

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**Departamento de Fisiología**



**TESIS DOCTORAL**

# **Fotorreceptores y células horizontales de la retina del mono**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**Julio Álvarez Manzanero**

Madrid, 2015

TP  
1983  
-119

Julio Alvarez Manzanero



\* 5 3 0 9 8 6 1 1 4 9 \*

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

X-53-002164-0

FOTORRECEPTORES Y CELULAS HORIZONTALES DE LA RETINA DEL MONO

Departamento de Fisiología  
Facultad de Medicina  
Universidad Complutense de Madrid  
1983



BIBLIOTECA

Colección Tesis Doctorales. Nº

119/83

© Julio Alvarez Manzanero  
Edita e imprime la Editorial de la Universidad  
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía  
Noviciado, 3 Madrid-8  
Madrid, 1983  
Xerox 9200 XB 480  
Depósito Legal: M-14737-1983



DEPARTAMENTO DE FISILOGIA  
Cátedra I de Fisiología  
Prof. A. Gallego

Universidad Complutense  
Facultad de Medicina  
Ciudad Universitaria  
Madrid - 3

ANTONIO GALLEGO FERNANDEZ, Catedrático de Fisiología General, Química Biológica y Fisiología Especial de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid

CERTIFICA: Que el trabajo "Fotorreceptores y células horizontales de la retina del mono", realizado bajo mi dirección por D. Julio ALVAREZ-----MÁNZANERO, reúne las condiciones necesarias para ser presentado como Tesis Doctoral.

Madrid, 28 de Enero de 1982

  
A. Gallego



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE  
FACULTAD DE MEDICINA

FOTORRECEPTORES Y CELULAS HORIZONTALES DE LA  
RETINA DEL MONO\*

Julio Alvarez Manzanero

Tesis para aspirar al grado de  
Doctor en Medicina y Cirugía

Director: Prof. A. Gallego

CATEDRA I DE FISIOLOGIA

Madrid, 1982

\* Este trabajo ha sido realizado con la subvención de la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica dentro del proyecto 3823/79.

II

In memoriam:  
A mis padres

Al profesor Antonio Gallego  
con cuya amistad me honro

### III

#### AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento a los colaboradores de la Cátedra, a algunos porque directamente intervinieron prestándome su ayuda en la ejecución de determinadas técnicas, y a todos porque su espíritu de trabajo, inquietud científica y probidad en la obtención de resultados constituyeron para mí un ejemplo muy estimulante.

Deseo dejar también constancia de mi admiración y reconocimiento a Rosa Ayllón quien, con su profundo conocimiento de las técnicas histológicas, ha hecho posible la obtención de la iconografía que ilustra esta tesis.

Finalmente, y sin que ello suponga menoscabo en la deuda de gratitud contraída, me complace en destacar la labor realizada por la Srta. Remedios Grande, mi colaboradora habitual en las tareas de la clínica, que ha sido capaz de ordenar, descifrar y mecanografiar el texto primitivo.

#### IV

#### J U S T I F I C A C I O N

Parece a primera vista incongruente que un clínico de formación irrumpa, aparentemente sin armas ni bagaje, en un campo tan alejado de sus saberes como el de la retina. El bagaje de conocimientos necesario para llevar a cabo esta tarea lo he adquirido a través de mi afición a la neurología y, no en menor grado, - de mi amistad con el Profesor Gallego que ha fructificado en una estrecha colaboración científica que data de hace muchos años. -- Las armas las he extraído del abundante material que sobre retina existe en los archivos de su Cátedra. Pero todo ello resultaría - insuficiente sin el entusiasmo, factor esencial para cualquier logro en el terreno de la investigación. También me ha sido transmitido por contagio el entusiasmo que Gallego siente por la retina, en cuyo campo ha logrado descubrimientos que le han valido su reconocido prestigio internacional.

Con este estado de ánimo hemos emprendido el estudio de las células horizontales de los primates, las conexiones de éstas con los fotorreceptores y su distribución y posible significación funcional. Como siempre sucede al decidir poner fin a este trabajo nos sentimos defraudados porque los logros están muy por debajo de nuestras aspiraciones iniciales. No obstante, y pese al escaso camino recorrido, nos hallamos ilusionados al vislumbrar nuevas perspectivas que nos animan y confortan para perseverar en esta labor apenas esbozada.

v

"Nihil est in intellectu  
quod prius non fuerit in sensu"

VI

I N D I C E

	<u>Págs.</u>
AGRADECIMIENTOS .....	III
JUSTIFICACION .....	IV
I.- INTRODUCCION Y OBJETIVOS .....	1
II.- CELULAS HORIZONTALES. DESARROLLO HISTORICO Y PARTICIPACION DE LAS MISMAS EN LA SINAPSI FOTORRECEPTOR-BIPOLAR.....	5
Resultados obtenidos con las técnicas clásicas ...	5
Resultados obtenidos con el método de GOLGI .....	6
Resultados obtenidos con la microscopia electrónica .....	7
Resultados obtenidos con impregnaciones argénticas de la retina entera y técnica combinada ME-Método de GOLGI .....	14
Resultados obtenidos con técnicas electrofisiológicas y marcado celular .....	16
III.- NOMENCLATURA DE LA CELULAS HORIZONTALES EN LA RETINA DE LOS TETRAPODOS .....	22
IV.- EL PROBLEMA DE LAS CELULAS HORIZONTALES EN LA RETINA DE LOS PRIMATES .....	29
V.- MATERIAL Y METODOS .....	31
Método de GOLGI rápido .....	32
Método de GOLGI-COLONNIER .....	33
Método de impregnación argéntica de la retina entera .....	33
Método de microscopia electrónica .....	34
Método de GOLGI-ME .....	39
VI.- RESULTADOS .....	40
Distribución de fotorreceptores en la retina de los monos .....	40
Células horizontales de axón corto .....	43
Células horizontales de axón corto tipo I .....	43
Células horizontales de axón corto tipo II .....	48

VII

	<u>Págs.</u>
Relación entre fotorreceptores y células horizontales .....	52
¿Células horizontales sin axón o células de microglia? .....	57
VII.- DISCUSION .....	62
VIII.- CONCLUSIONES .....	70
IX.- BIBLIOGRAFIA .....	72
X.- ICONOGRAFIA .....	90



## I. INTRODUCCION Y OBJETIVOS

La mayor parte de los trabajos actuales sobre estructura y función de la retina de los vertebrados toman como punto de partida los estudios realizados por CAJAL, en cuya obra se recogen puntos de vista sobre morfología y significado funcional de las células retinianas que aún hoy en día se consideran vigentes.

En su obra maestra sobre la retina de los vertebrados CAJAL (1893) analizó previamente los trabajos de TARTUFERI (1887) y DOGIEL (1884, 1891) que habían sido llevados a cabo utilizando los métodos de GOLGI y coloración vital con azul de metileno respectivamente. Dado que los resultados obtenidos por estos autores eran discordantes consideró que:

"era necesario someter las afirmaciones de estos sabios a un trabajo de control, combinando los dos métodos de investigación utilizados por ellos, con la finalidad de completar y corregir recíprocamente los resultados obtenidos por el azul de metileno y el cromato de plata" (CAJAL 1893 p.77)

Con este propósito CAJAL estudia la retina de los vertebrados, desde los peces hasta los mamíferos. De estos últimos fueron objeto de su atención, el perro, gato, cerdo, ratón, caballo y buey. Si bien utilizó los dos métodos que se proponía, sus espectaculares hallazgos e interpretaciones consiguientes se basaron en los resultados obtenidos mediante el método de GOLGI, ya que sólo muy incidentalmente se refiere a datos logrados mediante la coloración vital con azul de metileno. La semejanza de los datos obtenidos de todas estas retinas, le llevó a la conclusión de que: "la retina presenta una estructura casi idéntica de tal forma que nuestra descripción se referirá indistintamente a todos estos animales. Las diferencias observadas radican solamente en el espesor relativo de las zonas retinianas y sobre el volumen algo diferente de los elementos; la estructura de cada capa y

la morfología de cada célula son absolutamente constantes." - (CAJAL 1893 p.77).

Basándose en esta hipótesis, la organización funcional de la retina de los primates, que CAJAL no había estudiado, sería para él idéntica a la de los mamíferos inferiores. Esta extrapolación de CAJAL fué generalmente admitida y ha constituido fuente de errores interpretativos por parte de los morfólogos y neurofisiólogos modernos.

El que la organización de la primera sinapsis de la vía visual pudiese presentar diferencias en los primates, con respecto a la descripción que CAJAL había hecho en los mamíferos en general, fue puesto por primera vez en evidencia por BALBUENA (1930, 1936) y POLYAK (1941) quienes descubrieron, entre otros datos de menor interés funcional, la bipolar individual para conos (bipolar "sináxica" de BALBUENA o bipolar "h" de POLYAK) no presente en la retina de los mamíferos inferiores.

Con estos hallazgos los esquemas de organización retiniana utilizados por morfólogos y neurofisiólogos hasta 1965 fueron, bien el clásico de CAJAL (lám. I) o el establecido por POLYAK (lám. II) después de sus estudios. Según el esquema de CAJAL, la vía centripeta retiniana sería doble: una vía conos-bipolar para conos y otra de bastones-bipolar para bastones, y según POLYAK existiría una vía para conos (D,E,F,G), una vía para bastones (A,B,C) y una vía mixta (H) para conos y bastones.

Estos esquemas de organización retiniana eran incompletos ya que prescindían del posible papel funcional de elementos celulares presentes a nivel de las capas plexiformes, células horizontales y amacrinas, cuyas conexiones no eran bien conocidas y cuya disposición transversal en la estructura retiniana era difícil de interpretar a la luz de los conocimientos que se poseían entonces sobre la organización general del sistema nervioso. Estos conceptos se referían básicamente a las conexiones li-

neales entre neuronas de axón largo, o tipo I de GOLGI, formando vías aferentes y eferentes. El papel jugado por las células de tipo II de GOLGI, o axón corto según CAJAL, eran objeto de especulación en aquellos momentos y no fué aclarado hasta los trabajos de LORENTE DE NO (1933) quién demostró morfológica y funcionalmente que formaban cadenas de interneuronas (neuronas "internunciales" las llamó LORENTE de NO) de dos tipos: "múltiple" y "cerrada" supuestas sobre las grandes vías formadas por las neuronas de axón largo.

Refiriéndonos sólo a las células horizontales como elementos que intervienen en la primera sinapsis de las vías centrípetas visuales, objeto de nuestro estudio, CAJAL (1893) las definió como neuronas de axón corto que formaban conexiones transversales entre las vías centrípetas a nivel de la capa plexiforme externa de la retina (lám. III).

El error conceptual de CAJAL de que "la retina presenta una estructura casi idéntica" en los tetrápodos no ha sido rebatido hasta los estudios contemporáneos que han demostrado las grandes modificaciones evolutivas, y de adaptación a las condiciones de iluminación ambiental, que presentan los diferentes géneros y especies. Estas modificaciones son bioquímicas, referentes a los fotorreceptores visuales (CRESCITELLI, 1972; GALLEGO, 1975), estructurales y funcionales (GALLEGO, 1976).

Cuando se ha tratado de estudiar funcionalmente la retina de animales de una determinada especie, particularmente mediante métodos electrofisiológicos, se ha comprobado la insuficiencia de nuestros conocimientos sobre la organización funcional de la especie en cuestión lo que ha llevado en muchos casos a la imposibilidad de interpretar adecuadamente los registros eléctricos obtenidos o a hacerlo de forma confusa o incorrecta (v. discusión en GALLEGO, 1976).

Precisamente ha sido la retina de los primates una

de las peor conocidas en su organización funcional y ello por varias razones: CAJAL (1893) no la estudió deduciendo que su estructura sería idéntica a la del resto de los mamíferos por él analizada y POLYAK (1941), si bien contribuyó con nuevos datos a su conocimiento, no fue más allá de las aportaciones básicas que había hecho CAJAL en los mamíferos inferiores. Por otra parte, las dificultades de obtener retinas de primates para su estudio en óptimas condiciones y sobre todo el respeto reverencial a los estudios clásicos, primero de CAJAL y después de POLYAK, hizo que no se emprendiera a fondo y con nuevas técnicas, hasta hace muy poco tiempo, el estudio de la organización funcional de la retina de los primates.

Por este motivo, nuestro objetivo en este trabajo es el estudio de dicha organización a nivel de la primera sinapsis de la vía visual en los primates basándonos en las contribuciones hechas en otros vertebrados (mamíferos inferiores, reptiles, aves y selacios) por el Departamento de Fisiología de esta Facultad de Medicina a lo largo de los últimos quince años.

En el estudio de dicha organización el problema principal es la participación de las células horizontales en la sinapsis fotorreceptor-célula bipolar, tema concreto de esta tesis doctoral.

## II. CELULAS HORIZONTALES. DESARROLLO HISTORICO Y PARTICIPACION DE LAS MISMAS EN LA SINAPSI FOTORRECEPTOR-BIPOLAR.

La historia del conocimiento de las células horizontales de la retina puede adscribirse a una serie de períodos íntimamente relacionados con los métodos técnicos empleados en el estudio de su estructura. En este sentido, fué tan trascendental el descubrimiento por CAMILO GOLGI (1878) del procedimiento de tinción de los elementos neuronales por las soluciones de nitrato de plata, que bastaría considerar una época pre y postgolgiana para situar en su verdadera perspectiva histórica el desarrollo de nuestro conocimiento sobre la estructura del sistema nervioso en general y de la retina en particular.

En el siglo pasado, en un primer período, las técnicas empleadas se basaban en la disociación de elementos celulares y en las tinciones con carmín, junto con el empleo del ácido ósmico. La introducción de la coloración vital con azul de metileno y el método de GOLGI caracterizan el segundo período, que alcanza su culminación con los trabajos de CAJAL. Finalmente la microscopía electrónica simple o combinada con el método de GOLGI (STELL, 1965), las impregnaciones argénticas de la retina "in toto" (GALLEGO, 1953) y la coloración intracelular para la identificación de la procedencia de los registros electrofisiológicos obtenidos mediante microelectrodos, forman parte del último período de estudio en el que nos encontramos actualmente.

### a) Resultados obtenidos con las técnicas clásicas.

Las células horizontales fueron descubiertas en 1851 por H. MULLER quien les dió el nombre de "sternförmigen zellen", recibiendo a continuación distintas denominaciones por los autores que sucesivamente las estudiaron durante el siglo pasado:

<u>AÑO</u>	<u>AUTOR</u>	<u>DENOMINACION</u>
1851	H. MULLER	sternförmigen zellen
1874	W. MULLER	tangentialen fulcrum zellen
1881	RANVIER	cellules basales
1883	DOGIEL	sternförmigen zellen
1886	SCHIEFFERDECKER	koncentrische Stützzellen
1887	TARTUFERI	cellule superficiali.
1893	CAJAL	células horizontales

La naturaleza neuronal de las células horizontales no quedó claramente establecida hasta los trabajos de CAJAL --- SCHIEFFERDECKER (1886, p. 305) defendía su naturaleza neuróglia y las consideraba meros elementos de sostén: "die Muller'schen Stützfäsern und die tangentialen fulcrum zellen W. Muller's bilden zusammen den Haupttheil der Stützsubstanz der retina und erscheinen als morphologisch gleichwertig". Esta idea motivó el cambio de denominación de "tangentialen fulcrum zellen", propuesto por W. MULLER por el de "koncentrische Stützzellen", preservando el de "radiäre Stützzellen" para las células o "fibras" de -- MULLER.

La disposición de las células horizontales de la retina de los teleosteos, constituyendo plexos de células de gran tamaño, llevó a KRAUSE (1868-1884) a introducir el concepto de -- membranas retinianas, pues tal es su apariencia en las tinciones simples. Las denominaciones de "membrana fenestrata", "membrana perforata" y "stratum lacunosum", se correspondería respectivamente con las de células horizontales externas, intermedias e internas de la nomenclatura de CAJAL.

b) Resultados obtenidos con el método de GOLGI.

CAJAL (1893) logró mediante el método de GOLGI -- aplicado a retinas "enrolladas", y seccionadas después de la tin-

ción en bloque, la impregnación de las células horizontales de algunos tetrápodos, somas y terminaciones axónicas aisladas. En todos los tetrápodos estudiados por CAJAL, estas células están provistas de un axón que se propaga paralelamente a la capa plexiforme externa y termina a este nivel por expansiones cuya morfología varía de unas especies a otras.

· Por la disposición de sus dendritas y situación del soma con respecto a la capa plexiforme externa, CAJAL distinguió dos tipos de células horizontales en los mamíferos y anfibios a las que denominó "externas" e "internas", y otras dos en las aves y reptiles designadas con los nombres de células "en brocha" y "estrelladas".

La peculiar disposición y conexiones de estas células preocupaba a CAJAL, que trataba de buscar su posible significación funcional. Esta inquietud se la plantea CAJAL en su último trabajo (1933), publicado bajo el título "Los problemas histiofisiológicos de la retina". CAJAL (lám. III) había comprobado con anterioridad que las células horizontales establecían contactos con los "pies" de los fotorreceptores, tanto por sus dendritas como por las finas terminales axónicas. Esta disposición que CAJAL consideraba como un "círculo vicioso" le llevó a la conclusión de que: "las células horizontales no representan auténticas vías visuales, sino centros energéticos adscritos a la articulación establecida entre bastones y sus bipolares específicas y destinados a reforzar la intensidad de la onda transmitida por la pareja bipolar-ganglionar" (CAJAL 1933, pg. 4).

c) Resultados obtenidos con la microscopía electrónica.

La microscopía electrónica (SJOSTRAND, 1953; MISSOTTEN, 1965) y en especial la técnica combinada de GOLGI-microscopía electrónica (STELL, 1965) aplicada al estudio de las células horizontales ha permitido demostrar las conexiones que éstas

establecen, tanto por sus dendritas como por sus terminaciones -- axónicas con los pies de conos y esférulas de bastones, llegándose a la conclusión de que son parte integrante del complejo sináptico del primer eslabón de la vía visual.

Los primeros estudios de microscopía electrónica - realizados por SJÖSTRAND (1953) en la retina del cobaya hacen referencia a una sinapsis "intracelular" del pie de los fotorreceptores en la que se veían dendritas de bipolares y vacuolas. De ROBERTIS y FRANCHI (1956) aclaran en la retina del conejo, que estas sinapsis supuestamente intracelulares no eran otra cosa que invaginaciones de las terminaciones de los fotorreceptores, dentro de las cuales penetraban las dendritas de las células bipolares. Este extremo fué ulteriormente confirmado por los trabajos de MISSOTTEN, así como la significación de las supuestas vacuolas de SJÖSTRAND que no serían otra cosa que procesos celulares procedentes de la capa plexiforme externa.

De manera bastante constante, en las invaginaciones del pedículo de los conos de los mamíferos, penetran tres prolongaciones o procesos celulares, una de ellas central y superficialmente situada y otras dos profundas y laterales. A este complejo sináptico, sobre el que llamó la atención por primera vez MISSOTTEN (1961), se le llamó triada.

Las esférulas de los bastones, contienen tres a siete prolongaciones o procesos celulares, dos o tres laterales y una a cinco centrales (MISSOTTEN y col., 1963; MISSOTTEN, 1965).

Tanto en las terminaciones de bastones, como en las de conos pueden verse vesículas sinápticas; la naturaleza de las sustancias neurotransmisoras que albergan, si ésta es su función, es desconocida. Las pruebas histoquímicas de identificación han sido conflictivas (LEPLAT y GEREBTZOFF, 1956; ERANKO y cols., 1961). Cierta número de sustancias han sido implicadas como posibles candidatos, entre ellas el L-aspartato y L-glutamato que ac-

tuan como despolarizantes de las células horizontales en varias especies (DOWLING y RIPPS, 1972; SUGAWARA y NEGISHI, 1973).

Recientemente se ha demostrado que la atropina que bloquea específicamente los receptores muscarínicos acetilcolínicos, impide la transmisión sináptica entre los fotorreceptores y células horizontales de la retina de la tortuga (GERSCHENFELD y PICCOLINO, 1977). También se ha señalado que el ácido gamma-amino butírico despolariza las células horizontales de la raya (CERVETTO y MACNICHOL, 1971), aunque en las retinas de la carpa y tortuga parece que las hiperpolariza (MURAKAMI y OHTSUKA, 1972) (SUGAWARA y NEGISHI, 1973).

En la retina de distintas especies animales se han aislado una serie de péptidos, cuyo significado es prematuro establecer dentro del contexto del funcionalismo retiniano. Entre estas sustancias se encuentra el TRH, sustancia P, somatostatina, V.I.P. (vasoactive intestinal peptide), glucagón, endorfinas, MSH, etc. (STELL y cols., 1980).

Una estructura muy curiosa que se observa en las terminaciones de conos y bastones son las bandas sinápticas ("synaptic ribbons"), descritas por primera vez por SJÖSTRAND (1953), LANZAVECCHIA (1960) y COHEN (1963). Estas bandas están compuestas de cinco láminas, tres oscuras y dos claras y se alojan en el fondo del curso que separa los procesos laterales. Esta estructura pentalaminar, puede apreciarse con toda claridad en la lámina IV, obtenida a partir de un corte longitudinal de pie de cono de la retina del mochuelo. En el fondo de los cursos, donde se alojan las bandas y separada de la membrana celular, se observa otra organela llamada densidad arciforme por LADMAN (1958). El significado funcional de estas estructuras se desconoce aunque el hecho de haberlas llamado también en la capa plexiforme interna (KIDD, 1962; DOWLING y BOYCOTT, 1965) habla en pro de una acción no específica de los fotorreceptores. En lugares distintos de la retina se han encontrado también bandas sinápticas en determinadas cé

lulas de la coclea y del aparato vestibular. Un hecho común a todas las neuronas dotadas de banda sináptica es que transmiten información sin producir potenciales en espiga.

