; sólo que, cuando el pedículo nervioso que sustenta ambas fibras está completamente formado, la evolución se completa por la aparición en torno del cuerpo celular de varios apéndices protoplásmicos. Las fases por que atraviesa el grano cerebeloso son: 1.ª fase indiferente ó célula germinal (fig. 176, *a*); 2.ª fase ó célula bipolar horizontal situada en una zona exterior á la capa molecular embrionaria (*d*); 3.ª fase de bipolaridad verti-

cal durante la cual el cuerpo desciende á través de la capa molecular (*g*) ; 4.ª fase de grano embrionario en la cual la célula ha llegado ya á la zona de los granos (*i*, *j*). Este singular modo evolutivo ha sido confirmado por Lugaro, Retzius, Calleja, Athias y Terrazas.

Desarrollo de los ganglios simpáticos. — Las células de estos ganglios proceden verosímilmente del ectodermo y exhiben originariamente, como ha mostrado Retzius, una figura en pera (fase de neuroblasto). Las expansiones protoplásmicas nacen mucho después que el cilindro-eje. En la figura que representa el ganglio cervical superior de un feto de ratón, se ven todavía células simpáticas casi exentas de expansiones, es decir, en estadio de neuroblasto (fig. 171, D).

Formación de los tubos nerviosos.—Cada cilindro-eje crece y se estira á lo largo de los nervios ó de los sistemas de substancia blanca y camina hacia la célula nerviosa ó extra-nerviosa, sobre la que debe extender su arborización terminal ; y este fenómeno de crecimiento se verifica con admirable precisión, sin equivocaciones y revueltas, sin que se dé el percance de que una fibra muscular reciba dos tubos nerviosos distintos ó que un corpúsculo glandular ó contráctil quede privado de arborización nerviosa terminal.

En un principio, los nervios encierran solamente cilindros-ejes desnudos, asociados por células neuróglicas y cubiertos, de trecho en trecho, como las fibras de Remak, por corpúsculos alargados y nucleados. Estos corpúsculos peri-axiales representan una especie de células mesodérmicas, destinadas á proteger la fibra nerviosa, y á segregar quizá en torno de ésta la membrana de Schwan y la cubierta de mielina. En las fibras de Remak, las células peri-axiales conservan indefinidamente su tipo embrionario, es decir, que ni segregan las gotas medulares ni elaboran vaina de Schwan.

Preparación del tejido nervioso. — *a*) *Cordones nerviosos.* — Los tubos nerviosos medulares, así como las fibras de Remak, pueden demostrarse en los nervios, tanto por el método de disociación como por el de los cortes.

La disociación.—Cabe realizarse en fresco con ayuda de las agujas, ope-

rando rápidamente para que la preparación no se seque ni la mielina coagule. Pone de manifiesto este procedimiento las estrangulaciones de Ranvier, las cisuras de Schmidt ó de Lantermann y los núcleos de la vaina de Schwann. Pero los resultados serán mucho más demostrativos, si la disociación se ejecuta en nerviecitos (el ciático de la rana, por ejemplo), fijados á favor de una maceración de seis á doce horas en el ácido ósmico (1 por 100). Para conservar estas preparaciones sin que la mielina se retraiga y arrugue al montarlas en glicerina, será conveniente fijarlas antes de la disociación con el alcohol absoluto.

El método de los *cortes* es también utilísimo, y se aplica de un modo especial á los nervios fijados por el ácido ósmico. Las secciones transversales, que deben ser muy finas (3 á 5 μ de espesor), mostrarán claramente la capa medular, el cilindro-eje y la vaina de Mauthner. Dicho se está que para lograr tan finos cortes, es de todo punto indispensable un buen microtomo y la inclusión previa en la parafina.

La demostración de las estrías de Fromann, así como del cemento de soldadura, exige la impregnación argéntica. A este fin, se disociará rápidamente un nervio vivo (el ciático de la rana, por ejemplo), y antes que la preparación se deseque, se la lubrificará durante dos ó tres minutos con una solución de nitrato de plata al 1 por 300. La reducción argéntica se obtendrá á la luz solar bajo una gota de agua. Estas preparaciones no se conservan bien en glicerina ni en el bálsamo, á consecuencia de las impregnaciones secundarias que sobrevienen.

Para las cisuras de Lantermann, conviene especialmente el método de Boberi: maceración por seis á doce horas de un nervio vivo en una mezcla, á partes iguales, de ácido ósmico al 1 por 100 y de nitrato de plata en igual proporción. Una vez realizada la disociación y expuesto el preparado á la luz, aparecerán negras las cisuras de Lantermann y los discos de soldadura, y pardos ó grises los segmentos mielínicos.

b) Centros nerviosos. — También caben aquí los dos métodos fundamentales de disociación y de los cortes.

Disociación. — Puede realizarse en vivo en las células de los ganglios espinales de los peces (raya y torpedo, por ejemplo), donde el tejido conectivo es blando y como gelatinoso. Pero casi siempre será ventajoso hacer preceder la disociación mecánica de una inyección intersticial de ácido ósmico, que fijará los elementos, y permitirá, después de actuar el alcohol y picrocarminato, conservar la preparación en glicerina. Este método es también aplicable á los ganglios espinales de los mamíferos; pero aquí es más difícil obtener células aisladas sin menoscabo de sus expansiones nerviosas. Con todo, tales dificultades se aminoran mucho practicando la disociación, como aconseja Ranvier, en animales jóvenes (conejo de uno á dos meses, por ejemplo).

En la médula y cerebro, la disociación sólo se podrá conseguir de un modo satisfactorio, utilizando el procedimiento siguiente: sumérjanse

pequeños trozos de substancia gris medular de buey en bicromato de potasa al 1 por 300 ó 500. Al cabo de tres ó cuatro días de maceración, se reducen aquéllos á pequeños grumos mediante las agujas, y se les agita fuertemente en un tubo cerrado que contenga una solución de picrocarminato. En los *detritus* que en el fondo del tubo se depositan, se hallarán hermosas células nerviosas y neuróglicas perfectamente aisladas. El procedimiento al alcohol al tercio de Ranvier, presta también con este fin buenos servicios.

Método de los cortes. — Es sin disputa el más importante, y se le combina siempre con procedimientos de coloración selectiva, entre los cuales conviene conocer el de Nissl, el de Weigert-Pal para la mielina, el de Weigert para la neuroglia, los de Golgi y Cox para las expansiones de las células nerviosas, etc.

El preliminar obligado de todo procedimiento de teñido, exceptuando el de Nissl, es la induración en bicromato potásico.

He aquí cómo debemos proceder: Comiénzase por sumergir trozos de centro nervioso en una solución de bicromato al 3 por 100; la solución será abundante con relación á las piezas, y se renovará cada dos ó tres días en el transcurso de veinte ó treinta. En invierno será preciso elevar la dosis de bicromato, y prolongar el tiempo de maceración hasta treinta ó cuarenta días; en verano bastan veinte ó veinticinco. Una vez sacadas las piezas de esta solución, se lavarán en agua destilada para arrastrar el exceso de bicromato y se sumergirán tres ó cuatro días en alcohol fuerte, que se renovará dos ó tres veces, hasta conseguir una completa deshidratación.

Nada más fácil ahora que ejecutar cortes finos (hasta una centésima) con microtomo. Estos cortes se lavan en agua destilada y se coloran con diferentes tintes, y por último se montan en bálsamo por los procedimientos corrientes.

En vez del bicromato solo, que nosotros usamos de preferencia, puede emplearse el líquido de Müller, y si se pretende una rápida induración, el líquido de Ehrliky. El formol al 10 por 100, actuando durante ocho ó diez días, endurece también perfectamente.

Coloración de los cortes con picro-carminato. — Los cortes, sumamente finos, y procedentes de piezas induradas en bicromato, permanecerán de seis á doce horas en una solución al 1 por 100 de picrocarminato de Ranvier (véase la pág. 73). Después de un rápido lavado en agua, se deshidratarán en alcohol absoluto y se montarán en bálsamo. Los cilindros-ejes quedarán rojos, rosadas ó anaranjadas las células nerviosas, y totalmente incolora la mielina.

Análogos resultados se logran con la hematoxilina ó con la nigrosina. Todos estos agentes permiten seguir bien á través de los centros los axones gruesos cubiertos de mielina (que son los únicos que atraen el color); pero no las fibras finas ni las porciones delgadas de las expansio-

nes protoplásmicas. Por tal motivo, los métodos de coloración con carmín ó con hematoxilina, sólo se aplican al estudio de la topografía de los focos grises y de los haces voluminosos de substancia blanca.

Método de Nissl. —Tiene por objeto la demostración de los grumos cromáticos del protoplasma nervioso, y exige la inducación exclusiva en alcohol. He aquí el *modus operandi* simplificado:

1.° Trozos pequeños de centros nerviosos frescos, se endurecen por cuatro á ocho días en alcohol de 40° ó absoluto. Inclusión en celoidina.

2.° Los cortes que deben ser finos, se coloran por diez ó más minutos en una solución saturada ó muy concentrada de fuchina básica (Nissl), de azul de metileno β ó de tionina (Lenhossék).

3.° Lavado de los cortes en alcohol de 40°, hasta que tomen un matiz azul claro (tionina) ó rosa (fuchina). También puede emplearse una mezcla de alcohol y de aceite de anilina (aceite, 10; alcohol de 96°, 90). Nosotros utilizamos exclusivamente el alcohol de 40°.

4.° Aclaramiento de los cortes en xilol, esencia de bergamota ó bencina.

5.° Traslación de los cortes al porta-objetos, donde se extenderán y se enjugarán (sin secarlos) con una hoja de papel secante. Montaje en d'Ammar ó bálsamo disueltos en xilol.

Utilizando como materia tintórea la tionina, los grumos cromáticos aparecerán de azul violado intenso, los nucleolos de azul obscuro, y la substancia blanca de azul pálido, casi incolora. A veces, al nivel de la mielina, la tionina colora en rojo heliotropo un precipitado laminar ó reticulado, acaso algún principio albuminoide coagulado.

Nissl da un procedimiento más complicado que el que acabamos de exponer. El *modus operandi* transcrito, además de sencillo, es segurísimo y proporciona expléndidas coloraciones.

Held añade una coloración de fondo al método de Nissl de la manera siguiente:

1.° Induración en alcohol é inclusión en parafina.

2.° Los cortes finísimos, desparafinados y adheridos al porta-objetos, mediante el alcohol, se coloran en el siguiente líquido, que debe calentarse algo:

Eritrosina	1 gramo.
Agua destilada	150 —
Acido acético	2 gotas.

3.° Lavado en agua y coloración subsiguiente por algunos minutos en un líquido compuesto de una parte de solución de acetona al 1 por 20 y otra de la solución concentrada de azul de metileno β.

Durante el teñido, el color debe mantenerse caliente hasta que desaparezca el olor de la acetona.

4.° Decoloración y deshidratación en alcohol, xilol y resina d'Ammar ó bálsamo.

Los grumos cromáticos quedan azules ; el espongioplasma rosa ; rojos el núcleo y membrana de éste; azul el nucleolo, y violadas ciertas granulaciones finas, esféricas, descritas por Altmann en el protoplasma nervioso.

Para teñir la mielina, debe aplicarse el método clásico llamado *de Weigert-Pal*, ya descrito en la técnica general (pág. 75). También podrá ser útil en ciertos casos el siguiente de Azoulay.

Método de Azoulay. — 1.° Cortes finos de piezas induradas en líquido de Müller, se recogen y lavan cuidadosamente en agua para arrastrar el alcohol.

2.° Inmersión por cinco á diez minutos en ácido ósmico al 1 por 500.

3.° Lavado rápido en agua.

4.° Inmersión, por cinco minutos, en solución de tanino al 5 ó 10 por 100.

Convendrá, durante la coloración, calentar este líquido, hasta que aparezcan vapores.

5.° Lavado en agua abundante.

6.° Coloración de fondo con el carmín ó la eosina.

7.° Deshidratación y montaje en bálsamo.

Los tubos nerviosos exhiben color negro azulado, y las células se muestran incoloras ó morenas.

Método de Marchi. — Aunque sólo se aplica este método al estudio de las degeneraciones de las fibras nerviosas meduladas, su eficacia para el conocimiento de la Anatomía normal de la médula y cerebro, le hacen acreedor á un lugar preferente en la técnica de la histología.

1.° Trozos de médula, bulbo, cerebro, etc., procedentes de animales en quienes, catorce ó veinte días antes de la muerte, se practicaron ablaciones de substancia gris, separación de raíces nerviosas, sección de cordones de substancia blanca, etc., se induran por ocho días en líquido de Müller.

2.° Dichos trozos, que no deben ser muy espesos, se sumergen en una mezcla, á partes iguales, de líquido de Müller y de ácido ósmico al 1 por 100. Aquí permanecerán de seis á diez días.

3.° Lavado, por veinticuatro horas, en agua corriente para descartar por completo el ácido ósmico.

4.° Inducación en alcohol, inclusión en celoidina y ejecución de cortes que, sin teñido alguno, se deshidratarán y montarán en bálsamo ó resina d'Ammar.

Los cortes mostrarán de color gris pálido las fibras meduladas normales, y salpicadas de gotas negras de grasa aquellas otras que, por haber sido separadas de sus células de origen (mediante los traumatismos realizados experimentalmente), han caido en degeneración grasienta. De

este modo será posible seguir, á través de una serie de cortes, toda la longitud de una vía nerviosa degenerada, estableciéndose sus conexiones.

La coloración de las finas expansiones, tanto protoplásmicas como nerviosas, de las células de la substancia gris, exige el empleo ya de las impregnaciones metálicas de Golgi, ya del método de Ehrlich al azul de metileno (azul BX).

Estos métodos han sido expuestos ya en las páginas 81 y 77. Aquí añadiremos solamente algunos consejos para el mejor empleo de los mismos.

Método de Golgi.—Este método, es decir, el llamado *rápido* (induración preliminar por tres ó cuatro días en la mezcla osmio-bicrómica), sólo da buenos resultados en embriones y animales recién nacidos ó de pocos días. Los objetos de estudio sobre que deberán ejercitarse primeramente los que se propongan dominar este importante recurso analítico serán : la médula del embrión de pollo desde el octavo día de la incubación ; la médula de ratón y de gato recién nacidos ; el asta de Ammon del conejo común de quince á veinte días, la corteza cerebral y cerebelosa del conejo, rata ó gato de quince días. Cuando se hayan obtenido buenas preparaciones en tales objetos, se pasará á los más difíciles, tales como : la retina y el gran simpático adultos, las terminaciones nerviosas periféricas, los plexos intestinales, etc.

En los objetos difíciles y siempre que la primera tentativa de impregnación no haya coloreado sino escasas fibras nerviosas, se recurrirá á la doble impregnación. Muchos la emplean exclusivamente para todos los casos.

Como en cada impregnación suelen colorearse solamente algunas especies de fibras y células, todo estudio formal hecho con este método, se fundará en el examen de muchísimos cortes y de numerosas impregnaciones del mismo órgano ; porque las células ausentes de un preparado, suelen mostrarse en otros. Debe, por tanto, el observador integrar en una noción total de estructura los resultados parciales logrados mediante el examen de muchos buenos preparados.

Método de Ehrlich.—En este método, el azul de metileno se hace llegar á las partes nerviosas, ora por inyección en las arterias del animal recién sacrificado, ora mediante lubrificación directa reiterada, de los órganos puestos al descubierto (pág. 78).

En general, siempre que sea posible, se utilizará el procedimiento de inyección, porque altera menos los tejidos que la lubrificación directa, y da fondos totalmente incoloros ó muy poco teñidos. Para orientar al principiante, vamos á exponer aquí dos ejemplos :

Supongamos que nos proponemos colorear con el azul los plexos nerviosos del intestino delgado. Desde luego se escogerá un animal pequeño que tenga muy delgadas las túnicas de aquel órgano (conejo común de ocho á quince días, conejillo de Indias, rata, etc.), porque como no aparece la

reacción más que en zonas muy superficiales (un tercio de milímetro de ordinario), si el animal posee una túnica muscular superficial espesa (por ejemplo, el gato y perro adultos), será imposible la penetración, hasta el plexo de Auerbach, del oxígeno del ambiente, y no habrá, por consecuencia, impregnación nerviosa.

Esta regla de escoger órganos delgados es general, y todavía debe aplicarse con más rigor en la médula espinal, retina y cerebro de los mamíferos.

Elegido el animal, se inyectará por la aorta torácica, es decir, hacia abajo, el azul (disuelto en agua salada al 0'2 por 100 ó al 0'5 por 100) en cantidad tal que el intestino adquiera un tinte azul de mediana intensidad. Una inyección forzada dará un azul obscuro, perjudicando la reacción y coloreando demasiadamente el fondo muscular. Acto continuo se separarán las asas intestinales, que se colgarán dentro de una cámara húmeda, de suerte que el aire las bañe por todas partes. Aquí permanecerán durante tres cuartos de hora á hora y media.

Por último, trozos de dicho órgano se fijarán, ora en picrato amónico, ora en molibdato (véase pág. 78). Aplicado al tubo intestinal el molibdato, tiene el inconveniente de prestar demasiada opacidad á la trama muscular; en este caso, pues, como en algunos otros, será preferido el picrato amónico de Dogiel, á causa de la propiedad que posee de transparentar notablemente los tejidos y de evitar la rigidez de los músculos lisos.

El líquido de Dogiel no es otra cosa que una solución saturada acuosa de picrato amónico á la que se añaden algunas gotas de ácido ósmico (solución de picrato, 100; solución de ácido ósmico al 1 por 100, 1).

De este líquido, donde las piezas deben permanecer de seis á veinticuatro horas, se trasladarán éstas á la glicerina saturada de picrato amónico, y en ella se abandonarán por doce á veinticuatro horas, hasta que adquieran la debida transparencia. El examen se practicará en este mismo vehículo, para lo cual será el intestino reducido por exfoliación á sus túnicas musculares, las cuales se montarán de plano sobre el porta, y se comprimirán ligeramente por una laminilla.

Es posible transformar en definitivos estos preparados. Para ello, antes de llevar las piezas á la glicerina, se las trata, como aconsejan Dogiel y Bethe, por la solución de molibdato amónico (pág. 78), donde permanecen de doce á veinticuatro horas. Aquí el precipitado de azul de metileno se vuelve insoluble en alcohol, y podremos, por consiguiente, deshidratar la preparación y montarla en bálsamo á la manera ordinaria.

Citemos otro ejemplo: la coloración de la retina de las aves. El animal preferido será la paloma, porque su retina es muy delgada y extensa. También serán ventajosos la gallina, el gato y el conejo.

Aquí se puede teñir por lubrificación ó por inyección; ambos procedimientos dan buen resultado. No obstante, si deseamos la coloración de

las fibras centrífugas, debe ser preferida la inyección. Con tal objeto, se hace penetrar el líquido por las carótidas, se extirpan inmediatamente los globos oculares, se separa con las tijeras el hemisferio posterior de los mismos, que se privará del humor vítreo, y una vez la retina al descubierto, se mantendrá por una hora en cámara húmeda. Para fijar, en este caso, escogeremos el molibdato, donde quedará la retina de seis á veinticuatro horas.

Si se desea observar la retina de plano, montada en preparación definitiva, se lavará primeramente durante media hora con agua para extraer el molibdato (y á fin de evitar que el órgano se arrugue, convendrá practicar el lavado entre dos laminillas, echando agua por un lado y absorbiéndola mediante papel secante por otro); se deshidratará en alcohol de 40° ó absoluto que contenga pequeña cantidad de cloruro platínico ó que se halle á 0, como aconseja Bethe; se aclarará en xilol y se montará en d'Ammar disuelto en xilol.

Caso de ser precisa la ejecución de cortes, se procederá después de la aclaración en xilol á una inclusión en parafina. Dada la delgadez del órgano, este encastramiento podrá hacerse en una ó dos horas. Los cortes, que tendrán bastante grosor, se desparafinarán con xilol y se montarán en d'Ammar disuelto en este mismo líquido.

Los dos casos citados pueden servir de pauta para todos los demás. Mas el procedimiento de induración podrá variar según los objetos estudiados. En general, evitaremos el cortar siempre que se pueda, pues los líquidos indurantes, particularmente el alcohol, obrando á la larga, palidecen algo la impregnación. Para el cerebro, asta de Ammon, médula espinal, etc., la induración necesaria á la práctica de cortes, se hará en el formol platínico (pág. 78).

El azul de metileno colora casi uniformemente de azul el protoplasma de las fibras y células nerviosas. A la manera del método de Golgi, la impregnación no se extiende á todas las células de un foco, sino que en cada preparación prefiere ciertos elementos. Por esta razón, el estudio debe también basarse en el examen de numerosísimas preparaciones.

Una advertencia para terminar con este método: la acción del aire, necesaria para la asimilación del azul, provoca en las expansiones protoplásmicas una degeneración varicosa particular, tomada como disposición normal por ciertos autores. Por igual causa se exageran notablemente también las irregularidades de las ramificaciones nerviosas que, en ocasiones, parecen sartas de granos azules unidos por puentes incoloros. Es preciso tener presentes tales alteraciones (que por cierto no aparecen en las preparaciones de Golgi gracias al empleo de la fijación previa con la mezcla osmio-bicrómica), para evitar groseros errores de interpretación. Las coloraciones que más fe deben merecernos, son las obtenidas en el período inicial de la reacción, cuando las degeneraciones provocadas por el aire son poco graduadas aún.

Coloración de la neuroglia por el método de Weigert.—Mediante este método se obtiene una coloración azul específica de las fibrillas de las células neuróglicas, quedando incoloro el cuerpo mismo de éstas, cuyo protoplasma granuloso viene á ser el punto de entrecruzamiento de las citadas hebras. Tampoco se tiñen los corpúsculos epiteliales ni las espinas ó apéndices penniformes de ciertos elementos en araña (células penniformes de la substancia gris).

He aquí el *modus faciendi :*

1.° Las piezas, no muy voluminosas, de centros nerviosos humanos (en los animales, los resultados son muy inciertos) se indurán previamente ya en formol al 10 por 100, ya en bicromato al 5 por 100.

2.° Dichas piezas permanecen luego, por ocho días, en el líquido siguiente :

Agua	100 gramos.
Acetato de cobre	5 —
Acido acético	5 —
Solución de alumbre de cromo	2,5 —
Formol	10 —

Esta solución se prepara disolviendo primeramente por cocción en agua el alumbre, y añadiendo después el ácido acético y el acetato de cobre finamente pulverizado.

3.° Inducación en alcohol, inclusión en celoidina y ejecución de cortes finos.

4.° Los cortes se llevan á un líquido reductor formado por la solución al 0,3 por 100 de hipermanganato potásico. En este licor permanecen diez minutos.

5.° Lavado rápido en agua y sumersión de los cortes en esta solución :

Cromógeno	5 gramos.
Acido fórmico	5 —
Agua	100 —

Antes de usarlo, se añaden á 90 partes de este licor 10 de una solución acuosa, al 10 por 100, de sulfito de sosa.

6.° Lavado rápido en agua y coloración subsiguiente en solución concentrada de violado de metilo, á saber :

Violado de metilo disuelto á saturación en alcohol de 70°.	100 gramos.
Solución acuosa de ácido oxálico al 5 por 100	5 —

7.° Fijación del color mediante la solución iodo-iodurada del método de Gram (solución de iodo á saturación en ioduro de potasio al 2,5 por 100).

Este líquido se aplica durante algunos minutos sobre los cortes previamente fijados en el porta-objetos y enjugados con papel secante.

8.° Decoloración en una mezcla á partes iguales de xilol y aceite de anilina.

9.° Absorción con papel secante del exceso de xilol y montaje en bálsamo ó d'Ammar disueltos en este mismo ménstruo.

Bibliografía neurológica.—A los alumnos que deseen formarse una idea general de los progresos realizados en la histología de los centros nerviosos y terminaciones periféricas durante el último decenio, aconsejamos la lectura de las siguientes obras de conjunto :

Van Gehuchten : Le systeme nerveux de l'homme, 2 edit., 1897.

A. Kölliker : Handbuch der Gewebelehre des Menschen, 2. Band., 1893.

E. Edinger : Zwölf Vorlesungen ueber den Bau der nervösen Centralorgane, 4e Aufl., 1893. Véase también su nuevo libro: Vorlesungen uber den Bau der nervösen Centralorgane, &. Leipzig, 1896.

v. Lenhossék : Der feinere Bau des Nervensystems im Lichte neuester Forschungen, etc., 2 Auflage, 1895.

S. Ramón Cajal : Les nouvelles idées sur la structure du système nerveux chez l'homme et chez les vertebrés. 2. Tirage. Traduction de l'espagnol par le Dr. L. Azoulay. Preface de M. Mathias-Duval. Paris. C. Reinwald, 1895.

W. His : Histogenese und Zusammenhang der Nervenelemente. *Referat in der anat. Section des Intern. med. Congresse zur Berlin.* Sitzung, 7 August 1890.

Déjerine : Anatomie des centres nerveux. Tom. I, 1895.

Los que quieran conocer más á fondo las principales fuentes de nuestros progresos sobre el mismo tema, deben consultar las Monografías siguientes :

C. Golgi : Sulla fina anatomia degli organi centrali del sistema nervoso. Milano, 1887. Una traducción al alemán de este libro, y de otros trabajos de Golgi, ha sido hecha recientemente por la casa de G. Fischer, de Jena, bajo el título de: Untersuchungen ueber den feineren Bau der centralen und peripherischen Nervensystems. Jena, 1894 (la edición italiana original está agotada).

S. R. Cajal : Sur l'origine et la direction des prolongements nerveux de la couche moléculaire du cervelet. *Internation. Monatschr. f. Anat. u. Physiol.*, Bd. VI, 1889.

Cajal : Sur les fibres nerveuses de la couche granuleuse du cervelet et sur l'evolution des éléments cérébelleux. *Inter. Monatschr. f. Anat. u. Physiol.*, Bd. VIII, 1890.

Kölliker : Das Kleinhirn. *Zeitschr. f. wissen. Zool.*, Bd. 49, 1890.

van Gehuchten: La moelle epinière et le cervelet. *La cellule*, T. VI, 2 fasc. 1890.

G. Retzius: Die nervösen Elemente der Kleinhirnrinde, 1892. *Biologische Untersuchungen*, Bd. III.

G. Retzius: Ueber die Golgi schen Zellen und die Kletterfasern Ramon Cajal's in der Kleinhirnrinde. *Biologische Untersuchungen*, Bd. IV, 1892.

Cajal: Sur la structure de l'écorce cérébrale des quelques mammifères. *La cellule*, T. VII, 1891.

P. Ramóa Cajal: El encéfalo de los reptiles, 1891.

Martinotti: Contributo allo studio della corteccia cerebrale, etc. *Annali di freniatria e scienze affini*, etc., et *Intern. Monatsch. f. Anat. u. Physiol.*, Bd. VII, 1890.

Retzius: Die Cajal'sche Zellen des Grosshirnrinde beim Menschen, etc., y Die Neuroglia des Gehirns beim Menschen und beim Saügethiere. *Biologische Untersuchungen.* Bd. V. u. VI, 1893 y 1894.

C. Calleja: La región olfatoria del cerebro, 1893.

Sala Pons: La corteza cerebral de las aves, 1893.

Golgi: Sulla fina struttura dei Bulbi olfatorii. Regio-Emilia, 1875.

Cajal: Origen y terminación de las fibras nerviosas olfatorias. *Gaz. san. de Barcelona*, 1890.

van Gehuchten et Martin: Le bulbe olfactif de quelques mammifères. *La cellule*, T. II, 1891.

Golgi: Ueber den feineren Bau des Rückenmarks. *Anat. Anzeiger*, n° 13 et 14, 1890.

Cajal: Sur l'origine et les ramifications des fibres nerveuses de la moelle embryonnaire. *Anat. Anzeiger*, n° 3 y 4, 1890.

Kölliker: Das Rückenmark, *Zeitschr. f. wissensch. Zool.*, B. LI, Bd. I, 1890.

Tartuferi: Sull Anatomia della Retina. *Intern. Monatschr. f. Anat. u. Physiol.*, 1887.

A. Dogiel: Ueber das Verhalten des nervösen Elemente in der Retina des Ganoiden, Reptilien, Vögel und Saügethiere. *Anat. Anzeiger*, 1888.

Cajal: La rétine des vertebrés. *La cellule.* T. IX, 1893.

Cajal: Notas prevenitvas sobre la retina y gran simpático de los mamíferos, 1891.

Cajal: Sur la fine structure du lobe optique des oiseaux et sur l'origine reelle des nerfe optiques. *Intern. Monatschr. f. Anat. u. Physiol.* Bd. VIII, 1891.

Cajal: Estructura del asta de Ammon y *Fascia dentata. An. de la Sociedad esp. de Historia natural*, 1893.

Cajal: Nuevas observaciones sobre la estructura de la médula espinal de los mamíferos, 1890.

G. Retzius: Zur Kenntnis der Gangliezellen des Sympathicus (1889)

y Ueber Typus der sympathischen Gangliezellen der höheren Thiere. *Biologische Untersuchungen*. Bd. III, 1891.

L. Sala : Sulla fina anatomia dei ganglii del simpatico. *Monitore zool. italiano*, 1892.

Retzius: Weiteren uber Endigungsweise dez Gehörnerves. *Biologische Untersuchungen*. Bd. V, 1893.

Cajal: Los ganglios y plexos nerviosos del intestino de los mamíferos, 1883.

Cajal : Apuntes para el estudio del bulbo raquídeo, cerebelo, etc. Madrid. 1895.

Cajal : El azul de metilo en los centros nerviosos. *Rev. Trim. micrógr.* Tom. I, 1896.

P. Ramón : El encéfalo del camaleón. *Rev. trim. micrógr.* Tom. I, 1896.

Dogiel : Die Nervenelemente im Kleinhirné der Vögel und Saügethiere. *Arch. f. mikr. Anat.* Bd. 47, 1896.

Omitimos aquí, en obsequio á la brevedad, otros muchos trabajos aparecidos en los últimos años. Una bibliografía bastante completa se hallará en nuestro libro antes citado. «Les nouvelles idées sur la structure du système nerveux», etc., 1895, París, y sobre todo en la obra extensa en curso de publicación: Histología del sistema nervioso de los vertebrados. Madrid, 1898

CAPITULO XII

TEJIDOS COMPUESTOS

Tejido glandular.

Definicion.—Se llama *tejido glandular* la trama compleja ofrecida por ciertos órganos huecos, grisáceos, notablemente vasculares y cuya función es elaborar ó filtrar determinados productos que se vierten, por lo común, en las superficies libres del organismo.

Anatómicamente, el tejido glandular representa la reunión, bajo la forma de membrana replegada, de tres tejidos : el *epitelial*, que reviste el interior y constituye el elemento activo ; el *conectivo*, que engendra una trama de unión y soporte de los divertículos glandulares, y el *vascular*, dispuesto en red apretada de capilares en torno del epitelio ó de su membrana basal.

Caracteres macroscópicos.—Son las glándulas órganos huecos, semiblandos, de color gris rojizo, de forma más ó menos redondeada y provistos, en su mayor parte, de uno ó varios conductos excretores destinados á conducir á una superficie mucosa ó tegumentaria el líquido segregado. Residen las glándulas cerca de la piel y mucosas, á veces en pleno dermis, disponiéndose en divertículos más ó menos complejos, que hacen relieve hacia lo profundo. Algunas glándulas, sin embargo, modificaron tanto su posición durante la época embrionaria, que perdieron casi del todo las primitivas relaciones con las membranas de origen (hígado, páncreas, riñones, etc.).

Clasificacion.—Las glándulas no son, en último análisis, sino repliegues membranosos producidos durante el desarrollo, por sucesiva y gradual invaginación de una hoja blastodérmica. Como es natural, para cada especie glandular varía notablemen-

te la forma de este repliegue, así como las metamorfosis sufridas por el epitelio que interiormente lleva. Y este modo de replegamiento se conserva indefinidamente, marcando con sello especial la morfología de los divertículos glandulares. De aquí que semejante carácter haya sido elegido por los histólogos como principio para la clasificación de las glándulas.

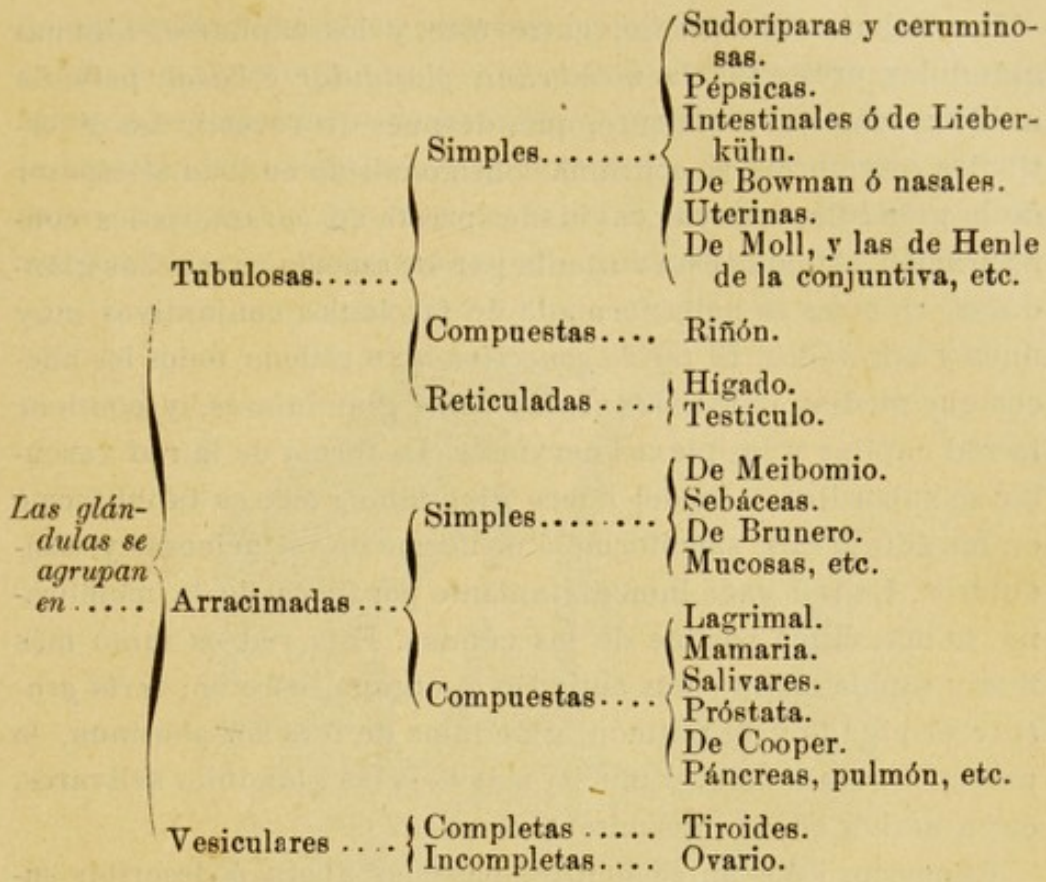
Todas las glándulas se agrupan en tres clases : glándulas *tubulosas*, *arracimadas* y *vesiculares*. Desígnanse *tubulosas* aquellas en las cuales los tres factores constitutivos, membrana conectiva, epitelio y red vascular, se disponen en forma de tubo cerrado por un extremo ; las *arracimadas* son las que adoptan el aspecto de divertículo más ó menos alargado y sostenido por un pedículo ó parte más estrecha ; y las *vesiculares* las que constan de cavidades esferoidales no comunicantes ó sólo accidentalmente comunicantes con superficies libres.

La primera clase consiente una subdivisión natural en tres géneros, según la mayor ó menor complejidad de la construcción tubular : glándulas *tubulosas simples*, *compuestas* y *reticulares*. Las primeras constan de un sólo tubo abierto individualmente en superficie libre ; las segundas se componen de varios tubos convergentes en uno ó muchos (*conductos excretores*) ; y las terceras encierran conductos que, antes de desaguar en los excretores ó excretor, se anastomosan entre sí formando redes complicadas.

La segunda clase ó las llamadas glándulas arracimadas, comprende dos géneros : *arracimadas simples* ó de un sólo racimo y *arracimadas compuestas* ó construídas de varios *acini* concurrentes en uno ó en algunos tallos de desagüe (*conductos excretores*).

Por último, las *vesiculares* se dividen en *completas*, cuando la cavidad se conserva siempre cerrada ; é *incompletas*, cuando la vesícula puede romperse accidentalmente y verter su contenido en un conducto excretor.

He aquí el cuadro que presenta gráficamente la clasificación :



Caracteres micrográficos.—Cada glándula contiene, como hemos dicho, un *epitelio*, una *membrana conectiva*, y la trama *conectivo-vascular*. El *epitelio* forma generalmente una sóla capa que limita la cavidad glandular y se continúa con la superficie libre de la mucosa ó piel donde se vierte el material segregado.

Las células glandulares son ordinariamente cúbicas ó poliédricas y poseen : una cara externa ó polo nutritivo, por el cual se ponen en relación con el tejido conectivo, capilares y nervios ; una cara interna ó *polo secretor* limitante del hueco glandular ; y caras laterales ordinariamente en contacto con las células compañeras. Estas caras laterales pueden dejar también, en algunas glándulas, canales ó resquicios enlazados con la luz glandular.

La estructura de las células glandulares varía algo en cada especie. En general, carecen de membrana ó la poseen notablemente fina, albergan un protoplasma turbio abundante, donde residen los materiales de secreción, visibles á menudo bajo la forma de gránulos ó de vacuolas claras, y encierran núcleo de figura redondeada y alojado comunmente cerca del polo nutritivo.

Por debajo del epitelio, entre éste y los capilares, algunas glándulas presentan la *membrana glandular* ó *basal*, película anhista, elástica, resistente, que, después de revestir los divertículos secretorios, se continúa consigo misma en todo el espesor de la glándula, á cuyas cavidades presta su característica configuración. Aunque esta cutícula parece amorfa en muchas glándulas, en otras se halla formada de fascículos conjuntivos muy finos y apretados. El *tejido conectivo* laxo rellena todos los huecos que median entre los *tubuli* ó *acini* glandulares, y contiene la red capilar y los plexos nerviosos. La forma de la red vascular se subordina á la del hueco glandular; así, es tubuliforme en las cilíndricas, sacciforme ó piriforme en las acinosas y vesiculares. La red yace inmediatamente por fuera de la membrana, lo más cerca posible de las células. Esta red es tanto más fina y tupida cuanto más activo es el órgano secretor; *verbi gratia:* el hígado y el pulmón, glándulas de función continua, la poseen apretadísima, y mucho más floja las glándulas salivares, cuya actividad es intermitente.

Expuestos estos antecedentes, pasemos ahora á describir sucintamente los tipos más importantes de cada género glandular.

a) **Arracimadas simples.** — El tipo de éstas son las glándulas sebáceas. Yacen en el dermis cutáneo, por fuera del folículo piloso, dentro de cuya cavidad vierten el líquido segregado. Cada folículo piloso posee comunmente dos glándulas, cuyo tamaño varía un tanto en las diversas especies de pelos (fig. 177).

Los *acini* glandulares constan de varios lóbulos ó granos alargados, sostenidos por pedículos anchos y confluentes en un conducto excretor más angosto y de gruesas paredes. Aquí, como en toda glándula, conviene distinguir la porción *excretora* de la *secretora*. La secretora ó fondo glandular consta de un revestimiento exterior hialino y de una formación epitelial gruesa, compuesta de cinco ó seis capas celulares superpuestas, que á menudo ciegan la cavidad de cada divertículo glandular. Examinando atentamente estas células, se advierte que no son todas iguales: las de la primera capa, es decir, las que tocan á la membrana hialina, son aplanadas (*a*), poseen un protoplasma opaco y granuloso y se tiñen intensamente por el carmín; en tanto que las

de las demás hileras son gruesas, poliédricas, claras, poco colorables por el carmín (*b*) y albergan multitud de gotas grasientas, tanto más abundantes cuanto más próximas se hallan aquéllas á la luz glandular. Obsérvase que el núcleo de los elementos de la primera zona se colora bien por las anilinas, presentando alguna vez kariokinesis, mientras que el de las células grasientas ape-

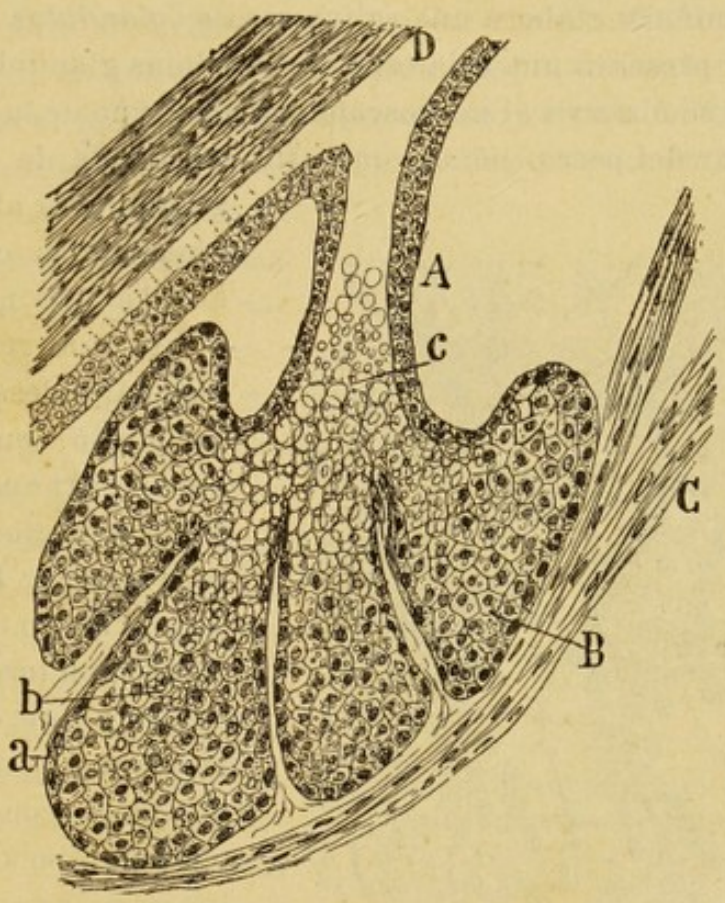


Fig. 177.—Glándula sebácea de la piel del cráneo. — A, conducto excretor ; B, vesícula glandular : C, músculo *arrector pilorum ;* D, pelo ; *a*, célula periférica sin grasa y con núcleo obscuro ; *b*, células centrales con gotas grasientas.

nas se tiñe, poseyendo escasos gránulos cromáticos. El producto de secreción resulta de la disgregación de los elementos grasientos más concéntricos, cuya grasa puesta en libertad se junta en masa coherente (fig. 177, *c*).

b) **Glándulas arracimadas compuestas.**—Las principales son las salivares, el páncreas y el pulmón.

Glándulas salivares.—Las glándulas submaxilar, sublingual y parótida de los mamíferos no están construídas exactamente sobre el mismo plan, ni poseen idénticas funciones. Según Landowsky, la glándula submaxilar del gato, la sublingual del perro, conejo y hombre segregan una saliva viscosa (*glándulas salivares mucosas*), y poseen dos clases de células glandulares, como luego veremos; mientras que la glándula parótida del hombre y mamíferos elabora una saliva serosa (*glándulas salivares serosas*) y presenta una sola especie de células glandulares.

Cuando se observa al microscopio un corte fino de la glándula submaxilar del perro, nótase que está construída de vesículas glandulares alargadas, prolongadas con unos conductos más estrechos, casi rectilíneos, los cuales desaguan de un modo convergente en el extremo de un tubo excretor. El epitelio secretor llena casi todo el hueco de las vesículas, en torno de las cuales no se observa membrana propia, sino una trama conectiva intersticial, portadora de los capilares y de las fibras nerviosas.

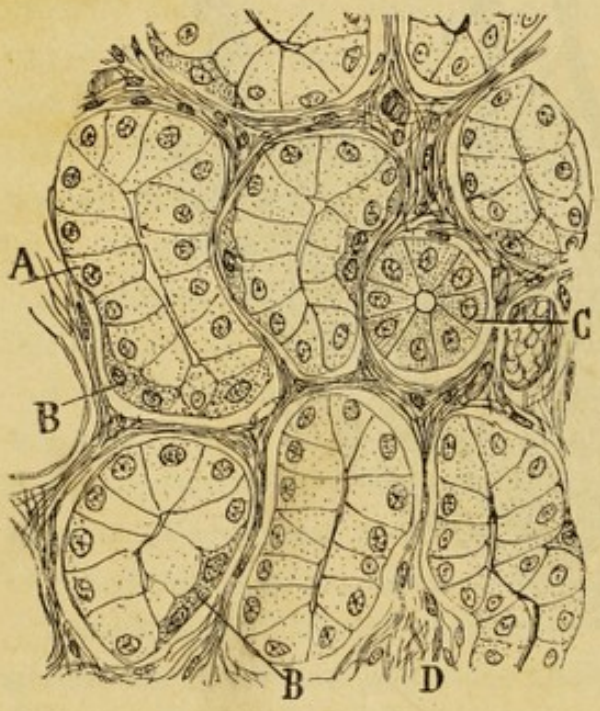


Fig. 178. — Glándula submaxilar del perro.— A, célula clara ó mucosa; B, células turbias ó semilunas de Giannuzzi; D, estroma conectivo; C, tubo excretor con células estriadas.

Un examen atento del epitelio de las vesículas revela dos zonas: una periférica, turbia, discontinua, granulosa, colorable por el carmín y constituída por células sueltas ó grupitos de células modeladas en semilunas (fig. 178, B) (*semilunas* de Giannuzzi); otra central, continua, pálida, incolorable por el carmín y engendrada por corpúsculos robustos y poliédricos, los cuales limitan la luz glandular. Estas

células tienen cubierta aparente, núcleo confinado cerca del polo nutritivo, y un protoplasma claro, reticulado, cuyas mallas alojan mucina (fig. 178, A).

La significación de las células obscuras ó periféricas (semilunas de Giannuzzi), no está todavía esclarecida. Para Heidenhain, dichos elementos representarían la fase embrionaria de las células claras, las cuales se destruirían durante el acto secretorio. Según Stöhr, todas las células del racimo no entran simultáneamente en actividad ; unas descansan mientras otras segregan, y los elementos vacíos ó en reposo, empujados por la turgencia creciente de los activos, serían aplastados en la periferia de la vesícula, adquiriendo la apariencia de células especiales, obscuras y semilunares.

Contra la opinión de Heidenhain, milita el hecho de no hallarse nunca fases mitósicas en las células epiteliales, y contra Stöhr pueden invocarse los efectos que el cromato de plata produce en los elementos semilunares.

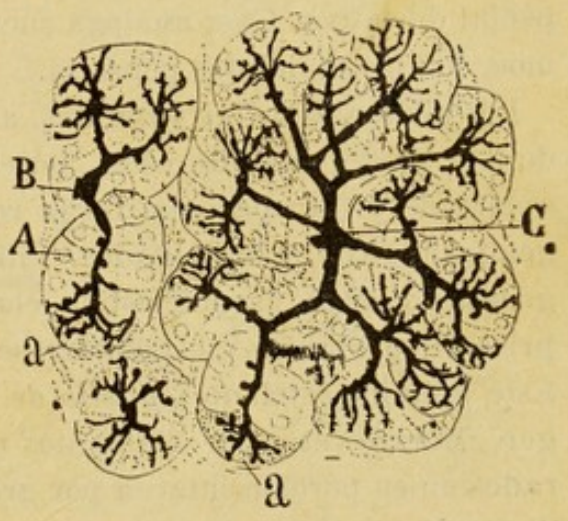


Fig. 179.—Corte de un trozo de la glándula submaxilar de gato. Coloración de los conductos glandulares por el cromato argéntico. — A, células claras ó mucosas ; B, conducto excretor; C, conducto excretor del que partían pedículos para varios lobulillos ; *a*, células semilunares que alojan un penacho de ramificaciones del tubo glandular.

Como nosotros hemos demostrado (1) y han confirmado Retzius y otros, el cromato de plata tiene la propiedad de depositarse en el interior de los tubos glandulares, revelando minuciosamente sus más delicadas ramillas. En las glándulas salivares serosas como la parótida, del conducto central de cada vesícula parten tubitos que se insinúan entre las caras laterales de las céluias claras ó mucosas, terminándose en fondos de saco no

(1) Cajal, Nuevas aplicaciones del método de Golgi. Barcelona, 1889, *Gaz. Med. Catalana.*

lejos de la periferia del folículo ó vesícula glandular, pero en las glándulas mucosas salivares como la submaxilar del perro y gato, además de estos tubitos terminales, existen otros más gruesos que, después de atravesar el epitelio claro, se descomponen en un penacho de ramitos terminales, alojados al parecer en el espesor de las células semilunares (fig. 179, *a*). Las ramitas más periféricas de este penacho tocan casi la superficie exterior de las semilunas. Como se ve, semejante disposición entrevista por mí, pero mejor estudiada por Retzius, establece una diferencia bien rigurosa entre ambas especies celulares, haciendo verosímil la opinión de que los elementos semilunares representan agentes secretores constantes, encargados de elaborar algún principio especial de saliva. Cosa análoga sucede, como más adelante veremos, con las glándulas pépsicas.

Los pedículos de las vesículas, así como los tallos que resultan de la convergencia de estos, poseen un revestimiento epitelial aplastado y transparente. De la reunión de estos tubitos se engendran otros más delgados, cilíndricos, de pared conectiva gruesa, y cuya característica consiste en contener un epitelio prismático, obscuro y estriado en sentido convergente (fig. 178, C). Este epitelio estriado (*epitelio de bastones*), consta, según Solger, Merkel, etc., de filamentos ó bastoncitos paralelos, separados en su porción interna por granos amarillentos y vacuolas. Según Merkel, semejantes elementos gozan de gran avidez por el oxígeno (se enmorenecen por el ácido pirogálico) y acaso segregan algunas de las sales de la saliva.

En las glándulas serosas, como la parótida, las células limitantes de los acini son todas claras. En su protoplasma se hallan unas granulaciones coloreables por la fuchina ácida, las cuales, como demostró primeramente Langley y han confirmado Altmann y E. Müller, disolviéndose durante el período de actividad secretoria de la glándula, contribuyen á formar la saliva parotídea. Según Langley, durante la fase de reposo los corpúsculos se llenan de granitos, es decir, del producto segregado; mientras que durante la fase secretoria dichas esférulas disminuyen en número, conservándose sólo en las zonas más internas de los corpúsculos glandulares.

Páncreas.—Esta glándula, llamada por lo alemanes *glándula salivar abdominal*, se considera generalmente como arracimada compuesta, aunque, si hubiéramos de atender á la disposición terminal de los conductos glandulares, quizás habría mayores motivos para estimarla como tubulosa compuesta.

Los acini son alargados, constando de una membrana propia reforzada por tejido conectivo, y de un epitelio espeso, turbio, que llena casi por completo la luz glandular.

Este epitelio está representado por una sola hilera de células gruesas, en las cuales se distinguen dos zonas: *interna*, caracterizada por encerrar ciertos granos gruesos, esféricos, constituídos por un fermento que se ha llamado *zimógeno; externa*, más pálida, de aspecto ligeramente estriado y algo colorable por el carmín. El núcleo reside en la zona externa y no suele mostrar nunca fases mitósicas. En cuanto á los granos de zimógeno, son solubles en agua y ácido acético, y se coloran por el ácido ósmico, eosina y zafranina.

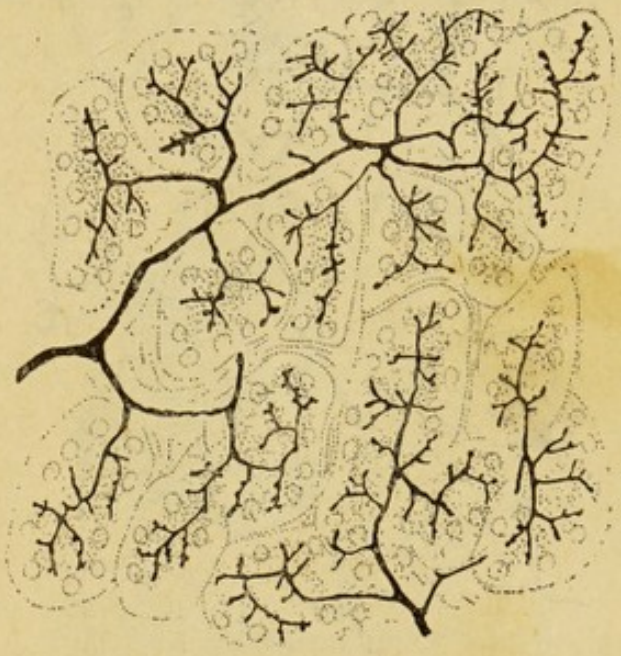


Fig. 180.—Corte de un trozo del páncreas de la rana. Impregnación de los conductos glandulares por el cromato de plata.

Según Heidenhain, las células glandulares pasan por dos fases funcionales que duran de seis á ocho horas: 1.°, ó *fase de reposo* durante la cual el protoplasma se hincha, su parte interna se llena de gránulos de zimógeno y el lobulillo secretor entero se ensancha (fase de *secreción* de Ranvier); 2.°, ó *fase de actividad*, durante la cual los granitos de zimógeno se vierten en el líquido segregado, y las células casi exhaustas de esta inclusión, disminuyen notablemente de volumen (fase de *excreción* de Ranvier). Mezclado el zimógeno con el líquido glandular, fór-

mase la *tripsina*. Estos dos estados secretorios pueden estudiarse en el conejo vivo (Kühne, Lea).

Por lo que toca á la disposición terminal de los conductos glandulares, el páncreas recuerda en gran parte las glándulas salivares. Como se nota en las figs. 180 y 181, el centro de cada vesícula terminal contiene un conducto, del cual parten ordinariamente en ángulo recto ó casi recto numerosas ramitas, que, después de marchar entre las superficies laterales de los corpúsculos epiteliales, acaban en dilataciones olivares ó redondeadas, sin traspasar jamás la zona de los granos de zimógeno. Cada ramito intercelular de éstos muéstrase, además, erizado de divertículos redondeados, ampulosos, que parecen ocupar el mismo espesor del protoplasma epitelial y que corresponden probablemente á las *vacuolas de secreción* mencionadas por Kupffer, L. Pffeifer y Oppel en las células hepáticas. Semejante disposición, demostrada primeramente por Cl. Sala y nosotros en los peces, aves, batracios y mamíferos (1), ha sido recientemente confirmada por E. Müller y Dogiel. Hay, pues, en el páncreas tres clases de tubos intra-vesiculares : con-

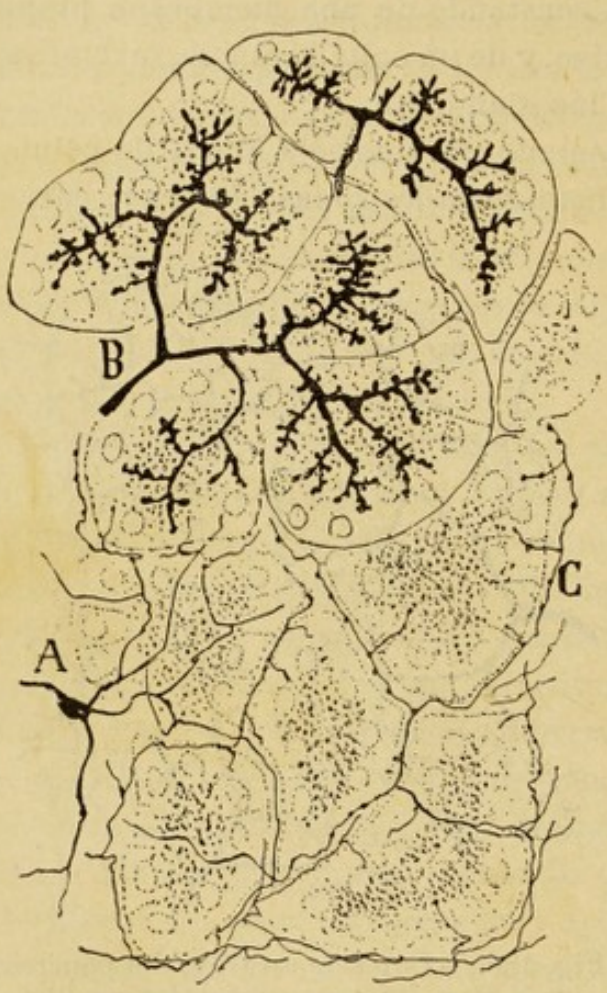


Fig. 181. — Corte del páncreas del erizo. Coloración por el cromato de plata. — A, célula nerviosa intersticial ; C, plexo nervioso peri-vesicular ; B, tubo glandular y sus ramificaciones.

(1) S. Ramón Cajal y Cl. Sala, *Terminación de los nervios y tubos glandulares del páncreas de los vertebrados*. Barcelona, 1891.

ducto axial ó central, ramas inter-epiteliales, y vacuolas ó divertículos intra-protoplásmicos.

Pulmón. — Posee esta glándula, como todas las arracimadas compuestas, un conducto excretor (*tráquea*), que se ramifica repetidas veces (*bronquios y sus ramas*) hasta constituir delgados tubos desprovistos de armadura cartilaginosa (*conductos respiratorios*) y terminados por unas dilataciones piriformes (*infundibulos pulmonares*). Las paredes de estas dilataciones presentan abolladuras hemiesféricas, más ó menos salientes (*vesículas pulmonares*), que corresponden al grado de los acini de las glándulas análogas (fig. 182, C).

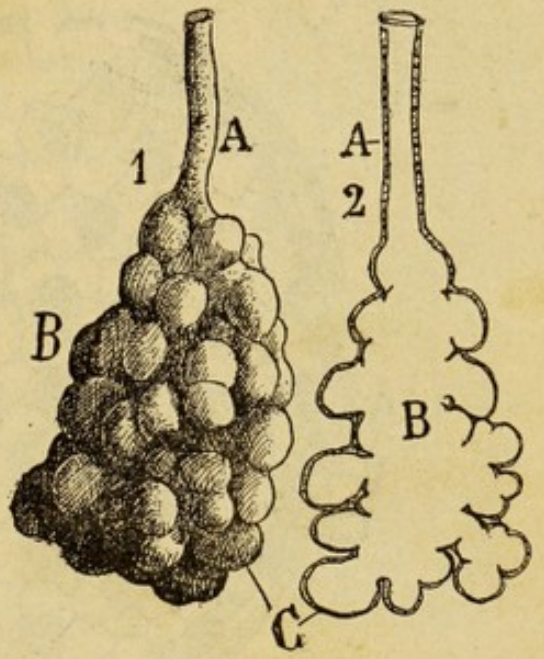


Fig. 182. — Esquema de la morfología de un infundíbulo pulmonar; 1, infundíbulo visto por fuera; 2, infundíbulo seccionado á lo largo; A, canalículo respiratorio; C, vesícula ó alveolo pulmonar.