Es curioso señalar que existen algunos procesos -- profundamente situados dentro de las invaginaciones de pies de conos y esférulas de bastones con sus membranas celulares perfectamente delimitadas, que están rellenos de gran cantidad de vesículas sinápticas cuyo tamaño y densidad electrónica es semejante a las del fotorreceptor que las aloja. EVANS (1966), que fué el primero que las describió en las terminales de los conos del pollo y tortuga las llamó "divertículos sinápticos", COHEN (1964) designa a sus homólogos en los conos de la ardilla gris, "cisternas" y -- MISSOTTEN que de vez en cuando encuentra estructuras semejantes -- en las esférulas de los bastones humanos, les dá el nombre de --- "tercer proceso". EVANS y COHEN demostraron la continuidad entre el divertículo sináptico y la terminación de los fotorreceptores, por lo cual llegaron a la conclusión de que estos divertículos no eran en realidad más que pliegues evaginados de la membrana presináptica destinados, según EVANS, a ampliar la superficie sináptica.

La descripción sistemática de los procesos que ocupan la invaginación sináptica de los fotorreceptores ha sido llevada a cabo en el cobaya (SJÖSTRAND, 1958; MOUNTFORD y SJÖSTRAND, 1965) en el pez dorado (STELL, 1965, 1967) en los primates ----- (MISSOTTEN, 1965; DOWLING y BOYCOTT, 1966; KOLB, BOYCOTT y ----- DOWLING, 1969; KOLB, 1970; BOYCOTT y KOLB, 1973a; GALLEGO, 1971, 1975; GALLEGO y SOBRINO, 1975); en la tortuga (LASANSKY, 1971), y en el gato (BOYCOTT y KOLB, 1973b). A partir de todos estos estudios ha quedado firmemente establecido que el complejo sináptico de los fotorreceptores está constituido por los procesos laterales que surgen de las células horizontales, y los procesos centrales de las células bipolares.

Los procesos laterales se diferencian de los centrales en que los primeros son más gruesos, penetran más profun--

damente y contienen vesículas sinápticas y otras inclusiones.

El contenido de procesos en las esférulas de los bastones es variable de unas especies a otras. En los bastones de la retina humana, de acuerdo con MISSOTTEN (1965b), suele haber dos a tres procesos laterales y uno a cinco centrales. STELL (1967) encuentra en las esférulas de los bastones del pez dorado un número de procesos semejantes al hallado en la retina humana.

En el anfibio Necturo es curioso destacar el hecho señalado por DOWLING y WERBLIN (1969) de que las terminales de los bastones carecen de invaginaciones y que los procesos de las células subyacentes establecen contactos superficiales con ellos.

DOWLING (1965), MISSOTTEN (1965b), KOLB (1970) describen de once a veinticinco invaginaciones en los pedículos de los conos de los primates. Dentro de cada invaginación hay un proceso central y dos laterales, conjunto que como sabemos fue designado por MISSOTTEN con el nombre de triada. El proceso central se dirige hacia la banda sináptica, pero sin llegar a alcanzarla ya que se lo impiden los dos procesos laterales. Entre ambos, queda una pequeña separación a través de la cual el proceso central establece contacto indirecto con las estructuras presinápticas. Las membranas de los procesos que indirectamente se relacionan con la banda sináptica son más densas, lo que habla en pro de que esta encrucijada es el lugar funcional de la sinapsis.

KOLB y cols. (1969-1970) describen elementos adicionales a la triada de MISSOTTEN en la retina de los primates. Al lado del proceso central y por dentro de los laterales existen otros dos procesos que corresponden a dendritas de bipolares.

Fuera de las invaginaciones se establecen también contactos superficiales entre los pedículos de los conos y los procesos de las células situadas más profundamente. Estos contactos se han observado en los primates y en las zonas en que se es-

tablecen, las membranas celulares están engrosadas a ambos lados (DOWLING y BOYCOTT, 1966).

Las conexiones entre fotorreceptores, conos entre sí o conos y bastones fueron sospechadas desde la época de TARTUFERI (1887), quién influido por la teoría reticular de GERLACH describió la existencia de una red anastomótica entre conos, formada por los filamentos basilares de los mismos. CAJAL pudo comprobar el despliegue horizontal de estos filamentos, dentro de la plexiforme externa.

DOGIEL (1884) nos habla de los filamentos basilares de los conos en la retina humana, y BALBUENA (1930-1936) diferencia dos tipos de filamentos basilares en la retina humana y en la de otros mamíferos. Estos filamentos, a los que BALBUENA denominó por su curso divergentes y convergentes, establecerían contacto, los primeros con las esférulas de los bastones y los segundos no serían mas que los penachos de las células bipolares para conos. BALBUENA emitió la hipótesis de que un cono y un grupo de bastones adyacentes formarían una unidad fotorreceptora. Tanto REBSLOB (1939) como POLYAK (1941) recogieron en sus publicaciones las ideas de BALBUENA.

SJÖSTRAND (1953) descubre en la retina del cobaya contactos entre las células que denominó alfa (bastones) y beta (conos). Este mismo tipo de contactos ha sido más tarde descrito en otras especies, bien a través de los filamentos basilares o directamente entre conos y bastones.

Contactos entre fotorreceptores, del tipo "zonula adhaerens", se han comprobado en numerosas especies por SJÖSTRAND (1958), MISSOTTEN y cols. (1963), COHEN (1964, 1965), DOWLING (1964), VILLEGAS (1964) y en la retina humana por DIETERICH y ROHEN (1970) y GALLEGO (1971) entre otros.

Utilizando la técnica de aislamiento de fotorrecep

tores, mediante la proteasa del "Streptomyces", GALLEGO (1971) demuestra en todas las retinas la presencia de filamentos basilares en los pies de los conos. Por el contrario, las esférulas de los bastones carecen de estos filamentos en los mamíferos, no así en las aves donde los pies sinápticos de los bastones presentan abundantes filamentos basilares (G. TARRES, 1981).

La separación por digestión enzimática de fotorreceptores resulta, en ocasiones, difícil, incluso después de su aplicación prolongada. A veces, el pie de un cono aparece rodeado de esférulas de bastones de los cuales es imposible aislarlo. Este conjunto cuyo aspecto recuerda a una mora, hablaría en favor de la hipótesis de BALBUENA, antes comentada, de la unidad fotorreceptora.

Tanto en la retina del gato, como en la del conejo, se han podido observar filamentos basilares que penetran en el complejo sináptico de las esférulas de los bastones (GALLEGO, 1971a).

LASANSKY (1971), en la retina de la tortuga "Pseudemys scripta elegans", encuentra que ciertos filamentos basilares se dirigen a los conos adyacentes, y dentro de las invaginaciones de los pedículos de los mismos parecen establecer contacto con los procesos de las células horizontales. Algunos filamentos parecen, también, establecer contactos especializados con otros procesos de la plexiforme externa cuyo origen no ha podido precisarse.

DOWLING y WERBLIN (1969) han descrito, en la salamandra americana, procesos dotados de bandas y vesículas sinápticas que parecen proceder de los filamentos basales de los fotorreceptores y que establecen contacto con los somas celulares y prolongaciones de las células bipolares y horizontales, dentro de la capa nuclear interna.

Los progresos realizados en los últimos años en el

conocimiento, identificación y función de los "gap junctions" -- han despertado el interés de fisiólogos y embriólogos, que ven en ellas el soporte morfológico de las comunicaciones entre células y de las sinapsis electrónicas.

RAVIOLA Y GILULA (1973) mediante la aplicación de las técnicas de fractura-congelación han descubierto la existencia de diminutas "gap junctions" entre los fotorreceptores del mono, a nivel de la membrana limitante externa.

NELSON y cols. (1976) han demostrado en el gato -- que los conos reciben impulso de los bastones a través de conexiones-conjunto de subunidades de las "gap junctions"- dispuestos -- linealmente.

FAIN y cols. (1976) identifican también uniones celulares entre los fotorreceptores del sapo marino, tanto entre conos y bastones como bastones entre sí. Estas uniones designadas - "kissing junctions" no son otra cosa que conexiones lineales idénticos a los descritos por RAVIOLA y GILULA (1973).

Si bien, la microscopía electrónica permitió esclarecer las finas conexiones sinápticas establecidas con los pies - de los fotorreceptores, se mostró menos útil para conocer en detalle la estructura retiniana a este nivel, como se comprobó con el empleo de nuevas técnicas, cuya utilización resultó muy fructífera para el hallazgo y descripción de nuevos elementos celulares.

d) Resultados obtenidos con impregnaciones argénticas de la retina entera y técnica combinada ME-método de GOLGI.

Las técnicas de impregnación argéntica de la retina entera introducidas por GALLEGO (1953) han permitido estudiar ésta con una nueva perspectiva que supera en posibilidades de in

formación a las que se obtenían con los cortes perpendiculares o con las técnicas de "enrollamiento" utilizadas por CAJAL. Fruto de la aplicación de esta técnica por la escuela de GALLEGO, han sido los siguientes hallazgos: el descubrimiento de las células horizontales sin axón, células ganglionares de asociación, células interplexiformes, la demostración de que las células estrelladas de las aves son las terminales axónicas de las células en brocha y la identificación de un nuevo tipo de célula horizontal con axón en los primates, entre otros logros de menor significación funcional.

La técnica combinada del método de GOLGI y microscopía electrónica (GOLGI-ME) ha resultado un método mucho más útil para la identificación de los procesos sinápticos de los fotorreceptores que el de los cortes seriados empleado por SJÖSTRAND (1958) y MISSOTTEN (1965).

El GOLGI-ME consiste, en esencia, en la identificación con microscopía óptica de las células teñidas con el método de GOLGI, hacer finos cortes de las zonas en que se encuentran y reincluir las secciones para estudio con microscopía electrónica. Por ser la plata electrónicamente densa se pueden ver en las microfotografías los perfiles de las células impregnadas con ella y seguirlas con gran facilidad.

La aplicación del GOLGI-ME condujo a STELL (1965-1967) a demostrar, que los procesos laterales de los pedículos de los conos en el pez dorado están constituidos por las dendritas de las células horizontales externas y los procesos laterales de las esférulas de los bastones están formados por las terminales de las dendritas de las células horizontales medias. Los procesos centrales de los pedículos de los conos derivarían de las bipolares para conos, y el proceso central de las esférulas de los bastones de las dendritas de las bipolares para bastones.

También gracias al método de GOLGI-ME, se han podi

do conocer en distintas especies con bastante precisión, las conexiones que las células horizontales establecen con los fotorreceptores.

Las células horizontales sin axón de los mamíferos inferiores presentan finos ramos terminales que nacen de los procesos celulares y cuyos botones, dispuestos en pequeños ramilletes, forman el componente lateral de las triadas de los conos -- (KOLB, 1974; GALLEGO, 1975).

De los dos tipos de células horizontales sin axón que existen en la retina de las aves, sólo en uno de ellos ha podido demostrarse (GALLEGO, 1978) que sus ramitos terminales penetrasen en las triadas de los conos rectos, esto es, los que poseen gota lipídica roja.

Las conexiones de las células horizontales de axón corto con los fotorreceptores en la retina de los tetrápodos se conocen a partir de los trabajos de KOLB (1970), quién demostró inicialmente en los primates que las dendritas de las CH forman el componente lateral de las triadas de los conos y las terminales axónicas penetran en el complejo sináptico de los bastones. Estos hallazgos fueron confirmados a continuación por: GALLEGO (1971), BOYCOTT y KOLB (1973) y GALLEGO y SOBRINO (1975).

En las aves, la célula horizontal de axón corto establece las mismas conexiones con los fotorreceptores que en los mamíferos (GALLEGO, 1975, 1978).

e) Resultados obtenidos con técnicas electrofisiológicas y marcado celular.

#### 1. Células horizontales y potenciales "S".

El descubrimiento por SVAETICHIN en 1953 de los po

tenciales "S", mediante la técnica de registro intracelular con -- microelectrodos, planteó nuevas inquietudes en el conocimiento de la estructura y función de las células retinianas.

Desde un principio resultó difícil saber con preci-- sión cuales eran las células generadoras de estos potenciales, has-- ta el punto de que su origen fué prácticamente asignado a todas -- las células retinianas con exclusión de las ganglionares. SVAETICHIN creyó inicialmente que las respuestas "S" correspondían a potencia-- les de receptor (conos y bastones). Estas dudas no quedaron defini-- tivamente aclaradas hasta que KANEKO (1970) mediante el marcado ce-- lular con "procion amarillo" pudo demostrar de forma concluyente -- su procedencia a partir de las células horizontales.

Los potenciales "S" se registraron en los teleós-- teos como respuestas graduales a la iluminación retiniana. Los po-- tenciales "S" hiperpolarizantes, tienen una forma parecida a los potenciales de receptor, pero se distinguen de ellos porque en los primeros aumenta la amplitud en proporción directa al área ilumina-- da.

Podemos distinguir dos tipos de potenciales "S":

a) Potenciales "L": Respuesta hiperpolarizante a todos los estímulos luminosos.

SVAETICHIN y MACNICHOL (1958), encontraron que los peces capturados a profundidades de 30 a 70 mts. sólo presentan po-- tenciales "L", con un máximo de sensibilidad a longitudes de onda de 500 a 530 nanómetros. Como es sabido la composición espectral -- de las luces cambia hacia las longitudes de onda corta, a medida -- que aumenta la profundidad. De ahí que la máxima respuesta de los potenciales "L" se corresponda con el ambiente fótico.

b) Potenciales "C": Respuestas hiperpolarizantes -- a longitudes de luz de onda corta y despolarizantes a longitudes -- de onda larga (SVAETICHIN y MACNICHOL, 1958).

Los peces capturados en aguas superficiales (1 a 2 mts. de profundidad) presentan respuestas "L" y "C". Los potenciales "C" codifican el color, por eso este tipo de respuesta no -- existe en los peces que viven en aguas profundas ya que la luz -- que les llega es monocromática y carecería de sentido un mecanismo encaminado a captar el color.

Se han demostrado tres tipos de respuestas "C": - R/G con despolarización para la luz roja e hiperpolarización para la luz verde; G/B, con despolarización para la luz verde e hiperpolarización para la azul; RB/G, con despolarización para las luces roja y azul e hiperpolarización para la verde.

En la retina del pez se piensa que los potenciales "S" surgen como consecuencia de la actividad de los conos únicamente. Sin embargo, MITARAI y cols. (1961) y ORLOV Y MAKSIMOVA -- (1965) han aportado la evidencia experimental de la contribución de los bastones a la producción de los potenciales "L" en la retina de la carpa adaptada a la oscuridad.

Recientemente WEILER (1977) estudia los potenciales "S" de la carpa previa clasificación de las células horizontales de la misma en: células horizontales con axón a las cuales designa con arreglo a la morfología de su soma HC1, HC2 y HC3 y células horizontales sin axón a las que llama HC4. Un análisis cualitativo, en lo que se refiere a su dependencia, muestra que los somas de las HC1 son principalmente postsinápticos a los conos rojos, las HC2 a los verdes y las HC3 a los azules. Las células horizontales sin axón HC4 son postsinápticas a los bastones.

Así como el registro de potenciales "S" es relativamente sencillo en la retina de los peces, no ocurre lo mismo en la de los tetrápodos. En estas retinas las células horizontales -- son pequeñas (aprox. 10 micras de diámetro frente a las 20-30 ó -- más micras en los peces) y en muchos casos se desconocía la presencia de tipos distintos con conexiones funcionales también diferentes.

El registro de potenciales "S" y su identificación como procedentes de las células horizontales de los mamíferos ha sido llevada a cabo en el ojo intacto (STEINBERG, 1969 -- 1971) y en el ojo aislado y perfundido del gato (NIEMEYER, 1973; NIEMEYER y GOURAS, 1973; NELSON y cols., 1975).

De acuerdo con estos autores, se generarían dos tipos de potenciales "S" en la retina del gato: potenciales "S" que son exclusivamente dependientes de la acción de los bastones y potenciales "S" resultantes de la acción combinada de conos y bastones; NELSON y cols. (1975) sostenían que la procedencia de estos dos tipos de potenciales eran por un lado el soma y por otro las terminales axónicas de las células horizontales de axón corto que actuaban independientemente al recibir impulsos de conos y bastones. Los bastones serían responsables del 80% de la respuesta registrada en la terminal axónica y los conos del 20%, mientras que en las respuestas procedentes del soma, conos y bastones contribuirían con un 50%.

Ninguno de los autores antes mencionados hacen referencia a la existencia de dos tipos de células horizontales en la retina del gato. Las células horizontales sin axón, descritas por primera vez por GALLEGO (1964), cuyas conexiones con los fotoreceptores son claramente distintas de las con axón ya que CONTACTAN CONOS ENTRE SÍ y que constituyen un verdadero plexo, son más fáciles de ser penetradas por los microelectrodos. Esta consideración no ha sido tomada en cuenta por los autores antes citados a la hora de interpretar las procedencias de los potenciales "S".

En nuestra opinión, que compartimos con GALLEGO, los potenciales registrados por NELSON (1975) proceden de dos tipos diferentes de células: las terminales axónicas de las células horizontales de axón corto y el soma de las células horizontales sin axón. Queda aún por demostrar cómo un grupo de conos está relacionado con otro grupo de bastones a través de una célula horizontal cuyo axón tiene una longitud aproximadamente de 400 micras.

La posibilidad de que estas células horizontales con axón generen potenciales en espiga que se propaguen hacia la terminal axónica no ha sido excluida.

A mayor abundamiento, los potenciales "S" del gato muestran componentes mixtos de conos y bastones, cosa difícil de explicar sobre la base de las estructuras que los generan. Las células horizontales sin axón establecen contactos únicamente con conos y las horizontales con axón por sus dendritas con conos y por sus terminales axónicas con bastones. Los registros obtenidos por NELSON y col. (1975) del cuerpo de una célula horizontal, cuyas dendritas están conectadas solamente con conos, muestran un potencial "S" mixto bastones-conos. NIMEYER Y GOURAS (1973), también demuestran que la contribución de los conos al potencial "S" mixto es mucho mayor que la de los bastones. Los potenciales "S" registrados a partir de las terminaciones axónicas de las células horizontales de axón corto por NELSON y col. (1975), exhiben igualmente un componente mixto bastón-cono, pero en este caso la contribución de los bastones es mayor que la de los conos. Estos potenciales "S" mixtos registrados a partir de estructuras conectadas con un solo tipo de fotorreceptores sugieren una interacción directa entre conos y bastones.

Entre conos y bastones se han descrito dos tipos de contactos: los establecidos a través de estructuras del tipo desmosoma y los que se realizan a través de los filamentos basales de los conos que penetran en el complejo sináptico de los bastones (GALLEGO, 1971a-1975). Sobre la base de la interacción conos-bastones podría explicarse que la señal de los conos transmitida a las dendritas de las células horizontales, pudiese ser modificada por los bastones y en sentido inverso la respuesta obtenida a partir de las terminales axónicas.

Finalmente, como sugieren BROWN y MURAKAMI (1968), las células horizontales de axón corto de aves y mamíferos, cuyas dendritas hacen contacto con los conos y sus terminales axónicas

con los bastones, podrían constituir el elemento de interacción -  
entre ambos tipos de fotorreceptores.

### III. NOMENCLATURA DE LAS CELULAS HORIZONTALES DE LA RETINA DE LOS TETRAPODOS.

El descubrimiento de nuevos tipos de células horizontales en estos últimos años, ha creado un cierto grado de confusión en cuanto a su nomenclatura y conexiones dentro de la estructura retiniana.

A esta confusión han contribuido: la dificultad de identificar tipos análogos de células a partir de retinas procedentes de distintas especies, la variedad de métodos de tinción empleados y también y no en menor grado, los distintos planos en que éstas han sido estudiadas. Otros factores que han colaborado a esta situación han sido: la tendencia a generalizar los datos obtenidos en la retina de una determinada especie a las demás y el afán de identificar las células horizontales a través de una nomenclatura en concordancia con los hallazgos realizados por los propios autores.

Ya CAJAL (1893) al describir las células horizontales de la retina de los vertebrados utilizó dos criterios para su clasificación: uno morfológico, "en brocha" y "estrelladas", para las aves y reptiles y otro de localización, "externas" e "internas", para los mamíferos y anfibios. Las células horizontales descritas por CAJAL poseían todas un axón corto, era células de tipo II de GOLGI o "axón corto", según la nomenclatura de CAJAL aplicada en general a todas las neuronas centrales. Esta clasificación de CAJAL permaneció inalterada hasta la descripción por GALLEGO (1964) de un tipo de célula horizontal sin axón en la retina de los mamíferos inferiores, que denominó "células amacrinas de la capa plexiforme externa".

A partir de este momento son varios los autores que confirman la existencia de los dos tipos de células horizontales, pero mientras la escuela de GALLEGO, al generalizar su estu-

dio a todos los tetrápodos, distingue los dos tipos básicos diferentes entre sí por su morfología y conexiones con los fotorreceptores: células de axón corto (short axon horizontal cells) y células horizontales sin axón (axonless horizontal cells). Los autores anglosajones utilizan los términos "grandes" y "pequeñas" o bien posteriormente las letras "A" y "B" para distinguirlas, a veces contradictoriamente.

En los mamíferos inferiores DOWLING y cols. (1965) comprueban la existencia de los dos tipos de células horizontales, con y sin axón y las denominan "pequeñas" y "grandes" respectivamente. FISHER y BOYCOTT (1974) estudian de nuevo los dos tipos de células horizontales y las designan con las letras "A" y "B", -- siendo las "A" las células sin axón y "B" las horizontales con -- axón descritas por CAJAL. En 1971 GALLEGO había comenzado a clasificar los dos tipos celulares en "células amacrinas de la plexiforme externa" o células horizontales sin axón y células horizontales de axón corto. El término de "amacrinas" de la plexiforme externa es rechazado por RODIECK (1973) ya que, según él, se presta a confusión. Según nuestra opinión este argumento no tiene sólida base puesto que el término "amacrina" lo único que significa es que la célula no posee axón (a: sin; in, inos: fibra; macros: grande, célula sin fibra grande o axón, de acuerdo con la definición de CAJAL). Sin embargo, dado que el inglés es el idioma generalizado de comunicación entre científicos y para evitar confusiones entre los autores anglosajones, GALLEGO ha abandonado el término de "amacrinas" de la capa plexiforme externa utilizando el de células horizontales sin axón (axonless horizontal cells), que de hecho significa lo mismo.

Dentro de los mamíferos, los primates tienen la peculiaridad de carecer aparentemente de la célula horizontal sin axón, siendo además su retina la primera entre los tetrápodos en la que se pudo demostrar que las células con axón, tipo CAJAL, no se subdividían en "externas" e "internas" sino que sólo presentaban un solo tipo, cuya morfología variaba desde las zonas parafo-

veales a las proximidades de la ora serrata (POLYAK, 1941). --- BOYCOTT y DOWLING (1969) introdujeron un factor de confusión al describir en la retina del mono dos tipos de células horizontales con axón, a las que denominaron "A" y "B". Poco después y utilizando las mismas preparaciones de los autores anteriores, KOLB -- (1970) demostró que los dos tipos designados con las letras "A" y "B" eran en realidad un sola célula confirmando con ello los estudios de POLYAK.

A partir de los trabajos de GALLEGO (1971b, 1975, 1976) parece evidente que no sólo los primates, sino también el resto de los mamíferos presentan en sus retinas un sólo tipo de célula horizontal de axón corto, término introducido por GALLEGO. La subdivisión en "externas" e "internas" propuesta por CAJAL, su descubridor, no tiene por lo tanto razón de ser.

Sólo muy recientemente, en el curso del presente estudio, se ha descrito en los primates un segundo tipo de célula horizontal de axón corto (GALLEGO, 1977, 1978; KOLB, MARIANI, --- GALLEGO, 1980), morfológica y funcionalmente (por sus conexiones) distinto del tipo descrito por POLYAK (1941).

En las aves, el primer trabajo sobre células horizontales, desde el inicial de CAJAL (1893), se llevó a cabo por GALLEGO, BARON y GAYOSO (1975) quienes demostraron que la clasificación de CAJAL en células "estrelladas" y "en brocha" no podía mantenerse ya que las células "estrelladas" de CAJAL eran en realidad las terminaciones del axón de las células "en brocha". Las aves, pues, poseen un sólo tipo de célula horizontal de axón corto lo mismo que los mamíferos. Esta demostración fué hecha igualmente por GALLEGO y PEREZ ARROYO (1976) en la retina de los reptiles.

Un tipo celular sin axón ha sido descrito a nivel de la capa plexiforme externa de la retina de los primates ---- (GALLEGO, 1975), siendo considerada inicialmente como una célula

horizontal sin axón pero existiendo dudas acerca de su naturaleza, problema que estudiamos en el presente trabajo. Células horizontales sin axón han sido descubiertas posteriormente en la retina de los reptiles (GALLEGO y PEREZ ARROYO, 1976) y en las aves - (GALLEGO, 1977, 1978, 1980; MARIANI y LEURE DUPREE, 1977; GENIS - GALVEZ y cols., 1979). Estos autores han utilizado diversos nombres para designar este tipo celular: "bipenachada", "estrellada", "en candelabro", etc.

Teniendo en cuenta la existencia o no de axón, -- los subtipos dentro de cada uno de estos tipos básicos y las conexiones que establecen con los fotorreceptores, GALLEGO (1982) ha propuesto la siguiente clasificación general de las células horizontales en la retina de los tetrápodos:

A.- Células horizontales de axón corto.

Tipo I:	primates
(Relacionan las sinapsis de conos con bastones)	mamíferos inferiores
	aves
	reptiles

Tipo II:	primates
(Relacionan las sinapsis de conos con conos)	ardilla

B.- Células horizontales sin axón.

Tipo I:	mamíferos inferiores
(Relacionan las sinapsis de conos con conos)	aves
	reptiles

Tipo II:	aves
(Relacionan las sinapsis de conos con conos)	reptiles

NOTA: en los anfibios han sido estudiadas las células de axón corto y un tipo II de célula horizontal sin axón (G. TARRES y GALLEGO, 1981).

Esta clasificación se basa en el análisis de los - caracteres morfológicos y conexiones funcionales generales de las células horizontales que se resumen en la forma siguiente:

1. Células horizontales de axón corto (CAJAL, 1893)

Sus dendritas, forman el componente lateral de las "triadas" de conos y sus terminales axónicas penetran en el complejo sináptico de las esférulas de los bastones, según han demostrado en los mamíferos (KOLB, 1970, 1974; GALLEGO, 1971b; GALLEGO y SOBRINO, 1975) y en los pájaros (GALLEGO y cols., 1975; GALLEGO, 1975).

Todos los tetrápodos estudiados hasta ahora presentan un solo tipo de célula horizontal con axón, excepto los primates que poseen dos, como veremos en nuestro trabajo. Este hallazgo ha obligado a su clasificación en dos tipos: I y II. La diferenciación que establecía CAJAL de este tipo de células en "externas" e "internas" es insostenible. Las diferencias morfológicas - que pueden apreciarse en distintas especies, se refieren al tamaño de su arborización dendrítica, a la longitud de su axón y a la estructura de la terminal axónica, así como el número de conos y bastones que establecen conexiones con ellas.

2. Células horizontales sin axón (GALLEGO, 1964)

Este tipo celular fué descubierto por GALLEGO en - la retina de los mamíferos inferiores (1964), posteriormente fué - descrita en la retina de los reptiles y de las aves (GALLEGO, -- 1976, 1977, 1978; GALLEGO y PEREZ ARROYO, 1976). Dos tipos de células horizontales sin axón, inicialmente designadas como estrellas y bipenachadas, han sido estudiadas en las aves de hábito diurno por GALLEGO, 1977, 1978; BARON y GALLEGO, 1982; MARIANI, - LEURE DUPREE, 1977; GENIS GALVEZ y cols., 1979 y en la tortuga - por PEREZ ARROYO, 1978.

Este tipo de células se disponen en plexos y entre sus prolongaciones celulares se establecen abundantes "gap ---- junctions" que sugieren acoplamiento eléctrico entre ellas. A diferencia de las células horizontales de axón corto, sus procesos celulares establecen solamente conexiones con un solo tipo de fotorreceptor: conos en los mamíferos inferiores (KOLB, 1974; ---- GALLEGO, 1975) y también, en las aves y reptiles (GALLEGO, 1978; PEREZ ARROYO, 1978).

En los peces se encuentran asimismo los dos tipos de células horizontales que hemos descrito en los tetrápodos: la célula horizontal sin axón, conectada únicamente con bastones -- (STELL, 1975; GALLEGO, 1975) y un tipo peculiar de célula de axón corto, descubierto por STELL (1975) en la retina de los teleósteos. Este tipo, presenta caracteres mixtos entre las dos clases de células horizontales mencionados en la retina de los tetrápodos: por un lado, entre los somas celulares que forman un plexo se establecen abundantes "gap junctions", y por otro poseen un -- axón que termina por una gruesa estructura fusiforme. Las dendritas de este tipo celular establecen conexiones con los pedículos de los conos, pero la terminación axónica confundida por CAJAL -- con una célula horizontal (elementos internos de la retina de los peces), termina a nivel vitreal de la granulosa interna sin aparente contacto con los fotorreceptores.

Las células horizontales sin axón, forman una sola lámina en los teleósteos (WEILER, 1977) y dos o tres láminas en la retina de los selacios (GALLEGO, 1979; STELL y WITKOWSKY, ---- 1973). Sus procesos celulares penetran en el complejo sináptico -- de los bastones (STELL, WITKOWSKY, 1973; GALLEGO, 1979).

En el cuadro adjunto se resume la nomenclatura de las células horizontales utilizadas por los distintos autores, y su correspondencia. Y en la lámina V se representa esquemáticamente toda la gama de células horizontales de los tetrápodos.



#### IV. EL PROBLEMA DE LAS CELULAS HORIZONTALES EN LA RETINA DE LOS PRIMATES.

En las páginas precedentes hemos visto que en la retina de los tetrápodos, al menos entre los mamíferos, aves y reptiles, se han descrito dos sistemas moduladores mediados por células horizontales de dos tipos: las células horizontales de axón -- corto que relacionan la sinapsis conos-bipolar de conos con la sinapsis bastones bipolar para bastones y la célula horizontal sin axón que forma un plexo retiniano y relaciona entre sí únicamente las sinapsis conos-bipolar de conos.

Los primates parecen ser una excepción entre los tetrápodos ya que en sus retinas no se han detectado células horizontales sin axón. Se han descrito, en cambio, dos tipos de células horizontales con axón: tipo I, descrito inicialmente por POLYAK -- (1941) y tipo II, descrito en el curso de este trabajo y por ---- (GALLEGO, 1977, 1978; KOLB, MARIANI y GALLEGO, 1980).

El tipo I ha sido ampliamente estudiado en cuanto a su morfología y conexiones con los fotorreceptores. Sin embargo, las áreas cubiertas por el árbol dendrítico, la longitud del axón, la distribución de las terminales axónicas y el número de conos relacionados con sus dendritas y el de bastones con sus terminales axónicas, son problemas a resolver de gran importancia funcional para establecer correlaciones entre los sistemas de visión fotópica y escotópica mediadas a través de las células horizontales.

Problemas análogos se plantean con el estudio de las células de tipo II cuyo papel funcional parece ser en los primates similar al de las células horizontales sin axón de la retina de los mamíferos inferiores ya que conectan entre sí únicamente si napsis de conos-bipolar de conos.

Finalmente la existencia o no de células horizontal

les sin axón es otra incógnita a despejar, en especial después del trabajo inicial de GALLEGO (1975) y las dudas posteriores surgidas acerca de la identificación de este tipo celular.

#### V.- MATERIAL Y METODOS.

Para llevar a cabo este estudio, se han utilizado retinas de monos procedentes del Centro Nacional de Virología de MAJADAHONDA, pertenecientes a los géneros: m. rhesus, cercopithecus, eritrocebus patas y mandrillus sphinx.

Todas las especies estudiadas están comprendidas en el orden de los primates y pertenecen a la familia de los cercopitécidos.

Los cercopitécidos constituyen la segunda familia de los simios catarrinos. Los componentes de esta extensa y variada familia se caracterizan por la prominencia del hocico -sobre todo patente en los cinocéfalos-, por la menor longitud de los brazos respecto de los otros monos, por la presencia casi constante de abazones, y por último por las callosidades isquiáticas. En cuanto a su constitución, los cercopitécidos pueden variar mucho entre sí: en efecto, entre la figura gracil de los cercopitecos y la pesada y maciza de los cinocéfalos están comprendidas todas las formas intermedias.

La familia de los cercopitécidos comprende especies -caracterizadas por: tamaño pequeño-mediano, nunca grande (de 35 cms a 1,10 ms). Diurnos y gregarios, los cercopitécidos son omnívoros y tienen preferentemente dieta vegetal. Comprenden cerca de sesenta especies, bastante diferentes por su constitución, ecología y costumbres.

#### TECNICAS

Previo anestesia, los animales eran sacrificados y sus ojos enucleados rápidamente. Las retinas eran extraídas por el polo posterior del ojo, es decir, despegando en sucesivas capas la

esclerótica y la coroides. Una vez extraídas las retinas se les daban cortes laterales o se las fragmentaba en dos o tres trozos con la finalidad de adaptar su forma esférica a una superficie plana.

Una serie de retinas fueron estudiadas en fresco, recién extraídas y montadas en glicerina para el estudio de la distribución de sus fotorreceptores.

Las microfotografías, se obtuvieron con un microscopio ZEISS modelo ULTRAPHOT II, equipado con óptica de NOMARSKI.

#### 1) Método de GOLGI rápido

La retina una vez extraída se sumerge rápidamente en una mezcla de bicromato potásico al 3% y glutaraldehído al 25%, en la siguiente proporción:

bicromato potásico 3%	.....	45	c.c.
glutaraldehído 25%	.....	5	c.c.

A los dos o tres minutos se extraían de la mezcla prefijadora y una vez extendidas las retinas entre dos papeles de filtro formando "sandwich", se volvían a sumergir en la mezcla de bicromato y glutaraldehído durante quince a treinta minutos.

A continuación eran lavadas un mínimo de media hora en tres recipientes sucesivos, que contenían bicromato potásico al 3%.

Entre pase y pase se secaban en papel de filtro.

Después del lavado se introducían en la siguiente mezcla:

bicromato potásico al 3%	....	20	c.c.
tetróxido de osmio al 1%	....	6	c.c.

Las piezas se mantenían en esta solución fijadora durante dos a cinco días, para posteriormente ser pasadas directamente y sin lavado a una solución de nitrato de plata del 0,75 al 1% en la que permanecían de cinco a diez días.

Las retinas, preparadas de plano, se liberaban de la cubierta de papel filtro, pincelándolas posteriormente para -- quitarles el exceso de precipitado. Para transparentarlas se recurre al aceite de clavo y después se montan con bálsamos de Canadá.

## 2) Método de GOLGI-COLONNIER

La retina junto con la coroides extraída por vía anterior en seco, se introduce en una mezcla de bicromato potásico al 3% y glutaraldehído en la siguiente proporción:

bicromato potásico 3%	.....	45 c.c.
glutaraldehído 25%	.....	12 c.c.

En esta solución permanece de dos a tres minutos, al cabo de los cuales se separa con facilidad la coroides de la retina. Una vez conseguido, se coloca la retina entre dos papeles de filtro y se mantiene en la solución durante cuatro ó cinco -- días.

Transcurrido este tiempo, se pasa a la solución de plata al 75%, durante un periodo de siete a diez días.

Extraída de la plata, se pincela y deshidrata en -- alcoholes. Después se pasan por carboxilol y ulteriormente se montan en bálsamo del Canadá.

## 3) Método de impregnación argéntica de la retina entera ----- (GALLEGO, 1953).

Un número reducido de retinas fueron tratadas con este método.

Extraídos los globos oculares, se procede a la apertura de los mismos para permitir la entrada del fijador sumergiéndolos en formol neutro al 20%, donde permanecen de tres a cinco días como mínimo.

Después de fijada la pieza, se procede a separar la retina de la coroides y esclerótica. Se practican unos cortes en la pieza de modo que quede dividida en cuatro segmentos circulares, de tal forma que al extenderla adquiriera la forma de una "Cruz de Malta".

Con un pincel de pelo de marta, se limpia la cara interna de los restos de humor vítreo que pudieran quedar adheridos a la retina.

Después se procede a su impregnación, que comprende las siguientes fases:

- a) Lavado en agua destilada durante diez minutos.
- b) Inmersión en nitrato de plata al 20% de diez a quince minutos.
- c) Inmersión en formol neutro al 20%, cambiándolo repetidas veces hasta que dejen de salir nubes blancas.
- d) Inmersión en plata amoniacal, controlando la coloración al microscopio y terminando la coloración como en el método de GROS.
- e) Deshidratación muy lenta comenzando con alcoholes de baja concentración, 50, 60, 75, y 96%. Finalmente alcohol absoluto, carboxilol y bálsamo de CANADA.

#### MÉTODOS DE MICROSCOPIA ELECTRONICA

##### 1) Obtención de las piezas

Con la mayor rapidez posible, se procede a la enucleación

de los ojos y a su separación en dos casquetes.

## 2) Fijación

El polo posterior del ojo -esclerótica, coroides y retina- es introducido en el siguiente líquido fijador:

Glutaraldehido al 25% .....	12 c.c.
Buffer fosfato 0,2 M .....	50 c.c.
H <sub>2</sub> O hasta .....	100 c.c.

Para preparar el buffer fosfato, utilizamos la mezcla de fosfato monosódico y disódico; el primero con una molécula de agua y el segundo con 7 a 12 moléculas de agua.

### SOLUCION A

Fosfato monosódico + 1 H <sub>2</sub> O .....	2,76 g.
H <sub>2</sub> O .....	100 c.c.

### SOLUCION B<sub>1</sub>

Fosfato disódico + 7 H <sub>2</sub> O .....	5,66 g.
H <sub>2</sub> O .....	100 c.c.

### SOLUCION B<sub>2</sub>

Fosfato disódico + 7 H <sub>2</sub> O .....	7,17 g.
H <sub>2</sub> O .....	100 c.c.

De acuerdo con la tabla adjunta obtendremos diferentes pH, con soluciones 0,2 molar.

<u>SOLUCION A</u>	<u>SOLUCION B</u>	pH
45 c.c.	55 c.c.	6,9
23 c.c.	67 c.c.	7,1
23 c.c.	77 c.c.	7,3
19 c.c.	81 c.c.	7,4
16 c.c.	84 c.c.	7,5

En la solución fijadora, se separan la esclerótica y - coroides y la retina se procede a fragmentar a voluntad.

### 3) LAVADO

Se lleva a cabo en una solución de buffer fosfato 0,1 M. en la que se ha diluido sacarosa al 10%. El resultado final es una solución aproximadamente 0,3 M.

El tiempo de lavado varía de acuerdo con el tiempo de fijación, si este ha sido cuatro horas, bastará con dos lavados rápidos, pero si ha estado veinticuatro horas en el fijador, será necesario una hora de lavado.

### 4) REFIJACION Y COLORACION

Una vez lavadas las piezas, se introducen en una solución de osmio al 1,5%, o al 2% durante dos horas, posteriormente se lavan en agua destilada.

La mezcla de solución de osmio al 4% con el buffer se hace en la siguiente proporción:

Solución A	.....	1,6 c.c.
Solución B	.....	8,4 c.c.
Osmio al 4%	.....	10 c.c.

5) CONTRASTE

Las piezas se contrastan durante dos horas con acetato de uranilo al 2%, disuelto en agua destilada.

6) INCLUSION

Una vez contrastada la pieza, se pasa ésta por alcoholes para conseguir su deshidratación en el siguiente orden:

Alcohol al 55%	.....	10 min.
Alcohol al 70%	.....	10 min.
Alcohol al 80%	.....	10 min.
Alcohol al 96%	.....	20 min.
Alcohol absoluto	.....	60 min.
Oxido de propileno	.....	5 min.
Oxido de propileno	.....	5 min.
Oxido de propileno	.....	5 min.

Terminadas estas operaciones, la pieza se pasa a una mezcla de óxido de propileno y epon a partes iguales, permaneciendo en esta durante toda la noche. El recipiente que contiene la mezcla se deja destapado con la finalidad de que se evapore el propileno y quede solo el epon. A la mañana siguiente se pasa directamente a las cápsulas con el nuevo epon.

Preparación del epon:

Mezcla A

Epon ..... 31 c.c.  
Plastificador D.D.S.A... 50 c.c.

Mezcla B

Epon ..... 50 c.c.  
Endurecedor N.M.A. .... 45 c.c.

Las dos mezclas se conservan en nevera a 4°. Cuando se van a utilizar, se destapan los frascos hasta que alcancen la temperatura ambiente.

Mezcla final

Mezcla A ..... 10 c.c.  
 Mezcla B ..... 20 c.c.  
 DMP (Acelerador) ..... 0,47 c.c.

Esta mezcla es agitada posteriormente en un agitador durante un periodo mínimo de dos horas.

Una vez incluidas las piezas son cortadas y las secciones depositadas en las rejillas, para ser contrastadas con el método de REYNOLDS.

7) CONTRASTE CON EL METODO DEL CITRATO DE PLOMO O METODO DE REYNOLDS.

Se procede a mezclar los siguientes ingredientes:

Nitrato de plomo ..... 1,33 g.  
 Citrato sódico + 2H<sub>2</sub>O ..... 1,76 g.  
 Citrato sódico + 5H<sub>2</sub>O ..... 2,14 g.  
 H<sub>2</sub>O destilada y hervida ..... 30 c.c.

Se agita la mezcla durante treinta minutos, después de los cuales se añaden 8 c.c. de hidróxido de sodio 1N.

Se diluye todo hasta 50 c.c. con agua destilada y -- hervida, obteniéndose una solución de pH 12 ± 0,1, procediéndose después del modo siguiente:

Técnica de contraste: se pone una gota de nitrato de plomo por cada rejilla en una cápsula de PETRI, que tiene como -- fondo una capa de parafina.

A continuación se lavan con un chorro de agua destilada

y hervida por ambos lados de la rejilla; se seca ésta con un papel de filtro y se deposita en una cápsula de PETRI para esperar a su secado y observación.