Consta cada vesícula de una *membrana*, una *red capilar* y un *epitelio*. La *membrana* es elástica, hialina y delicadísima; por fuera, está reforzada por abundantes fibras elásticas dirigidas circularmente y acumuladas especialmente en las depresiones intervesiculares del infundíbulo. La *red* capilar (originada por la anastomosis entre las últimas ramas de la arteria y venas pulmonares que se reparten en el contorno de las vesículas), es finísima, apretada, de mallas circulares y de trabéculos tan delgados, que apenas puede pasar por ellos un hematíe; yace esta red por dentro de la membrana (fig. 183), á la que adhiere íntimamente. Por dentro de la red y limitando la luz glandular, hállase el *epitelio*, de una sola capa, caracterizado por la extrema delgadez de sus células, en un todo análogas á las endoteliales. La porción de éstas, superpuesta á los capilares de la red es hia-

lina y delgadísima; pero la que corresponde al hueco de la malla es más espesa y turbia y contiene el núcleo (fig. 183, E). Un endotelio semejante reviste los conductitos respiratorios y el restò del infundíbulo.

Los bronquios gruesos están revestidos por un epitelio vibrátil y de apariencia estratificada, que en los más delgados se presenta constituyendo una sola capa. Además de la mucosa, constan las paredes bronquiales de dos capas más: la fibro-cartila-

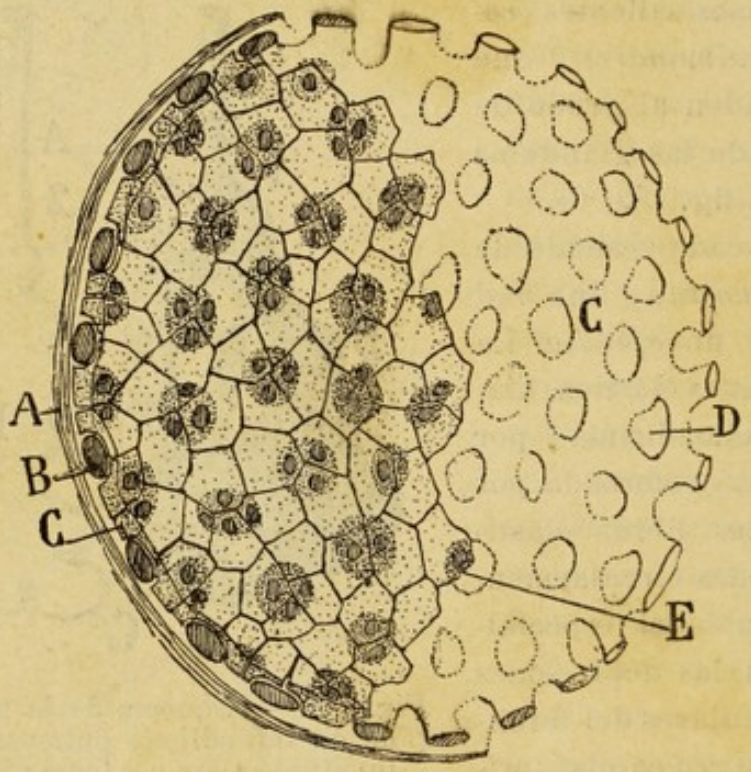


Fig. 183. — Vista de plano y sección de una vesícula pulmonar de la rana. Figura semi-esquemática.—A, membrana glandular; C, epitelio engruesado al nivel de las mallas de la red; B, red capilar; E, parte de célula epitelial que yace sobre la malla; D, malla capilar.

ginosa y la muscular. Los cartílagos corresponden á la variedad hialina, adoptando en los bronquios gruesos la forma de anillos incompletos, y disponiéndose en los delgados (hasta los de 1 milímetro de diámetro) en chapas irregulares, angulosas, esparcidas por todo el contorno del tubo. Entre las placas cartilaginosas, y envolviéndolas por completo, hállase un tejido fibroso, rico en elementos elásticos. Los elementos musculares son lisos y se dis-

ponen en capa floja y plexiforme, situada debajo del dermis de la mucosa, sobre la zona glandular.

c) **Glándulas tubulosas simples.** — Indicaremos sumariamente algunos tipos principales:

Glándulas pépsicas.—Son tubos delgados, de dos á cinco décimas de milímetro de longitud, que atraviesan perpendicularmente la capa mucosa del estómago. Constan de una parte excretora ó *cuello* de la glándula, y de otra secretora ó *cuerpo* y fondo de la misma. La porción excretora está formada por dos clases de células epiteliales: células periféricas (*delomorfas* de Rollet, de *revestimiento* de Heidenhain) gruesas, redondeadas ó irregularmente cuboideas, de considerable tamaño, con protoplasma abundante, turbio y obscuro, que encierra un núcleo casi siempre central; y células pequeñas, cuboideas, claras, mucho más numerosas, de núcleo periférico y de protoplasma finamente reticulado (*delomorfas* de Rollet, *principales* de Heidenhain). Estas últimas constituyen una capa de revestimiento continuo, que se prolonga con el de la porción excretora, mientras que las primeras sólo se muestran acá y allá, de un modo errático, sobresaliendo por su gran tamaño de la superficie general de la glándula (figura 184, *a*).

Las *células principales* engendran, en los intervalos de la digestión, una substancia, la *pepsinógena*, la cual es eliminada durante el período de actividad del estómago, convirtiéndose en pepsina. Las



Fig. 184. — Glándulas pépsicas del gato de pocos días. Coloración por el cromato de plata.—A, conducto excretor; B, porción secretora de la glándula donde aparecen las redes terminales (*c*) yacentes en las células de revestimiento; C, porción secretora de otra glándula donde el cromato de plata sólo impregnó el pedículo que conduce á las redes; *a*, célula de revestimiento; *b*, célula principal.

células de *revestimiento* elaboran el ácido clorhídrico (Heidenhain, Sehrwald), quizá descomponiendo los cloruros aportados por la sangre.

Los trabajos que E. Müller ha ejecutado recientemente valiéndose del procedimiento de Golgi, refuerzan la opinión de que las células de revestimiento representan agentes secretores de naturaleza distinta que los corpúsculos principales. Como se ve en la figura 184, *c*, donde representamos un corte vertical de varias glándulas pépsicas del gato, del conducto glandular parten cortos travesaños, que salen al encuentro de las células de revestimiento, donde forman una red terminal de mallas finísimas y poligonales. La red yacería, según E. Müller, por fuera de dichas células, pero en mi sentir reside en el espesor del protoplasma, si bien ocupa por lo común una posición periférica. Algunos pocos ramitos intra-protoplásmicos acaban en fondo de saco. En ciertos cortes, el depósito de cromato sólo dibuja los tallos de unión de las mencionadas redes con el conducto principal (figura 184, C).

La porción excretora de las glándulas pépsicas es mucho más ancha, y desagua en la superficie estomacal por una abertura infundibuliforme. Por lo común, como se ve en la fig. 184, A, cada conductor excretor recibe dos ó más glándulas pépsicas ; en dicho conducto el epitelio es prismático, muy alargado y casi todas sus células son caliciformes.

Por fuera de la capa epitelial de la glándula, hállase un tejido conectivo laxo, muy fino y apretado, portador de la malla capilar. La membrana anhista descrita por los autores, nos parece ser simplemente la parte más inmediata á la glándula de dicho tejido conectivo, que se presenta aquí más condensado y fino.

Glándulas de Lieberkühn. — Tienen mucho parecido con las pépsicas, de las que discrepan principalmente por carecer de células *delomorfas* ó de revestimiento. Los fondos de saco que construyen son más cortos y las células que las revisten aparecen más claras y alargadas. Muchas de ellas sufren la degeneración mucosa, colorándose la parte transformada del protoplasma en violeta intenso por la hematoxilina.

En la porción más honda de las glándulas se hallan, según

Paneth y Nicolas, unas células especiales llamadas *granulosas*, porque contienen ciertas esferas colorables por la hematoxilina y fuchina ácida. Para Nicolas, estos granitos, que constarían de una porción semilunar zafranófila y otra zafranófoba, serían expulsados durante el período de actividad de las glándulas.

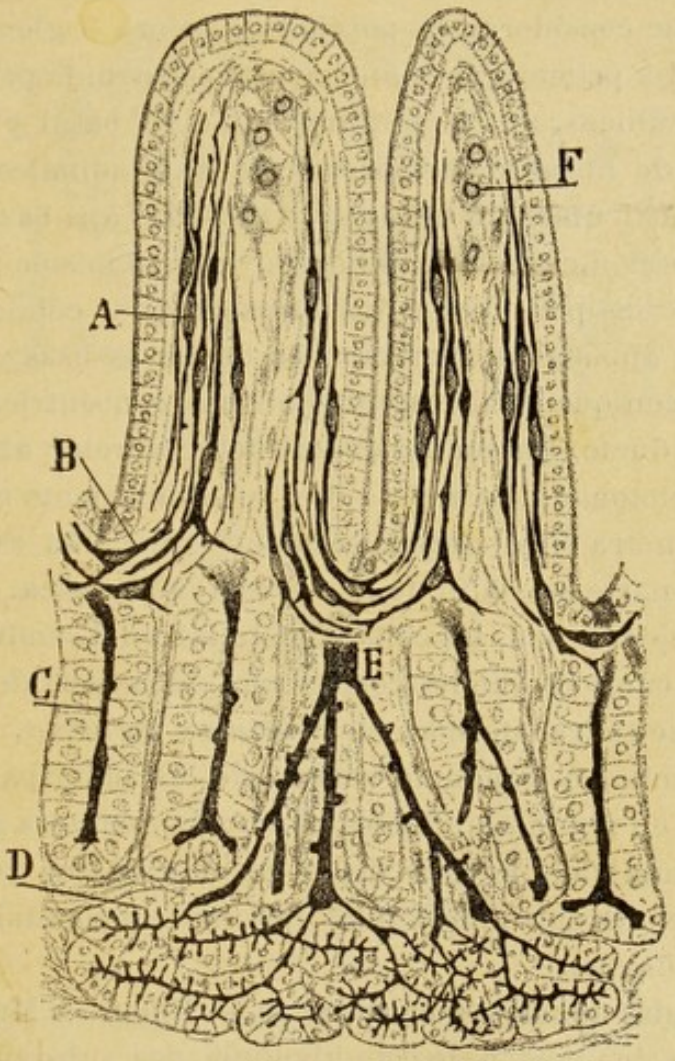


Fig. 185.—Corte de las vellosidades y glándulas del intestino del conejo de Indias de pocos días. — A, fibras lisas del cuerpo de la vellosidad ; B, fibras lisas triangulares de la base de ésta ; C, interior de una glándula de Lieberkühn ; D, acini terminales de una glándula de Brunero; E, conducto excretor de esta glándula ; F, células nerviosas del vértice de esta vellosidad.

En las células epiteliales de estas glándulas, así como en las tubulosas del recto, hállanse muchas mitosis : Bizzozero y Vasale piensan que semejante movimiento regenerativo obedece á la

necesidad de compensar las descamaciones celulares producidas continuamente en la embocadura glandular; las células nuevas irían corriéndose hacia arriba para cubrir el hueco resultante.

Las *sudoríparas* y sus análogas las *ceruminosas*, y las de *Moll* de los párpados, son tubulosas, alargadísimas, y por uno de sus extremos se apelotonan en ovillo ó glomérulo. En cada una de ellas hay que considerar la porción secretora ó glomérulo y la excretora. La primera, más ancha, está construída por una capa de células cúbicas, una membrana anhista ó basal y un estrato incompleto de fibras musculares lisas longitudinales, que presentan la particularidad de alojarse entre la capa basal y el epitelio. La porción excretora comienza ya en el mismo glomérulo, y se caracteriza por ofrecer dos ó tres capas de células epiteliales claras y aplastadas, por carecer de fibras lisas y por la ténue chapa con que la hilera epitelial más concéntrica limita la luz del conducto. En cuanto el conducto excretor abandona la porción apelotonada, atraviesa casi rectilíneamente el tejido conectivo, penetra en el dermis, tomando dirección espiral y remata en la parte más alta de una cresta epidérmica. En la porción intra-epidérmica, las células epiteliales del conducto sufren los mismos cambios que los corpúsculos de la capa de Malpigio, es decir, que se transforman en *eleidina* y *keratina*.

En el hombre el conducto central de las sudoríparas parece único; mas en algunos animales la porción secretora ó profunda de la glándula aloja además de la luz central una red de conductos colocados entre las células epiteliales y comunicantes con aquélla (Fañanás).

d) **Glándulas tubulosas compuestas. — Riñón.** — Muestra á la simple vista la sección de esta glándula dos substancias: una *medular*, pálida y como fibrosa, dispuesta en conos de base periférica y de vértice interno, asomado en los cálices del riñón bajo la forma de papila (*pirámides* de Malpigio); y otra *cortical*, rojiza y granujienta, que, á más de circuir á la anterior, se prolonga entre los conos ó pirámides, alcanzando hasta la pelvis renal (*columnas* de Bertin).

Tanto la trama cortical como la medular, constan de tubos; pero el aspecto y dirección de éstos varía para cada una de ellas:

en la medular son rectos y paralelos, convergiendo á la papila (tubos de Bellini); en la cortical son flexuosos y apelotonados, terminando por vesículas dilatadas (*tubos* de Ferrein y *ampollas* de Müller ó de Bowman). En el encuentro de dichas zonas, los tubos rectos de la medular no se tornan flexuosos de una vez,

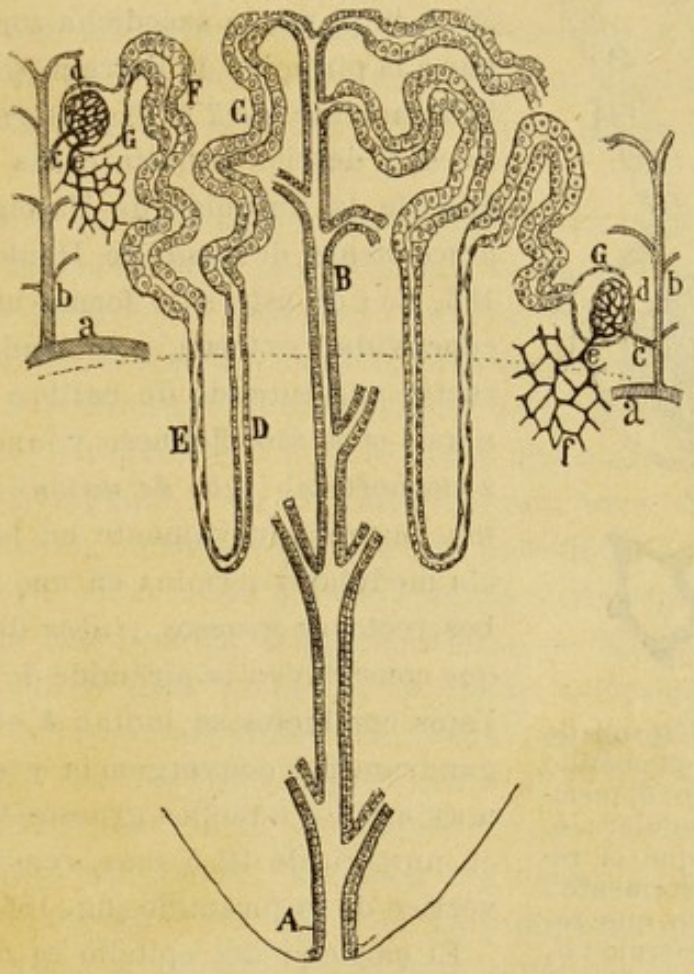


Fig. 186. — Esquema de la forma y dirección de un tubo urinífero. — A, tubo terminado en la papila; B, tubo recto ó de Bellini; C, tubo flexuoso que marcha por la región cortical; E, D, asa de Henle; F, tubo flexuoso; G, cápsula de Müller; *a*, arterias arciformes yacentes entre las capas cortical y medular; *b*, arteriolas de donde salen las ramas aferentes del glomérulo de Malpigio; *d*, glomérulo; *e*, rama eferente; *f*, red capilar intersticial.

sino á distintas alturas, formando, los que más sobresalen dentro de la capa cortical, unas eminencias cónicas de base central (*pirámides* de Ferrein).

Examinemos ahora la dirección de estos tubos uriníferos á

partir de su extremidad cerrada, es decir, en el sentido de la corriente de la orina. Comienza cada tubo por una vesícula ó ensanchamiento (*cápsula* de Bowman ó *ampolla* de Müller) esferoidal, de 100 á 120 μ de diámetro, alojada en la zona cortical y á variables alturas (fig. 186, G); se prolonga luego en conducto ancho y flexuoso (36 á 40 μ) por la susodicha zona; al llegar á la pirámide de Ferrein, se adelgaza bruscamente (de 7 á 10 μ), tórnase rectilíneo, y desciende hasta cerca de la papila de la pirámide de Malpigio (*rama descendente* del *asa* de Henle) (figura 186, E); en este sitio forma un arco de concavidad externa, y asciende en línea recta, aumentando de calibre para tornarse otra vez flexuoso y ancho en la zona cortical (*tubo de unión*); por último, ingresa nuevamente en la substancia medular y termina en uno de los tubos rectos y gruesos (*tubos* de Bellini), que constituyen la pirámide de Malpigio. Estos conductos se juntan á otros y engendran, por convergencia y en ángulo muy agudo, aquellos gruesos tubos que, en número de 10 ó más, rematan en el vértice de la pirámide (fig. 186, A).

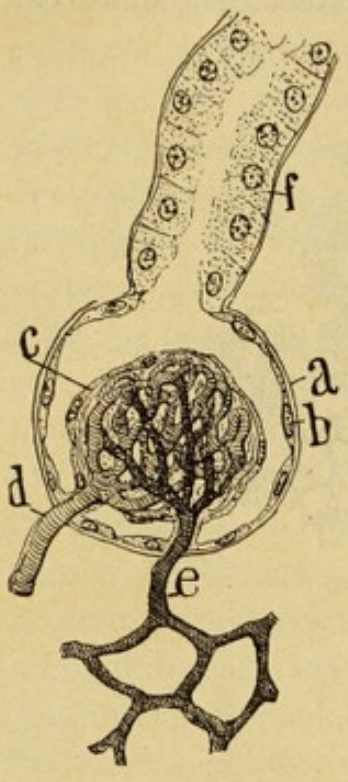


Fig. 187. — Cápsula de Müller y glomérulo de Malpigio; *a*, membrana glandular; *b*, endotelio que la reviste interiormente; *c*, endotelio que rodea el glomérulo; *d*, arteria aferente; *e*, venita eferente; *f*, epitelio turbio del tubo flexuoso.

El carácter del epitelio es distinto en los varios segmentos mencionados. Así, en la cápsula de Müller, las células epiteliales se ensanchan y aplastan á manera de endotelio; en las porciones anchas y flexuosas, las células se engruesan, adquieren aspecto estriado, turbio, contornos indistintos, sobre todo en sus límites internos, donde se ven á menudo ciertas expansiones irregulares (fig. 187); en el tubo descendente del asa de Henle, las células son más pequeñas y tan aplastadas que se justifica la equivocación cometida por algunos de tomar este tubo por un capilar sanguíneo; en la porción

ascendente del asa, el epitelio es más grueso, obscuro y como estriado, pero de contornos limpios; y, por último, el que reviste los tubos de Bellini, es transparente, de núcleos evidentes, de protoplasma cúbico, correctamente limitado y algo saliente del lado de la luz glandular. Todo el trayecto flexuoso de los tubos puede considerarse como la porción secretora de la glándula; en tanto, que las partes rectilíneas representan la porción excretora ó expulsora, bien que en esta glándula la función principal, la filtración sanguínea, se efectúa en la cápsula de Bowman.

Cualquiera que sea el papel desempeñado por las diversas clases de células epiteliales mencionadas, es indudable que no se destruyen durante su actividad funcional, como lo prueba la ausencia de kariokinesis y la de formas degenerativas.

Los vasos renales son abudantísimos. Las arterias provienen de la renal, se reparten en la substancia medular, llevando una dirección divergente, y en los límites de esta zona con la cortical constituyen, anastomosándose por inosculación, unas arcadas, de cuya convexidad parten ramitas divergentes destinadas, previa ramificación, á los glomérulos de Malpigio. El glomérulo es un pelotón vascular, de forma esferoidal, situado dentro de la cápsula de Müller, de la cual ocupa la mayor parte (fig. 187). Los capilares que lo constituyen son flexuosos y tan apretados, que es difícil distinguir sus contornos aun en las preparaciones inyectadas. Comunica el glomérulo por un ramo grueso (*vaso aferente*) con las arterias, y por otro más delgado (*vaso eferente*) con la red capilar intersticial, es decir, con la que rodea los tubos renales y tiene á su cargo la nutrición del parénquima. A veces, el tubo eferente resulta más recio que los capilares intersticiales, lo que ha servido para que ciertos autores le hayan comparado con una pequeña vena porta (*vena porta renal*), puesto que representa un tallo situado entre capilares raíces (los del glomérulo) y capilares ramas (los de la red nutritiva intersticial). Esta apreciación es exagerada, pues ó el calibre del vaso eferente es igual al de dichos capilares, ó discrepa poquísimo. En cuanto al endotelio de la cápsula de Müller, no es atravesado por los vasitos aferente y eferente, sino

que los acompaña, saltando de la pared (*hoja parietal*) á la superficie del glomérulo (*hoja visceral*).

e) **Glándulas reticuladas. — Hígado.** — Esta glándula resulta de la agregación de infinidad de lobulillos esferoidales alargados, que parecen pender de las ramificaciones de las venas supra-hepáticas.

Cuando se practica un corte tangencial del hígado, los lobulillos aparecen como campos redondeados ó ligeramente poligonales, de 1 milímetro poco más ó menos de diámetro, y separados por tabiques conectivos, por donde caminan los gruesos va-

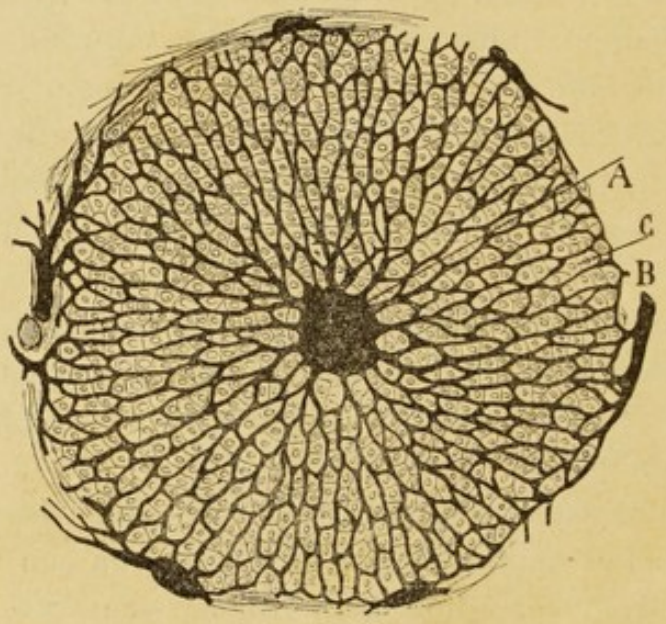


Fig. 188. — Corte de un lobulillo hepático del conejo. Inyección de la vena porta con carmín. — A, vena central ; C, islotes celulares ; B, venas peri-lobulares procedentes de la porta.

sos. Si el corte es axial ó paralelo á la dirección de las venas suprahepáticas, los campos lobulares se presentan alargados y de un diámetro mayor (de 1,5 á 2 milímetros).

Examinado, á buenos aumentos, un corte tangencial de un hígado previamente inyectado, se advierte que la trama vascular entra muy principalmente en su formación. En el centro del lobulillo se ve una rama de las venas suprahepáticas cortada de través (fig. 188, A) de la cual irradia una red tupida que remata periféricamente en las ramificaciones gruesas (*venas interlobulares*) de la vena porta.

Las mallas de esta redecilla capilar están ocupadas por unos islotes, más ó menos alargados y divergentes, de células poliédricas, que representan el epitelio de la glándula hepática (figura 188, C). El tamaño de tales corpúsculos oscila entre 14 y 30 μ; su forma es poliédrica, pero sin diámetro predominante; sus facetas son planas, excepto las que tocan á los capilares, que son cóncavas, para moldearse al contorno de ellos. El protoplasma es turbio, granuloso á flojos aumentos, pero limpiamente

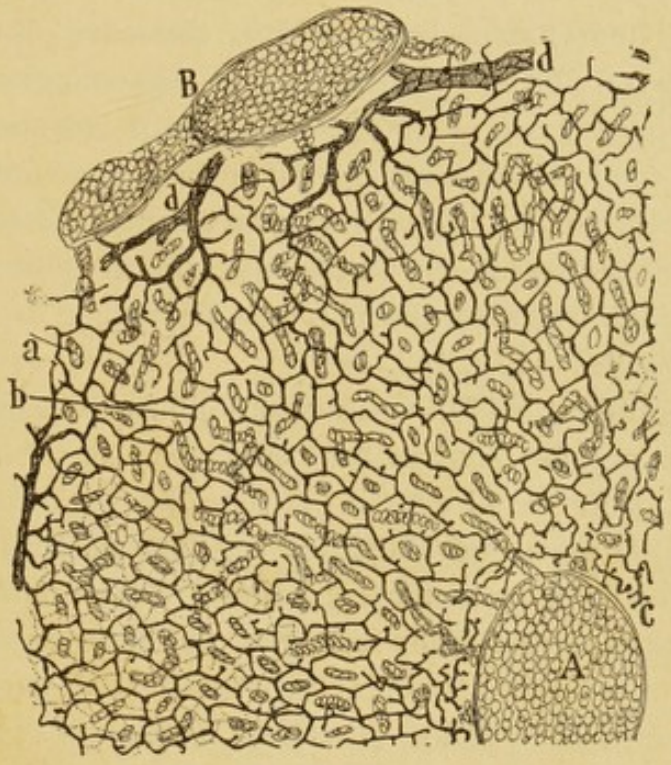


Fig. 189. — Un cuarto de lobulillo hepático cortado de través y cuyos capilares biliares se han impregnado con cromato de plata. — A, vena central del lobulillo; B, rama porta perilobular; *a*, capilares sanguíneos; *b*, red de capilares biliares; *c*, fondos de saco biliares rodeando la rama suprahepática; *d*, conductos biliares gruesos ó perilobulares.

reticulado con fuertes objetivos; contiene en sus mallas, frecuentemente, gránulos de grasa y partículas de una materia colorante amarillenta. El núcleo se distingue claramente, yaciendo de ordinario en posición excéntrica; á veces es doble, pero jamás se le halla en vías de kariokinesis. La cubierta celular es difícil de discernir, merced á su delicadeza, por lo que ha sido negada por algunos.

La cavidad glandular de los lobulillos hepáticos se diferencia mucho de la ofrecida por vísceras análogas. En vez de estar representada por conductos gruesos revestidos por varias células completas, lo está por resquicios tan finos, que apenas pasan de dos ó dos y medio μ de espesor ; de lo que se sigue que sólo una parte muy estrecha de las superficies celulares contribuye á limitar la cavidad glandular. Esta cavidad es tubulosa, finísima, difícil de poner en evidencia en los cortes de hígado inyectado ; pero fácilmente demostrable por el método de Golgi (Böhm, Cajal, Retzius, Oppel). Semejantes tubitos, llamados *capilares biliares*, constituyen una red continua de mallas poligonales, extendida desde los gruesos conductos biliares que rodean el lobulillo (fig. 189, *d*) hasta el contorno mismo de la vena central de éste. En cada malla de esta red se aloja una célula hepática, y los capilares ó trabéculos biliares se disponen de tal modo, que entre ellos y los capilares sanguíneos media siempre el espesor de un elemento glandular (fig. 189, *b*).

Algunos conductitos biliares acaban libremente entre las facetas de dos corpúsculos vecinos ; este modo de terminar es sobre todo aparente en el centro del lobulillo, es decir, en torno del ramo de la vena suprahepática (fig. 189, *c*). Ciertos autores (Pfeiffer, Kupffer y recientemente Oppel) añaden todavía la existencia de unos divertículos esféricos, yacentes en pleno protoplasma de las células glandulares, y unidos por finos pedículos á los conductos de la red terminal (fig. 190, *c*).

Entre los islotes celulares y los capilares sanguíneos se hallan unas fibras finas, al parecer de naturaleza conectiva. Estas fibrillas, que ya habían sido vistas con el método del cloruro de oro, por Rothe y Miura, han sido recientemente impregnadas por Oppel valiéndose de un procedimiento especial, variante del método de Golgi. Oppel las distingue en : gruesas ó radiadas, que divergen desde la vena central, pasando por entre los islotes celulares ; y finas ó reticuladas, que rodean vasos y espacios linfáticos perivasculares. También Mall las ha demostrado con la fuchina ácida, describiéndolas como hebras homógenas, dispuestas en red, y dotadas de propiedades químicas especiales, que las alejan tanto de las fibras elásticas, como de los haces conec-

tivos (resisten á la pancreatina, no dan gelatina por cocción, etc.). Las células de Ehrlich, son raras en los lobulillos hepáticos. Como C. Calleja ha demostrado, tales corpúsculos sólo acostumbran á residir en la periferia de aquellos, no lejos de las venas voluminosas.