#### METODO DE GOLGI-ME.

Una vez seleccionada la célula en la preparación de retina teñida por el método de GOLGI-COLONNIER, se desmonta ésta con xilol para que pierda todo el bálsamo y se pasa por alcohol absoluto y óxido de propileno, en cambios sucesivos durante 15 a 20'. En un molde relleno con Epon se sumerge el fragmento de retina seleccionado procurando que quede plano. El molde se mete en la estufa durante tres o cuatro días hasta que solidifique. Se extrae el Epon obtenido del molde y mediante el microtomo de deslizamiento se obtienen láminas de 80 micras de espesor. Las láminas se montan en portas de plástico que se cubren con Epon líquido sobre el que se coloca otro porta de plástico. Se pasan a la estufa dos o tres días hasta que solidifique el Epon, momento en el cual se levanta el porta que hace de cubre, se elige la célula y se corta para aislarla. Se vuelve a incluir en Epon dentro de unos moldes específicos para M.E. El vaciado de los moldes se corta con el ultramicrotomo en láminas de 600 Å que se tiñen con el método de REYNOLDS.

Los cortes se han practicado con un ultramicrotomo PORTER-BLUM automático SORVAL MT-2 con un grosor aproximado de 600 a 800 Å.

Los cortes se estudiaron en un ME HITACHI HU-12A y las fotografías se obtuvieron con placas KODAK 9 x 12 4489 especiales para microscopia electrónica.

Se utilizaron rejillas LKB de 2,3 mm modelos 4829A-23 y 4829A-25.

## VI. R E S U L T A D O S

### 1.- DISTRIBUCION DE FOTORRECEPTORES EN LA RETINA DE LOS MONOS:

El estudio del número de conos y bastones por áreas retinianas desde la fovea a la "ora serrata", se ha llevado a cabo por dos procedimientos: a) en retinas enteras, sin teñir, fijadas en formol, montadas en glicerina y mediante óptica de NOMARSKY --- (lám. VI), y b) en retinas teñidas con variantes del método de --- GOLGI, cuando el precipitado de cromato de plata bordea los fotorreceptores, que aparecen sin teñir pero que pueden ser contados - por su imagen "en negativo" (lám. VII). Esta última técnica permite el recuento de fotorreceptores en el área que cubren las dendritas de las células horizontales que se han teñido en la preparación por el simple procedimiento de utilizar sucesivamente el plano de enfoque de la célula y el de los fotorreceptores (láminas --- VIII, IX, X).

La determinación de las dimensiones de la fovea en retinas enteras sin teñir no puede hacerse con precisión, si bien, esta técnica permite identificar con toda claridad la fovea, así - como fijar el centro de la misma, punto que tomamos como referencia para el contaje de fotorreceptores en distintas zonas retinianas. En el esquema de la lámina XI damos algunos datos de contaje de conos a distintas distancias del centro foveal tomadas de la fotografía de la lámina XII en un área de 10.000 micras cuadradas. - Con la técnica de GOLGI-COLONNIER pueden, sin embargo, delimitarse perfectamente los bordes de la fovea cuando como en el caso de la lámina XIII se han teñido los vasos retinianos. En esta lámina, en un plano de enfoque señalado con la letra 'B', observamos con toda claridad como los vasos retinianos bordean la fovea enmarcándola y permitiéndonos comprobar que esta retina de Baboon tiene de diámetros 550 micras por 250 micras. En esta preparación observamos, -- igualmente, el centro de la fovea en forma de una mancha mas oscura, que corresponde a la zona más profunda y una serie de tractos

radiales que rebasan la periferia de la misma constituidos por las fibras de MULLER foveales.

Para comparar los recuentos de fotorreceptores --- efectuados con las dos técnicas mencionadas ha de tenerse en cuenta que la deshidratación y montaje en bálsamo, utilizados en las retinas teñidas con el método de GOLGI, produce una retracción del tejido, que según hemos comprobado en repetidas ocasiones llega a ser del 22% al 24%. Este hecho, debe ser tenido en consideración a la hora de comparar los datos obtenidos por nosotros con los de -- otros autores, según utilicen en sus recuentos retinas hidratadas o deshidratadas. Las aparentes discrepancias, que puedan existir, se basan en este detalle técnico. A continuación exponemos un cuadro comparativo sobre recuentos de fotorreceptores efectuados en la fovea de los primates o en sus proximidades.

<u>A U T O R</u>	<u>PRIMATES</u>	<u>RECEPTORES FOVEALES/mm2</u>
ÖSTERBERG (1935)	Humanos (deshidratadas)	147.000
HARTRIDGE (1950)	Humanos (teñidas)	127.000
ROLLS y COWEY (1970)	Macaca Mulatta (teñidas)	83.333
	Saimiri Sciureus (teñidas)	108.333
SNYDER y MILLER (1978)	Macaca fascicularis (sin teñir, fijadas en formol)	151.000
A. MANZANERO (1981)	Cercopitecus (sin teñir, fijadas en formol)	54.000 (borde de fovea)

El recuento de conos y bastones efectuado en una retina de "cercopitecus" que tomamos como modelo (lámina VI), fijado el ojo en formol y montado en glicerina, ha dado el resultado que refleja la gráfica (lám. XIV). La lámina VI está compuesta de fotografías obtenidas a distancias comprendidas entre 0,5 y 9 mm. del centro de la fovea. La primera foto está exclusivamente formada por conos cuyos segmentos internos, plano de enfoque, adoptan la forma de hexágonos regulares, lo que dá al conjunto un aspecto de mosaico. A medida que nos alejamos de la fovea, los segmentos internos se hacen más grandes y redondeados y en el centro de los mismos se aprecia una zona más oscura que corresponde a la proyección del segmento externo de menor diámetro.

Es interesante señalar, que a partir de 2 mm. del centro de la fovea cada cono está rodeado de una corona de bastones en inmediato contacto con él, cuyo número es muy constante, de 10 a 12. A partir de los 4 mm. de distancia aparecen bastones "libres" entre los que forman coronas de conos. Los datos obtenidos mediante ME, permiten suponer que los bastones de la corona establecen contacto con los filamentos basilares de los pies de los conos (lám. XV), siendo probablemente los bastones "libres" los que no muestran este tipo de contacto. Si este hecho se confirmara, sistemáticamente tendríamos que admitir dos tipos de bastones en la retina periférica: los relacionados con conos a través de contactos de tipo desmosomas y los independientes, disposición que podría tener significación funcional.

En la gráfica de la lámina XIV, de contaje de fotoreceptores de cercopitecus, se observa, como el número de conos --desciende abruptamente hasta la distancia de 2 mm. de la fovea, -- después muy gradualmente hasta la distancia de 6 mm. y finalmente de forma practicamente imperceptible hasta alcanzar la "ora serrata". Por el contrario, el número de bastones asciende bruscamente a partir de los 2 mm. de distancia de la fovea alcanzando su acmé aproximadamente a los 3 mm. y después descende en forma muy gradual a medida que nos acercamos a la "ora serrata".

## 2.- CELULAS HORIZONTALES DE AXON CORTO.

Describimos dos tipos: el tipo I corresponde a la CH de axón corto descrita por CAJAL en los mamíferos inferiores y tipo II recientemente descubierta (GALLEGO, 1977, 1978).

### 2.1.- Células horizontales de axón corto tipo - I.

Si extrapolamos a los primates los resultados obtenidos por CAJAL en la retina de los mamíferos inferiores tendríamos que admitir en éstos la existencia de dos variedades de células horizontales: "externas" e "internas". Los primeros estudios de la retina de los primates con el método de GOLGI se los debemos a POLYAK (1941) quien afirmó que "las células horizontales están representadas en la retina de los primates por una única variedad que conserva en todas las regiones sus principales características si bien con ligeros cambios en detalles particularmente en sus dimensiones".

En lo que se refiere a estas células de tipo I, -- que fueron las únicas estudiadas por POLYAK, esta afirmación es -- cierta, si bien debe interpretarse más como una intuición del investigador norteamericano, que como una deducción lógica de sus hallazgos, ya que las pruebas que aporta en apoyo de semejante afirmación no son concluyentes. En la lámina XVI tomada de POLYAK todas las CH dibujadas (c), salvo la situada en la parte superior -- izqda. son de una zona parafoveal. No parece que llegara a lograr tinciones de las grandes células horizontales de las zonas próximas a la "ora serrata", cuya estructura, si no se estudia la retina teñida entera y en preparaciones panorámicas, montadas de plano no se relaciona a primera vista con las células parafoveales descritas por POLYAK.

Las diferencias morfológicas entre las células parafoveales y las periféricas se evidencia claramente en la lámina XVII al comparar las células señaladas con las letras A y B. El --

soma celular, en ambos casos, tiene aproximadamente el mismo tamaño, entre 8 y 10 micras de diámetro. Está situado en la línea más externa o escleral de la capa de granos internos. En las células horizontales parafoveales es más redondeado que en las periféricas, en las cuales tiene un aspecto más aplanado. Esta conformación del soma está condicionada por la forma en que se distribuyen las dendritas en cada caso. Las células parafoveales (lám. XVII-A) dan de 6 a 9 dendritas, cortas, dirigidas casi verticalmente hacia los cuerpos sinápticos de los fotorreceptores, de acuerdo con las descripciones iniciales de PÓLYAK; por el contrario, las células horizontales periféricas (lám. XVII-B) dan origen a gruesas dendritas de mucha mayor longitud que se expanden casi horizontalmente en todas direcciones.

Las dendritas de las células parafoveales se distribuyen en áreas circulares de aproximadamente 30 micras de diámetro y terminan por un ramillete de botones (lám. XVIII-A) característico. Este ramillete suele cubrir un área de aproximadamente 6 micras de diámetro, ligeramente inferior a la del cuerpo sináptico de los conos. En la lámina XVIII-B aparece el cuerpo sináptico de un cono (c) provisto de sus filamentos basilares superpuestos sobre el ramillete terminal de una dendrita de una célula horizontal parafoveal.

Con el método de GOLGI y en preparaciones de retina entera estudiadas de plano se comprueba que a veces confluyen dos ramilletes de células horizontales próximas para formar un conjunto de botones (lám. XVIII-A,b) para el cuerpo sináptico de un cono. Así mismo, se observa también la confluencia de botones terminales de una dendrita de CH-I y de una de las dendritas de la bipolar "flat" (lám. XVIII-C,d), así como la de una dendrita de CH-I con el penacho dendrítico de la bipolar "midget" (lám. XVIII-F,g).

En las células horizontales más periféricas, no solo la disposición de las dendritas es diferente, sino también, la forma en que dan ramitos terminales y en el número y disposición -

de sus botones. La célula de la lámina XVII-B, es una CH de tipo I situada temporalmente a 9 mm. del centro de la fovea. Sus dendritas que se expanden casi horizontalmente tienen una longitud comprendida entre 60 y 120 micras y cubren un área retiniana de --- 13.900 micras cuadradas. Es muy característico de estas células el que los ramos de botones terminales aparezcan también a lo largo de las dendritas, no sólo en su terminación, como sucede en las -- parafoveales. Por otra parte, estas finas ramas de botones terminales, sólo dan ramilletes análogos a los de las células parafovea-- les en las proximidades del soma. A lo largo de las dendritas, lo corriente es encontrar ramas terminales que dan botones aislados, -- dos ó tres botones que forman ramilletes diminutos, que cubren un área muy inferior a la del cuerpo sináptico del cono.

La ME nos ayuda a cuantificar e interpretar las co nexiones de las CH-I con los fotorreceptores, los cortes perpendiculares y transversales (lám. XIX-A,B) muestran claramente que así como los bastones no poseen mas que un sólo complejo sináptico apa recen varias triadas en los cuerpos sinápticos de los conos. Esta lámina muestra también, los contactos que establecen los conos entre sí, merced a desmosomas a nivel habitualmente de sus filamen-- tos basilares y los que establecen las esférulas de los bastones -- con los pies de los conos. Nunca hemos visto contactos entre los -- cuerpos sinápticos de bastones.

En los cortes tangenciales de los cuerpos sinápti-- cos de los conos pueden contarse el número de triadas que contiene (lám. XIX-B). Oscila entre 13 y 16. Si bien el área que cubre un -- ramillete de una CH parafoveal es sólo ligeramente inferior a la -- del pie del cono, el número de botones terminales es inferior al -- de triadas lo que implica que no todas ellas tienen como componen-- te lateral fibras terminales de una sola célula horizontal. Si to-- das las triadas sin excepción tienen como componentes laterales -- procesos terminales de CH, posiblemente la confluencia de ramille-- tes de 2 CH próximas, tal como hemos visto en la lámina XVIII-A,b, no sería una excepción sino una disposición general.

La participación de las CH periféricas en la triada de un cono es muy inferior a su participación en las CH parafoveales.

Un dato de interés es la inclusión de las "flat" - bipolares como parte integrante de las triadas de los conos. Según KOLB (1970) sólo hacen contactos superficiales con las bases del cuerpo sináptico del cono, sin embargo, en nuestras preparaciones las finas terminales dendríticas alcanzan el mismo nivel - que las terminales de las CH (lám. XVIII-C,d), lo que hace suponer que probablemente formen dentro de las triadas su elemento central.

El axón de las CH tipo I tiene un grosor de 1 a 2 micras, sigue un curso rectilíneo sin dar colaterales y termina - por una arborización con botones terminales individuales que al - contrario de los típicos de las dendritas no forman ramilletes. - En algunos casos el axón describe un arco de amplio radio, pero - lo habitual es que el curso rectilíneo permita calcular la longitud del axón, fácilmente.

Hemos logrado teñir íntegramente varias CH-I en - las que ha podido determinarse la longitud del axón con toda precisión. Dos ejemplos representativos de CH-I, una próxima a la fovea y otra cercana a la "ora serrata" son expuestos en las láminas XX y XXI. Las longitudes respectivas de sus axones son: 1.700 y 2.100 micras.

Las terminales axónicas cubren áreas distintas según las especies estudiadas. En el m. rhesus suelen tener áreas - de 13.500 micras cuadradas, siendo menores en el baboon. El número de bastones contactados, calculado con arreglo al número de botones terminales que presentan, es del orden de 300 a 500 en el macacus rhesus (lám. XXII).

Los axones de las CH de un determinado campo (lám. XXIII) se dirigen en todas las direcciones. Si consideramos -

una célula aislada cuyas dendritas abarcan áreas del orden de 30 micras de diámetro, en las zonas parafoveales, su terminal axónica puede encontrarse en cualquier dirección a unas 1.500 micras de distancia. Ahora bien, para áreas retinianas superiores que -- comprenden varias células horizontales y considerando que todas -- ellas son activadas simultáneamente, parece deducirse de los datos morfológicos, que hay una zona periférica donde se encuentran las terminales axónicas y que posiblemente rodea completamente el campo iluminado. La zona cubierta por las terminales axónicas varía con el tamaño y forma de la imagen retiniana, según se expresa en los esquemas de la lámina XXIV.

Las imágenes circulares teóricamente dan una zona de distribución de las terminales axónicas igualmente circular y concéntrica, de amplitud progresiva según el tamaño de la imagen. Las imágenes rectangulares estimulan células horizontales cuyos axones se distribuyen por una zona ovalada, con mayor amplitud en la dirección del lado mayor del rectángulo (lám. XXIV-A,B).

## 2.2.- Células horizontales de axón corto tipo - II.

En retinas de mono, impregnadas por el método ---- GOLGI-COLONNIER y dejadas en la solución de plata por periodos superiores a los tres meses de tiempo, GALLEGO y PEREZ ARROYO (1976) detectaron la presencia de una CH de axón corto con caracteres -- morfológicos claramente diferentes de la CH previamente descrita. Esta observación fué presentada en la primera reunión de la FESBE celebrada en Madrid. En publicaciones sucesivas, GALLEGO (1977) y GALLEGO y ALVAREZ MANZANERO (1978) ampliaron la descripción de este nuevo tipo de CH (lám. XXV) en un trabajo efectuado bajo los - auspicios de la Fundación March.

A esta nueva CH de axón corto de la retina de los primates se la ha asignado la denominación de tipo II, para dis--tinguirla de la célula previamente descrita que se designa como - de tipo I. La morfología del soma, árbol dendrítico, axón y termi--nales axónicas de las células de tipo II las hace fácilmente dis--tinguibles de las de tipo I, tal como puede apreciarse en las lá--minas XXVI y XXVII.

Los cuerpos celulares de las células horizontales de tipo II se encuentran situados entre los de las de tipo I, al nivel más externo (escleral) de la capa de granos internos e inme--diatamente por debajo de la capa plexiforme externa. El tamaño -- del soma redondeado o ligeramente ovoide (lám. XXVIII) es similar al de las células de tipo I, oscilando entre 8 y 10 micras de diá--metro, sin embargo, su árbol dendrítico y su axón difieren consi--derablemente de las mismas.

Del soma parten de 6 a 8 dendritas que inmediata--mente se dividen y subdividen en ramas más finas. Las dendritas - muestran un curso ondulante, entremezclándose unas con otras y --confiriendo a la célula un aspecto enmarañado (lám. XXIX). Las fi--nas ramas dendríticas dirigidas hacia los cuerpos sinápticos de - los fotorreceptores terminan por botones individuales (lám. XXVIII-A)

que agrupándose con los de otras dendritas vecinas forman un ramo cuyo diámetro -unas 6 micras- corresponde al de los pies sinápticos de los conos. Una célula típica presenta de 14 a 16 agrupaciones de botones sinápticos, lo que hace suponer que está conectada con este número de conos.

El árbol dendrítico de las CH de tipo II no presenta las diferencias morfológicas que se aprecian en las de tipo I según su localización retiniana. Por ello la identificación de -- las células de tipo II, no difícil en general en toda la retina, es especialmente sencilla en las proximidades de la "ora serrata" -- donde estas células carecen de las dendritas largas de las CH de tipo I; este extremo puede comprobarse en la lámina XXX.

Más típico aún que la morfología y distribución -- del árbol dendrítico de las células de tipo II es el curso, longitud y división de su axón frente al bien definido rectilíneo y -- sin dividirse de las células de tipo I. El axón parte directamente del soma o más frecuentemente de una dendrita en las inmediaciones del cuerpo celular, es muy fino, tiene 0,5 micras de diámetro y sigue un curso tortuoso por un trayecto de unas 400 micras (lám. XXXI). A lo largo del mismo, tanto del axón como de las colaterales que este emite, parten ramitas rematadas por uno o varios botones sinápticos. El curso sinuoso del axón hace que sus -- terminales se encuentren situadas a distancias menores que su longitud, habitualmente entre 100 y 200 micras.

Así como hemos comprobado que los fotorreceptores conectados por las CH de tipo I, conos por las dendritas y bastones por las terminales axónicas, se encuentran situados a distancias superiores al milímetro, los fotorreceptores que conectan -- las células de tipo II están más cercanos, lo que sin duda alguna ha de tener importancia funcional diferencial entre estos dos tipos celulares.

También existen diferencias entre las células de

tipo I y II en lo que se refiere a la morfología de las terminales axónicas. En las células de tipo I cuidadosamente estudiadas por varios autores (POLYAK, 1941; KOLB, 1970; GALLEGO y SOBRINO, 1975) y por nosotros mismos, el axón no presenta colaterales a lo largo de su trayecto y al final acaba en una arborización constituida por numerosas ramitas rematadas por botones sinápticos aislados y claramente definidos. En cambio, los axones de las células de tipo II emiten colaterales a lo largo de su trayecto que en vez de estar rematadas por botones sinápticos acaban en una especie de placas terminales, como puede comprobarse en la lámina XXIX.

El estudio de siete células impregnadas con la técnica GOLGI-ME ha permitido comprobar que los botones sinápticos de las dendritas penetran principalmente en las triadas de los conos, formando la mayor parte de las veces su componente lateral, si bien en algunos casos se ha visto que constituye el elemento central de la triada. Sin embargo, tanto KOLB, MARIANI y GALLEGO (1980) como nosotros hemos podido comprobar que en algunas ocasiones, los botones dendríticos penetran en el complejo sináptico de los bastones. En dos ocasiones se ha podido demostrar que las células conectaban con diez conos en un caso y con veintidos en el otro; en otros tres casos estudiados, las terminales axónicas establecían también contacto con los conos KOLB, MARIANI y GALLEGO (1980) formando el componente lateral de sus triadas. Sin embargo, nosotros hemos constatado en algunos casos que las pequeñas placas que rematan las terminales axónicas establecen contacto con la base del cuerpo sináptico del cono.

Funcionalmente, por lo tanto, este tipo celular que conecta principalmente conos por sus dendritas (y quizás algún bastón) y también conos por sus terminales axónicas es netamente distinto de las células horizontales de tipo I cuyos caracteres morfológicos presentan igualmente otras peculiaridades.

En la lámina XXX obtenida de una retina de macaca

cus rhesus se muestran en dos planos de enfoque fotorreceptores y células horizontales, aspectos morfológicos comparativos de los somas de las CH-I y CH-II a distancias comprendidas entre 3 y 12 mm. del centro de la fovea.

El esquema de la lámina XXXII resume las diferencias de contactos sinápticos de las CH-I y CH-II.

### 3.- RELACION ENTRE FOTORRECEPTORES Y CELULAS HORIZONTALES.

Los recuentos de conos en retinas teñidas por el método de GOLGI han sido utilizados para estudiar su número en -- las áreas cubiertas por las dendritas de las células horizontales, análisis que efectuamos a continuación:

En la lámina VIII, la CH-I, señalada con la letra - 'A', está situada a 2 mm. del centro de la fovea y es una célula - típicamente parafoveal. Sus dendritas cubren un área de 706 mi--- cras cuadradas, en la cual se cuentan 12 conos. Los doce conos, -- probablemente, hacen contacto con los ramilletes dendríticos de la célula horizontal. Ha de tenerse en cuenta que el área cubierta por el pie de un cono, aproximadamente circular, tiene unas cua-- tro micras de radio lo que da un valor para la misma de 50,2 mi-- cras cuadradas. Estos datos corresponden a resultados obtenidos - por observación directa, ya que en un área de 706 micras cuadra-- das habría 14 conos si estuviesen a nivel de su cuerpos sinápti-- cos íntimamente acoplados; el número obtenido, ligeramente infe--- rior, de 12 conos se explica por los espacios que dejan entre sí - los cuerpos sinápticos de los conos a nivel de la capa plexiforme externa. En esta zona el número de células horizontales por mm<sup>2</sup>. sería de 1.416 ya que ocuparían todo este espacio al ser sus áreas tangentes. El número de conos por mm<sup>2</sup> en contaje directo es de -- 15,5 por 10<sup>3</sup>, lo que corresponde a una distancia de 2 mm. del centro de la fovea.

La célula de la lámina VIII, señalada con la letra 'C', está situada a 4 mm. del centro foveal. Sus dendritas cubren un área de 1.808 micras cuadradas y en ella se encuentran 16 co-- nos, los cuales probablemente contactan en su totalidad con los - ramilletes dendríticos de dos células horizontales. El número de células horizontales por mm<sup>2</sup> sería como mínimo de 553. Seguramen-- te la cifra es mayor ya que a este nivel comienzan a superponerse algunos campos de células horizontales vecinas. El número de co-- nos por mm<sup>2</sup> calculados por observación directa es de 8,8 por 10<sup>3</sup>.

La célula señalada con la letra 'E', de la lámina VIII, está situada a 6 mm. del centro foveal y cubre un área de 3.661 micras cuadradas, contándose 20 conos dentro de la misma. Los ramilletes de botones terminales de las dendritas no se han teñido siendo por tanto difícil determinar el número de conos con que contacta esta célula, pero que en todo caso ha de ser inferior a 20.

La célula de la lámina IX, señalada con la letra 'A' que se muestra en dos planos de enfoque, parece evidenciar que tanto las dendritas como los ramilletes terminales de las mismas cubren un área de 6.384 micras cuadradas dentro de la cual, por recuento directo, se comprenden 33 conos. Esta célula se encuentra situada a 6,5 mm. del centro de la fovea, en la retina temporal. La concentración de conos por mm<sup>2</sup> es de 5,1 por 10<sup>3</sup>. El número de 35 conos sería el máximo de los que podrían contactar con la CH, sin embargo, el número de ramilletes completos de la misma es inferior a 10 y la distribución de las dendritas hacen poco probable que las finas ramitas terminales de las mismas, con uno o dos botones, contacten con los 25 conos restantes. Un cálculo aproximado permite suponer que como máximo sólo 10 ó 15 conos tienen alguna triada con terminales procedentes de esta célula horizontal.

La célula señalada con la letra 'B', de la lámina IX, está situada a 6,8 mm. del centro de la fovea, cubriendo un área de 6.867 micras cuadradas en la que se encuentran 35 conos. El mismo razonamiento que para el caso anterior se puede hacer aquí para calcular el número de conos que establecen contacto con la célula horizontal.

Las CH de la lámina X, señaladas con las letras 'A' y 'B', cubren áreas de 5.505 y 4.100 micras cuadradas, a las cuales les corresponden 26 y 17 conos respectivamente. Están situadas a una distancia de la fovea de 7 mm.

La CH de la lámina X, señalada con la letra 'D' cu-

bre un área de 10.008 micras cuadradas, a la cual le corresponden 36 conos. Están situadas a una distancia de 8 mm. de la fovea.

Otros tantos ejemplos tomados a distancias comprendidas entre los 2 y 10 mm. de la fovea, obtenidos a partir de retinas de macacus rhesus, se recogen en la tabla adjunta, en la que puede observarse como el número de células horizontales por mm<sup>2</sup> desciende a medida que nos acercamos a la "ora serrata" en relación, sin duda, con la dispersión de conos a este nivel.

Distancia al centro de la fovea en mm.	área CH en micras cuadradas.	conos por área de CH.	Núm. de CH por mm <sup>2</sup> .	Núm. de conos por mm <sup>2</sup> x 10 <sup>3</sup> .
2	706	12	1.416	17
3	490	5,6	2.040	11,4
4	1.256	11,5	796	9,1
4	1.808	16	553	8,8
4,5	1.385	11,8	722	8,5
4,9	5.225	29	191	5,5
5	5.115	27	195	5,2
5,4	4.324	27	231	6,2
5,9	5.715	29	174	5
6	9.300	52	107	5,5
6	3.661	20	273	5,4
6,5	9.900	44	101	4,4
6,5	6.384	33	156	5,1
6,8	6.867	35	145	5
6,8	5.575	28	179	5
7	5.505	26	181	4,7
7	4.100	17	243	4,1
7,8	6.210	27	161	4,3
7,8	5.965	26	167	4,3
8	10.008	36	99	3,6
8,5	13.550	43	73	3,2
10	15.317	43	65	2,8
10	9.969	43	100	4,3

Las discrepancias que se observan en la tabla, en cuanto al cálculo de CH, se deben, sin duda, a que éste se ha --- efectuado indirectamente y también a que las áreas cubiertas por las CH se superponen y son más extensas e irregulares a medida -- que nos aproximamos a la periferia retiniana.

El contaje de los conos que contactan con los ramilletes de botones terminales de las dendritas de una CH-I pueden, también, determinarse directamente si tenemos en cuenta que el área cubierta por cada ramillete se corresponde aproximadamente con el área de un pie de cono. Sin embargo, algunas terminaciones no poseen nada más que un sólo botón terminal y en este caso el pie de cono completaría su superficie sináptica con los botones terminales de otras CH-I vecinas, extremo que puede comprobarse en la lámina XXXV, señalada con la letra 'B'.

Varios ejemplos de esta modalidad de contaje, a -- partir de las CH-I de retinas de macacus rhesus en las que se han logrado teñir, con bastante precisión, los ramilletes de botones terminales de las dendritas, son expuestos a continuación.

Las CH-I seleccionadas están situadas a distancias del centro de la fovea comprendidas entre 1,5 y 11 mm. en cualquier dirección. Los círculos señalados en las fotografías, cuyos diámetros se corresponden con los de un pie de cono, enmarcan los ramilletes que se supone que hacen contacto con los mismos.

En la lámina XXXIII, las células 'A', 'B' y 'C', -- son parafoveales. La más alejada, CH-I 'A', está a 2,5 mm. de la fovea y la más próxima, CH-I 'C', a 1,5 mm.; estas células establecen contacto con 8 a 10 conos. La CH-I 'D', de esta misma lámina, está situada a 4 mm. de la fovea y establece contacto con -- 22 conos.

La CH-I de la lámina XXXIV está situada a 10 mm. -- de la fovea y hace contacto con 36 conos.

La CH-I de la lámina XXXV está situada a 11 mm. de la fovea y establece contacto con 42 conos.

La CH-I de la lámina XXXVI está también situada a 11 mm. y hace contacto con 39 conos.

Las CH-I próximas a la fovea ocupan un área pequeña, nunca se superponen y su densidad por mm<sup>2</sup> es mucho mayor que las situadas periféricamente cuyas dendritas sí se superponen. -- Las dendritas de las CH-I parafoveales son gruesas, de escasa longitud y acaban en un ramillete de botones. Las CH-I cercanas a la "ora serrata" poseen unas dendritas largas y finas que dan numerosas colaterales en su trayecto, rematadas, también, por pequeños ramilletes de botones sinápticos.

Las variaciones de tamaño de las CH-II son menos marcadas en relación con su distancia a la fovea. Las áreas cubiertas por las células de tipo II son siempre circulares y su tamaño oscila como máximo entre 50 y 75 micras de diámetro.

En la lámina XXXVII se representan esquemáticamente los campos dendríticos de las CH-II y CH-I en relación con su distancia a la fovea. Las áreas cubiertas por las CH-II son prácticamente circulares y éstas varían en escasa proporción en relación con su distancia a la fovea. Por el contrario, las superficies cubiertas por las CH-I no sólo cambian considerablemente de tamaño, en relación con su distancia a la fovea, sino también de forma. Hasta 2 mm. del centro de la fovea las áreas son circulares y no se superponen, entre 2 y 4 mm. comienzan a superponerse, si bien, mantienen su forma circular. Entre 4 y 6 mm. se hacen irregulares y esta irregularidad y superposición de áreas aumenta a medida que nos aproximamos a la "ora serrata".

## 4.- ¿CELULAS HORIZONTALES SIN AXON O CELULAS DE MICROGLIA?

Los métodos neurofibrilares (CAJAL, BALBUENA, --- 1922) que se mostraron muy útiles para la tinción de las células horizontales sin axón de los mamíferos inferiores, fracasaron --- cuando se aplicaron a los primates con la intención de buscar tipos celulares análogos. Sin embargo, GALLEGO (1975) consigue con el método de GOLGI demostrar un tipo celular de cuyo soma de pequeño tamaño parten procesos que se extienden en un plano a nivel de la capa plexiforme externa y que terminan en pequeñas expansiones a veces en forma de gruesos botones aislados, dirigidas hacia los cuerpos sinápticos de los fotorreceptores. La primera interpretación que dió GALLEGO a este hallazgo fue la de encontrarnos frente a células horizontales sin axón de la retina de los primates. Posteriormente WEST (1978), también con el método de GOLGI, describe un tipo celular semejante en la retina de la ardilla que es interpretado, igualmente por este autor, como célula horizontal sin axón.

En ninguno de los casos, la técnica de GOLGI-ME -- permitió a los autores antes citados demostrar que las expansiones terminales de los procesos celulares penetrasen en los complejos sinápticos de los fotorreceptores, por lo que siguen existiendo dudas acerca de si este tipo celular es o no una célula horizontal.

En nuestras preparaciones de retina de mono hemos logrado algunas tinciones que pueden aclarar esta cuestión, lo -- que obliga a una comprobación en la retina de la ardilla por tratarse probablemente del mismo elemento celular.

En numerosas ocasiones el método de GOLGI-COLONNIER ha permitido la tinción de la neuroglia retiniana: células de -- MULLER, astrocitos, oligodendroglia y microglia perivascular e intersticial. Estas preparaciones (lám. XXXVIII) presentan un gran

interés ya que las descripciones modernas de neuroglia y microglia retiniana son escasas e incompletas, hasta el punto de negarse en lo referente a la microglia su existencia en el tejido normal por parte de varios autores que no han sido capaces de demostrarla con las técnicas por ellos utilizadas, a pesar de contar con la descripción inicial de LOPEZ ENRIQUEZ (1926) y la más reciente de GALLEGO (1976) que parecen ser ignoradas por algunos investigadores actuales. Aunque, como afirma el propio HORTEGA, "cada célula de microglia tiene su apariencia característica", es posible distinguirla del resto de la glia como puede apreciarse en la lámina XXXVIII.

La lámina XXXIX es una microfotografía del tipo celular descrito por GALLEGO en la retina de los primates. Esta célula está situada a nivel de la capa plexiforme externa, inmediatamente por debajo (vitreal) de los cuerpos sinápticos de los fotorreceptores. La preparación corresponde a una retina de baboon impregnada por el método de GOLGI, in toto, y montada de plano. Claramente se comprueba que las expansiones celulares se encuentran en un mismo plano, disposición que hizo suponer en un principio que se podía identificar como una célula horizontal. Sin embargo, los detalles estructurales no corresponden a los que consideramos característicos de las células horizontales sin axón. Estas muestran finas ramas terminales que parten de las gruesas expansiones celulares dirigidas hacia los cuerpos sinápticos de los fotorreceptores y que se resuelven en delicados ramilletes de botones que, según se ha demostrado mediante la técnica de GOLGI-ME, penetran en los complejos sinápticos de los conos. Por el contrario, las células objeto de nuestro estudio presentan unas gruesas expansiones terminales rematadas por botones abultados, de apariencia tosca. GALLEGO (1976) no había podido comprobar que estos gruesos botones penetrasen en el complejo sináptico de los fotorreceptores. En una nueva serie de células, estudiadas por nosotros mediante la técnica GOLGI-ME, no hemos podido demostrar, en ningún caso, que estos gruesos botones tomen contacto con los pies de los fotorreceptores.

Para nosotros, no está pues aclarado, en forma alguna, que este tipo celular corresponda a una neurona horizontal. La identificación y tinción de varias células de parecidas características obtenidas simultáneamente a tres niveles distintos de vascularización retiniana (lám. XL) nos permite comprobar su semejanza con la microglia, ya que al igual que en ella, las prolongaciones celulares se proyectan en las tres dimensiones del espacio, a diferencia de lo ocurrido con las células horizontales sin axón de otras especies.

Las imágenes de los microgliocitos varían discretamente según las capas de la retina en que se encuentren. A nivel de las células ganglionares y capa de fibra del nervio óptico suelen adoptar un aspecto alargado. En las capas plexiforme interna y granos internos aparece el típico aspecto de la microglia intersticial, demostrado en la sustancia gris del cerebro de los animales normales.

Es frecuente la presencia de células de microglia perivascular con expansiones que abrazan al capilar y que relacionamos con pericitos que en ocasiones son fácilmente detectables con el método de COLONNIER. Los pericitos (lám. XLI-E) presentan un núcleo ligeramente ovalado que hace prominencia sobre la pared capilar y alrededor del cual surgen expansiones que abrazan al vaso. La microscopía electrónica ha demostrado que tanto el soma del pericito como sus expansiones celulares están separados del endotelio y del tejido nervioso por la membrana basal (BARON y GALLEGO, 1972).

Las imágenes que hemos obtenido (lám. XLI) confirman la sugerencia expuesta por BARON y GALLEGO (1972) de que el pericito se moviliza para transformarse en célula de microglia primero perivascular y después intersticial. En la primera fase de esta movilización el soma del pericito hace una mayor prominencia sobre la pared vascular y de él parten pequeñas expansiones que se insinúan entre los elementos del tejido nervioso. En otras

imágenes se comprueba que el pericito se ha desprendido casi completamente del capilar a nivel del soma, mientras que sus expansiones celulares continúan abrazándolo. Una representación esquemática de la movilización de pericitos, transformación de los mismos en microglia y migración hacia los distintos niveles de vascularización retiniana es expuesta en el esquema de la lámina XLII.

A nivel de la capa plexiforme externa, la morfología y disposición en el espacio de las células de microglia es ligeramente diferente, tal como señaló VRABEC (1968). Son células de mayor tamaño que en el resto de las capas retinianas y sus procesos celulares se expanden en un plano horizontal. De estos procesos parten otros colaterales de menor longitud que se dirigen hacia los cuerpos sinápticos de los fotorreceptores, de la misma forma que lo hacen las células horizontales sin axón de la retina de los mamíferos inferiores. No hemos visto microgliocitos situados escleralmente a los cuerpos sinápticos de los fotorreceptores, si bien en ocasiones aisladas, se ven algunos cuyo soma se encuentra en plena plexiforme externa e incluso entre los cuerpos sinápticos de los conos y bastones. Posiblemente corresponden a estos microgliocitos los núcleos descritos por E. DIAZ (citado por POLYAK, 1941) y que fueron interpretados como núcleos de células neuróglícas.

En trece células de este tipo aisladas, reincluidas después de ser teñidas por el método de GOLGI-COLONNIER y estudiadas con microscopía electrónica, no hemos podido demostrar su relación con los fotorreceptores, por lo que deducimos que son microgliocitos que emigran desde las capas más vitreales de la retina y al no poder atravesar la barrera formada por los cuerpos sinápticos de los fotorreceptores se disponen con sus expansiones en un plano horizontal a nivel de la capa plexiforme externa, esquema de la lámina XLII.

Terminada la redacción de este estudio, BOYCOTT y HOPKIN (1981) llegan a las mismas conclusiones que nosotros, con-

firmando estudios anteriores de la escuela española, aunque no lo  
formulen explícitamente.

VII. DISCUSION

El estudio de la capa plexiforme externa de la retina del mono ha demostrado lo arriesgado de interpretar literalmente la afirmación de CAJAL (pag. 1) de que "la estructura de cada capa (de la retina) y la morfología de cada célula son absolutamente constantes". Es ésta una suposición que, incluso hoy día (MOLENAAR, 1981), permite afirmar a los electrofisiólogos "que es razonable y útil usar el conocimiento de los estudios en unidades individuales (microelectrofisiología) de la retina del gato para explicar aquellos fenómenos psicofisiológicos de la visión humana que parecen determinados predominantemente por mecanismos retinianos".

Es indudablemente útil el estudio de las respuestas celulares individuales en retinas de animales inferiores en diversas condiciones de iluminación retiniana, pero muy arriesgado extrapolar los resultados obtenidos para interpretar los mecanismos de codificación de las señales originadas en los fotorreceptores en la retina de los primates y concretamente en la retina humana.

Nuestra afirmación se basa en las variaciones que se han demostrado en la retina de los tetrápodos tanto en lo referente a diferencias cualitativas y cuantitativas de los fotorreceptores y células horizontales como de las conexiones que existen entre estos elementos celulares.

Por otra parte, el estudio electrofisiológico de una determinada retina ha de hacerse con un exacto conocimiento de su organización estructural y no, como ha ocurrido con frecuencia, basándose en esquemas generales de organización utilizados como supuestamente ciertos. Este punto de vista, expresado claramente, por ejemplo, por MOLENAAR (1981) de que "..... el sistema visual de estas especies (gato, mono y hombre por nombrar sólo algunas) tiene una organización muy similar.... hay incluso simili-

tudes obvias en las características morfológicas de las células, agrupamientos celulares, contactos celulares, distribución de los tipos celulares, etc.... en la retina de las tres especies".

Es cierto que los estudios de organización funcional de la capa plexiforme externa de la retina, realizados en los últimos años, permiten llegar a la conclusión de que en los tetrápodos y concretamente en los mamíferos existen dos tipos básicos de células horizontales con conexiones funcionales diferentes:

a) la célula horizontal de axón corto (CAJAL, -- 1893) que conecta la sinapsis cono-bipolar para conos por sus dendritas con la sinapsis bastones-bipolar para bastones por sus terminales axónicas.

b) la célula horizontal sin axón (GALLEGO, 1964) - que conecta exclusivamente con triadas de conos, y que forma, en los mamíferos inferiores, una capa sincitial que cubre toda la extensión de la retina.

Sin embargo, la célula horizontal de axón corto, - aunque presente las mismas conexiones funcionales en todos los mamíferos, tiene características diferenciales evidentes entre los mamíferos inferiores y los primates: en el gato y el perro, por ejemplo, conecta con 30-50 conos por sus dendritas y con 3.000-4.000 bastones por sus terminales axónicas, situadas éstas a unas 400 micras de distancia del cuerpo celular, mientras que en los primates las células horizontales parafoveales conectan de 6-9 conos con 300-400 bastones situados a unas 2.000 micras de distancia. Este hecho tiene una significación funcional de gran interés. Los potenciales intracelulares, que se supone son obtenidos de células horizontales de axón corto en la retina del gato, son típicos potenciales "S", discutiéndose si pueden propagarse por un axón de 1-2 micras de diámetro a la distancia de 400 micras donde radican las terminaciones y por ende la participación de la célula horizontal en el complejo sináptico de los bastones. En lo que

todos los autores están de acuerdo es que un potencial electrotónico, como el registrado en la retina del gato, no se puede propagar en una distancia de 2 mms. por un axón de 1 micra de diámetro que sería el caso de las células horizontales de axón corto en la retina de los primates. Todo ello implica el que no podamos extrapolar los datos recogidos en la retina del gato, por otra parte - discutibles, a la retina de los primates en lo referente a la función de las células horizontales de axón corto.

Pero aún mas seria es la discrepancia referente a las células horizontales sin axón ya que los primates, al menos - los monos, constituyen una excepción entre los mamíferos puesto - que, hasta ahora, la célula horizontal sin axón no ha podido ser encontrada. Sin embargo, los primates están dotados de un segundo tipo de célula horizontal de axón corto, que no existe (salvo en la ardilla) en la retina de los mamíferos inferiores, pero que -- presenta conexiones funcionales idénticas a las de las células -- sin axón de estos últimos.

Nos encontramos en la retina de los primates con - los dos sistemas funcionales mediados por las células horizontales presentes en la retina de todos los tetrápodos pero a través, en uno de ellos, de células morfológicamente muy diferentes.

Estos dos sistemas son: a) el de las células horizontales de axón corto que conectan triadas de la sinapsis cono-bipolar para conos por sus dendritas con la sinapsis bastones-bipolar para bastones por sus terminales axónicas a una distancia - comprendida entre 1.500 y 2.000 micras y b) el de las células horizontales de axón corto, tipo II, que conectan tanto por sus dendritas como por sus terminales axónicas, las sinapsis de cono-bipolar para conos.

Discutiremos, en primer lugar, el problema de la - ausencia de la célula horizontal sin axón, peculiar entre los tetrápodos, en la retina de los primates.

Los métodos neurofibrilares (BALBUENA, CAJAL, ---- GROS, 1922) que demuestran su existencia en la retina de los mamíferos inferiores y que permitieron a GALLEGO (1964) su descubrimiento han fracasado en la retina del mono a pesar de teñir electivamente los otros elementos celulares (c. ganglionares y amacrinas) que se tiñen simultáneamente con las horizontales sin axón en las retinas de mamíferos inferiores. Igualmente, tanto las diversas variantes del método de GOLGI como la disociación enzimática de la retina han resultado impotentes para poner en evidencia este tipo celular. Nos referimos globalmente al estudio de más de 200 retinas de mono y diecisiete retinas humanas.