Testículo.—Consta esta glándula de dos partes : la *armadura fibrosa* y los *tubos seminíferos*.

La armadura fibrosa está representada por una cápsula (membrana *albuginea*) espesa, blanca y brillante que envuelve la glándula, espesándose al nivel del borde superior de ésta, donde ofrece un engrosamiento de sección triangular (*cuerpo de Higmoro*) atravesado por los conductos excretores en red (*rete testis*). De la cara profunda de tal espesamiento, parten tabiques conectivos, divergentes, insertos en la superficie interna de la cápsula, que dividen el parénquima en compartimentos alargados ó lobulillos seminíferos. A más de tales tabiques, hay en cada lobulillo, separando los conductos seminíferos, un tejido conjuntivo flojo, rico en lagunas plasmáticas y en vasos, y notable por la abundancia de células conectivas. Estas células (*células intersticiales* del testículo) son más gruesas que las conjuntivas comunes; ofrecen forma poliédrica y forman, á menudo, acúmulos ó cordones en torno de los vasos, como las células llamadas del *plasma*. En su protoplasma se advierten comunmente gránulos grasientos y esférulas de una materia colorante morena. La signifi-

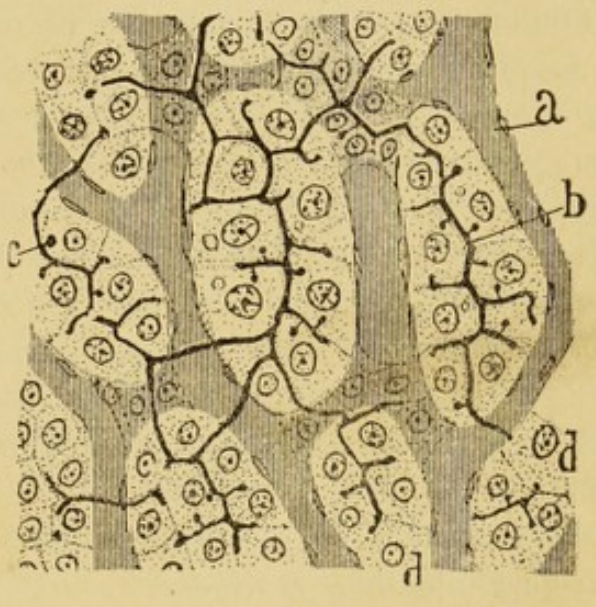


Fig. 190. — Detalles de los islotes hepáticos y capilares biliares. Coloración con el cromato de plata y subsiguientemente con la hematoxilina. — *a*, capilares sanguíneos ; *b*, capilares biliares ; *c*, vacuolas de secreción ; *d*, células hepáticas.

cación de estas células es muy enigmática. Nussbaum les niega carácter conectivo identificándolas con aquellos elementos germinales del cuerpo de Wolf, de donde se origina el epitelio del testículo y del ovario. Lenhossék, que las ha estudiado recientemente, señala en ellas la presencia de inclusiones cristalinas, y la de verdaderos centrosomas. La circunstancia de abundar notablemente dichos elementos cerca de los tubuli, y en la época en que el testículo se halla en plena actividad, inclinan á Lenhossek á estimarlos como células destinadas á llevar productos alimenticios al epitelio activo de los tubos seminíferos.

Los *tubos seminíferos* son larguísimos, gruesos (de 100 á 180 μ de diámetro), flexuosos y flojamente adheridos entre sí. No son independientes por sus extremos, sino que forman redes de mallas larguísimas y complicadas, cuyo apelotonamiento constituye el lobulillo seminífero. Cerca del vértice del lobulillo, los tubos adquieren dirección rectilínea y convergen en uno solo (*tubos seminíferos rectos*), el cual, anastomosándose en el espesor del cuerpo de Higmoro con el de los otros lóbulos, constituye una red (*rete testis*), de la que á su vez parten los tubos que entran en la formación del *epidídimo*.

La textura de los tubos seminíferos tiene que estudiar una *cubierta* y el *epitelio seminal*.

La *membrana* es gruesa, tingible en rojo por el carmín y estriada según su plano. En su espesor se contienen núcleos aplastados, de sección transversal fusiforme, y concéntricos al tubo. La presencia de núcleos y estriaciones revela en la pared la existencia de membranas conectivas superpuestas separadas por una capa epitelial (fig. 191, *a*).

El *epitelio* varía de aspecto según el estado funcional del tubo seminífero. En reposo, la pared tubular aparece revestida de tres ó cuatro capas de células poliédricas, apretadas, sin diferenciación bien apreciable, ni existencia de fases kariokinéticas; pero, en estado de actividad, el epitelio ofrece numerosas variantes de disposición, que corresponden á etapas distintas de la espermatogenesis.

La disposición estructural más común es la representada por el dibujo D (fig. 191). En el interior del tubo seminífero ya-

cen dos especies celulares: los *elementos alargados* y los *poliédricos*.

Los elementos *alargados* (fig. 191, B, *b*), llamados *espermatoblastos* (Ebner), *células de sostén* (Müller), *células ramificadas* (Sertoli), *células de pie* (Benda), etc., son de forma cónica y convergentes á la luz del conducto; su base se aplica á la pared del tubo seminífero y contiene un núcleo de sección triangular, pobre en gránulos cromáticos; y su extremidad central, más ó menos ramificada, continúase con un racimo de zoospermos en distintas fases evolutivas. Las cabezas de éstos aparecen como adheridas al protoplasma de la célula alargada y presentan el aspecto de núcleos homogéneos, prolongados en forma de hierro de banderilla (rata).

Los elementos *poliédricos*, llamados células *redondas* por Merkel, *movibles* por Sertoli, etc., son corpúsculos pequeños, casi libres, que se disponen en varias hileras en los intervalos de las células alargadas ó de sostén. De ordinario, la primera hilera ó la subparietal (*células de origen* de Benda) consta de células pequeñas, más ó menos aplastadas, cuyo núcleo encierra abundante cromatina, mostrándose en vías de kariokinesis (c). La segunda fila contiene corpúsculos más voluminosos con núcleo grueso también en tránsito de división. Las demás capas encierran elementos más pequeños casi del todo libres, con núcleo sin señales mitósicas y pobre en cromatina (fig. 191, A, *d*).

¿Qué participación tienen estas dos clases de células, las alargadas y las poliédricas, en la formación de los zoospermos? Cuestión es esta rodeada de graves dificultades y que cada autor, invocando sus propias observaciones, resuelve á su manera. Nosotros hemos estudiado este punto en los tubos seminíferos de la rata y ratón, y las conclusiones que de nuestras observaciones se desprenden, coinciden en gran parte con las opiniones de Benda y con las últimamente adoptadas por von Ebner. Las ideas de La Valette, Balbiani, Landois, etc., contienen sin duda una parte de la verdad, pero también algunos errores de interpretación.

Hé aquí las fases principales del proceso:

1.ª *Fase de formación de los gérmenes seminales*, ó de las cé-

lulas semino-formadoras. — Aquellas células poliédricas situadas cerca de la pared del conducto seminífero, entran en división mitósica (*células germinales* de Benda); de los dos corpúsculos resultantes, uno conserva su posición primitiva y su papel de germen, mientras que el otro emigra hacia adentro, alargándose sucesivamente y convirtiéndose en zoospermo embrionario ó célula semino-formadora (Benda). El número de células de esta

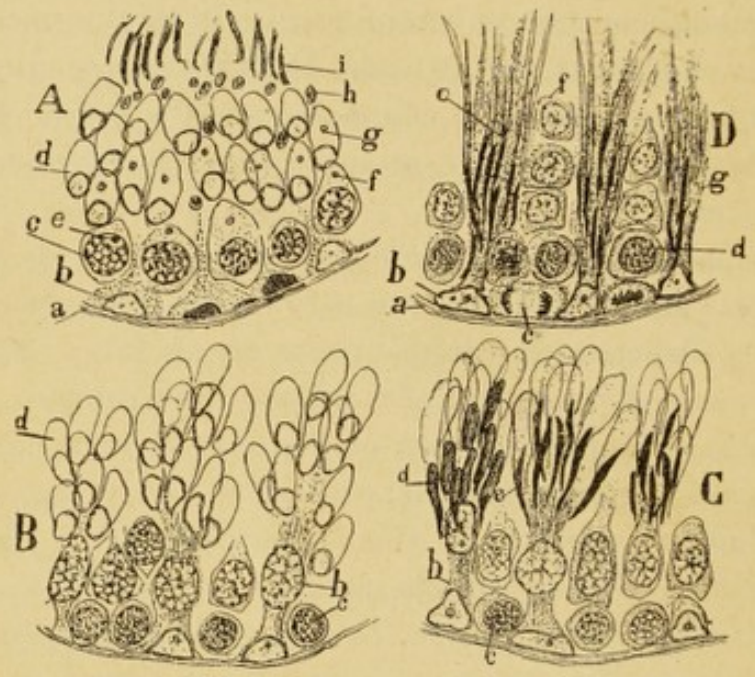


Fig. 191. — Espermatogenesis en la rata blanca.

A. Fase en la cual se diferencian las células semino-formadoras (*d*); *b*, células de sostén todavía poco aparentes; *c*, células germinales.
B. Fase en la cual las células de sostén han entrado ya en copulación con las semino-formadoras ó espermatozoos rudimentarios; *d*, semino-formadoras; *b*, células de pie ó sostén.
C. Fase en la cual las células semino-formadoras se convierten en zoospermos; *d*, zoospermo embrionario; *b*, célula de sostén.
D. La fase anterior, pero todavía más adelantada; *e*, cabeza de un zoospermo; *g*, células de sostén con un racimo de espermatozoos.

clase así engendradas es bastante considerable, y constituyen dos ó más hileras entre los corpúsculos alargados de sostén (figura 191, A, *d*).

2.ª *Fase de ingerto ó de copulación.* — Durante la producción de los corpúsculos semino-formadores, las células alargadas, antes poco perceptibles, adquieren robustez; su cabo interno se en-

gruesa, estirándose en apéndices protoplásmicos. A su vez los corpúsculos semino-formadores, se alargan de cada vez más, tornándose pálidos y mostrando el núcleo confinado en el cabo externo ; después, quizá en virtud de una atracción de naturaleza quimiotáctica, dichas células corren á adherirse al protoplasma de la célula de sostén más inmediata, fijándose en ella por el cabo nuclear. Cada elemento alargado ó de sostén sirve de placenta nutritiva á un racimo de 6 á 10 corpúsculos semino-formadores (fig. 191, B, *d*).

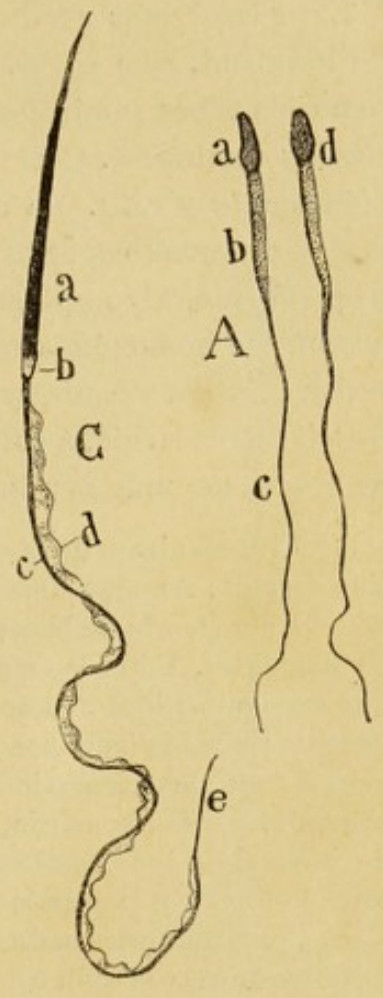


Figura 192.

A. Zoospermos humanos. *a*, cabeza vista de perfil ; *d*, cabeza vista de frente ; *b*, cuerpo ; *c*, cola.
C. Zoospermo de salamandra maculosa ; *a*, cabeza ; *b*, cuerpo intermediario ; *c*, cola ; *d*, membrana movible espiral.

3.ª *Fase de transformación de la célula semino-formadora en zoospermo adulto.* — Dicha célula, una vez ingertada en el corpúsculo de sostén, se transforma rápidamente : su núcleo, antes vesiculoso y esférico, se torna alargado y macizo, colorándose intensa y uniformemente por los colores ávidos de la cromatina; su protoplasma palidece y se estira dirigiéndose hacia el centro del conducto; finalmente, el núcleo adquiere forma lanceolada y engendra la cabeza del zoospermo; mientras que el protoplasma, de cada vez más pálido y filiforme, da origen probablemente al cuerpo y cola del elemento seminal (figura 191, C y D).

En suma, el zoospermo no deriva de la multiplicación por yemas de las células alargadas, sino que es resultado de la metamorfosis de una célula independiente. En cuanto á la célula de sostén, representa un soporte nutritivo, especie de placenta que, atrayendo primeramente (acaso á beneficio de subs-

tancias-reclamos) las células semino-formadoras, les sirve luego de soporte y de intermediario nutritivo. Acabada la evolución del zoospermo, éste se hace independiente y la célula de sostén queda consumida y atrofiada (1).

Los *zoospermos* adultos son filamentos movibles de 60 ó más μ de longitud, que se hallan abundantemente en el líquido que llena los tubos seminíferos, epidídimo, conducto deferente y vesículas seminales. Constan de tres partes : *cabeza* ó *núcleo*, *porción media* y *cola*. La cabeza varía mucho de forma y tamaño en las diversas especies animales ; en los zoospermos humanos es piriforme, algo aplastada y parece compuesta de una materia cromática homogénea rodeada de una membrana. La cola es tenuísima y va disminuyendo de espesor hasta su punta, que es difícil de discernir, á causa de su extrema delicadeza. El cuerpo es la porción más gruesa comprendida entre la cola y la cabeza ;

(1) El mecanismo de la espermatogenesis dista mucho de ser una cuestión cerrada. Aunque domina en las escuelas la doctrina que acabamos de exponer (teoría de la copulación de Benda y Ebner), no faltan tampoco disidentes. Entre los más modernos, citemos á C. Bardeleben (1896), que sostiene la idea de que las células de pie, no sólo sirven de placenta nutritiva á los zoospermos jóvenes, sino que por un fenómeno de excisión directa, les proporcionarían el apéndice caudal. La célula seminal, constaría, en consecuencia, de dos elementos : la cabeza ó núcleo nacido de una célula independiente (la semino-formadora ó la *espermátida* de otros autores), y la cola, que representaría un trozo de los elementos de pie ó de sostén (células de Sertoli).

Tellyesniczky (1897), combate resueltamente esta teoría, negando toda participación de los corpúsculos de sostén en la formación del zoospermo, y pretendiendo asimismo refutar la opinión de la copulación de Benda. Según aquel autor, las células semino-formadoras no son en ningún tiempo independientes de las células de sostén, sino que desde sus primeras fases, aparecen rodeadas por el protoplasma de éstas ; por manera que los zoospermos embrionarios, aunque originariamente autónomos, vendrían á ser englobados por la célula de sostén. La forma de racimo que ésta adquiere, la explica por la forma alargada que le obligan á adoptar las nuevas hornadas de corpúsculos semino-formadores situadas por debajo y lateralmente, y por la posición de cada vez más central que las cabezas de los zoospermos jóvenes van ocupando. En suma, la célula de pie de los mamíferos, sería un corpúsculo quístico semejante á los bien conocidos del testículo de los batracios, dentro del cual se desenvolverían secundariamente los zoospermos.

comienza junto á ésta por ligera estrangulación, y termina en su unión con la cola mediante una estría, no siempre bien perceptible (fig. 192, A).

Recientes trabajos ejecutados con fuertes objetivos, han revelado á Nelson, K. Bardeleben y otros, algunos interesantes detalles sobre la estructura del zoospermo humano. De la cabeza, como se ve en la figura 193, *a*, partiría un hilo finísimo y pálido terminado en un ganchito; la cabeza misma constaría de una corteza y de un corpúsculo central que acaso corresponda al verdadero núcleo; y en fin, en torno del cuerpo y cola se vería un tenuísimo hilo arrollado en espiral. Para Ballowitz y Jensen, la cola se compone de un eje fibrilar, constituído por dos manojitos de hilos finísimos y de una cubierta hialina general. La cabeza del zoospermo estaría forrada, en su parte más culminante, por una especie de cubierta comparable á un gorro de dormir.

En los demás vertebrados, la estructura de los zoospermos obedece al mismo plan, aunque con variantes notables en las dimensiones relativas da cada parte. Así, en la salamandra (fig. 192, C), la cabeza es larguísima, homogénea y modelada en hierro de lanza; la cola es más prolongada aún, y en su torno se arrolla una membrana espiral, dotada de movimientos ondulatorios; entre la cola y cabeza se percibe un corpúsculo brillante y oblongo, que se llama *pieza intercalar*. Este corpúsculo representa, según parece resultar de recientes observaciones, la esfera atractiva del zoospermo.

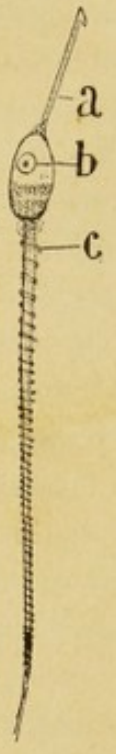


Fig. 193. — Disposiciones que presentan algunos zoospermos del hombre y mamíferos según K. Bardeleben. —*a*, gancho cefálico; *b*, punto cromático; *c*, estría espiral.

Glándulas vesiculares. Ovario — Un corte de este órgano nos presenta dos zonas: una central, prolongada con el íleo y esencialmente formada por un estroma conectivo rico en vasos gruesos (*substancia medular*); y otra periférica llamada *substancia cortical*, donde se contienen las partes características de este parénquima, es decir, el *epitelio germinal* y las *vesículas de Graaf*.

El *epitelio germinal* forma una capa delgada, que reviste la superficie ovárica y se continúa con el endotelio peritoneal. Las células que constituyen dicha capa son cubóideas, de protoplas-

ma turbio y núcleo relativamente voluminoso. De estos elementos derivan probablemente los óvulos, por lo cual han recibido el nombre de epitelio germinal. La continuidad entre las vesículas de Graaf y este epitelio, no aparece en los animales adultos; pero en la época embrionaria se la demuestra fácilmente, notándose que los óvulos constituyen cordones celulares englobados en el extremo ovárico, prolongados con el epitelio germinal, del cual representan simples invaginaciones ó repliegues.

Las *vesículas de Graaf* hállanse abundantemente diseminadas en la capa cortical. Las más gruesas residen en las regiones hondas de este estrato, en tanto que las más jóvenes y rudimentarias habitan el plano superficial.

Las fases porque atraviesa el óvulo y vesícula de Graaf son las siguientes :

1.ª *Fase de folículo primordial.* — El óvulo aparece al principio bajo la forma de una célula pequeña, aunque más grande que las del estroma, de forma redondeada ó poliédrica y cuyo núcleo, rico en cromatina, exhibe á menudo fases mitósicas. En torno del óvulo rudimentario se ven tres ó cuatro células aplastadas é irregulares, nacidas por diferenciación de las inmediatas del estroma, y que representan el primer esbozo de la zona epitelial ó granulosa peri-ovular (fig. 194, *a*, *b*).

2.ª *Fase de vesícula embrionaria.* — El óvulo aumenta de volumen y se rodea de dos membranas: una fina y granulosa (*membrana primordial*) que envuelve el protoplasma, al cual adhiere íntimamente, y otra que aparece en un período ulterior. Esta última capa es espesa como una cápsula, y ha recibido el nombre de *membrana secundaria* ó *zona pellúcida*. En su espesor, se ven finos conductitos radiados, por los cuales, según Flemming, pasarían expansiones protoplásmicas destinadas á poner en comunicación el protoplasma del óvulo con las células epiteliales inmediatas. En torno del óvulo, las células epiteliales pequeñas se han multiplicado, á beneficio de mitosis, engendrando dos ó más capas concéntricas de corpúsculos poliédricos, pobres en protoplasma y estrechamente unidos por sus caras. Del lado del estroma se desarrolla una membrana basal, sobre la cual se extiende una red capilar tupida (fig. 194, *c*).

Fase de la vesícula madura. — La vesícula de Graaf alcanza gran desarrollo, creciendo en todas direcciones y principalmente hacia afuera. La formación epitelial peri-ovular acrecienta, por mitosis, el número de sus estratos, al propio tiempo que, en el seno del epitelio, se engendran varios espacios llenos de plasma. Tales espacios, que crecen incesantemente y acaban por confluir en uno mucho mayor, separan dos regiones ó zonas epiteliales: la *zona granulosa* ó epitelial periférica, situada por debajo de la

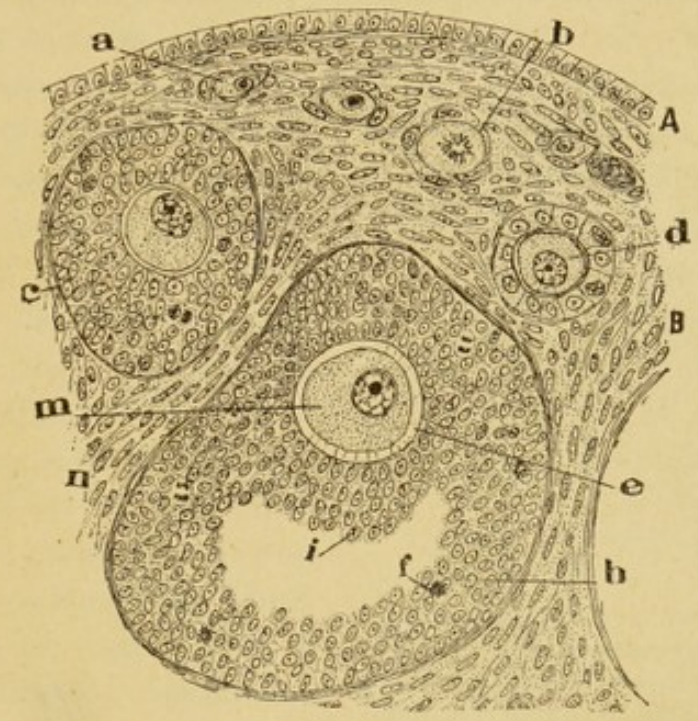


Fig. 194. — Corte del ovario de la coneja. Corte en parafina y coloración en hematoxilina. — *a*, folículos primordiales muy jóvenes; *b*, óvulo en mitosis; *d*, otro folículo primordial, pero más avanzado, con una capa epitelial regular; *c*, óvulo con zona granulosa y membrana pellúcida; *m*, óvulo casi maduro con su membrana pellúcida (*e*), con cúmulo ovígero (*i*) y su zona granulosa epitelial periférica (*b*); A, epitelio germinal; B, células intersticiales.

pared folicular, y compuesta de varias hileras de pequeños elementos poliédricos; y el *cúmulo ovígero* ó zona epitelial interna, sistema de capas celulares que envuelven inmediatamente el óvulo. Entre la formación interna y externa se observan siempre uno ó varios puentes de corpúsculos epiteliales, especie de cordón umbilical que mantiene el óvulo en su posición (fig. 194, *m*, *i*, *h*).

En cuanto al óvulo maduro, es una célula esférica, de una ó dos décimas de milímetro de diámetro. Su protoplasma (*vitellus*), ofrece, á más de granos grasientos, un retículo pálido, inserto, de una parte, al núcleo, y de otra á la membrana primaria. El núcleo (*vesícula germinativa*) es notable por su tamaño (30 á 40 μ de diámetro), su excentricidad, su gruesa membrana acromática, su carencia de red de nucleína (pues sólo presenta algunos granos tingibles apenas por la hematoxilina) y, sobre todo por la existencia de uno ó varios corpúsculos hialinos, colorables por los reactivos de la nucleína y limpiamente contorneados (*nucleolos* ó *manchas germinativas*) (fig. 195, *f*).

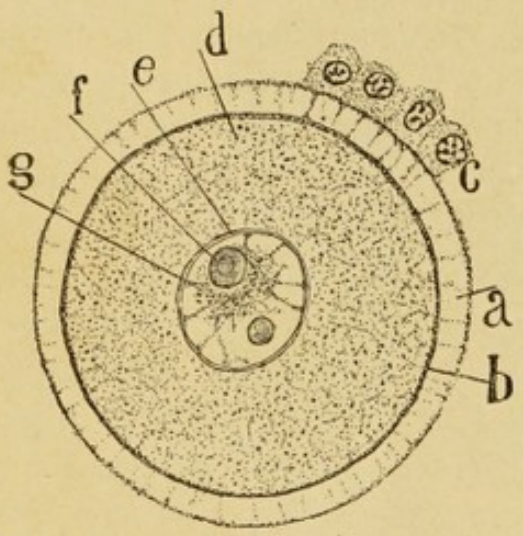


Fig. 195.—Ovulo casi maduro de coneja.—*a*, membrana aislable ó cápsula; *b*, membrana fundamental; *d*, protoplasma; *g*, núcleo; *e*, membrana nuclear; *f*, nucleolo; *c*, capa epitelial interna que parece enviar expansiones á través de la cápsula.

El folículo de Graaf está limitado por una membrana delgada, anhista, reforzada exteriormente por fascículos conectivos y células aplastadas. Sobre ellas residen los capilares, constituyendo una red membranosa apretada. Entre las vesículas de Graaf se ven, á más de fascículos conectivos y capilares, elementos constitutivos del estroma, multitud de células poliédricas, más ó menos acumuladas, ricas en gránulos y comparables á las *peri-vasculares* ó á las *intersticiales* del testículo. Su significación y origen permanecen en la obscuridad. En general, se reputan de naturaleza conectiva, por más que Nussbaum las haga proceder del epitelio germinal, del que serían formas abortadas.

Glándula tiroides. — Es el tipo de las vesiculares. En medio de un estroma conectivo, ofrece esta glándula vesículas cerradas, de 40 á 90 μ de diámetro, llenas de un líquido homogéneo, ligeramente amarillento, cuya consistencia aumenta con la edad, llegando á ser gelatiniforme. La superficie interna de las vesi-

culas está revestida por una sola capa de células cuboides de anchura variable. Una red capilar tupida circuye las membranas vesiculares.

La glándula tiroides es el tipo de las llamadas *vasculares sanguíneas*, es decir, de aquellas que por carecer de conducto excretor, vierten directamente en la sangre el producto elaborado. Este producto no ha sido todavía aislado, pero se sabe, merced á los experimentos de Hofmeister, Eiselberg y otros, que ejerce una gran influencia sobre la nutrición, puesto que en los conejos, carneros y cabras jóvenes, la extirpación de aquel órgano produce una suspensión del desarrollo. En el mono y el hombre, la falta del cuerpo tiroides determina el mixedema.

Los animales privados de dicho cuerpo se restablecen rápidamente si son alimentados con el jugo ó con pedazos de la glándula tiroidea (Hertoghe, Bourneville, Gomez Ocaña, etc.).

CAPITULO XIII

TEJIDO VASCULAR

Definición.—El tejido vascular es la trama especial de que están construídas las paredes de los tubos sanguíneos y linfáticos. En esta trama se asocian, en proporciones varias para cada especie vascular, tres tejidos simples: el epitelial, el conjuntivo y el muscular. El principal de tales factores es el epitelial, que jamás falta, constituyendo una membrana continua consigo misma, á la manera del endotelio de las serosas. Sobre esta membrana fundamental, y en aquellos parajes en que los tubos sanguineo-linfáticos reclaman mayor resistencia, elasticidad ó contractilidad, se depositan estratos de tejido conectivo y muscular, que complican la simplicidad originaria.

Clasificación.—El sistema vascular comprende tres variedades histológicas: el *tejido capilar*, el de los *vasos gruesos* (venas y arterias) y el de los órganos glanduloides *vasculo-sanguíneos* ó vasculo-linfáticos (bazo y ganglios linfáticos).

VARIEDAD CAPILAR

Los capilares se distinguen en sanguíneos y linfáticos.

1.° **Definición.**—Los sanguíneos son tubos delgados, ordinariamente microscópicos, residentes en la trama de los órganos, que enlazan las raicillas venosas con las últimas ramitas arteriales, y llevan el líquido nutritivo á la inmediación de las células.

2.° **Distribución general.**—Los capilares se entremezclan á todos los tejidos, excepto al cartilaginoso y al epitelial. Yacen comunmente á cierta distancia de las células, envueltos en una ganga conectiva. El *diámetro* de estos órganos varía mucho en los diversos tejidos, y según el estado de plenitud ó de vacuidad,

pues se atemperan á la cantidad de sangre que los atraviesa ; puede evaluarse, sin embargo, en 8 á 30 μ. Los capilares más delgados residen en el pulmón, retina y tejido muscular ; y los más gruesos en el hígado, tejido óseo, etc. La *forma* del capilar es la de un cilindro más ó menos aplastado. A veces, la superficie se presenta abollada con ensanchamientos cavernosos (capilares de los ganglios nerviosos y de los músculos rojos del conejo).

Los capilares se anastomosan en su itinerario, constituyendo redes cuya forma recuerda la disposición de los elementos histológicos á que se asocian. La angostura de la malla guarda relación con la actividad funcional del tejido : los más activos, como el glandular, nervioso y muscular, poseen redes apretadas y próximas á las células ; mientras que los pasivos, como el óseo, fibro-cartilaginoso, tendinoso, etc., presentan mallas amplias y escasos capilares,

3.° **Caracteres microscópicos.** — Visto un capilar al microscopio, después de coloreado por el carmín, nos presenta el aspecto de un tubo hialino, homogéneo y sembrado de núcleos elipsoideos y aplastados. Para percibir los límites celulares, y persuadirse de que cada núcleo corresponde á una individualidad celular, es preciso recurrir al nitrato de plata, que tiñe el cemento de unión, presentándonos campos irregularmente romboidales con el eje mayor paralelo al del capilar.