Hemos logrado, sin embargo, imágenes (lám. XXXIX) de un tipo celular descrito por GALLEGO (1975), inicialmente con reservas, como una célula horizontal sin axón. Este autor, posteriormente (GALLEGO, 1976), sugería que más que una célula horizontal sin axón el elemento celular descrito parecía ser un microgl*liocito*. La demostración de su categoría de célula horizontal debía hacerse a través de la comprobación de sus conexiones con los fotorreceptores, utilizando la técnica GOLGI-ME. Nuestro estudio muestra que en ningún caso las expansiones finales, con aspecto a veces de gruesos botones, de los procesos celulares se ponen en contacto con los cuerpos sinápticos de los fotorreceptores. Ello unido a que en nuestras preparaciones pueden observarse los diversos aspectos morfológicos de la microglia desde su origen a partir de los pericitos capilares, nos permite suponer que el tipo celular descrito es una célula de microglia que al emigrar hacia las capas externas de la retina y no poder atravesar la barrera de los cuerpos sinápticos de los fotorreceptores se dispone con sus expansiones, en un plano horizontal tal como están dispuestos los procesos celulares de las células horizontales sin axón de los mamíferos inferiores. En el curso de la redacción de esta tesis hemos tenido conocimiento del trabajo de BOYCOTT y HOPKINS (1981) en el que estos autores llegan a la misma conclusión.

Colateralmente un problema análogo se presenta con

el tipo celular descrito como una célula horizontal sin axón en la retina de la ardilla por WEST (1978). Por sus dibujos se deduce que es una célula análoga a la estudiada por nosotros y con toda probabilidad es también un microgliocito.

La presencia de células de microglia en las retinas normales es constante, habiendo sido comprobada por nosotros no sólo en el mono sino también en el gato y por A.G. TARRES (1981) en la retina de las aves. Es de esperar que después de los trabajos iniciales de LOPEZ ENRIQUEZ (1926), las comprobaciones de la escuela checa (HAYREH y VRABEC, 1966; VRABEC, 1968, 1970, 1973, 1975) y de nuestro estudio no vuelvan a surgir dudas acerca de su presencia en las retinas normales, ignorándola (LESSEL y KUWAHARA, 1963) o negando su existencia (GLOOR, 1969).

Como señalábamos anteriormente, el otro carácter diferencial de la retina del mono con respecto a la de otros mamíferos inferiores, es la presencia en la primera de un tipo peculiar de célula horizontal de axón corto que conocemos con la denominación de tipo II. Y lo que es aún más interesante es que este tipo celular presenta unas conexiones, a pesar de su diferente morfología, análogas a las de las células horizontales sin axón de los mamíferos inferiores, esto es, parece jugar el papel funcional de conectar en la retina del mono grupos de sinapsis cono-bipolar para conos entre sí a distancias no superiores a las 100 micras. Merece también destacarse el hallazgo de un tipo análogo de célula horizontal de axón corto en la retina de la ardilla (WEST, 1978) que como sabemos está dotada exclusivamente de conos.

Las células horizontales de axón corto tipo I han sido estudiadas a fondo. La densidad de las mismas por área retiniana, las diferencias cuantitativas de sus conexiones entre cono-bipolar de conos y bastones-bipolar de bastones, la longitud de su axón y orientación son datos, todos ellos, que plantean interesantes problemas funcionales que analizamos más adelante.

No se han obtenido registros intracelulares de res-

puestas eléctricas en ninguno de los tipos de células horizontales de la retina del mono y, como hemos visto, su disposición en la organización de la capa plexiforme externa, si bien sigue las líneas generales de la retina de los tetrápodos, presenta suficientes peculiaridades como para no poder extrapolar los datos obtenidos en el gato a la retina del mono y menos aún a la del hombre, si bien la información lograda puede sernos de gran ayuda una vez analizada críticamente.

El gato ha sido, entre los mamíferos, el animal de elección para el estudio de las respuestas de las células horizontales a la iluminación retiniana. Ahora bien, la mayor parte, si no todas, de estas respuestas se han obtenido de las células horizontales sin axón más grandes y que forman una capa continua y -- por ello más fácilmente penetrables con microelectrodos. ¡Pero es precisamente este tipo celular el que está ausente en la retina del mono!

Hechas estas salvedades los datos obtenidos en la retina del gato responden a las propiedades siguientes:

a) Los campos receptores de las células horizontales, esto es, el área retiniana cuya iluminación produce una respuesta en la célula estudiada, es superior al área que cubren sus dendritas o expansiones celulares (BROWN y MURAKMI, 1968; STEINBERG, 1969; FOERSTER y cols., 1977a, 1977b; NELSON, 1977; MOLENAAR, 1981).

b) Los campos receptores de las células horizontales en el gato son anisotropos (MOLENAAR, 1981) propiedad que habría que comprobar en la retina del mono.

c) Las células horizontales estudiadas responden a "inputs" de conos y bastones en proporciones diversas, siendo el componente de bastones muy alto en los estudios de NELSON. Al interpretar este hecho se deben tener en cuenta los contactos entre

los cuerpos sinápticos de los dos tipos de fotorreceptores, que en el mono están aún mucho más desarrollados que en el gato, hasta el punto de que de nuestros estudios se puede postular la existencia de "unidades funcionales" formadas por un cono y los 10-12 bastones que le rodean y que probablemente establecen todos contactos desmosómicos con el cuerpo sináptico del cono en cuestión.

Ante la ausencia de datos objetivos obtenidos de la retina del mono, en lo que se refiere a respuestas eléctricas de las células horizontales de tipo I y II, y a las dificultades para extrapolar a esta retina y a la humana los datos obtenidos en mamíferos inferiores, sólo podemos plantear en hipótesis el papel que éstas desempeñan basándonos en los datos logrados por el estudio de su organización funcional (lám. XLIII), lo que indudablemente plantea preguntas a las que hay que responder experimentalmente.

Las células horizontales de tipo I, que conectan triadas de conos y complejos sinápticos de bastones situados a 2 mms. de distancia, podrían modular la activación de la vía bastones-bipolar para bastones, según las condiciones de iluminación retiniana. En condiciones de visión escotópica sólo son activados los bastones debido a su máxima sensibilidad.

El incremento de iluminación retiniana estimula -- los conos en forma progresiva y también, por supuesto, los bastones. Pero al ser estimulados los conos se activan las dendritas de la célula horizontal y la señal originada, sea un potencial "S" o más probablemente un "spike" propagado por el axón, modulará la respuesta de los bastones directamente a través de las terminaciones axónicas en el complejo sináptico de los bastones, o bien la respuesta de la bipolar de bastones al potencial de receptor de los bastones. En otros terminos, la célula de tipo I inhibiría la vía bastones-bipolar para bastones cuando los conos "rojos", "azules" y "verdes" son estimulados, tal como señala el esquema de la lámina XLIII.

Las células de axón corto tipo II han de estar relacionadas, por las conexiones que han sido demostradas, con la función de los conos. Establecen relación entre grupos de conos situados a distancias del orden de las 100 a 200 micras. Existe la posibilidad de que intervengan inhibiendo la señal del grupo de conos conectados por sus terminales axónicas cuando se activan los conos conectados con sus dendritas. Es muy tentador pensar -- que las conexiones que establecen lo son entre grupos de conos de máxima sensibilidad a la luz roja con grupos de conos de máxima sensibilidad al verde o al azul interviniendo de esta forma en la detección de contrastes y codificación de las señales que inician la excitación de vías que producen la sensación de color, pero de momento no imaginamos como se pueda demostrar experimentalmente su función

VIII. C O N C L U S I O N E S

- 1.- La distribución de fotorreceptores en la retina de los monos es sensiblemente igual a la del resto de los primates.
- 2.- Un cono y un grupo de bastones, generalmente 10 a 12, establecen contactos desmosómicos a nivel de los cuerpos sinápticos. Este hallazgo puede tener significación funcional.
- 3.- En las zonas próximas a la "ora serrata" aparecen bastones - que no establecen contactos desmosómicos con los conos.
- 4.- La estructura de la capa plexiforme externa de la retina del mono (y posiblemente de todos los primates) difiere sustancialmente de la de los mamíferos inferiores. En consecuencia, no se pueden extrapolar a la retina del mono (y probablemente a la humana) los datos de análisis electrofisiológico con registros intracelulares obtenidos en retinas de gato u otros mamíferos inferiores.
- 5.- Las diferencias entre la retina del mono y la retina de mamíferos inferiores radican en los tipos de células horizontales presentes y en las conexiones que establecen con la sinapsis fotorreceptor-célula bipolar.
- 6.- En la retina del mono no se detecta la célula horizontal sin axón, presente en el resto de los mamíferos y, en general, - en todos los tetrápodos.
- 7.- La célula descrita previamente por algunos autores como célula horizontal sin axón es, en realidad, un microgliocito.
- 8.- Existen en la retina del mono dos células horizontales de axón corto, en vez del único tipo descrito en la retina del resto de los tetrápodos, incluidos los mamíferos inferiores.

- 9.- La densidad de las células horizontales desciende a medida que nos aproximamos a la "ora serrata".
- 10.- La célula horizontal de axón corto de tipo I es análoga a la presente en las retinas del resto de los tetrápodos, y establece conexión con la sinapsis conos-bipolar para conos por sus dendritas con las sinapsis bastones-bipolar para bastones por sus terminales axónicas, situadas a unos 2 mms. de distancia del cuerpo celular.
- 11.- La célula horizontal de axón corto, tipo II, es característica de la retina del mono, aunque se ha encontrado también, y únicamente entre los mamíferos inferiores, en la retina pura de conos de la ardilla. Establece conexión tanto por sus dendritas como por sus terminales axónicas con la sinapsis conos-bipolar para conos, siendo en este sentido análoga a la célula horizontal sin axón de los mamíferos inferiores.
- 12.- Estos resultados confirman que en la retina del mono, como en la de todos los tetrápodos, existen a nivel de la capa plexiforme externa dos sistemas funcionales mediados por las células horizontales: a) de interacción entre las sinapsis de las vías de conos y de bastones, y b) de interacción únicamente entre las sinapsis de las vías de conos.

IX. BIBLIOGRAFIA

- BALBUENA, F.F. (1922)  
Una fórmula para la aplicación del método de ----  
CAJAL a los cortes de retina.  
Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid. 20: 31-39
- BALBUENA, F.F. (1930)  
Connexions des cones et des batonnets au niveau -  
de la plexiforme externe.  
Bull. et Mem. Soc. Fr. d'Ophtalm., 5:826
- BALBUENA, F.F. (1936)  
Conexiones de los conos y bastones a nivel de la  
capa plexiforme externa.  
Arch. de Oft. Hisp. Amer., 35: 337
- BARON, M. y GALLEGO, A. (1972)  
The relation of the microglia with the pericytes -  
in the cat cerebral cortex.  
Z. Zelforsch. 128: 42-57
- BARON, M. y GALLEGO, A. (1982)  
En: The structure of the eye.  
J. G. Hollyfield, ed. Elsevier North Holland ----  
Inc., IV: 165-174
- BOYCOTT, B.B. y DOWLING, J. E. (1969)  
Organization of the primate retina: Light -----  
microscopy.  
Phil. Trans. Roy. Soc., B 255: 109-184
- BOYCOTT, B.B.; DOWLING, J.E.; FISHER, S.K.; LATIES, A.M. (1975)  
Interplexiform cells of the mamalian retina and --  
theirs comparison with catecholamina-containing --  
retinal cells.  
Proc. Roy. Soc. Lond., 191: 353-368
- BOYCOTT, B.B. y HOPKINS, J.M. (1981)  
Microglia in the retina of monkey and other ----

mammals; its distinction from other types of----  
glia and horizontal cells.  
Neuroscience. 6: 679-688

BOYCOTT, B.B. y KOLB, H. (1973a)

The connexions between bipolar cells and-----  
photoreceptors in the retina of the domestic cat.  
J. Comp. Neurol., 148: 91-114

BOYCOTT, B.B. y KOLB, H. (1973b)

The horizontal cells of the monkey rhesus retina.  
J. Comp. Neurol., 148: 115-140

BROWN, K.T. y MURAKAMI, M. (1968)

Rapid effect of light and dark adaptation upon--  
the receptive fields organization of S-potentials  
and late receptor potentials.  
Vis. Res., 8: 1145-1171

CERVETTO, L. y MAC NICHOL, E.F. (1971)

Biol. Bull., 141: 381

COHEN, A.I. (1963)

The fine structure of the visual receptors of the  
pigeon.  
Exp. Eye Res., 2: 88-97

COHEN, A.I. (1964)

Some observations on the fine structure of the -  
retinal receptors of the American gray squirrel.  
Invest. Ophtal., 3: 198-216

COHEN, A.I. (1965)

Some electron microscopic observations on -----  
inter-receptor contacts in the human and -----  
macaque retinae.  
J. Anat., 99: 595-610

CRESCITELLI, F. (1972)

The visual cells and visual pigments of the ----  
vertebrate eye.

En: Handbook of sensory Physiology ed. by H.J.A.  
Dartnall. V-VII/1  
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York

DIETERICH, C.E.; ROHEN, J.W. (1970)

Ueber die Receptoren der menschlichen Netzhaut.  
V. Graefe's Arch., 179: 235-258

DOGIEL, A.S. (1883)

Die retina der Ganoiden.  
Arch. Mikr. Anat., 22: 419-472

DOGIEL, A.S. (1884)

Ueber die Retina des Menschen.  
Internat. Monatss. f. Anat. u. Histol., I: 143-151

DOGIEL, A.S. (1891)

Ueber die Nervosen Elemente der Retina des-----  
Menschen.  
Erst. Mitth. Arch. f. Mikrosk. Anat., 38: 317

DOWLING, J.E. (1964)

Structure and function in the all-cone retina of  
the ground squirrel.  
En: Proceedings of form discrimination symposium.  
Brown University, ed. Riggs, L., pp. 17-23

DOWLING, J.E. (1965)

Foveal receptors of the monkey retina: Fine-----  
structure.  
Science, 147:57-59

DOWLING, J.E. y BOYCOTT, B.B. (1965)

Neural connections of the retina: fine structure

- of the inner plexiform layer.  
Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol., 30:393-402
- DOWLING, J.E. y BOYCOTT, B.B. (1966)  
Organization of the primate retina: Electron-----  
microscopy.  
Proc. Roy. Soc., B 166: 80-111
- DOWLING, J.E. y RIPPS, H. (1972)  
Visual adaptation in the retina of the skate.  
J. Gen. Physiol., 60: 698-719
- DOWLING, J.E. y WERBLIN, F.S. (1969)  
Organization of retina of the mudpuppy, *Necturus*--  
*maculosus*.  
I. Synaptic structure. J. Neurophysiol.,-----  
32: 315-338
- ERANKÖ, O.; NIEMI, M.; MEREMMIES, E. (1961)  
Histochemical observations on sterases and oxidative  
enzymes of the retina.  
En: Structure of the eye, ed. Smelser, GK.-----  
New-York: Academic Press. p.p. 159-171
- EVANS, EILEEN M. (1966)  
On the ultrastructure of the synaptic region of---  
visual receptors in certain vertebrates.  
Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat., 71: 499-516
- FAIN, G.L.; GOLD, G.H.; DOWLING, J.E. (1976)  
Receptor coupling in the toad retina.  
Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol., 40:547-561
- FISHER, S.K. y BOYCOTT, B.B. (1974)  
Synaptic connexions made by horizontal cells within  
the outer plexiform layer of the retina of the cat  
and the rabbit.

Proc. R. Soc. Lon., 186: 317-331

FOERSTER, M.H.; GRIND, W.A. van de; GRÜSSER, O.J. (1977a)

Frequency transfer properties of three distinct---  
types of cat horizontal cells.

Exp. Brain Res., 29: 347-366

FOERSTER, M.H.; GRIND, W.A. van de; GRÜSSER, O.J. (1977b)

The response of cat horizontal cells to flicker---  
stimuli of different area, intensity and frequency.

Exp. Brain Res., 29: 367-385

GALLEGO, A. (1953)

Procedimiento de impregnación argéntica de la ----  
retina entera.

An. Ins. Farm. Esp., 2: 171-176

GALLEGO, A. (1964)

Descripción de una nueva capa celular en la retina  
de los mamíferos.

Actas VIII Reun. Nac. Soc. Esp. Cienc. Fisiol.----  
VIII: 83-85

GALLEGO, A. (1971a)

Células interplexiformes en la retina del gato.

Arch. Soc. Esp. Oftalm., XXXI: N°5, 299-304

GALLEGO, A. (1971b)

Horizontal and amacrine cells in the mammal's-----  
retina.

Vision Res. Suppl., 3:33-50

GALLEGO, A. (1975)

Las células horizontales de la retina de los verte-  
brados.

Instituto de España Real Academia Nacional de ----  
Medicina

GALLEGO, A. (1976)

Comparative study of the Horizontal Cells in the -  
Vertebrate Retina: Mammals and Birds.  
En: Neural Principles in Vision. Edited by Springer  
-Verlag, Berlin Heidelberg.

GALLEGO, A. (1977)

Participación de las células horizontales y amacri-  
nas en el procesamiento de la información visual:  
correlación morfológica y electrofisiológica.  
Neurobiología, Fundación Juan March. Serie Univer-  
sitaria. Madrid.

GALLEGO, A. (1979)

Estructura funcional de la retina de los selacios:  
fotorreceptores y células horizontales.  
Morfología normal y patológica. Sec. A. Vol. 3: --  
313-334.

GALLEGO, A. (1982)

Horizontal Cells of the Tetrapoda Retina.  
Rev. Canad. Biol. (en prensa)

GALLEGO, A.; BARON, M.; GAYOSO, M. (1975)

Horizontal cells of the avian retina.  
Vision Res., 15:1029-1030

GALLEGO, A. y CRUZ, J. (1965)

Mammalian retina: associational nerve cells in ---  
ganglion cell layer.  
Science, 150: 1313-1314

GALLEGO, A.; ORTIZ, J.; ALVAREZ MANZANERO, J.; PEREZ ARROYO, M.  
(1978)

Mecanismos neurales de adaptación visual a nivel -  
de la capa plexiforme externa de la retina.  
Fundación Juan March. Serie Universitaria..Madrid.

GALLEGO, A. y PEREZ ARROYO, M. (1976)

Photoreceptors and Horizontal Cells of the-----  
Turtle Retina.  
En: The Structure of the Eye III; Edts. Yamada and  
Mishima, pp.: 311-317

GALLEGO, A. y SOBRINO, J.A. (1975)

Horizontal cells of the monkey's retina.  
Vis. Res. ,15: 747-748

GARCIA TARRES, A. (1981)

Fotorreceptores y células horizontales de la retina  
de las aves.  
Univ. Complutense. Fac. de Medicina. Tesis doctoral  
en preparación.

GARCIA TARRES, A; GALLEGO, A. (1981)

Células horizontales sin axón tipo II, en la retina  
de los anfibios.  
En prensa.

GENIS-GALVEZ, J.M.; PRADA, F.; ARMENGOL, J.A. (1979)

Evidence of three types of horizontal cells in the  
chick retina.  
Jpn. J. Ophtalmol., 23: 378-387

GERSCHENFELD, H. y PICCOLINO, M. (1977)

Synaptic transmission between photoreceptors and--  
horizontal cells in the turtle retina.  
Nature. London. 268: 257-259

GLOOR, B.P. (1969)

Phagocytotische Aktivitt des Pigmentepithels nach-  
Licht-coagulation.  
Albrech. v. Graef. Arch. Klin. exp. Ophtalm-----  
179: 105-117

GOLGI, C. (1878)

Un nuovo processo di tecnica microscopica.  
Rend. d. r. Ist. Lomb. di Sci. e Let. 2d ser

HARTRIDGE, H. (1950)

Recent advances in the Physiology of Vision.  
Philadelphia: Blakiston Company

HAYRE, S.S. y VRABEC, F. (1966)

The structure of the head of the optic nerve in---  
rhesus monkey.  
Amer. J. Ophtal., 61: 643-676

KANEKO, A. (1970)

Physiological and morphological identification of-  
horizontal bipolar and amacrina cells in goldfish-  
retina.  
J. Physiol., 207: 623-633

KIDD, M. (1962)

Electron microscopy of the inner plexiform layer -  
of the retina in the cat and the pigeon.  
J. Anat., 96: 179-187

KOLB, H. (1970)

Organization of the outer plexiform layer of the--  
primate retina: Electron microscopy of Golgi-----  
impregnated cells.  
Phil. Trans. Roy. Soc. Lond., B, 258: 261-283

KOLB, H. (1974)

The conections between horizontal cells and-----  
photoreceptors in the retina of the cat. Electron-  
Microscopy of Golgi Preparations.  
J. Comp. Neurol., 155: 1-14

KOLB, H. y BOYCOTT, B.B.; DOWLING, J.E. (1969)

A second type of midget bipolar cell in the-----  
 primate retina.  
 Phil. Trans. Roy. Soc. B, 255: 177-184

KOLB, H.; MARIANI, A.; GALLEGGO, A. (1980)

A Second Type of Horizontal Cell in the Monkey----  
 Retina.  
 J. Comp. Neurol., 189: 31-44

KRAUSE, W. (1868)

Die Membrana fenestrata der Retina.  
 Nachr. V. d. K. Gesells d. Viss., Gottingen p. 163

KRAUSE, W. (1871)

Die membrana fenestrata der Retina.  
 Arch. Anat. Physiol.