En los capilares delgados toda la estructura consiste en esta membrana endotelial, pero en los gruesos hay además por fuera del epitelio una capa de materia amorfa sembrada de núcleos (*túnica adventicia capilar*).

Recientes observaciones de Kolosow parecen establecer la existencia, entre las células endoteliales, de filamentos de comunicación. Entre ellos, el cemento flojo y distensible dejaría pasar fácilmente los glóbulos blancos de la sangre. Por lo demás, estos puentes habían sido ya sospechados por nosotros hace muchos años. Véase nuestro *Manual de Histología*, pág. 236, 1885.

Capilares linfáticos.—Estos son más gruesos é irregulares que los sanguíneos y constituyen también redes complicadas yacentes en el espesor de los tejidos. La *forma* del capilar es irregu-

larmente cilíndrica, con numerosas dilataciones y estrecheces. De la red emergen muchas veces, en sentido perpendicular al plano de la misma, expansiones prolongadas y terminadas en fondo de saco, como sucede, por ejemplo, en las vellosidades del intestino. Las redes linfáticas se entremezclan ordinariamente á las sanguíneas, pero á menudo en ciertas mucosas aquellas ocupan un plano distinto y más superficial que éstas.

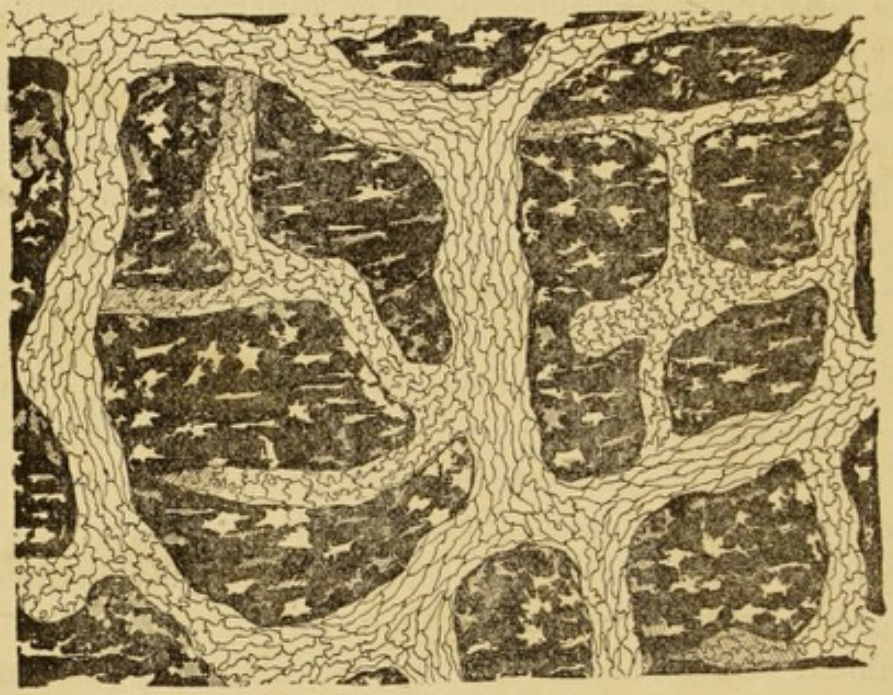


Fig. 196. — Red linfática de la cara superior del centro frénico del conejo. — Impregnación con el nitrato de plata, previo pincelamiento del endotelio pleural.— El fondo negro fórmanlo los haces conectivos, y en él resaltan multitud de células estelares del tejido conjuntivo subepitelial.

No todos los tejidos poseen capilares linfáticos ; los más ricos en éstos son los tejidos muscular, glandular y conectivo, preferentemente el que constituye el dermis de todas las mucosas y serosas. Es dudosa la existencia de linfáticos en los tejidos óseo, nervioso y fibro-cartilaginoso ; con mayor razón faltarán en los epitelios y tejido cartilaginoso hialino que carecen de vasos sanguíneos. Las membranas fibrosas, tales como el periostio, aponeurosis y pericondrio, los contienen, aunque en pequeña cantidad.

Las citadas redes constituyen el origen verdadero de los vasos linfáticos, no existiendo las comunicaciones directas con las serosas, lagunas conectivas, espacios peri-vasculares del sistema nervioso, etc., que ciertos autores han descrito, dando por seguro que el sistema linfático es la continuación de las grandes cavidades esplácnicas é intersticiales. Dichas redes de origen alójanse entre los elementos histológicos, y desaguan, tras curso más ó menos largo, en vasos linfáticos más gruesos también anastomosados, caracterizados por las válvulas que presentan en su curso y por su aspecto moniliforme ; por fin, de la reunión de estos vasitos nacen los tallos más robustos que acompañan á las arterias y venas. La estructura de los capilares linfáticos es idéntica á la de los sanguíneos : constan también de una membrana endotelial delgada y sumamente dilatable ; el contorno de las células que la forman es notablemente flexuoso, como dentellado, carácter que las distingue de las endoteliales sanguíneas (fig. 196). Algunos autores suponen que estos dentellones sólo se ven en las células epiteliales retraídas, ó en otros términos, en los capilares vacíos (Klein y, recientemente, Muscatello).

Desarrollo de los capilares.—Cuando se observan al microscopio las expansiones membranosas de la cola de renacuajo ó el epiploón mayor de un conejo ó gato recién nacidos, se advierten, al lado de redes capilares completas, otras que se hallan en vías de formación. El nuevo capilar nace siempre de uno preexistente y se inicia bajo la forma de una expansión protoplasmática sólida, nacida, en ángulo casi recto, del plano de un corpúsculo endotelial (fig. 197, A). Esta expansión, que se parece á una espina en sus comienzos, crece rápidamente hasta juntarse con alguna de las llegadas en dirección opuesta ; fórmase así un cordón intervascular, primero sólido, pero que no tarda en ahuecarse á impulsos de la corriente sanguínea que bate insistentemente sus extremos.

Todas las fases de este curioso proceso se pueden observar en una misma preparación : así se ven, á menudo, tubitos canalizados á medias, es decir, tabicados aún por un tapón protoplasmático que tiembla á impulsos de la corriente (fig. 197, B) y numerosas puntas más ó menos macizas (A, C), algunas de las

que (D), por consecuencia de la blandura de la pared, dejan escapar algunos leucocitos y hematíes. Terminada la canalización, se individualiza el protoplasma, segmentándose en territorios endoteliales, cada uno de los que corresponde á un núcleo del cordón. El crecimiento de los vasos se verifica por excisión de las células preexistentes. En el mesenterio y epiploón del gato,

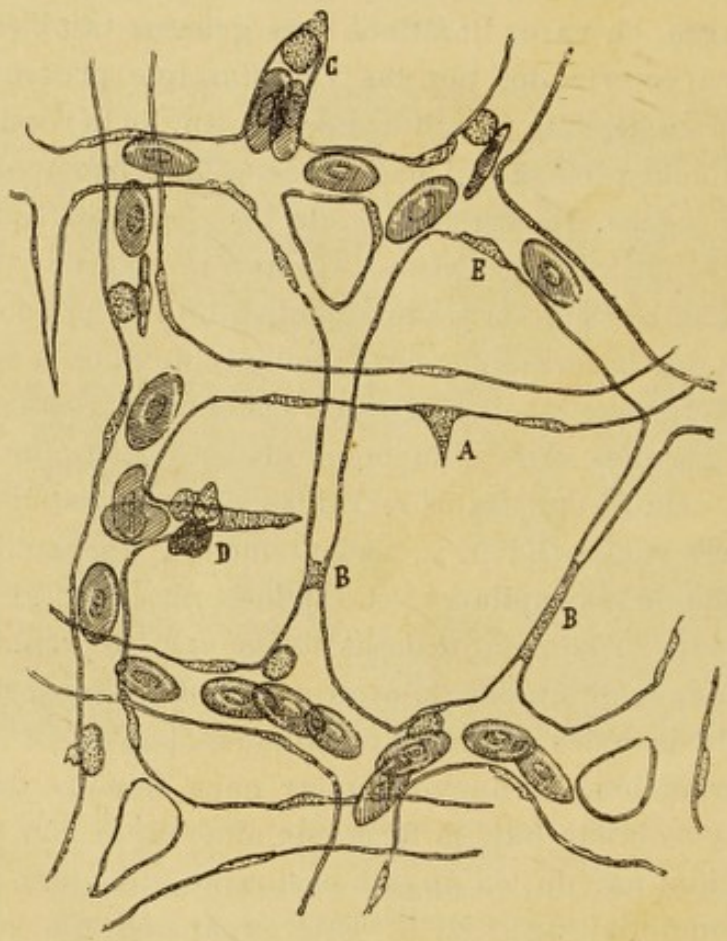


Fig. 197.—Capilares sanguíneos en vías de crecimiento de las expansiones membranosas de la cola del renacuajo. Examen en vivo.—A, punta de crecimiento; B, puentes protoplásmicos sin ahuecar; D, punta de crecimiento por donde se extravasa un hematíe y dos leucocitos.

es muy frecuente ver kariokinesis, tanto en los núcleos de los capilares en formación, como en los completamente terminados.

Tejido de las arterias. — La pared arterial exhibe una composición algo variable según el calibre y situación del vaso. En general, pueden admitirse en ella tres túnicas: una *externa*, conectiva ó adventicia y eminentemente extensible; otra *media*,

musculo-elástica, friable y más ó menos contráctil; y otra *interna*, elastico-endotelial, lisa, delgada, que limita la corriente sanguínea. La túnica media es la que presenta más variaciones, tanto en espesor como en estructura, según el calibre del vaso. En las pequeñas arterias, consta especialmente de fibras musculares lisas, mientras que en las gruesas se compone casi exclusivamente de tejido elástico; de aquí la conveniencia de distinguir dos tipos de tejido arterial: *arterias pequeñas* ó musculares; *arterias gruesas* ó elásticas.

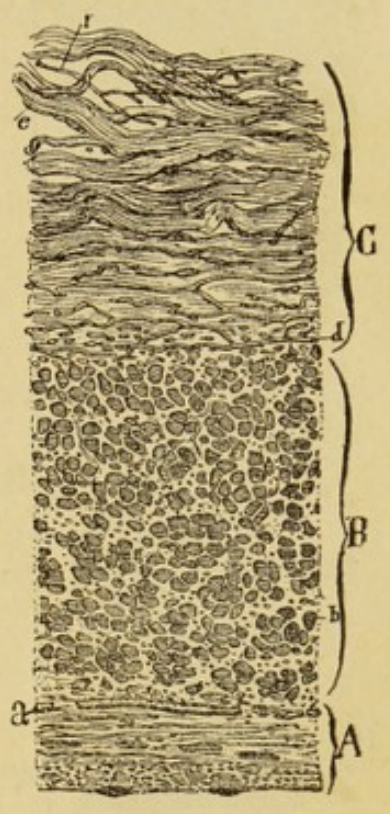


Fig. 198. — Corte longitudinal de la arteria facial. A, capa interna; B, capa media; C, capa externa; *a*, membrana elástica perforada; *b*, corte de una fibro-célula muscular; *d*, fibras elásticas de la capa externa; *e*, fascículo conectivo de la capa externa.

Arterias musculares. — Corresponden á este tipo todas las arterias cuyo calibre no excede del de la radial (pedia, radio-palmar, facial, hepática, etcétera).

La *túnica externa* consta de fascículos conjuntivos orientados en todas direcciones, pero principalmente en la perpendicular al eje del vaso. Los fascículos están separados por células conectivas aplanadas y por numerosas redes elásticas, que se concentran particularmente en la parte más interna de la adventicia. Las fibras elásticas se orientan en gran parte transversalmente al eje vascular, por lo que aparecen en los cortes transversales bajo la forma de un punteado brillante (figura 198, *d*).

En algunas arterias (dorsal del pene, esplénica, mesentérica, renal, uterina, etc.), ofrece también la túnica externa algunas fibras musculares lisas, longitudinalmente dispuestas.

La *túnica media* está construída por un cemento homogéneo ó ligeramente estriado, en cuyo seno hállanse englobadas algu-

nas redes elásticas finas, y, sobre todo, un considerable número de fibras musculares lisas transversalmente orientadas. Los cortes longitudinales presentan estas fibras seccionadas de través, bajo la forma de campos poligonales ó redondeados de extensión desigual é irregularmente agrupados. Los más extensos de estos campos (que corresponden á la porción gruesa ó ecuatorial de las células musculares) exhiben núcleos (véase la fig. 198, *b*).

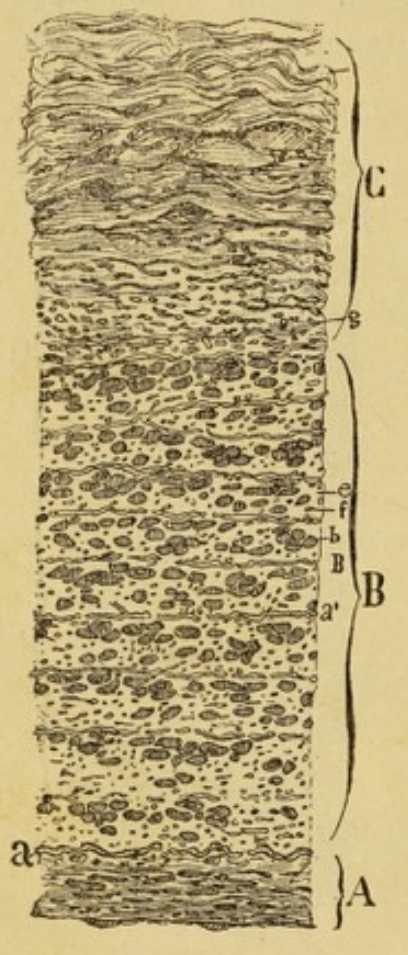


Fig. 199. — Corte longitudinal de la arteria subclavia. — A, capa interna; B, media, y C, externa; *a*, membrana elástica más interna; *a'*, membranas elásticas más delgadas de la capa media; *b*, fibra muscular cortada de través; *e*, materia amorfa; *f*, sección de una fibra elástica; *g*, fibras elásticas de la capa externa.

La *túnica interna* ofrece de dentro á fuera: el endotelio formado de elementos peculiares ligeramente abultados al nivel del núcleo; una substancia fundamental vagamente estriada á lo largo y cruzada por algunas fibras elásticas delicadas; y una membrana elástica gruesa, perforada (*membrana fenestrada*) que sirve de valla separatoria entre las túnicas media é interna.

Esta membrana elástica, que tiene gran tendencia á plegarse longitudinalmente, aparece fuertemente ondulada en los cortes transversales.

Arterias elásticas. — A este tipo corresponden todas las gruesas desde el calibre de la humeral en adelante.

La *adventicia* se presenta en estas arterias rica en tejido conjuntivo y fibras elásticas. Entre los haces más externos, alójanse á menudo células adiposas y vénse acá y acullá algunos capilares sanguíneos (*vasa vasorum*). Las fibras elásticas se reunen, á veces, en tan gran número junto á la túnica media, que casi se justifica su individualización en una nueva capa (*elástica* de Henle).

La *túnica media* es notablemente espesa, constituyendo en gran parte la pared vascular. En ella se advierte, á más de la materia amorfa ya mencionada, y las redes elásticas entremezcladas de escasas fibras musculares transversales, multitud de membranas elásticas fenestradas, gruesas, dispuestas concéntricamente, pero á cierta distancia, limitando espacios anulares rellenados por los otros elementos (fig. 199, *a'*). Cuanto mayor es el calibre de la arteria, más abundan las membranas y las fibras elásticas y menos los elementos contráctiles. Según Bardeleben, á más de las fibras musculares transversales, hallaríase también en el límite interno de esta túnica un estrato longitudinal de las mismas.

La *túnica interna* ofrece espesor mucho mayor que en las pequeñas arterias y comprende de dentro á fuera: primeramente el endotelio; más hacia afuera una zona espesa, finamente estriada á lo largo, con todos los caracteres de los fascículos conjuntivos; en ella yacen sumergidas células estrelladas, análogas á las corneales, provistas de un núcleo alargado ú ovoideo (*capa sub-epitelial, capa estriada* de la *interna* de Kölliker); más hacia afuera, adviértense numerosas fibras elásticas finísimas y dispuestas en redes de mallas longitudinales; y, por último, en contacto con la túnica media, hállase la membrana elástica fenestrada, que se distingue de las de aquélla por su mayor robustez y por sus plegaduras longitudinales (fig. 199, *a*).

Estructura de las venas. — Consta también la pared de estos vasos de tres túnicas, cuya disposición, á diferencia de la de las arterias, varía poco con los distintos calibres. En cambio, puede afirmarse que cada vena, por razón de su posición y de las particulares funciones que desempeña, presenta una estructura particular.

En general, cabe afirmar que la *túnica adventicia* es la más gruesa é importante, componiéndose de fascículos conectivos, redes elásticas y algunas fibras musculares longitudinales; que la *media* consta de substancia amorfa cruzada por redes elásticas y escasas fibras musculares transversales; y que la *interna* resulta de la asociación de un endotelio de células alargadas, con una materia estriada á lo largo y algunas redes elásticas delicadas.

Ganglios linfáticos. — Son órganos globulosos ú ovoideos de consistencia parenquimatosa, situados en el trayecto de los vasos linfáticos gruesos, y especialmente constituídos de tejido citógeno ó adenoideo.

Cuando se examina al microscopio un corte ganglionar, previamente descargado, á beneficio del pincel, de los leucocitos que llenan sus espacios cavernosos, se nota que toda la trama ganglionar se reduce á dos partes : el *estroma conjuntivo* y las *formaciones citógenas.*

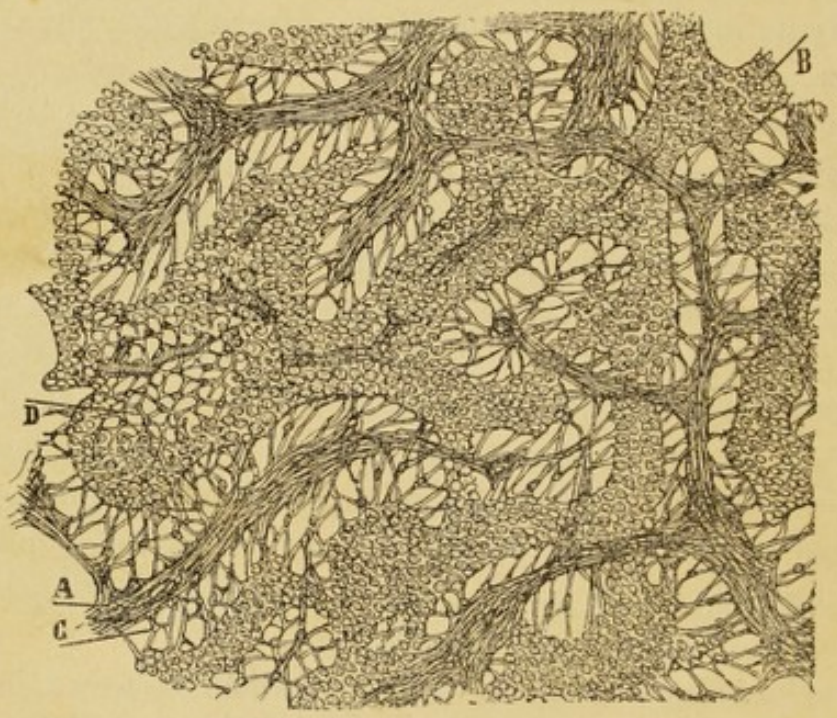


Fig. 200.— Corte, tratado por el pincel, de la región medular de un ganglio de carnero.—A, tabique conjuntivo ó del estroma ; B, cordón medular anastomosado en red ; C, fibras conectivas del sistema de suspensión ; D, red filamentosa de un cordón medular en que el pincel arrastró casi todos los elementos englobados en ella.

Estroma. — Imagínese una cápsula conjuntiva rodeando completamente el ganglio, de la cual parten interiormente trabéculas fasciculadas, ya acintadas, ya cilíndricas, divididas y subdivididas repetidas veces para separar un sistema de cavidades irregulares ampliamente comunicantes entre sí. Semejantes trabéculas, que están construídas de fascículos y células iguales á las del tejido conectivo laxo, son más gruesas y hállanse más

distantes unas de otras en la región cortical del ganglio, donde alojan las prolongaciones más voluminosas del tejido citógeno (folículos linfáticos). A menudo, está el estroma reforzado por fibras musculares lisas, y siempre encierra fibras elásticas y arterias y venas voluminosas (fig. 200).

Substancia adenoidea. — La formación citógena ó adenoidea yace en las cavidades del estroma, constituyendo un sistema de cordones irregulares, macizos y anastomosados entre sí, los cuales, después de llenar casi todo el espesor del ganglio, se terminan en la zona cortical por gruesas dilataciones libres, de forma globulosa ó piriforme. A las expansiones citógenas anastomosadas del centro ganglionar, se las conoce con el nombre de *cordones medulares;* y con el de *folículos linfáticos* ó el de nódulos corticales, á las porciones libres ensanchadas de la misma substancia residentes en la zona cortical. El diámetro de los folículos oscila generalmente entre 0'5 y 1 milímetro, y el de los cordones medulares entre 0'02 y 0'1. Existen, por lo demás, grandes variántes de dimensión en los diversos animales.

La trama de los folículos linfáticos, así como la de los cordones medulares, está formada, en todo su espesor, de tejido citógeno (véase la pág. 247), es decir, de una fina red conectiva cuyas mallas están rellenadas por corpúsculos redondeados. Contiene además numerosos capilares sanguíneos cuyas paredes espesas, reforzadas por una túnica adventicia, reciben la inserción de los finos fascículos citógenos (figs. 187, A, y 200).

Espacios linfáticos. — Entre el estroma y las masas citógenas descritas, existen unos espacios cavernosos, continuos en todo el grosor del ganglio, en los cuales desaguan los linfáticos aferentes y toman origen los eferentes. La disposición de estas oquedades es tal, que á pesar de su complicada extensión, jamás las trabéculas del estroma tocan las formaciones adenoideas. A fin de conservar una situación siempre central en las lagunas del armazón, las partes citógenas hállanse sostenidas por delicadas trabéculas de tejido conjuntivo, las cuales, partiendo de la superficie de los folículos y de los cordones medulares con cuya delicada red conectiva se continúan, vienen á insertarse y perderse en los haces conjuntivos del estroma. Este sistema de

suspensión, unas veces está representado por fascículos rectos insertos casi perpendicularmente en las superficies próximas del estroma y cordones citógenos, y otras por hacecillos ramificados, y aun anastomosados en red de flojas mallas (véase la figura 200, C). Cada uno de estos finos fascículos, así como todas las superficies limitantes de los espacios linfáticos, se hallan revestidos de un delicado endotelio, como se muestra claramente en los

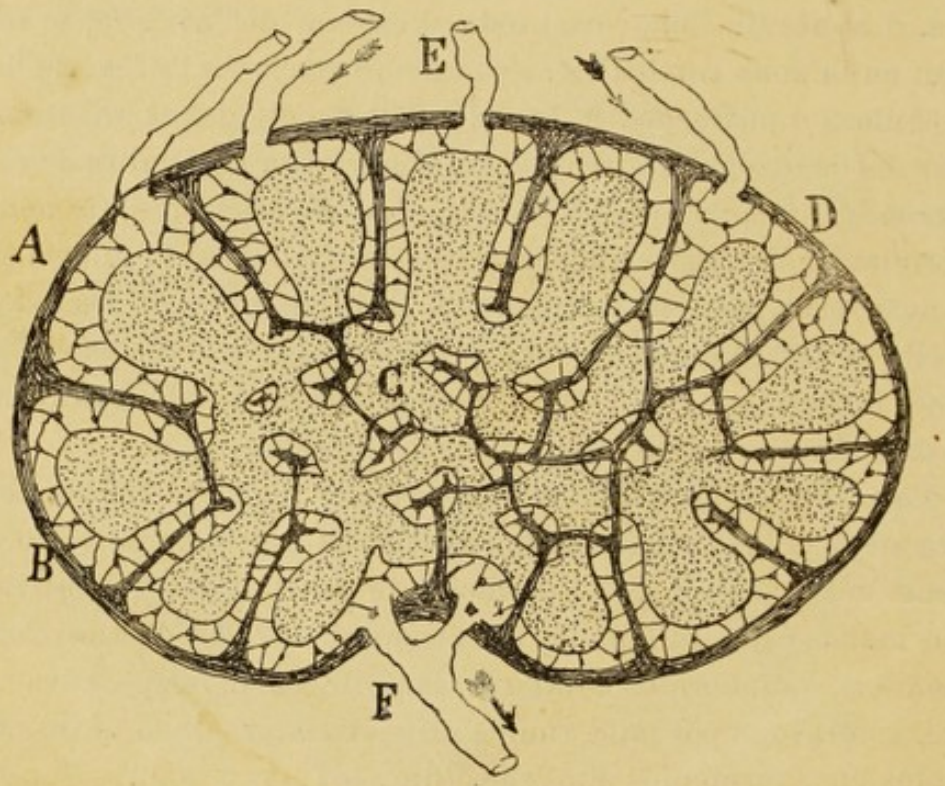


Fig. 201. — Esquema de la estructura del ganglio linfático y de las relaciones de éste con los vasos aferentes y eferentes.—A, cápsula y tabiques conectivos ; B, folículos de tejido citógeno ; E, vasos linfáticos aferentes ; F, vaso linfático eferente ; C, cordones linfáticos de la substancia medular.

ganglios linfáticos inyectados con nitrato de plata. Los núcleos que se advierten pegados á las trabéculas del *sistema de suspensión* en los cortes pincelados de ganglio, pertenecen á las células endoteliales que las revisten. Por lo demás, este endotelio es simple continuación del de los vasos linfáticos aferentes y eferentes, como los espacios que limitan representan también una verdadera dilatación cavernosa de la cavidad de los mismos.

El ganglio posee generalmente una disposición reniforme. Por el lado de la convexidad penetran en número de dos á cuatro los vasos linfáticos aferentes; y por la depresión ó íleo ganglionar emergen los eferentes, que son siempre menos numerosos. La corriente linfática se derrama primero en el sistema cavernoso perifolicular, arrastra á su paso muchos de los elementos citógenos que quizás atravesaron, merced á sus movimientos activos, el endotelio de los cordones adenoideos, y alcanza por fin, concentrándose, la región del íleo y la cavidad de los linfáticos eferentes (fig. 201).

Bazo. — Esta víscera consta también muy principalmente de tejido citógeno, sólo que sus trabéculas, en vez de estar, como en los ganglios, bañadas por la corriente linfática, lo son por la sanguínea. De aquí el nombre de *glándula linfatico-sanguínea* que le ha dado Frey.

En el bazo hay que estudiar cuatro partes principales: el *estroma conectivo*, las *formaciones citógenas*, los *espacios cavernosos* y la *pulpa esplénica*.

Estroma. — Está representado, en primer término, por una cubierta de tejido conectivo laxo, entremezclado de fibras elásticas y reforzado por elementos musculares lisos, la cual, después de aforrar todo el órgano, se continúa al nivel del íleo con las túnicas adventicias de los vasos esplénicos. De la superficie interna de la cápsula parten trabéculas conectivas que se ramifican y anastomosan entre sí, limitando un sistema de cavidades comunicantes, donde se alojan los elementos de la pulpa ó barro esplénico. Estas trabéculas insértanse también en la cubierta conectiva gruesa que poseen los vasos sanguíneos, particularmente los venosos. Al igual de la cubierta general esplénica, encierran también tales tabiques fibras conectivas, musculares y elásticas.

Formaciones citógenas. — Las mallas que resultan entre los tabiques conectivos del estroma están divididas en otras mucho más menudas y numerosas, pero no ya por fascículos conjuntivos ordinarios, sino por cordones citógenos, en un todo comparables á los adenoides de la región medular de los ganglios linfáticos. Cada cordón de éstos consta, pues, de un armazón de

finísimos haces conectivos dispuestos en red cerrada y de numerosos corpúsculos encerrados en sus mallas.

De trecho en trecho, vense también en medio de estas redes citógenas unos cuerpos globulosos, de un tamaño variable entre 2 y 6 décimas de milímetro, que se conocen con el nombre de *corpúsculos* de Malpigio. Tales cuerpos, que pueden compararse en un todo con los folículos linfáticos, están construídos también de tejido citógeno. Cada uno de ellos es atravesado por una arteria que les provee de capilares, y por su circunferencia se continúan con los cordones adenoides de la pulpa (fig. 202).

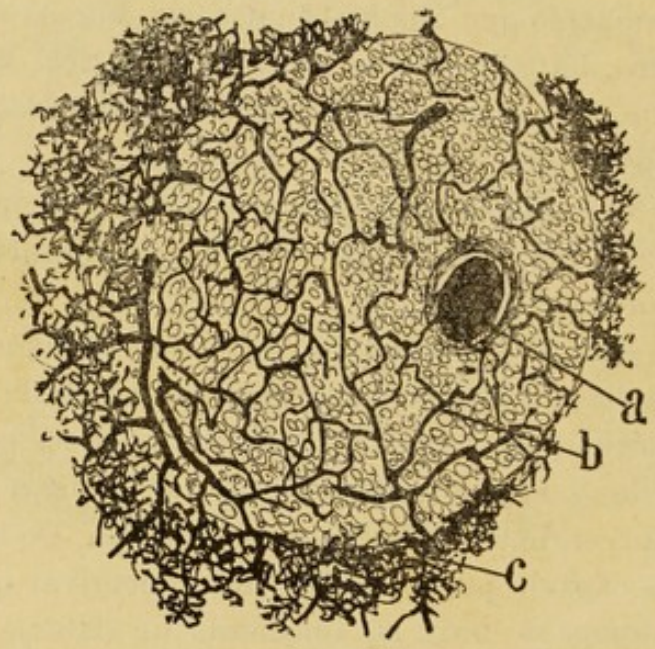


Fig. 202. — Corte de un corpúsculo de Malpigio del bazo de conejo. Inyección vascular por el carmín.

Participan igualmente de la textura adenoide las túnicas vasculares. Las ramas de la arteria esplénica se cubren, como ya hemos dicho, desde el momento en que ingresan en el parénquima, de una cubierta conjuntiva densa : al principio, este revestimiento ofrece los caracteres del tejido conectivo laxo, pero pronto cambia de aspecto ; sus trabéculas se adelgazan, y las lagunas interpuestas se llenan paulatinamente de corpúsculos linfáticos. Cuando las ramitas arteriales alcanzan un diámetro menor de una décima de milímetro, la túnica adventicia está

completamente transformada en tejido citógeno, transformación que alcanza en parte á la túnica media. De la superficie de semejante cubierta adenoidea surgen, de trecho en trecho, gruesas elevaciones, que no son otra cosa que los citados corpúsculos de Malpigio, y multitud de expansiones citógenas continuadas con los cordones anastomosados de la pulpa.

Sobre las paredes venosas se deposita asimismo el tejido adenoideo : las gruesas venas yacen en vaina común con las arterias ; mas tan pronto como aquéllas se ramifican, apártanse de éstas, adquiriendo cubierta adenoide propia que no dura mucho, pues á poco espacio se resuelve en multitud de trabéculas adenoides continuadas con los cordones pulposos de toda la trama citógena del bazo.

En resumen ; las formaciones citógenas del bazo son : los corpúsculos de Malpigio, las paredes venosas y arteriales transformadas, y los cordones anastomosados de las cavidades de la pulpa, partes todas unidas en sistema continuo y limitando espacios donde se aloja la pulpa ó barro esplénico.

Espacios cavernosos.—Están representados por los huecos que resultan entre los cordones citógenos, las superficies del estroma conjuntivo, los corpúsculos de Malpigio y las túnicas vasculares. Estas lagunas hállanse en recíproca comunicación, y se continúan, de una parte, con la cavidad de las pequeñas arterias, y de otra con la de las últimas ramificaciones venosas. Un epitelio de células peliculares delicadísimas reviste todo este vasto sistema lacunario, donde circula la sangre mezclada con los elementos especiales de la pulpa.

Pulpa esplénica. — Cuando se exprime un pedazo de tejido cavernoso esplénico, queda en libertad un líquido espeso, rojizo, á que se ha dado el nombre de *barro esplénico.* Convenientemente diluído en fresco en el licor sodo-metílico, ofrece este barro multitud de elementos, entre los que figuran como formas principales : 1.ª Gran número de hematíes ordinarios. 2.ª Multitud de esférulas hialinas, teñidas unas por la hemoglobina, absolutamente incoloras otras, que parecen desechos de hematíes. 3.ª Células esferoidales, de 4 á 6 μ de diámetro, formadas casi exclusivamente del núcleo, pues apenas si en torno de ellas se

descubre vestigio de protoplasma; tales elementos son acaso los más numerosos de la pulpa esplénica. 4.ª Células gruesas, esféricas, de contorno limpio, provistas de un núcleo globuloso y robusto y de un protoplasma casi homogéneo y tingible en violeta por el violado de metilo; á menudo se muestran en kariokinesis. Por la hialinidad de su protoplasma, así como por su perfecta redondez, son estas células comparables con las hialinas y semihialinas de la médula ósea y tejido citógeno (*eritroblastos*). 5.ª Corpúsculos rojos de Neuman, es decir, células rojas nucleadas, enteramente iguales á las de la médula ósea. 6.ª Leucocitos de varias formas y tamaños, ricos en granulaciones brillantes colorables por las anilinas; algunos de los más voluminosos contienen trozos de glóbulos rojos y aun hematíes completos. 7.ª A veces se hallan en la pulpa esplénica células gigantes semejantes á las mieloplaxias.

Como acabamos de ver, todos estos elementos tienen gran semejanza con los de la médula ósea, y no parece aventurado suponer que en el bazo, como en esta última, se engendran glóbulos rojos y quizá los mismos leucocitos. Pero al lado de esta actividad creadora hay que admitir una función de destrucción y desintegración de los hematíes. Pruébanlo la gran cantidad de pedazos hemoglóbicos que pululan por el barro esplénico y la existencia constante de leucocitos portadores de desechos globulares.

CAPITULO XIV

TEJIDO PILOSO Y UNGUEAL

Definición.—El tejido piloso es una trama dura, elástica, asociación del tejido epidérmico y conjuntivo, y modelada en unos órganos filamentosos, flotantes en la atmósfera por su cuerpo y extremidad periférica, é implantados por su raíz en un hueco ó bolsa de la piel.

Caracteres físicos y macroscópicos.—El pelo cubre casi toda la superficie cutánea, sufriendo variaciones de color, cantidad y longitud, según la región, el sexo y la raza. La forma es, en general, cilíndrica ; en el pelo rizado es acintada. Por su longitud y espesor, se distinguen las variedades siguientes : 1.ª, el cabello ó pelo largo, cuya longitud oscila entre 5 centímetros y 1 metro, y que reside en la cara y cuero cabelludo ; 2.ª, el pelo corto, cuya longitud no suele pasar de 3 ó 4 centímetros, y habita en la axila, órganos genitales, región esternal, etc. ; 3.ª, el *lanugo* ó vello, cuya longitud varía entre 2 á 12 milímetros y reside en las mejillas, manos, brazos, etc. ; 4.ª, el pestañoso ó cerdoso, representado por pelos rígidos espesos, cortos, que bordean los párpados, forman las cejas y protegen las aberturas del oído externo y nariz.

Consta el pelo de *raíz* ó *bulbo*, *tallo* y *extremo periférico*. El tallo posee una forma uniformemente cilíndrica ; el cabo periférico está á menudo deshilachado ó hendido ; y la raiz, que reside en un hoyo del epidermis, se engruesa por su extremo inferior, que está provisto de una foseta destinada á recibir la papila.

Caracteres micrográficos.—El tejido del pelo comprende dos partes principales : el pelo propiamente dicho, y el folículo ó bolsa epidérmico-conectiva que lo contiene.

Folículo piloso. — Representa una bolsa formada de los mismos componentes que la piel : el *epidermis córneo*, el *cuerpo de Malpigio* y el *dermis*. De todos estos factores, sólo el epidermis córneo se continúa realmente con la raíz del pelo. Es forzoso, pues, pasar revista á estas tres formaciones cutáneas del folículo que, de fuera á adentro, son : la *capa conjuntiva*, la *vaina externa de la raíz* ó cuerpo de Malpigio y *la vaina interna de la raíz* ó epitelio córneo.

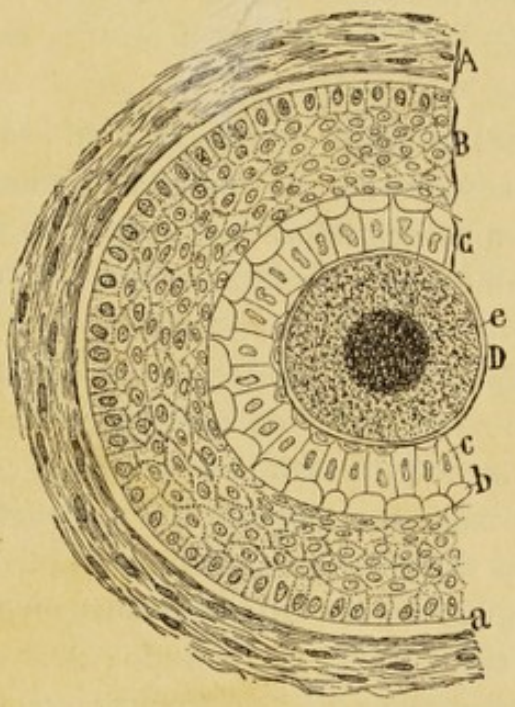


Fig. 203. — A, vaina conectiva del folículo piloso ; B, vaina externa de la raíz ; C, vaina interna de la misma ; D, pelo ; *a*, membrana vítrea ó basal ; *b*, vaina de Henle ; *c*, vaina de Huxley.

a) *Vaina conjuntiva.* — El tejido conectivo del dermis, se prolonga alrededor del folículo piloso, constituyendo una membrana fibrosa densa, bien separada hacia afuera del tejido conectivo laxo ó subcutáneo. Un corte fino de esta membrana permite reconocer tres estratos : el fibroso externo, el fibroso medio y la capa vítrea ó basal.

El *estrato externo* es delgado, y consta de hacecillos conectivos, dispuestos en redes generalmente transversales, y cuyas lagunas contienen células conjuntivas fijas, estrelladas y en un todo semejantes por sus expansiones y anastomosis á los corpúsculos de la córnea. Entre los haces, y particularmente en el límite externo del estrato, se advierten muchas fibras elásticas.

El *estrato interno* es más espeso y denso que el externo ; sus haces poco aparentes se asocian en membranas cilíndricas apretadas ; las células, de núcleos alargados transversalmente, han sido por algunos consideradas como musculares (Bonnet); en realidad, son elementos conectivos, aplastados y dotados de expansiones coloreables por el cloruro de oro (fig. 203, A).

La *membrana vítrea* ó basal es una capa brillante, homogénea, de 2 á 3 μ de espesor, que separa limpiamente la vaina conjuntiva de la formación epitelial del folículo; el carmín la tiñe de un rosa pálido y resiste á los ácidos y álcalis. Por arriba, la membrana vítrea se confunde con el dermis más superficial; hacia abajo, se adelgaza acabando al nivel del remate de la vaina externa de la raíz. Es probable que dicha capa vítrea represente un producto secretorio del cuerpo de Malpigio ó vaina externa epitelial del folículo.

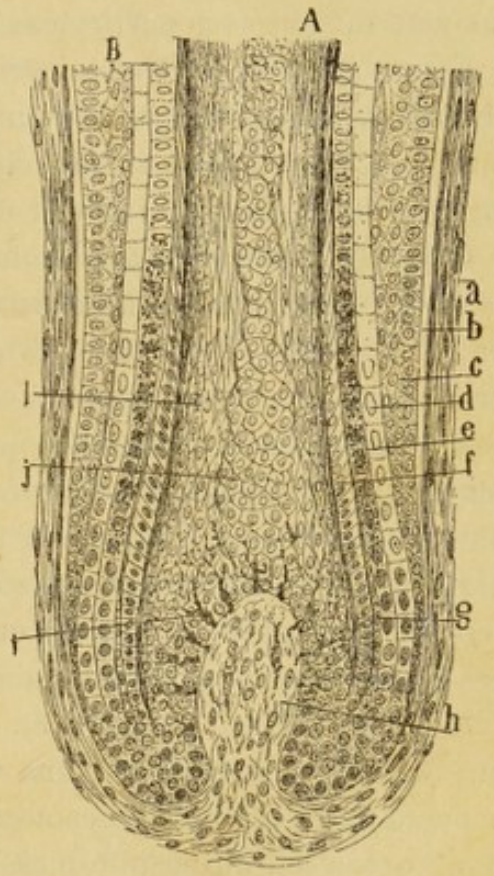


Fig. 204. — Corte longitudinal del folículo piloso. — A, pelo; B, folículo piloso; *a*, vaina conjuntiva; *b*, capa vítrea; *c*, vaina externa de la raíz; *d*, capa de Henle; *e*, capa de Huxley; *f*, cutícula del pelo; *g*, cutícula de la vaina; *h*, papila del pelo; *i*, células pigmentarias de la raíz; *j*, región medular de la raíz; *l*, región cortical de la misma.

b) *Vaina externa de la raíz.* — Con este nombre se designa una prolongación folicular del cuerpo de Malpigio ó porción viva del epidermis, la cual se adelgaza de arriba abajo, hasta terminar libremente en frente de la papila (fig. 204, *c*). Consta de varios estratos de células granulosas, provistas de núcleo y unidas entre sí por hilos comunicantes. El estrato más externo presenta corpúsculos alargados comparables á los de la capa germinal de la piel; los estratos medios exhiben elementos poliédricos, y el interno células aplanadas, pero sin granos de eleidina. En el cabo inferior de la vaina externa, las hileras celulares se reducen á dos y luego á una, en la cual se observan signos inequívocos de atrofia.

c) *Vaina interna de la raíz* (fig. 203, C). — Es una formación

epitelial diáfana, incolorable por el carmín, ávida del ácido pícrico y continuada con la zona córnea del epitelio cutáneo.

No tapiza esta vaina toda la raíz del pelo, sino exclusivamente su parte media é inferior; hacia arriba, sus elementos se disgregan, dejando en torno del pelo un espacio vaginal, donde se vierte la secreción sebácea; por abajo se confunde con las células más inferiores y periféricas de la raíz del pelo.

Esta cubierta epitelial consta de tres zonas : la de Henle, la de Huxley y la cutícula de la vaina. Estas zonas, confundidas en lo alto bajo un aspecto casi homógeneo, resultan bien deslindadas en la porción media é inferior del folículo piloso.

Capa de Henle.—Es una membrana homogénea, de 6 á 8 μ de espesor, situada inmediatamente por debajo de la vaina externa del folículo. Por abajo, esta capa posee células cuboideas, granulosas, provistas de núcleo ; pero, á medida que éstas ocupan planos más superficiales, pierden el núcleo, se alargan en sentido longitudinal, y adquieren un aspecto homogéneo y brillante. Esta nueva apariencia se debe á su transformación en keratina. Vistas de plano tales células, muestran, á veces, unos resquicios ó junturas, por las cuales se insinúan algunos apéndices de los corpúsculos de la zona de Huxley (fig. 204, *d*).

Capa de Huxley (fig. 204, *e*). — Es concéntrica á la anterior y más espesa, constando alguna vez de dos hileras celulares. El aspecto de las células de esta capa varía con la altura que ocupan ; cerca del bulbo piloso, se diseñan bajo la forma de unos corpúsculos cuboideos, granulosos y obscuros, los cuales, á medida que ocupan planos más superficiales, se cargan de tal cantidad de esferas de eleidina, que es casi imposible discernir el núcleo y protoplasma ; más arriba aún, las células se alargan divergiendo hacia la raíz, pierden la eleidina, se keratiniza el protoplasma, y el conjunto de la vaina toma la apariencia de la capa de Henle. Una diferencia la separa, no obstante, de esta zona : la persistencia de los núcleos, los cuales pueden descubrirse hasta en el tramo superior de la vaina de Huxley, bajo la forma de vesículas pálidas, encogidas é incolorables por el carmín.

Cutícula de la vaina.—Cuando se examina la raíz de un pelo

seccionada á lo largo, se advierte una banda estrecha y brillante, entre el epidermis del pelo y las células de Huxley. Esta capa, keratinizada en casi toda su extensión y difícil de resolver en sus células componentes, es la *cutícula de la vaina*. En el bulbo piloso está representada por una fila de elementos cúbicos, enanos, de 5 μ de largos por 3 de gruesos. Su núcleo es pequeño, elipsoideo y fuertemente colorable por los reactivos de la cromatina. Dichas células se keratinizan á nivel más inferior que las de Huxley, transformándose en escamas imbricadas. La cutícula alcanza aquí un espesor de 2 á 2 $^1/_2$ μ (fig. 204, *g*).

Tanto la vaina de Henle como las de Huxley y cutícula, se continúan inferiormente con las células indiferentes ó embrionarias de la raíz del pelo. Esta parte del bulbo, que podríamos llamar región germinal, consta de pequeñísimos elementos poliédricos, sumamente juntos, pobres en protoplasma y provistos de núcleo casi siempre en vía de mitosis. Las zonas periféricas de este foco germinal, proliferan incesantemente, produciendo corpúsculos que, empujados sucesivamente hacia arriba y diferenciándose progresivamente, engendran las vainas de Huxley, de Henle y cutícula. En cuanto á la porción interna de la región germinal ó indiferente, tiene á su cargo, como luego veremos, la formación y crecimiento de la raíz del pelo.

Tejido del pelo. — Trataremos del bulbo piloso y luego del tallo, pues la estructura varía notablemente en estas dos partes.

1.° *Bulbo.* — Es el ensanchamiento ovoideo en que termina la raíz por su extremo profundo. En los pelos gruesos y adultos, esta dilatación ofrece en su parte inferior una fosa cónica, semejante al fondo de una botella, donde se insinúa la papila, excrecencia conjuntivo-vascular de la túnica fibrosa del folículo. En los pelos atróficos y en la mayor parte de los delgados, el bulbo carece de depresión terminal, y por consiguiente, no hay papila.

Las células del bulbo piloso son pequeñas, poliédricas, y poseen un núcleo esférico, que llena casi todo el cuerpo celular. Los corpúsculos que contornean la papila difieren de los otros por su forma primitiva y por cierta orientación convergente (fig. 204, *i*).

Cuando se observan atentamente cortes longitudinales de bul-

bo de cabellos negros ó castaños, se advierte que entre los elementos de la hilera epitelial inferior ó limitante, yacen unas células obscuras, fusiformes ó estrelladas, con todas las apariencias de corpúsculos conjuntivos melánicos. Por sus expansiones periféricas, que son delgadas y á veces ramificadas, se insinúan entre los elementos del bulbo, y por su cuerpo ó gruesa extremidad tocan la superficie papilar. Semejantes elementos, conforme han demostrado las observaciones de Riehl, Aebi, Kölliker y las nuestras, son células conectivas emigrantes, elaboradoras de melanina, las cuales vienen del tejido conectivo inmediato, penetran en el bulbo, y cogidas y arrastradas por las células epiteliales pilosas, se fragmentan y desecan en la región cortical del pelo. A estos desechos melánicos, difundidos irregularmente por el tallo piloso, se debe el color del cabello, color que varía desde el blanco al negro, pasando por el rojo, el rubio y el castaño, según el número de células conectivas melánicas que penetraron en el bulbo, y en razón de la cantidad de melanina elaborada por éstas (1).

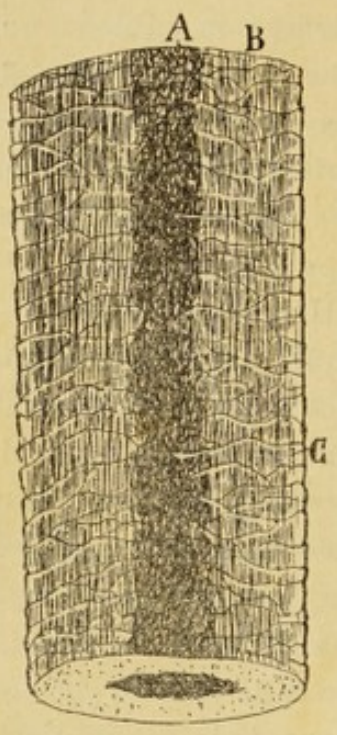


Fig. 205. — Trozo de un pelo examinado por su superficie. A, región medular; B, región central; C, células imbricadas del epidermis del pelo.

(1) En Junio del 86, fecha en que publicamos el tercer cuaderno de nuestro *Manual de histología*, cuaderno en que se contenía el tejido piloso y sanguíneo, creímos haber sido los primeros en descubrir el origen conectivo de las células melánicas del bulbo piloso. Estábamos en un error, pues informes posteriores nos enseñaron que semejante interpretación había sido ya dada por Riehl en 1884 (*Vierteljahrschr f. Dermatol. u. Syph.* 1884), y por Aeby en 1885 (*Med. Centralbl.*, núm. 16). El trabajo de Kölliker fue muy posterior al nuestro (1887). De todos modos, esta coincidencia en las conclusiones de trabajos hechos independientemente, refuerzan considerablemente la verosimilitud de la doctrina que acabamos de exponer.

2.° *Tallo piloso.*—Consta de tres capas epiteliales concéntricas, á saber : la cutícula ó epidermis del pelo ; la capa cortical, y la capa medular.

Cutícula.—Cuando se examina un pelo á lo largo, se nota que está recubierto de unas células anchas, delgadísimas, más ó menos cuadriláteras é imbricadas de modo que el borde inferior de las de arriba es subyacente al superior de las de abajo. El aspecto de estas líneas de imbricamiento, recuerda en un todo el dibujo del tallo de una palmera (fig. 205, *c*).

Hacia abajo, en la región del bulbo, la cutícula consta de células gruesas, cuboideas, continuadas con la región germinal ó porción indiferente de la raíz. Estas células son al principio horizontales, pero no tardan en aplanarse é imbricarse por consecuencia de la posición cada vez más oblícua que, con relación al eje del pelo, van tomando. Hasta cerca de la mitad de la raíz, conservan el núcleo ; luego desaparece éste, se keratiniza el protoplasma y la célula se transforma en finísima escama transparente (fig. 204, *f*).

Capa cortical del pelo. — Procede de la porción periférica de la región germinal ó indiferente del bulbo piloso. Las células, al principio poliédricas y pequeñas, se alargan longitudinalmente y ostentan núcleos muy visibles ; á medida que alcanzan planos más superficiales, el núcleo palidece y el protoplasma toma un aspecto filamentoso ; finalmente, los hilos de keratina del cuerpo celular se disponen longitudinalmente, pasan de una célula á otra y borran casi, con su aspecto brillante, la presencia del cemento intercelular (fig. 204, *l*).

Cuando estos corpúsculos corticales abordan la región del tallo, sufren una retracción que los convierten en prismas filamentosos sumamente delgados, pierden el núcleo, y el cemento de unión se presenta longitudinalmente surcado por series de granos melánicos y de burbujas de aire (fig. 205, B).

Médula del pelo.—De las células del bulbo que cubren el vértice de la papila proceden los elementos medulares. Distínguense de los corticales por su dirección, que es transversal, por su forma poliédrica más corta, por su núcleo elíptico dirigido de través, al revés del de las células corticales que yace á lo largo

del pelo, por no contener materia melánica intercelular, y sobre todo, porque el protoplasma que tales elementos contiene, aunque finamente reticulado, no se transforma en hebras gruesas, brillantes y longitudinales. No es raro ver estas células asociadas en grupos ó familias superpuestas, separadas á favor de una prolongación transversal de materia cortical. Es de notar, que tanto el núcleo como el aspecto granuloso del protoplasma, se conservan hasta mayor altura que en los elementos corticales; no obstante, hacia la mitad de la raíz, las células se achican, el núcleo se atrofia y el protoplasma se coarruga y keratiniza (*j*).

A veces, la substancia medular termina por una especie de fondo de saco dentro de la raíz, por manera que el resto del tallo piloso es sólido y homogéneo: esta es la regla general en el vello y en casi todos los cabellos jóvenes, cualquiera que sea su color. En los pelos gruesos y viejos, la materia medular se carga de pequeñísimas burbujas de aire, que pueden invadir toda la porción central del tallo, produciendo la impresión de un cilindro lleno de granulaciones melánicas. Entre estas pequeñísimas burbujas no puede reconocerse el menor vestigio de las células medulares.

Propiedades fisiológicas del tejido piloso.—Ese tejido carece de propiedades vitales en su tallo, pero no así en el bulbo, encima de la papila, cuyos elementos blandos y protoplasmáticos, son asiento de activa proliferación. Nútrense estas células por imbibición de los plasmas de la papila, y así se observa que cuando ésta falta ó se atrofia, el pelo cesa de crecer.

No se conocen nervios en el bulbo piloso, aunque es probable que existan como en el epidermis cutáneo y en el corneal.

El crecimiento del pelo se verifica desde la papila hacia la superficie cutánea. En este movimiento, sólo el bulbo y la vaina interna de la raíz toman participación; la externa, continuación de la capa malpigiana del epidermis, permanece indiferente, sirviendo como lecho ó canal de deslizamiento de la raíz del pelo.

Propiedades químicas. — Excepción hecha de las células del bulbo y las de la vaina externa de la raíz, los elementos pilosos están casi exclusivamente formados de keratina; por lo cual sus propiedades químicas son las de esta materia.

Cuando el pelo se macera por algún tiempo en ácido sulfúrico, la materia cortical se hincha y descompone en sus células constitutivas. Se desprenden primero las escamas de la cutícula pilosa, bajo la forma de láminas delgadísimas y cuadrilongas, y se desintegran después en largos filamentos prismáticos las células de la región cortical. Esta descomposición se acelera en el ácido sulfúrico caliente. La potasa y la sosa hinchan las células pilosas, concluyendo por disolverlas.

La cantidad de las cenizas que la combustión del pelo proporciona, alcanza de 0'54 á 1'85 por 100. Hállanse en éstas el *sulfato* y *fosfato de cal*, *óxido de hierro* y *sílice*. El *azufre* entra por un 4 ó 5 por 100. La materia colorante del pelo es probablemente la melanina. Cierta cantidad de grasa impregna la totalidad del tallo, prestándole la flexilidad y brillo que le son característicos. Por lo demás, esta materia dimana de las glándulas sebáceas, cuyo contenido se vierte en la entrada del folículo.

Desarrollo del tejido piloso.—Del tercero al cuarto mes, iniciase en el feto la formación de este tejido. Comienza en las cejas y cuero cabelludo por pequeños tubérculos ó grumos celulares, que surgen en la cara profunda del cuerpo de Malpigio de la piel. Estos grumos adquieren la configuración de apéndices piriformes, algo más anchos en su porción profunda que en su región superficial. En torno de ellos aparece un tejido mucoso construído á expensas del dermis, que será con el tiempo la capa conjuntiva del folículo. En la masa celular del apéndice piriforme se inicia una diferenciación en dos zonas: una periférica (vaina externa de la raíz) y otra central, de forma cónica, con la punta dirigida hacia fuera, que no es otra cosa que el pelo embrionario y su raíz.

Este pelo rudimentario sufrirá luego una diferenciación en dos zonas: una clara y brillante, situada periféricamente y correspondiente á la vaina interna de la raíz; otra interna más obscura, que será el pelo propiamente dicho. Al propio tiempo, y antes que el pelo brote, el tejido conectivo inmediato se vascullariza, y en el bulbo piloso penetra una papila provista de capilares sanguíneos.

Regeneración del tejido piloso. — El pelo, una vez formado,

tiene una duración limitada, y tarde ó temprano cae por desaparición de la papila y absorción de toda la parte profunda del bulbo y sus cubiertas. Cuando se practica un corte del cuero cabelludo del hombre adulto, encuéntranse siempre al lado de pelos robustos, cabellos atróficos á punto de desprenderse.

Estos cabellos carecen de bulbo, es decir, de germen epitelial piloso y yacen en una masa espesada, formada por la vaina externa de la raíz ó cuerpo de Malpigio del pelo. Debajo del pelo atrófico, dicha vaina se prolonga y se termina en un abultamiento redondeado, que no tarda en ser deprimido en fondo de botella por una nueva papila dérmica. En el espesor de este cordón epitelial macizo y subpiloso es donde, á beneficio de diferenciaciones, se engendrará el nuevo folículo piloso, así como el pelo de regeneración, que brotará en cuanto el caduco se desprenda.

TEJIDO DE LAS UÑAS

Las uñas son órganos laminares, cuadrilongos, formados exclusivamente por el epidermis córneo de la piel engrosado y condensado de un modo especial. Alójase este tejido en un surco semicircular, más hondo por detrás que por los lados, ofrecido por el epidermis de la cara dorsal de los dedos.

Consta la uña de dos formaciones: la córnea ó superficial, y la *matriz* ó cuerpo de Malpigio.

La *formación corneal* consta de muchas capas de células aplastadas, transparentes y duras, que contienen un núcleo discoideo más ó menos atrofiado. Examinadas estas células en fresco, no dejan ver ningún detalle, pero si se las trata primero con la potasa ó la sosa, se hinchan y redondean como las células epidérmicas, revelando una membrana y vestigios de un núcleo. Nótanse al nivel de los bordes celulares ciertas asperezas y granulaciones que nos parecen vestigios de los filamentos de unión.

El *cuerpo malpigiano* de la uña presenta los caracteres del de la piel, con el que se continúa al nivel de los surcos laterales de aquélla y de la extremidad del dedo. Unicamente es de notar que el epitelio interpapilar no forma, como en la piel, mamelones irregulares, sino crestas antero-posteriores, que se alo-

jan en espacios interpapilares de la misma dirección. A consecuencia de esta disposición, los cortes antero-posteriores de la uña muestran el epitelio unido en línea recta con el dermis, en tanto que las secciones transversales ofrecen la configuración en serreta propia de la piel. Las células son poliédricas y más pequeñas y granulosas cerca del dermis que en las capas superficiales. Los filamentos comunicantes son gruesos y sumamente numerosos, particularmente en la proximidad del epidermis córneo, donde, como hacen notar Unna y Kölliker, dan en las secciones perpendiculares la apariencia de inclusiones granulosas intra-protoplásmicas. De aquí el error de Ranvier, que tomó dicho aspecto como indicio de la presencia de su pretendida *oniquina*.