KRAUSE, W. (1884)

Die Retina. I. Die membrana fenestrata der Retina.  
 Int. Monatss. Anat. Physiol., 1: 225-254

KRAUSE, W. (1884-1895)

Die Retina.  
 Internat. Monatss. f. Anat.V. Histol., 1-250

LADMAN, A.J. (1958)

The fine structure of the rod-bipolar cell synapse  
 in the retina of the albino rat.  
 J. Biophys. Biochem. Cytol., 4: 459-466

LANZAVECCHIA, G. (1960)

Ultrastruttura dei coni e dei bastoncelli nella---  
 retina di "Xenopus laevis".  
 Arch. Ital. Anat. Embriol., 65: 417-435

LASANSKI, A. (1971)

Synaptic organization of cone cells in the turtle-  
 retina.

- Phil. Trans. Roy. Soc. Lond., B, 262: 365-381
- LEPLAT, G. y GEREBTZOFF, M.A. (1956)  
 Localisation de l'acetylcholinesterasa et des-----  
 mediateurs diphenoliques dans la retine.  
 Ann. Oculist. (paris) 189: 121 .
- LESSEL, S. y KUWABARA, T. (1963)  
 Retinal neuroglia.  
 Arch. Ophtalm. (Chicago), 70: 671-678
- LOPEZ ENRIQUEZ, M. (1926)  
 Existencia de células de Hortega, microglia, en la  
 retina y vias ópticas.  
 Bol. Soc. Esp. Hist. Nat., 26: 294-301
- LORENTE DE NO, R. (1933)  
 Vestibulo ocular reflex arc.  
 Arch. Neurol. Psych., 30: 245-291
- MARIANI, A.P. y LEURE-DUPREE A.E. (1977)  
 Horizontal cells of the pigeon retina.  
 J. Comp. Neurol., 175: 13
- MISSOTTEN, L. (1961)  
 L'ultrastructure des cellules horizontales externes  
 de la rétine humaine.  
 Note préliminaire.  
 Bull. Soc. Belge Ophtal., 128: 207-214
- MISSOTTEN, L. (1965a)  
 The ultrastructure of the human retina.  
 Brussels, Editions Arscia Vitgaven, N. V.
- MISSOTTEN, L. (1965b)  
 The synapses in the human retina.  
 En: The structure of the eye, 2: 17-28  
 Rohen, J. W., Stuttgart: Schattauer-Verlag

MISSOTTEN, L.; APPELMANS, M.; MICHIELS, J. (1963)

L'ultrastructure des synapses des cellules-----  
visuelles de la rétine humaine.  
Bull. Mem. Soc. Franc. Ophtal., 76: 59-82

MITARAI, G.; SVAETICHIN, G.; VALLECALLE, E.; FATEHCHAND, R.;-----  
LAUFER, M. (1961)

Glia-neuron interactions and adaptational mechanisms  
of the retina.  
En: The visual system: Neurophysiology and psychophysics  
463-481  
Ed. Jung, R., Kornhuber, H. Berlin: Springer-Verlag

MOLENAAR, J. (1981)

Intracellular light responses in the intact in vivo ..  
eye of the cat.  
University of Amsterdam. Doc. thesis

MÜLLER, H. (1851)

Ueber sternförmige Zellen der retina.  
Verhandl. d. Physik. Med. Gesells Würzburg, 2: 216

MÜLLER, W. (1874)

Ueber die Stammesentwicklung des Sehorgans der----  
Wirbelthiere.  
Beitrage zur Anatomie und Physiologie als Festgabe  
Carl Ludwig, etc.  
F.C.W., Vogel, Leipzig

MURAKAMI, O.; OHTSU, K.; OHTSUKA, I. (1972)

J. Physiol., 227: 899-913

NELSON, R. (1977)

Cat cones have rod input: A comparison of the ----  
response properties of cones and horizontal cell--  
bodies in the retina of the cat.  
J. Comp. Neurol. 172: 109-136

- NELSON, R.; KOLB, H.; FAMIGLIETTI, E.V.; GOURAS, P. (1976)  
Neural responses in the rod and cone systems of---  
the cat retina: intracellular records and Proci6n-  
stains.  
Invest. Ophtalmol. , 15: 946-953
- NELSON, R.; LÜTZOW, A.; KOLB, H.; GOURAS, P. (1975)  
Horizontal cells in cat retina with independent---  
dendritic systems.  
Science, 189: 137-139
- NIEMEYER, G. (1973)  
Intracellular recording from the isolated perfused  
mammalian eye.  
Vis. Res., 13: 1613-1618
- NIEMEYER, G. y GOURAS, P. (1973)  
Rod and cone signals in S-potentials of the-----  
isolated perfused cat eye.  
Vis. Res., 13: 1603-1612
- ORLOV, O. Y. y MAKSIMOVA, E.M. (1965)  
S-potential sources as excitation pools.  
Vis. Res., 5: 573-582
- ØSTERBERG, G. (1935)  
Topography of the layer of rods and cones in the--  
human retina.  
Acta Ophtal., suppl. 6: 1-103
- PEREZ ARROYO, M. (1978)  
Estudio topográfico y funcional de la retina de la  
tortuga.  
Univ. Complutense. Fac. de Medicina. Tesis doctoral
- POLYAK, S.L. (1941)  
The Retina.  
University of Chicago Press. Chicago. Illinois.

RAMON Y CAJAL, S. (1893)

La rétine des vertébrés.  
La Cellule, 9: 119-225

RAMON Y CAJAL, S. (1933)

Los problemas histiofisiológicos de la retina.  
XIV Concilium Ophthalmologicum. Madrid

RANVIER, L. (1875-1889)

Traité technique d'Histologie.  
Ed. F. Savy (Paris)

RAVIOLA, E. (1976)

Intercellular junctions in the outer plexiform----  
layer of the retina.  
Invest. Ophthalmol., 15: 881-895.

RAVIOLA, E. y GILULA, N.B. (1973)

Gap junctions between photoreceptor cells in the--  
vertebrate retina.  
Proc. Nat. Acad. Sci., 70: 1677-1681

RAVIOLA, E. y GILULA, N.B. (1975)

Intramembrane organization of specialized contacts  
in the outer plexiform layer of the retina. A ----  
freeze-fracture study in monkeys and rabbits.  
J. Cell. Biol., 65: 192-222

REBSLOB, E. (1939)

Histologie de la rétine.  
Traité d'Ophthalmologie. Masson, Paris, 1: 409-493

ROBERTIS, E. De y FRANCHI, C.M. (1956)

Electron microscope observations on synaptic-----  
vesicles in synapses of the retinal rods and cones..  
J. Biophys. Biochem. Cytol., 2: 307-318

RODIECK, R.W. (1973)

The Vertebrate Retina: principles of structure----  
and function.

Ed. Kennedy, D.; Park, R.B.

W.H. Freeman and Company (San Francisco)

ROLLS, E.T.; COWEY, A. (1970)

Topography of the Retina and Striate Cortex and---  
its Relationship to Visual Acuity in Rhesus Monkeys  
and Squirrel Monkeys.

Exp. Brain. Res., 10: 298-310

SCHIEFFERDECKER, P. (1886)

Studien zur vergleichenden Histologie der Retina.

Arch. f. Mikrosk. Anat., 28: 305-396

SJÖSTRAND, F.S. (1953)

The ultrastructure of the inner segments of the---  
retinal rods of the guinea pig eye as revealed by-  
electron microscopy.

J. Cell. Comp. Physiol., 42: 45-70

SJÖSTRAND, F.S. (1958)

Ultrastructure of retinal rod synapses of the -----  
guinea pig eye as revealed by three-dimensional---  
reconstructions from serial sections.

J. Ultrastr. Res., 2: 122-170

SJÖSTRAND, F.S. (1965)

Reference to MOUNTFORD. The synaptology of the ---  
retina.

En: Colour Vision. Ciba Foundation Symposium-----  
p.p.: 110-114

SNYDER, A.W. y MILLER, W.H. (1978)

Arrangement of Photoreceptors.

Handbook of Sensory Physiology. Vol. VII/6A:114-135  
Springer-Verlag.

SOBRINO, J.A. y GALLEGO, A. (1970)

Células amacrinas de la capa plexiforme externa---  
de la retina.  
Actas Soc. Esp. Cienc. Fisiol., 12: 373-375

STEINBERG, R.H. (1969)

Rod-cone interaction in S-potentials from the cat-  
retina.  
Vis. Res., 9: 1331-1344

STEINBERG, R.H. (1971)

Incremental responses to light recorded from -----  
pigment epithelial cells and horizontal cells of--  
the cat retina.  
J. Physiol., 217: 93-110

STELL, W.K. (1965)

Correlation of retinal cytoarchitecture and-----  
ultrastructure in Golgi preparations.  
Anat. Rec., 153: 389-397

STELL, W.K. (1967)

The structure and relationship of horizontal cells  
and photoreceptor-bipolar synaptic complexes in---  
goldfish retina.  
Am. J. Anat., 121: 401-423

STELL, W.K. (1975)

Horizontal cell axons and terminals in goldfish---  
retina.  
J. Comp. Neurol., 159: 503-520

STELL, W.; MARSHAK, D.; YAMADA, T.; BRECHA, N.; KARTEN, H. (1980)

Peptides are in the eye of the beholder.

Trends in Neuro-Sciences. Vol. 3, 12:292-294

STELL, W.K. y WITKOVSKY, P. (1973)

Retinal structure in the smooth dogfish *Mustelus--  
canis*: Light microscopy of photoreceptor and-----  
horizontal cells.

J. Comp. Neurol., 148: 33-46

SUGAWARA, K. y NEGISHI, K. (1973)

Vis. Res., 13: 977-981

SVAETICHIN, G. (1953)

The cone action potential.

Acta. Physiol. Scand., 39: 17-46

SVAETICHIN, G. y MAC NICHOL, E.F., Jr. (1958)

Retinal mechanisms for chromatic and achromatic---  
vision.

Ann. N.Y. Acad. Sci., 74: 385-404

TARTUFERI, F. (1887)

Sull'anatomia della retina.

Arch. per le Sci. Med., 11: 335

Internat. Monatss f. Anat. u. Physiol., 4: 421

VILLEGAS, G.M. (1964)

Ultrastructure of human retina.

J. Anat. Lond., 98: 501-513

VRABEC, F. (1968)

La microglie de la retine, des voies optiques, du-  
corps genouillé latéral, de l'aire striée que du-  
toit optique du macaque.

Arch. Opht., 28: 417-426

VRABEC, F. (1970)

Microglia in the monkey and rabbit retina.

J. Neuropath. exp. Neurol., 29: 217-224

VRABEC, F. (1973)

Retinal microglia in cases of choroidal-----  
melanoblastoma.  
Ophtalmologia (Basilea), 166: 342-348

VRABEC, F. (1975)

Activated Human Retinal microglia under-----  
pathological conditions.  
Albrecht. v. Graef. Arch. Klin. exp. Ophtalm.,-----  
196: 49-60

WEILER, R. (1977)

Die Horizontalzellen der Kapfenretina.  
Doc Theis: Ludwig Maximilians Universität, Munchen.

WEST, R. W. (1976)

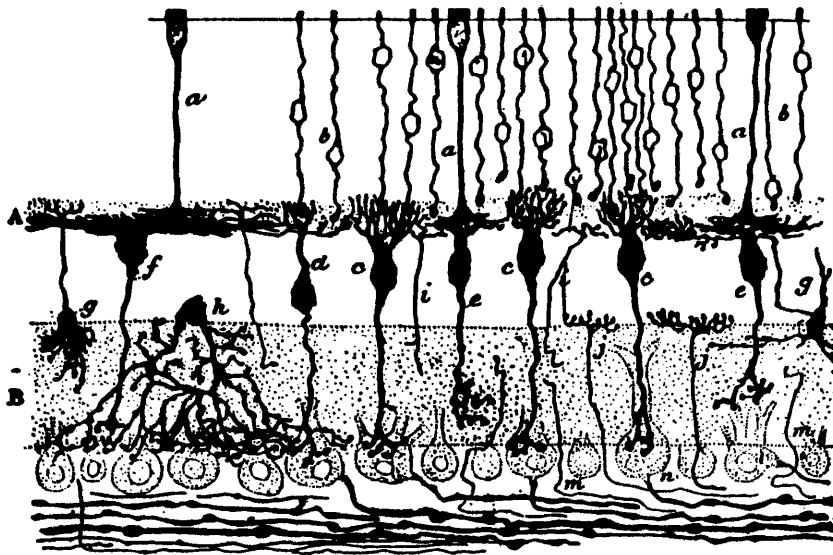
Light and electron microscopy of the Ground-----  
Squirrel retina: Functional considerations.  
J. Comp. Neurol., 168: 355-378

WEST, R.W. (1978)

Bipolar and horizontal cells of the gray squirrel-  
retina: Golgi morphology and receptor connections.  
Vis. Res., 18: 129-136

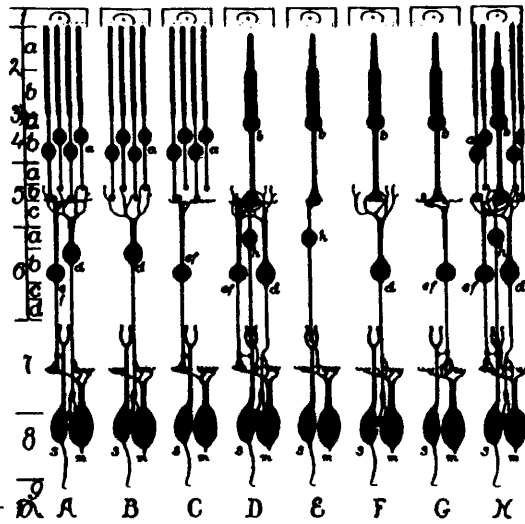
90

X. ICONOGRAFIA



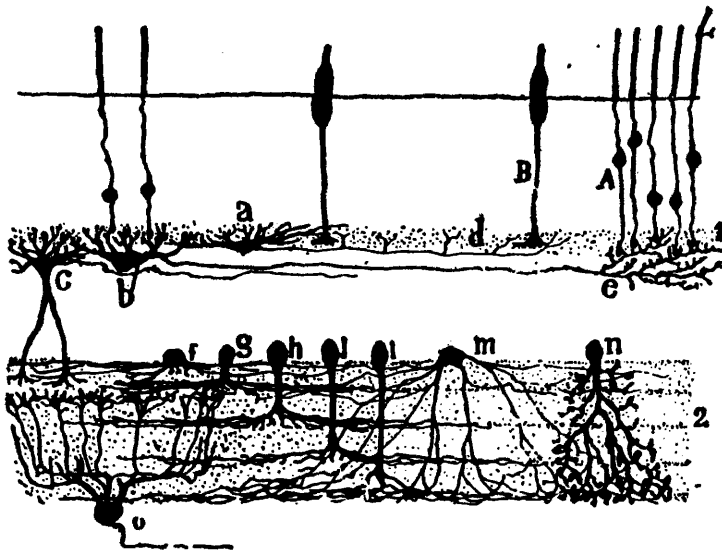
## LAMINA I

Esquema de CAJAL (1904): a. Fibra y cuerpo del cono; b. Fibra y cuerpo del bastoncito; c. Bipolares para bastón; e. Bipolares para cono; f. Bipolar gigante para cono, etc.; A. Capa plexiforme externa; B. Capa plexiforme interna.



## LAMINA II

Esquema de POLYAK (1941): Agrupación de las neuronas de la retina de los primates en sistemas funcionales. (A) Sistema de bastones; (B) Sistema de bastones con solo un constituyente intermediario, la bipolar en penacho (d); (C) Sistema de bastones con solamente la bipolar en brocha (e) o bipolar plana (f) como constituyente; (D) Sistema de conos; (E) Sistema puro de conos; (F) Sistema de conos con la bipolar en penacho (d) como constituyente; (G) Sistema de conos con la bipolar en brocha (e) o la bipolar plana (f) como constituyente; (H) Sistema mixto de conos y bastones. Las células ganglionares en sombrero (m) se utilizan como arquetipo de todas las células ganglionares difusas o polisinápticas.



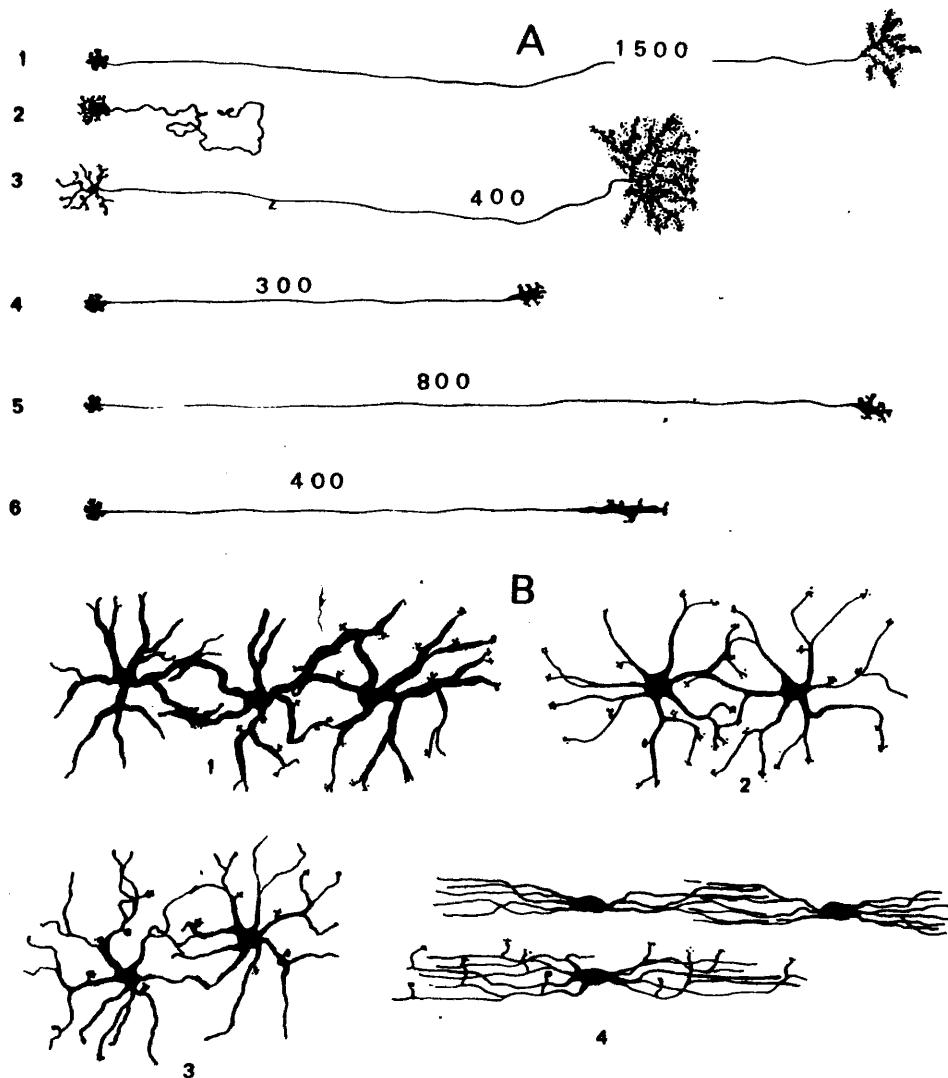
## LAMINA III

CAJAL (1904). 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 de célula horizontal; f, g, h, j, l, m, n. Variedades de espongioblastos; o. Célula ganglionar biestratificada o células amacrinas.



LAMINA IV

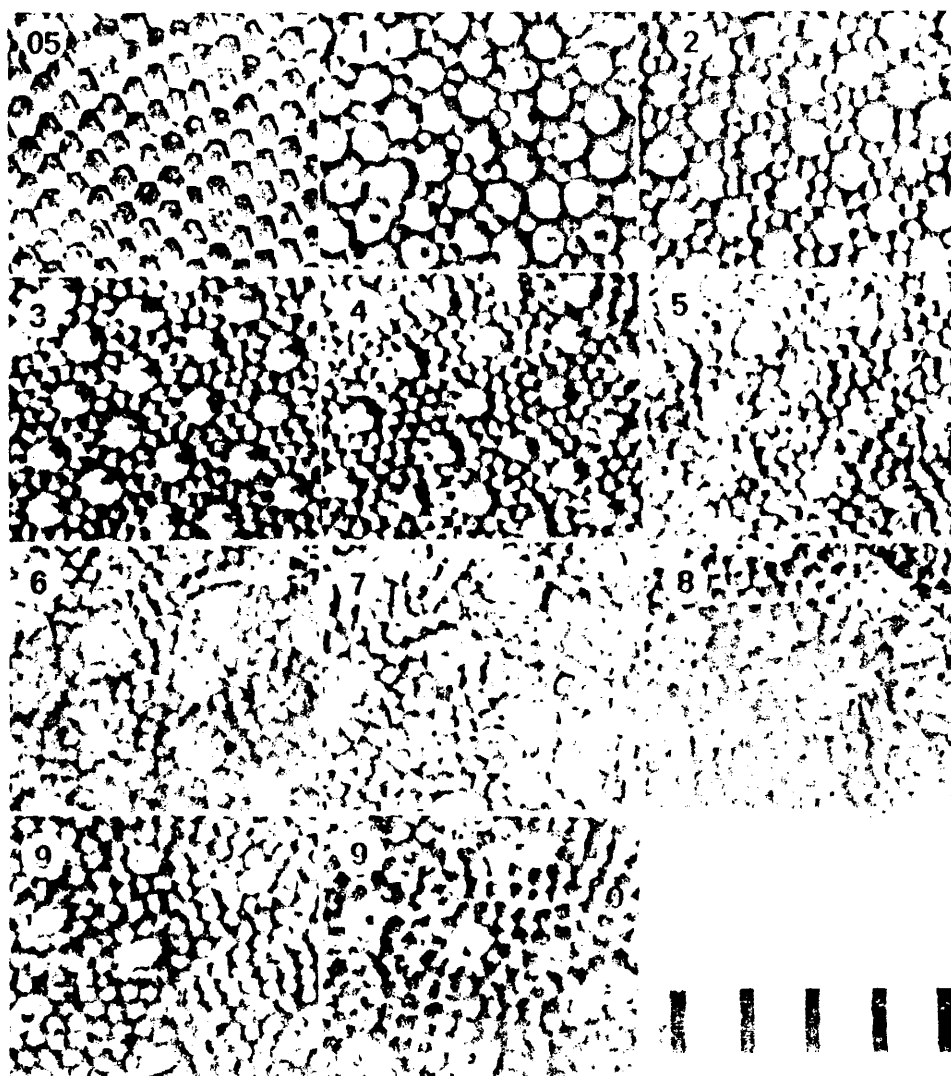
Retina de mochuelo: corte longitudinal de un pie de cono. En el fondo del surco que separa dos procesos laterales, destaca una banda sináptica con su estructura pentalaminar compuesta por franjas claras y oscuras.