La zona córnea de la uña puede compararse por su dureza, transparencia y brillantez al *estrato lúcido* de la piel. Falta la capa córnea superficial, la formada de escamas brillantes sin núcleo. No sucede lo mismo en la época embrionaria. Sobre la uña propiamente dicha, se halla una zona córnea floja, análoga al epidermis superficial cutáneo y designada *hiponiquión ;* pero del quinto al sexto mes de la vida fetal se desprende y queda la zona lúcida al descubierto.

CAPÍTULO XV

TEJIDO TEGUMENTARIO

Definición. — Desígnase *tejido tegumentario* á la trama membranosa que reviste las superficies limitantes del organismo, y que resulta de la mezcla del tejido epitelial con el conectivo y vascular.

Es preciso distinguir desde luego dos clases de tegumentos: el *cutáneo* y *el de las mucosas.*

TEGUMENTO EXTERNO Ó CUTÁNEO

Caracteres macroscópicos. — La piel es una cubierta elástica semitransparente, que tapiza las superficies exteriores del cuerpo y se continúa con las mucosas ó tegumento interno, al nivel de las aberturas naturales.

El color de esta membrana varía según las razas, desde el negro al blanco, pasando por el moreno y el amarillento. El matiz moreno que la piel ofrece en ciertas regiones, así como el color obscuro de los individuos de raza negra, se debe á la existencia, en el espesor del dermis, de células conectivas melánicas. El espesor del tegumento es también harto variable: delgado en la mejilla, brazo, pene, etc., alcanza algunos milímetros de espesor en la planta del pie y pulpejo de los dedos. Sus superficies no son lisas: la externa, aparte de los pelos y del lanugo que la erizan, exhibe numerosas eminencias circuídas por surcos poligonales; en la planta del pie y palma de la mano las elevaciones superficiales adquieren disposición de crestas paralelas ú ondeadas, en cuyas cúspides se advierten los orificios de las glándulas sudoríparas.

Por su cara interna, la piel se adhiere íntimamente á las apo-

neurosis, cartílagos y huesos, menos en ciertos sitios en que aparece como despegada de estos órganos, mediante extensas cavidades serosas (*bolsas serosas subcutáneas*).

Caracteres micrográficos. — Examinado un corte perpendicular de la piel se advierten, aun á simple vista, dos zonas : una semitransparente y superficial, el *epidermis ;* otra más opaca y gruesa, el *dermis* ó *corion.*

a) **Dermis.**—Esta formación resulta de la agregación y entretegimiento del tejido conectivo, los vasos sanguíneos y linfáticos, las glándulas sudoríparas y sebáceas, y los folículos pilosos. El principal factor es el tejido conectivo laxo, el cual, por ofrecer densidad diversa en sus distintos planos, se ha dividido en dos estratos : *dermis superficial* y *tejido conectivo subcutáneo.* Este último contiene comunmente en sus mallas células adiposas, y toma la designación de *panículo adiposo* (véase *tejido adiposo*).

Dermis superficial. — Consta de hacecillos conectivos orientados en todos sentidos, aunque dominando el perpendicular á la piel. Entre estos hacecillos yacen las células fijas y emigrantes, y una gran cantidad de fibras elásticas, ya sueltas, ya anastomosadas, fácilmente revelables por el ácido acético.

El dermis superficial se subdivide en *papilar y reticulado*, es decir, en externo é interno.

El *dermis papilar* ha recibido esta designación por las papilas que accidentan su cara externa en contacto con el epidermis. Las papilas son elevaciones mamelonadas (fig. 206, *c*), ora simples, ora compuestas (es decir, formadas por un grupo de pezoncitos sostenidos en un pedículo común), las cuales están construídas por un tejido conectivo fino y apretado, donde se distribuyen la mayor parte de los vasos y nervios de la piel. Divídense las papilas en vasculares y nerviosas, según que contengan un asa capilar ó un corpúsculo de Meissner. La longitud de tales apéndices oscila entre 200 μ (planta del pie), y 35 á 40 μ (cara, nariz, etc.) ; su posición no pocas veces es seriada, dejando intervalos lineales correspondientes á los surcos de la piel.

El *dermis reticulado* posee una textura más floja, dependiente de la mayor longitud de los haces, así como de la relativa holgura de las lagunas conectivas. Esta zona, casi desprovista

de capilares y de nervios, posee muchas fibras elásticas y sirve de lazo de unión entre el dermis papilar y el tejido conectivo subcutáneo (fig. 206, C).

El dermis papilar es sumamente vascular : la base de las papilas ofrece una red capilar de anchos vasitos, de la cual surge un asa para el espesor de aquellas elevaciones ; por debajo de la red sanguínea reside la terminal linfática, enlazada inferiormente con otra red más laxa y de vasos más gruesos, yacente en el corion reticular ó profundo. Un capilar linfático, terminado superiormente en fondo de saco, se prolonga hasta la mitad de la altura papilar (fig. 207).

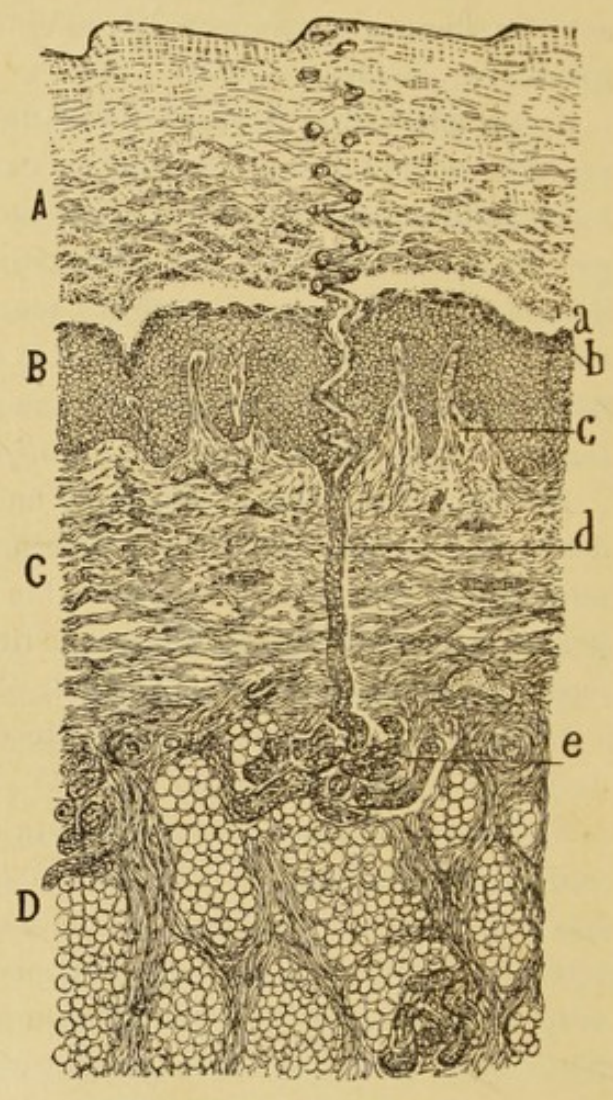


Fig. 206. — Corte perpendicular de la piel del pulpejo de un dedo. — A, epidermis córneo ; B, cuerpo de Malpigio ; C, dermis superficial ; D, tejido conectivo subcutáneo con lóbulos adiposos ; *a*, estrato lúcido ; *b*, zona granulosa ; *c*, papila ; *d*, conducto excretor de una glándula sudorípara ; *e*, glomérulo terminal de ésta.

Tejido conectivo subcutáneo. — Se compone de gruesos haces entrecruzados y de no menos amplias lagunas conectivas, que sirven para dar movilidad á la piel. En muchos puntos, estas lagunas están rellenadas por lobulillos adiposos (tejido adiposo subcutáneo), y además, por los glomérulos de las glándulas sudoríparas, bulbos pilosos y fondos terminales de las glándulas sebáceas (fig. 206, D). Cada uno de estos órga-

nos posee una red capilar especial, continuada hacia afuera con la sanguínea del corion superficial, y hacia adentro con la tupida que rodea las células adiposas (fig. 207, E).

Epidermis. — Es la capa semitransparente formada de tejido epitelial pavimentoso que reviste exteriormente el dermis, con el cual se enlaza íntimamente. El epidermis rellena los huecos que resultan entre las papilas, suavizando exteriormente todas las desigualdades del corion, aunque no tanto que las grandes

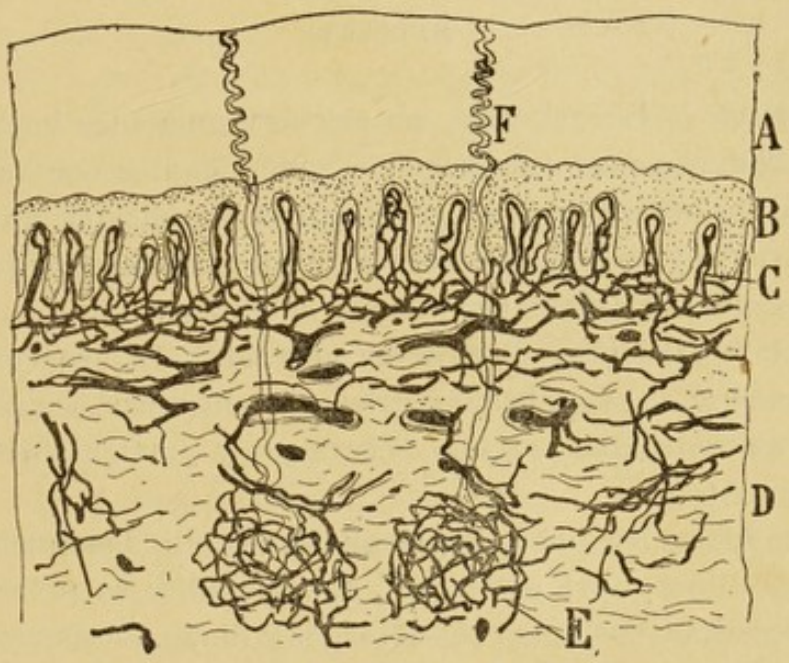


Fig. 207. — Corte de la piel del pulpejo de un dedo. Inyección por el carmín de los capilares sanguíneos. — A, epidermis ; B, dermis ; C, capilar de una papila ; D, capilares del dermis reticular ; E, capilares del glomérulo de una glándula sudorípara ; F, conducto excretor de la misma.

series de papilas y profundos surcos del dermis, no se traduzcan por elevaciones correspondientes en la superficie epidérmica.

Se compone el epidermis de dos capas principales : el *epitelio córneo* constituído de células aplanadas exentas de protoplasma y núcleo, es decir, transformadas en keratina ; y el *cuerpo mucoso* ó capa de Malpigio, donde se hallan elementos epiteliales vivos provistos de protoplasma, núcleo, membrana y filamentos comunicantes. El grosor del cuerpo de Malpigio es casi uniforme, bien que algo más delgado donde la piel es fina (labios, mejillas,

párpados); mientras el epidermis córneo varía mucho en espesor, guardando relación con la intensidad y frecuencia de los roces y presiones que tienden á desgastarlo : así en la mejilla no pasa de 3 á 4 centésimas, en tanto que en el pulpejo de los dedos se acerca á un milímetro.

Tocante á los detalles estructurales del epitelio, nada diremos aquí; la descripción dada en las págs. 201 y 202, nos dispensa de insistir nuevamente sobre el particular.

MUCOSAS

Definicion. — Las mucosas son ciertos tegumentos internos, de origen comunmente entodérmico, comunicantes con la piel al nivel de las aberturas naturales, y constituídos por un epitelio transparente y un dermis recorrido por numerosas glándulas que humedecen constantemente la superficie libre.

Caracteres físicos y disposicion general. — El aspecto de las mucosas es el de membranas grisáceas, elásticas, semitransparentes, humedecidas por las secreciones y particularmente por la mucina.

A la manera de la piel, tienen que considerar las mucosas una superficie libre y otra adherente. La cara libre se presenta erizada de eminencias, unas veces largas y filamentosas como en el intestino (vellosidades), y otras gruesas y cortas (papilas). Entre las papilas, son notables las que se observan en la superficie de la lengua, las cuales, por su morfología, han recibido nombres diversos : *fungiformes* cuando se trata de eminencias redondeadas, cortas, sostenidas por un cuello breve y no muy estrecho; *circunvaladas ó caliciformes* cuando constituyen una eminencia semiesférica separada del resto por un canal circular hondo; *filiformes* cuando la elevación es cilíndrica, prolongada y se termina en un pincel de papilas secundarias. La superficie profunda de las mucosas está adherida, mediante hacecillos conjuntivos, á las cubiertas de los órganos circundantes (músculos, glándulas, etc.).

Clasificacion. — Atendiendo á la disposición del epitelio que las reviste, las mucosas pueden agruparse en dos clases : *mucosas*

de epitelio pavimentoso estratificado, como son la bucal, faríngea, esofágica, conjuntival, de los órganos genitales externos, vías urinarias, conducto auditivo externo, etc.; y *mucosas de epitelio alargado*, á saber: la nasal, intestinal, traqueo-pulmonar, órganos genitales internos, etc.

a) *Mucosas de epitelio aplanado ó pavimentoso.*—Se asemejan mucho á la piel, y como ésta poseen un epidermis pavimentoso estratificado y un dermis, tanto más grueso, cuanto más rica en glándulas es la mucosa.

El *epidermis* consta, en las mucosas más espesas tales como la bucal y esofágica, de diez á doce hileras de células aplastadas, distribuídas en tres zonas principales: la *inferior* ó *germinal*, compuesta de una sola fila de corpúsculos turbios, cuboideos ó prismáticos, escasos en protoplasma, y provistos de núcleo casi siempre en vías de mitosis; la zona *media* constituída por cuatro ó seis hileras de elementos gruesos, granulosos, poliédricos, tanto más aplastados cuanto más superficiales, y unidos entre sí por hilos comunicantes bien perceptibles; y la zona clara ó *superficial*, la más espesa, edificada de varias hileras de corpúsculos complanados, transparentes, de protoplasma casi hialino, colorable por el ácido pícrico, y portador de un núcleo aplanado y atrofiado. Por superficiales que sean las células, el núcleo no falta jamás, lo que distingue perfectamente el epidermis córneo de la piel del aplanado superficial de las mucosas pavimentosas.

En ciertas mucosas delgadas, el número de células epiteliales se reduce, experimentando éstas algunas variantes morfológicas que conviene conocer. Así, en la *vejiga urinaria* sólo existen tres filas de elementos: la *profunda*, que resulta de la alineación de células alargadas ó prismáticas y representa la *capa germinal* de otras mucosas; la *media* que consta de corpúsculos poliédricos con excavaciones inferiores para adaptarse á los corpúsculos germinales; y la *superficial* que está formada de elementos aplanados ó de escamas transparentes, las cuales, según Dogiel, ofrecerían la particularidad de enlazarse con las células subyacentes á beneficio de una verdadera sutura, es decir, á favor de alvéolos, en cuyo interior penetrarían ciertos apéndices de los

elementos de la capa segunda. Entre las células superficiales existirían, además, hilos comunicantes.

En la *conjuntiva*, y sobre todo en el *epitelio corneal* anterior, se ven igualmente tres estratos: el *profundo*, constituído por elementos alargados, provistos inferiormente de una chapa brillante, descompuesta en filamentos paralelos, como la de la zona germinal de la piel; el *medio*, formado de células gruesas, poliédricas, ahuecadas inferiormente para adecuarse á los extremos de los elementos subyacentes; y el *superficial*, construído de tres ó más hileras de células fuertemente aplastadas, transparentes, con núcleo en vías de atrofia. Todas estas células están unidas entre sí, como descubrimos nosotros, por hilos comunicantes de una gran delicadeza (1).

b) *Mucosas del epitelio alargado.* — Como todas ellas residen en partes profundas poco expuestas á roces y colisiones, el epitelio suele ser de una sola capa, y representa verosímilmente la zona germinal de la piel. En cambio, el dermis adquiere notable desarrollo, albergando en sus huecos numerosas glándulas y vasos. El tipo de tales mucosas es la intestinal, de la que vamos á hacer una exposición sucinta.

Intestino.—Las paredes intestinales tienen que considerar un epitelio interior, un dermis surcado de glándulas, y las túnicas musculares.

1.° El *epitelio* es prismático con chapa, y por haber sido estudiado en otra parte (págs. 70 y 71) no lo detallaremos aquí. Recordemos no más, que sus células son prismas en general de seis facetas; que de sus extremos ó polos, el superficial ó secretor está barnizado por una cubierta ó chapa estriada, y el inferior, penetrante en el dermis, se estira á menudo en apéndice inserto en una membrana basal subyacente (fig. 209, D). Recordemos además, que entre los corpúsculos de chapa se hallan acá y allá irregularmente diseminados, elementos caliciformes (fig. 209, B).

Además de estos elementos típicos, se han encontrado en ciertos animales (rana, conejo de Indias, etc.), células epiteliales cuyo protoplasma encierra granitos de un fermento protéico que

(1) Cajal, Contribution á l'étude des cellules anastomosées, etc.— *Intern. Monatschr. f. Anat. u. Hist.* Bd. III, 1886.

atrae las grasas saponificadas del intestino y las transforma en grasas neutras (Nicolás). En ciertos animales (rana, tritón), vénse también unas células esferoidales, cargadas de granitos, que, por su parecido con los leucocitos, se han tomado por corpúsculos emigrantes. Mitosis no se ven jamás en el epitelio intestinal; por lo cual Bizzozero opina que la reparación de este epitelio corre á cargo de las células de las glándulas de Lieberkühn: para comprender esto es preciso suponer que á cada célula intestinal descamada sigue un movimiento de avance del epitelio de la vellosidad, así como del que tapiza las glándulas tubulosas, á partir del paraje en que se verifica la mitosis.

2.° El *dermis intestinal* es espeso y presenta dos subzonas: la papilar y la glandular.

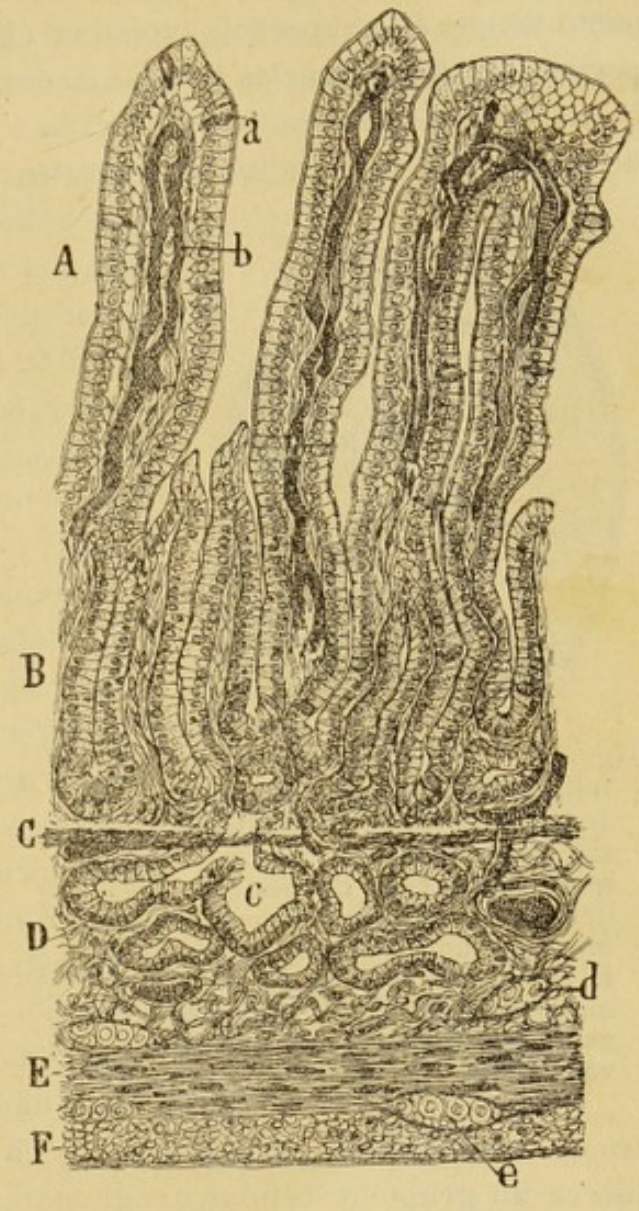


Fig. 208. — Corte transversal de las paredes del duodeno del conejo de Indias. Coloración por la hematoxilina.—A, vellosidades; B, capa glandular superficial ó de las glándulas de Lieberkühn; C, túnica muscular de la mucosa; D, capa glandular profunda ó de las glándulas de Brunner; E, capa de las fibras musculares circulares; F, fibras musculares longitudinales; *a*, una célula caliciforme; *b*, red vascular; *c*, glándula de Brunner; *d*, ganglio del plexo de Meissner; *e*, ganglio del plexo de Auerbach.

La *zona papilar* toma este nombre de la presencia de unas expansiones cónicas, paralelas, digitiformes, que prestan un aspecto velloso á la superficie intestinal. Un corte de la vellosidad permite distinguir varias zonas concéntricas : 1.°, la membrana bucal, capa fibrosa espesa, perforada ó discontinua y sembrada de núcleos, la cual limita exteriormente la trama conectiva de la vellosidad y sirve de punto de inserción á las expansiones descendentes del epitelio (figura 209, E); la *zona musculo-vascular*, compuesta de una red capilar sanguínea continuada inferiormente con dos vasos, uno arterial y otro venoso, y reforzada por fuera por un plano de fibras musculares lisas, por cuyas contracciones la vellosidad puede encogerse y alargarse; y *una zona axial ó central* donde se alberga un grueso capilar linfático terminado en fondo de saco en lo alto de la vellosidad. Todas estas partes hállanse trabadas por finos hacecillos conectivos asociados á escasas células estrelladas ó fusiformes. El centro de la vellosidad, particularmente en su porción superior, encierra un grupo de células ganglionares estrelladas, indicadas por Drasch y detalladamente descritas por nosotros. Un plexo nervioso fino continuado con el periglandular vecino, suministra arborizaciones terminales á los corpúsculos musculares de la vellosidad (fig. 212, *b*).

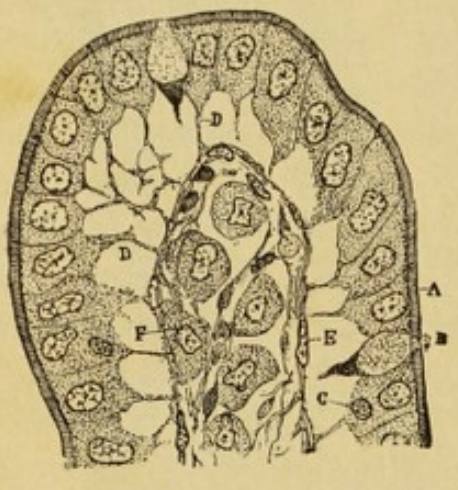


Fig. 209. — Corte axial de una vellosidad intestinal del conejo de Indias. Sección previa inclusión en parafina. — A, célula epitelial con chapa : B, célula caliciforme ; D, expansión profunda de una célula epitelial ; E, núcleo de la capa fibrosa ó membrana basal ; F, células ganglionares del centro de la vellosidad.

La *zona glandular* es muy espesa y se subdivide en dos capas : glandular superficial, y glandular profunda ó tejido conectivo submucoso. Estos planos conectivo-glandulares están separados entre sí á favor de una membrana de fibras musculares lisas.

El *plano glandular superficial* se compone de un tejido conec-

tivo intercalar fino, rico en células fijas y emigrantes, y de numerosas glándulas tubulosas ó de Lieberkühn. Estas glándulas se disponen de un modo paralelo y acaban en un fondo de saco que, algunas veces, como se veía en la preparación que copia la

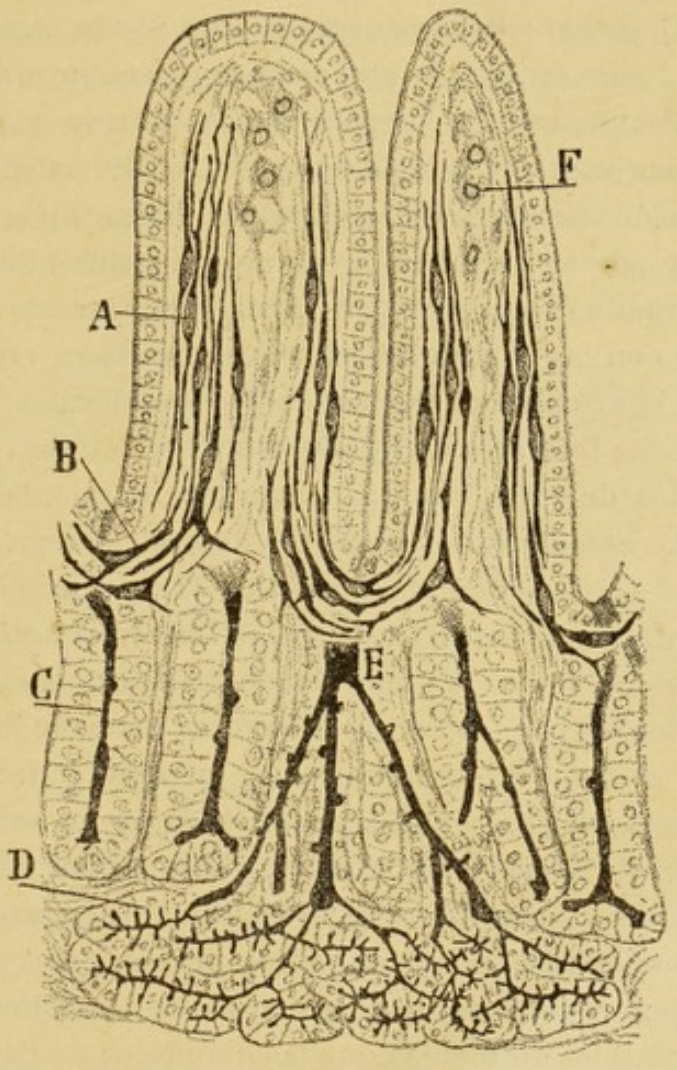


Fig. 210.—Corte de las vellosidades y glándulas del intestino del conejo de Indias de pocos días.—A, fibras lisas del cuerpo de la vellosidad; B, fibras lisas triangulares de la base de ésta; C, interior de una glándula de Lieberkühn; D, acini terminales de una glándula de Brunero; E, conducto excretor de esta glándula; F, células nerviosas del vértice de esta vellosidad.

figura 210, se muestra bifurcado. El conducto glandular es un simple tubo, sin ramificaciones colaterales.

El plano *glandular profundo* consta: de un tejido conectivo flojo compuesto de gruesos fascículos entrecruzados, y de tres

especies de glándulas : las glándulas de Brunner, los folículos solitarios y las glándulas de Peyer.

Las *glándulas de Brunner* residen en el duodeno y pertenecen en realidad á las tubulosas compuestas, aun cuando se las considera generalmente como arracimadas. El conducto excretor es ancho y casi recto mientras circula por la capa glandular superficial ; pero en cuanto atraviesa la muscular mucosa, se estrecha súbitamente, descomponiéndose en tres ó más tubitos oblícuos ú horizontales que penetran en los divertículos glandulares ó porción secretora de la glándula. Estos divertículos son alargados y poseen una membrana propia y una hilera epitelial gruesa, formada de corpúsculos claros, limitantes de la luz glandular. Como en las glándulas salivares, mucosas, etc., de cada tubo central parten numerosos apéndices colaterales, insinuados entre las caras laterales de los elementos epiteliales, y terminados en fondos de saco, sin alcanzar nunca la membrana propia (fig. 210, D). Semejante disposición, demostrada primeramente por nosotros con el cromato argéntico (1), aproxima singularmente las glándulas de Brunner á las llamadas *salivares serosas*. En ciertos casos, la glándula de Brunner consta de tres ó más lobulillos, cuyos conductos excretores rectos se juntan en un tronco común antes de desaguar en el intestino (fig. 210, E).

Los *folículos solitarios y glándulas de Peyer* no son otra cosa que ganglios linfáticos simplificados, yacentes por debajo de la muscular mucosa, entre ésta y la capa de fibras musculares circulares. Los folículos solitarios representan grumos aislados de tejido citógeno enteramente idéntico al de los folículos de los ganglios linfáticos ; mientras que las glándulas de Peyer son órganos más voluminosos, resultantes de la reunión de un gran número de tales folículos. Por lo demás, las relaciones establecidas entre estos folículos ó masas linfoides y los vasos linfáticos, coinciden enteramente con lo que sabemos de los ganglios.

2.° *Túnica muscular*. — Por debajo del dermis profundo ó tejido conectivo submucoso, se halla una gruesa capa de fibras musculares lisas, dividida en dos planos : superficial ó de fibras

(1) Cajal, *Los ganglios y plexos nerviosos del intestino*. Madrid, 1893.

longitudinales ; profundo, mucho más grueso, ó de fibras circulares. Estas fibras son robustas y están unidas por un cemento homogéneo surcado por el plexo nervioso terminal. En estos últimos tiempos, Boheman, Bruyne y otros, han creído ver puentes comunicantes, análogos á los de los corpúsculos tegumentarios, entre las células musculares. En nuestras preparaciones al cromato de plata, semejantes puentes nos han parecido meras espinas, que saliendo del protoplasma de una célula se pondrían en contacto con las de los vecinos elementos. Tampoco el método de Ehrlich, que colora intensamente las fibro-células, revela las pretendidas hebras comunicantes.

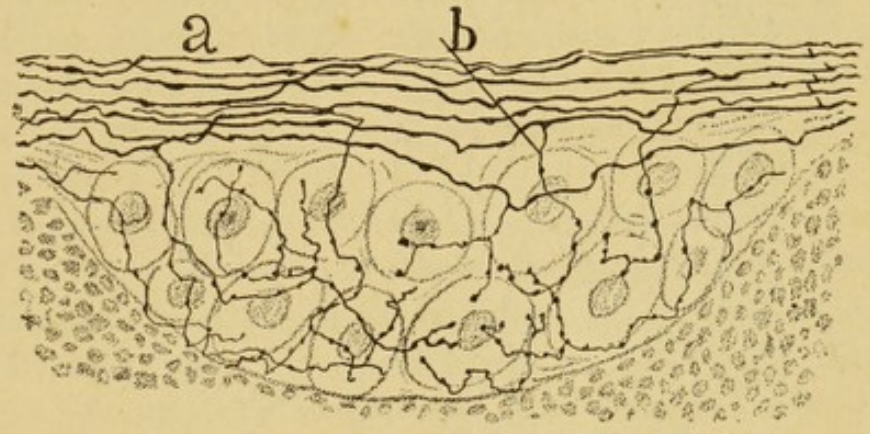


Fig. 211. — Corte transversal de un ganglio del plexo de Auerbach del intestino del conejo de Indias.—*a*, haz nervioso de paso ; *b*, ramas colaterales terminales libremente en el ganglio.

Entre la capa de fibras musculares circulares y la de fibras longitudinales, yace el plexo de Auerbach, centro auto-motor del intestino formado por una red de haces nerviosos simpáticos, en cuyos puntos nodales residen acúmulos de células nerviosas.

Cada ganglio de Auerbach muestra dos clases de células : 1.° Unas son pequeñas y están provistas : de un cilindro-eje ó fibra del plexo susodicho, y de apéndices protoplásmicos, cortos, groseros, verrugosos y acabados libremente dentro del ganglio. Tales corpúsculos, señalados por Dogiel, se coloran bien por el método de Ehrlich, pero no por el de Golgi. 2.°, Células más grandes probablemente menos numerosas, cuyas expansiones todas largas ingresan en los cordones inter-ganglionares, ignorándose su paradero. Contra el parecer de Dogiel, nosotros no hemos po-

dido convencernos de la existencia en tales células de axon y de prolongaciones protoplásmicas; todas las expansiones parecen tener igual carácter y es imposible seguirlas hasta su terminación. Así que juzgamos sumamente temeraria la hipótesis del sabio ruso, quien supone que las citadas expansiones, menos el axon, representan fibras sensitivas y se distribuyen en las vellosidades intestinales. 3.° Fibras finas y medianas de paso, que van de

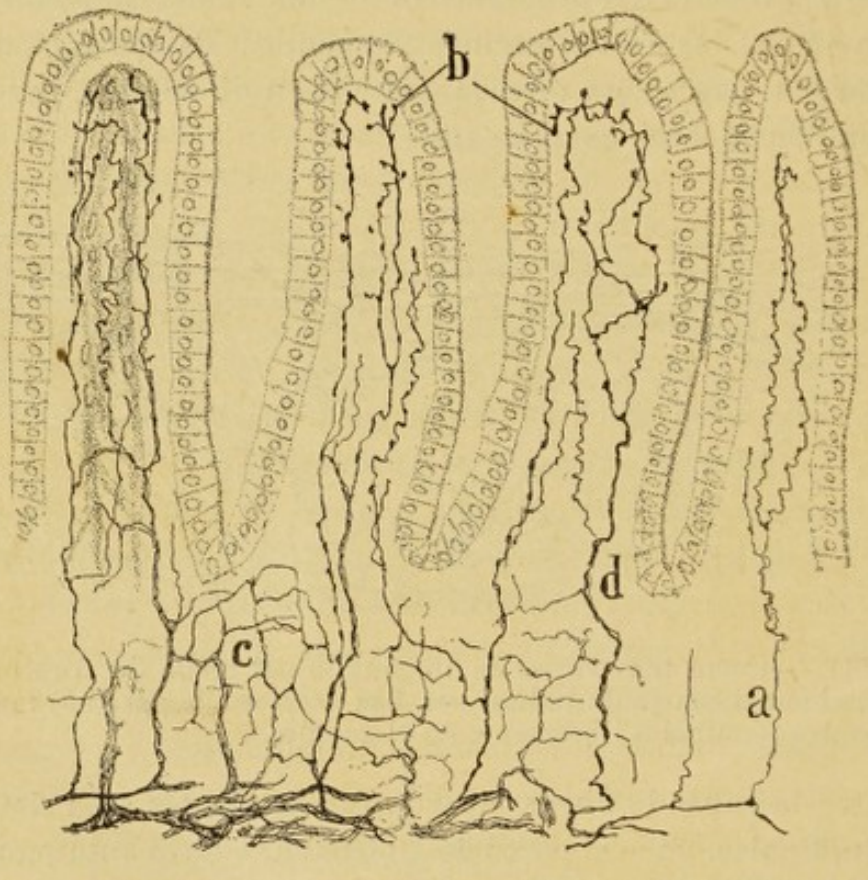


Fig. 212. — Plexos periglandular é intravilloso del intestino del ratón de pocos días.—*a*, filamento ascendente nacido de un haz del plexo de Meissner ; *b*, terminaciones libres á favor de una varicosidad ; *c*, plexo nervioso que rodea las glándulas de Lieberkühn.

un ganglio á otro, suministrando en torno de las células ramitas nerviosas colaterales y terminales. 4.° Fibras gruesas gigantes llegadas acaso de la médula, que se dividen y subdividen en los ganglios, suministrando ramificaciones pericelulares para una gran parte de los focos de Auerbach (1).

(1) Para más detalles, véase el trabajo de Lavilla titulado: Las células y fibras nerviosas del intestino, *Rev. trim. micr.*, núm. 3, 1897.

En los contornos de los ganglios y al nivel de las mallas del plexo, se

Entre las fibras musculares circulares y el tejido conectivo submucoso, es decir, por debajo del plano glandular profundo, se halla otro plexo, menos rico que el anterior, llamado *plexo de Meissner*. En sus puntos nodales residen también acúmulos de células ganglionares, y de sus haces nerviosos proceden las fibras destinadas á las glándulas y vellosidades intestinales. Las células nerviosas parecen todas de aquella variedad cuyas prolongaciones carecen de diferenciación en nerviosa y protoplásmicas. Tales expansiones van de un ganglio á otro, siendo imposible determinar su paradero ni con el método de Golgi ni con el de Ehrlich.

Los datos anteriores se refieren al intestino delgado. El *intestino grueso* posee la misma estructura, con sólo descontar las vellosidades, que no existen. Las glándulas de Lieberkühn están bien desarrolladas, así como los folículos solitarios y las túnicas musculares.

En el estómago la estructura de las paredes coincide también con el intestino. Faltan las vellosidades, y el dermis glandular comprende un sólo plano, el de las glándulas pépsicas. Entre las túnicas musculares, superficial y profunda, yace asimismo un plexo rico en ganglios comparable al de Auerbach. Otro plexo más fino, del cual provienen las ramitas nerviosas de las glándulas pépsicas, se halla por debajo del plano de fibras circulares, es decir, en el tejido conectivo subglandular. El plexo nervioso que rodea las glándulas pépsicas, se termina por ramitos libres apoyados exclusivamente sobre la cara externa de las células secretoras.

ve también un gran número de células triangulares ó estrelladas cuyas expansiones varicosas y muy ramificadas penetran entre los haces de fibro-células y acaso se terminan en las mismas. Las expansiones de semejantes células llamadas *Cajal'sche Zellen* por Dogiel, que las ha corfirmado en el conejo de Indias, parecen todas de la misma naturaleza; á menudo, adosándose unas á otras, engendran un plexo secundario de mallas longitudinales.

CAPITULO XVI

TEJIDO SEROSO

1.° **Definición.**— Las serosas son membranas cerradas, de origen mesodérmico, situadas sobre órganos movibles y compuestas de dos tejidos simples: el epitelial y el conjuntivo. La trama particular que resulta de la asociación de estos tejidos en todas las serosas, constituye el *sistema ó tejido seroso.*

2.° **Disposición general y caracteres físicos.** — Las serosas son sacos cerrados cuyas superficies interiores, lubrificadas por mayor ó menor cantidad de líquido albuminoide, hállanse ordinariamente en mutuo contacto.

Residen las serosas en todos los parajes del organismo donde hay dos superficies orgánicas movibles y contiguas, cuya frotación conviene disminuir. Cuando no son órganos voluminosos los que deben frotarse, sino pequeñas porciones de tejidos, en lugar de grandes serosas, existen pequeñas cavidades de deslizamiento, que son las lagunas del tejido conjuntivo laxo. A beneficio de estas lagunas, se mueve la piel sobre las aponeurosis, el globo ocular sobre los órganos vecinos, los músculos sobre sus cubiertas, etc. Entre las pequeñas cavidades del tejido conectivo y los grandes espacios serosos viscerales y articulares, existen transiciones de forma y de estructura; de modo, que si cabe considerar aquéllas como serosas rudimentarias, cabe también estimar los últimos como lagunas conectivas ampliadas y transformadas.

La pared de las serosas, aunque continua consigo misma, consiente una distinción en dos hojas : una *parietal* y otra *visceral.* La parietal tapiza la parte fija ó continente; la visceral, el órgano movible ó contenido. La primera es densa, fibrosa, poco adherente y refuerza las paredes de las cavidades esplácnicas.

La segunda es más delicada y transparente, adhiriendo íntimamente á los órganos que reviste. Estos órganos nunca son afo-rrados por completo por la hoja visceral : quedan siempre para-jes por los que, sin obstáculo alguno, pueden llegar á los mismos los tejidos de relación interórgánica (vasos y nervios). Al nivel del paso de estas partes vectoras, la hoja visceral se reune con la parietal, constituyendo á menudo repliegues ó ligamentos.

3.° **Clasificación.**—Poseyendo las serosas una textura muy semejante, es difícil clasificarlas según un criterio histológico puro. Más fáciles y aplicables parecen los principios anatómicos y topográficos. Bichat agrupaba las serosas en dos clases : *serosas propiamente dichas* y *serosas sinoviales*. Colocaba entre las primeras las esplácnicas, y subdividía las segundas en verdaderas ó falsas, según se tratara de las articulares ó de las bolsas subcutáneas. Henle, con mejor acuerdo, basó su clasificación en el concepto estructural, separando las serosas en : *verdaderas* ó *completas*, que son las que contienen los dos factores epitelial y conjuntivo (serosas esplácnicas, articulares); y en *falsas* ó *incompletas* caracterizadas por carecer en todo ó en parte del epitelio (subcutáneas y tendinosas). Nosotros nos atendremos á este ordenamiento.

4.° **Caracteres microscópicos.**—*Serosas verdaderas ó esplácnicas.* Compréndense en este grupo : el peritoneo, las pleuras, el pericardio, la vaginal ó testicular, la aracnoides y las articulares. Expondremos primero los caracteres histológicos comunes á estas membranas, y después los referentes á algunas de ellas.

Toda serosa contiene dos capas : la *conjuntiva* y la *endotelial*. La conjuntiva está constituída por hacecillos colágenos, finos, entrecruzados en todos sentidos, dirigidos paralelamente á la superficie, y unidos flojamente por cierta cantidad de materia amorfa semisólida. Estos hacecillos constituyen una capa aislada y coherente en los ligamentos (omentos, epiploones) que enlazan la hoja parietal con la visceral; pero se confunden en los demás casos con el tejido conectivo subseroso. A los hacecillos supradichos se asocian, en proporciones variables, fibras elásticas finas y vasos capilares dispuestos en red ó malla membra-

nosa. Ciertos autores admiten (Bizzozero, por ejemplo), entre el tejido conectivo y el endotelio, una capa análoga á las membranas basales de otros epitelios. Dicha capa ofrecería aspecto granuloso ó ligeramente estriado.

El epitelio es aplanado y de una sola capa, excepto en las serosas articulares, donde muestra en ciertos puntos verdadera estratificación. Las células son poligonales, y sus contornos, flexuosos é irregulares, ofrecen á menudo, después de la coloración ne-

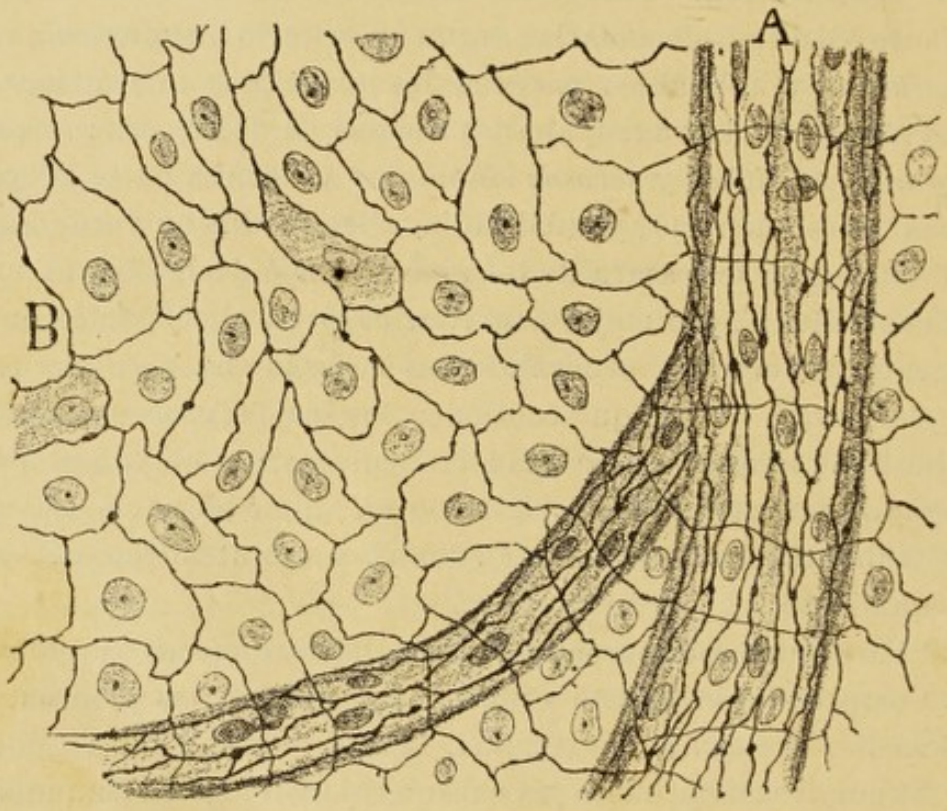


Fig. 213. — Endotelio del mesenterio de la rana. Coloración con el nitrato de plata y carmín.—A, endotelio de un capilar sanguíneo ; B, endotelio del mesenterio.

gra por el nitrato de plata, puntos negros (estomas de los autores). Cuando una serosa se estira antes de ser impregnada, las células se despegan por sus bordes, menos por ciertos puntos, donde quizá existen hilos de comunicación, como los que demostramos en la membrana de Descemet. Estos puentes han sido recientemente señalados por Kolosow, que los ha teñido por el método del tanino y ácido ósmico.

La serosa peritoneal ofrece, además de la textura general in-

dicada, una disposición especial al nivel del epiploón mayor. Este repliegue presenta el aspecto de una redecilla de mallas apretadas y desiguales. Visto al microscopio, se advierte que cada trabécula está constituída por fascículos de tejido conectivo y células aplanadas. Las trabéculas más espesas llevan un vaso capilar, contienen á menudo células grasientas y constan de numerosos fascículos superpuestos. En torno de las trabéculas, por delicadas que sean, pasa el endotelio peritoneal, recubriéndolas á la manera del epitelio peritendinoso.

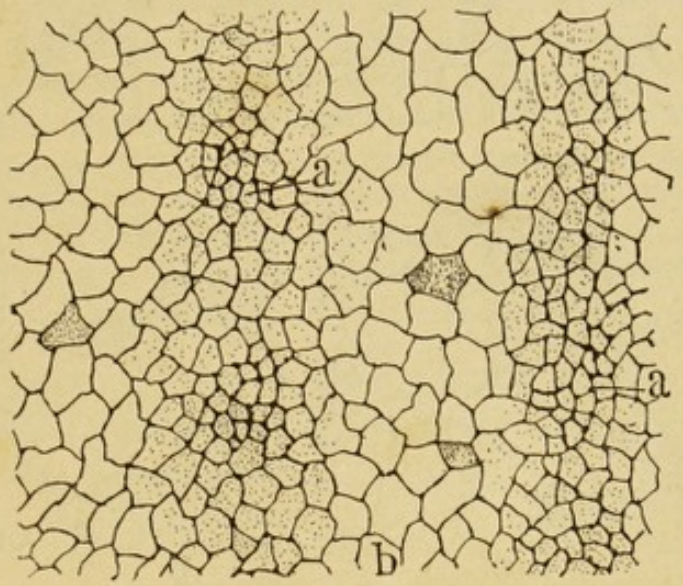


Fig. 214. — Endotelio peritoneal que tapiza la cara inferior del centro frénico del diafragma del conejo. Coloración por el nitrato de plata,— *a*, células epiteliales pequeñas yacentes al nivel de una depresión ; *b*, células más grandes corresponnientes á la eminencia formada por un haz tendinoso.

Las *serosas falsas*, tales como las *peritendinosas* y las *subcutáneas*, ofrecen una capa conectiva difícilmente aislable de los tejidos próximos, y poco rica en vasos y fibras elásticas. El endotelio es discontinuo y está representado por células conectivas aplastadas que revisten un número mayor ó menor de fascículos limitantes. Estas serosas representan la transición entre las esplácnicas y las cavidades del tejido conectivo.

Ciertos autores han supuesto la existencia de comunicaciones entre las serosas y los vasos linfáticos. Cítanse, entre otras, ciertas aberturas que, según Ludwig, Schweiger-Seidel y Ranvier, se hallarían en el centro

frénico del diafragma, y merced á las cuales, la cavidad peritoneal se continuaría con los capilares linfáticos de este músculo.

Las aberturas se presentarían, en las impregnaciones por el nitrato de plata, cerradas flojamente por un tapón de leucocitos (Ranvier); pero el examen atento del centro frénico nitratado, prueba que los pequeños ele-

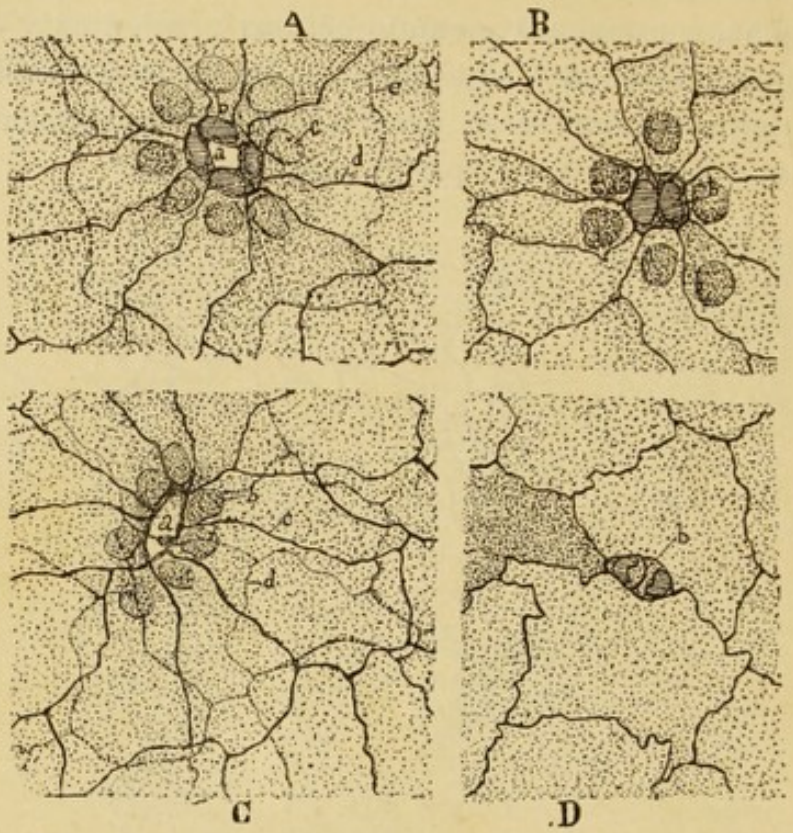


Fig. 215.—Membrana retroperitoneal de la rana. — Impregnación por el nitrato de plata.

A. Una abertura linfática enfocada por la superficie peritoneal : *a*, agujero ; *b*, células pequeñas marginales ; *c*, núcleo de las células endoteliales divergentes ; *d*, cemento.
B. Un estoma linfático en vías de producción. Las células epiteliales convergen en *b* y la abertura está tapada por dos células pequeñas.
C. Forma de estoma linfático más frecuente. Las células epiteliales pequeñas de las anteriores figuras parecen haberse desprendido.
D. Abertura mirada por el lado linfático ; vense en *b* dos células obstruyéndola.
Nota : Las líneas punteadas de las figuras A y C, representan el endotelio linfático, y las negras el peritoneal.

mentos dispuestos en islotes y que han parecido leucocitos, son sencillamente células epiteliales diminutas (fig. 214, *a*), unidas por un cemento abundante y sin relación de continuidad con los linfáticos. Por lo demás, la talla y la extensión superficial de los endotelios guarda relación con el grado de distensión de la serosa : en las partes salientes del dia-

fragma, las células son anchas y delgadas ; en los huecos ó fosetas, el endotelio se achica al par que se engruesa, como sucede en los islotes mencionados, los cuales corresponden á espacios ó resquicios interfasciculares tendinosos (fig. 214, *a*).

Más positivas son las comunicaciones descubiertas por Dogiel y Schweiger-Seidel, entre la cavidad peritoneal y la gran cisterna linfática de la rana. Esta cisterna es un depósito linfático situado delante de la columna vertebral por detrás del peritoneo parietal posterior. El septo ó pared que separa ambos espacios posee dos endotelios : uno posterior ó linfático, compuesto de grandes células poligonales de bordes irregulares ; y otro anterior ó peritoneal, formado por elementos endoteliales, más ó menos alargados y dispuestos frecuentemente en estrellas. Examinando atentamente las aberturas de comunicación, se advierte que corresponden siempre al foco resultante de la convergencia de las células endoteliales. En las aberturas más anchas, el hueco carece de células limitantes ; pero en las más estrechas se ven tres ó más corpúsculos pequeños, obscuros, casi exentos de protoplasma, que bordean el orificio (fig. 215, A, *b*). Finalmente, se reconocen también algunos poros herméticamente cerrados, y que acaso representen comunicaciones en vías de construcción (fig. 215, B, D, *b*).

Las comunicaciones seroso-linfáticas que acabamos de exponer no tienen carácter general ; hasta hoy sólo se han descrito en el peritoneo de los batracios.

FIN

ÍNDICE DE MATERIAS

Prólogo de la primera edición..... v
Prólogo de la segunda edición..... vii

PRIMERA PARTE

TÉCNICA GENERAL

Capítulo I. — *División de la técnica. Instrumentos de observación.* — Microscopio simple..... 2
Cap. II.—*Microscopio compuesto.*—Teoría del objetivo y del ocular. Doctrina de la visión microscópica según Abbe..... 8
Cap. III. — *Continuación del microscopio compuesto.* — Propiedades de los objetivos. Poder definidor y penetrante. Angulo de abertura. Poder resolutivo. Oculares 26
Cap. IV. — *Accesorios del microscopio.* — Cámaras claras. Microfotografía. Dibujo directo... 33
Cap. V. — *Continuación de los accesorios del microscopio.* — Micrómetros. Aparatos numeradores. Aparato de polarización. Micro-espectroscopio..... 43
Cap. VI.—*Objetos é instrumentos necesarios en los trabajos micrográficos.* — Porta y cubre-objetos. Luz. Microtomos. Cámaras húmedas y calientes. Objetos de prueba 52
Cap. VII.—*Reactivos.*—Definición y clasificación de los reactivos. Reactivos indurantes, fijadores, aclaradores, opacantes, aisladores y alterantes..... 64
Cap. VIII. — *Continuación de los reactivos.* — Reactivos colorantes selectivos. Reactivos impregnadores. Reactivos inofensivos y conservadores 72
Cap. IX. — *Métodos histológicos.* — Clasificación de los métodos. Método de examen en vida. Método aislador. Método de los cortes (inclusiones en parafina y celoidina. Seriación y montaje de los cortes en porta-objetos. Diversos métodos de coloración de los cortes. Secciones en huesos y dientes). Método de las inyecciones..... 85

Cap. X. — *Conservación en las preparaciones.* — Conservación en el bálsamo del Canadá y en la glicerina. Bibliografía sobre técnica micrográfica 105

PARTE SEGUNDA

HISTOLOGÍA Ó ANATOMÍA GENERAL

Capítulo I. — *Concepto y división de la histología ó anatomía general.* — Estequiología. Concepto y clasificación de los principios inmediatos 114
Materias inorgánicas 117
Substancias orgánicas del primer grupo. — Alcoholes. Hidratos de carbono. Acidos orgánicos, Amidas, Acidos amídicos y Eteres de la glicerina 119
Cap. II. — *Substancias protéicas.* — Propiedades generales de los albuminoides. Albuminoides propiamente dichos. Substancias colágenas. Materias colorantes y fermentos. Bibliografía... 126
Cap. III. — *Elementología.* — Concepto de la célula. Teoría celular. Caracteres anatómicos de la célula 139
Cap. IV. — *Continuación de los caracteres anatómicos de la célula.* — Estructura. Protoplasma. Corpúsculo polar. Hipótesis tocante á la construcción del protoplasma. Núcleo y nucleolo. Membrana 145
Cap. V. — *Núcleo.* — Volumen, forma, estructura. Armazón cromático, jugo nuclear, nucleolo y membrana nuclear. Propiedades químicas de la célula 155
Cap. VI. — *Propiedades fisiológicas de la célula.* — Irritabilidad. Estímulos. Clasificación de las actividades celulares. División del trabajo. *Funciones nutritivas de las células* 163
Cap. VII. — *Funciones celulares de relación.* — Movimiento browniniano, amiboide, de corrientes protoplásmicas, vibrátil y de oscilación 173
Cap. VIII. — *Funciones generativas de las células.* — División celular indirecta ó kariokinesis. Conjugación. Desarrollo embrionario. Biblioteca citológica 177

HISTOLOGÍA PROPIAMENTE DICHA

Capítulo I. — Concepto de histología. Definición de tejido. Clasificación de los tejidos 195
Cap. II. — *Tejido epitelial* 197
Preparación 209
Cap. III. — *Tejido del cristalino* 212
Preparación 216

Cap. IV.—*Sangre y linfa* 218
Preparación 235
Cap. V.—*Tejidos de substancia conjuntiva* 239
Tejido conjuntivo propiamente dicho 239
Variedad conjuntiva fibrosa, corneal, reticular y membranosa 246
Propiedades químicas del tejido conectivo 251
Histogénesis 252
Preparación 253
Cap. VI.—*Tejido adiposo.*—Variedad adiposa común 257
Variedad medular de los huesos 259
Histogénesis del tejido adiposo 262
Preparación 263
Cap. VII.—*Tejido cartilaginoso.*—Variedad cartilaginosa hialina 264
Variedades cartilaginosa reticular y fibro-conjuntiva 268
Histogénesis 270
Preparación 271
Cap. VIII.—*Tejido óseo* 273
Osteogénesis 279
Preparación 285
Cap. IX.—*Tejido dentario* 288
Odontogénesis 293
Preparación 297
Cap. X.—*Tejido muscular* 299
Variedad muscular lisa 299
— — estriada 304
Unión de las fibras musculares y tendinosas 312
Fibra muscular del corazón 313
Histogénesis 316
Preparación del tejido muscular 317
Cap. XI.—*Tejido nervioso* 321
Células nerviosas 321
— neuróglicas 329
Fibras nerviosas 330
Asociación de las fibras en los nervios 336
Terminaciones nerviosas motrices 337
— — sensitivas 341
— glandulares 349
— sensoriales. Retina 350
— nerviosas olfativas 365
— en el oído interno 367
— en los órganos del gusto 374
Textura de los centros nerviosos. Médula espinal 378
— del cerebelo 389

Corteza cerebral 400
Bulbo olfatorio 412
Ganglios nerviosos. Ganglios espinales 419
— simpáticos 421
Caracteres químicos del tejido nervioso 425
Propiedades fisiológicas del tejido nervioso 425
Desarrollo del tejido nervioso 428
Preparación del tejido nervioso 435
Bibliografía sobre el tejido nervioso 444
Cap. XII.—*Tejidos compuestos.*—Tejido glandular 447
Glándulas arracimadas simples 450
— — compuestas 451
— salivares 452
Páncreas 455
Pulmón 457
Glándulas tubulosas simples 459
— — compuestas.—Riñón 462
Glándulas reticuladas.—Hígado 466
Testículo 469
Espermatogenesis 472
Zoospermos 474
Glándulas vesiculares.—Ovario 475
Cap. XIII.—*Tejido vascular* 480
Variedad capilar 480
Tejido de las arterias 484
— de las venas 487
Ganglios linfáticos 488
Bazo 491
Cap. XIV.—*Tejido piloso y ungueal.* 495
Tejido piloso 495
Desarrollo del pelo 503
Tejido de las uñas 504
Cap. XV.—*Tejido tegumentario* 506
Tegumento externo 506
Mucosas 510
— de epitelio aplanado 511
— — alargado. — Intestino 512
Cap. XVI.—*Tejido seroso* 520
Serosas esplácnicas 521
— falsas 523

WELLCOME LIBRARY INSTITUTE