## LAMINA V

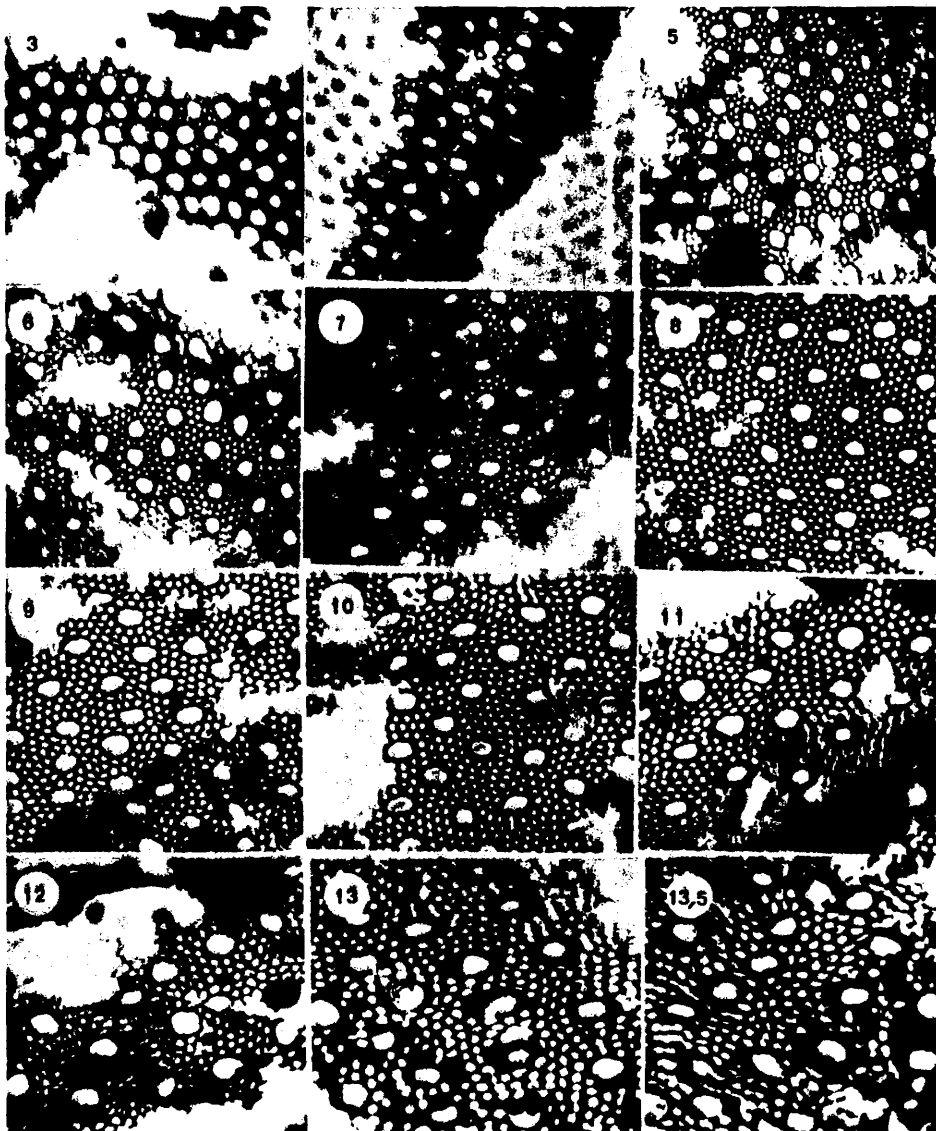
Células horizontales de la retina de los tetrápodos: A, células-----  
 horizontales de axón corto: 1) primates, tipo I; 2) primates, tipo II;  
 3) gato; 4) aves diurnas; 5) aves nocturnas; 6) tortuga. (las cifras  
 expresan en cada caso, la longitud del axón en micras)

B, células horizontales sin axón: 1) gato; 2) tortuga; 3) aves diurnas,  
 tipo I; 4) aves diurnas tipo II.



LAMINA VI.

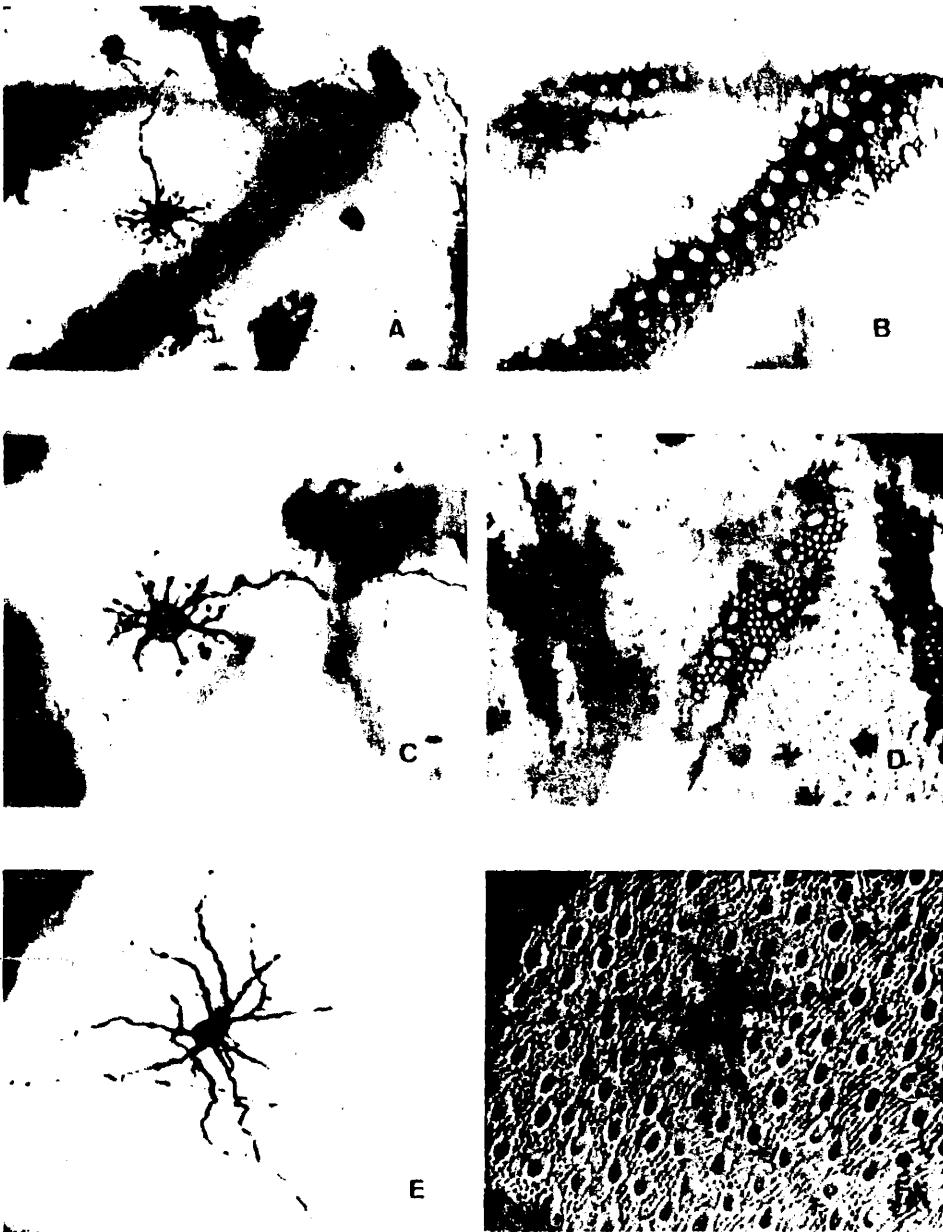
Retina de Cercopithecus montada en glicerina, que muestra la distribución de fotorreceptores en el sentido fovea-ora serrata. Las distancias tomadas en milímetros a partir del centro de la fovea, son expresadas en las fotos.



LAMINA VII

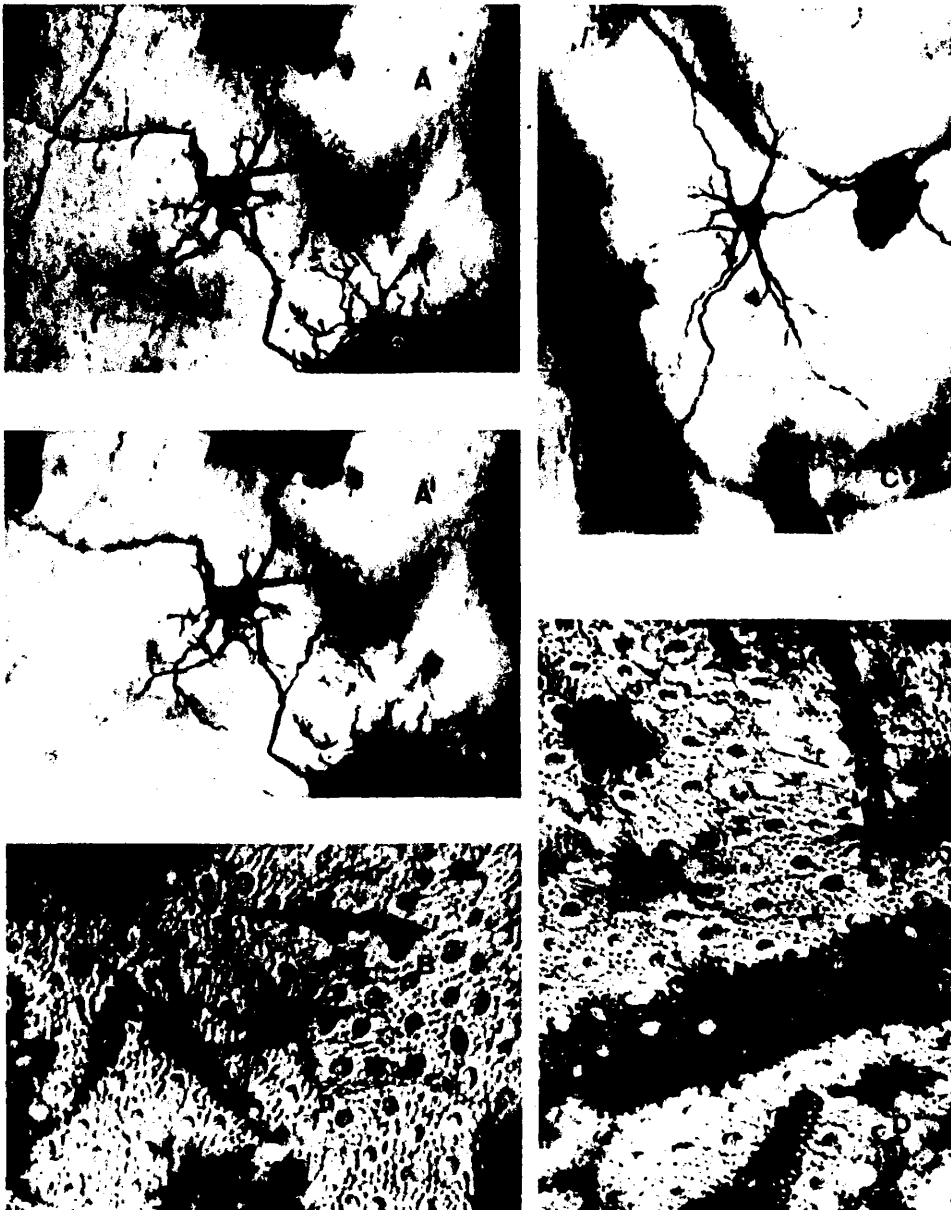
Retina de Baboon teñida con variantes del método de GOLGI, que muestra la distribución de fotorreceptores en el sentido fovea-ora serrata. Las distancias tomadas en milímetros a partir del centro de la fovea, son expresadas en las fotos.

VIII



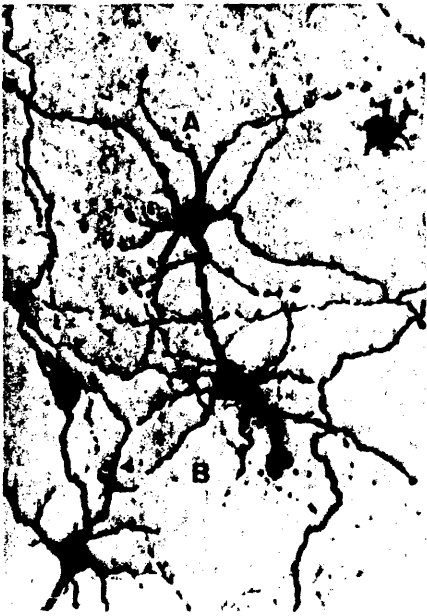
LAMINA VIII.

- A) CH-I, situada a 2 mm. del centro de la fovea con su correspondiente plano de fotorreceptores B. - C) CH-I, situada a 4 mm. del centro de la fovea con su correspondiente plano de fotorreceptores D. - E) CH-I, situada a 6 mm. del centro de la fovea con su correspondiente plano de fotorreceptores F.



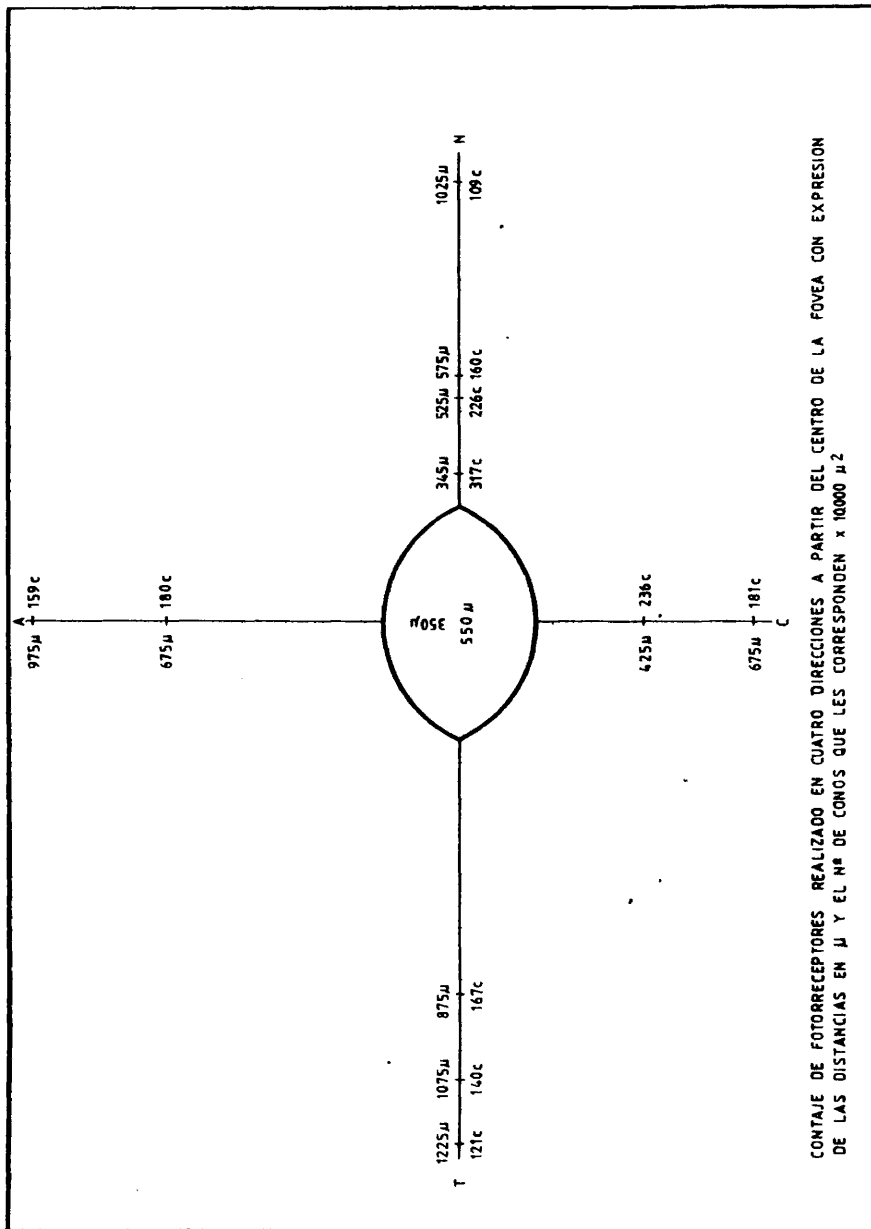
LAMINA IX.

A y A' CH-I, situada a 6,5 mm. del centro de la fovea con su correspondiente plano de fotorreceptores B.- C) CH-I, situada a -- 6,8 mm. del centro de la fovea con su correspondiente plano de fotorreceptores D.



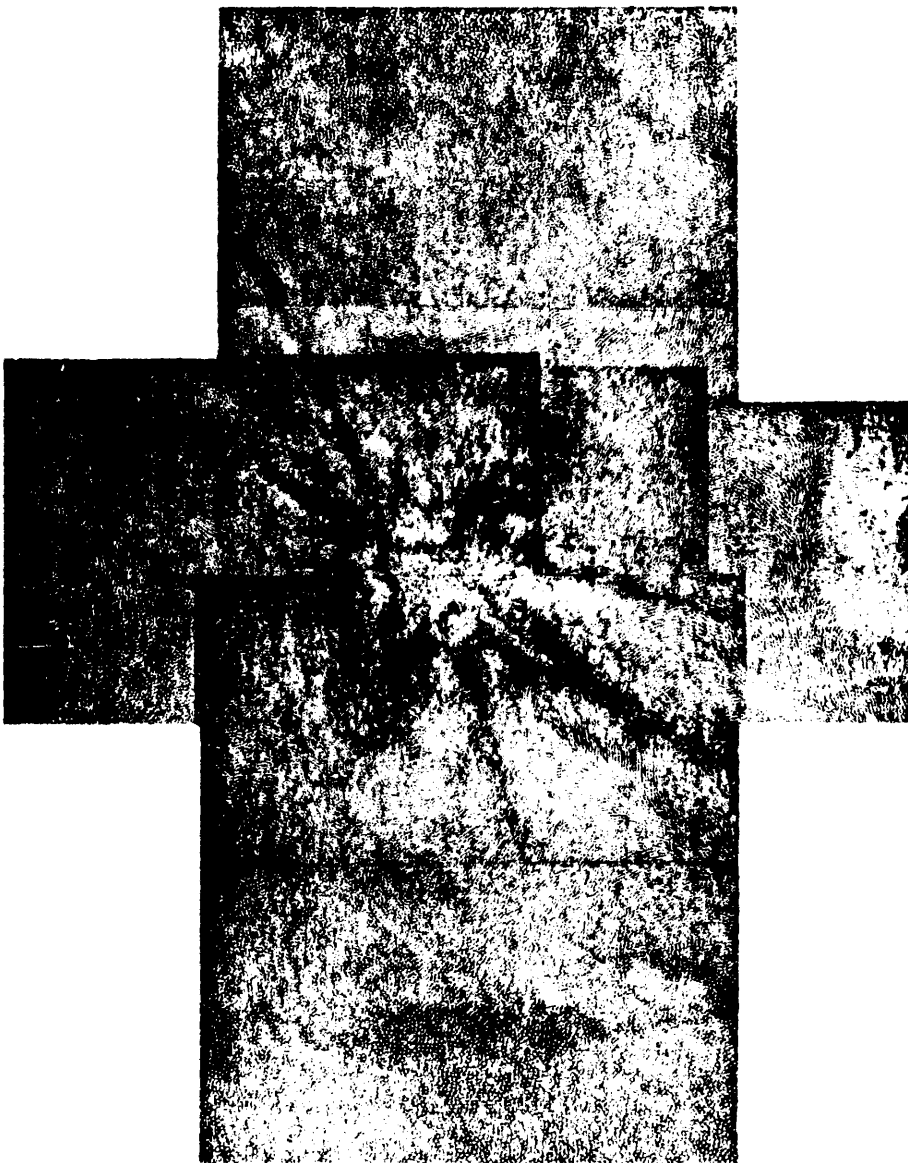
LAMINA X.

A y B) Células horizontales tipo I, situadas a 7 mm. del centro de la fovea con su correspondiente plano de fotorreceptores C.-  
 D) Célula horizontal tipo I, situada a 8 mm. del centro de la fovea con su correspondiente plano de fotorreceptores E.



CONTAJE DE FOTORECEPTORES REALIZADO EN CUATRO DIRECCIONES A PARTIR DEL CENTRO DE LA FOVEA CON EXPRESION DE LAS DISTANCIAS EN  $\mu$  Y EL N° DE CONOS QUE LES CORRESPONDEN  $\times 10000 \mu^2$

LAMINA XI.



LAMINA XII.

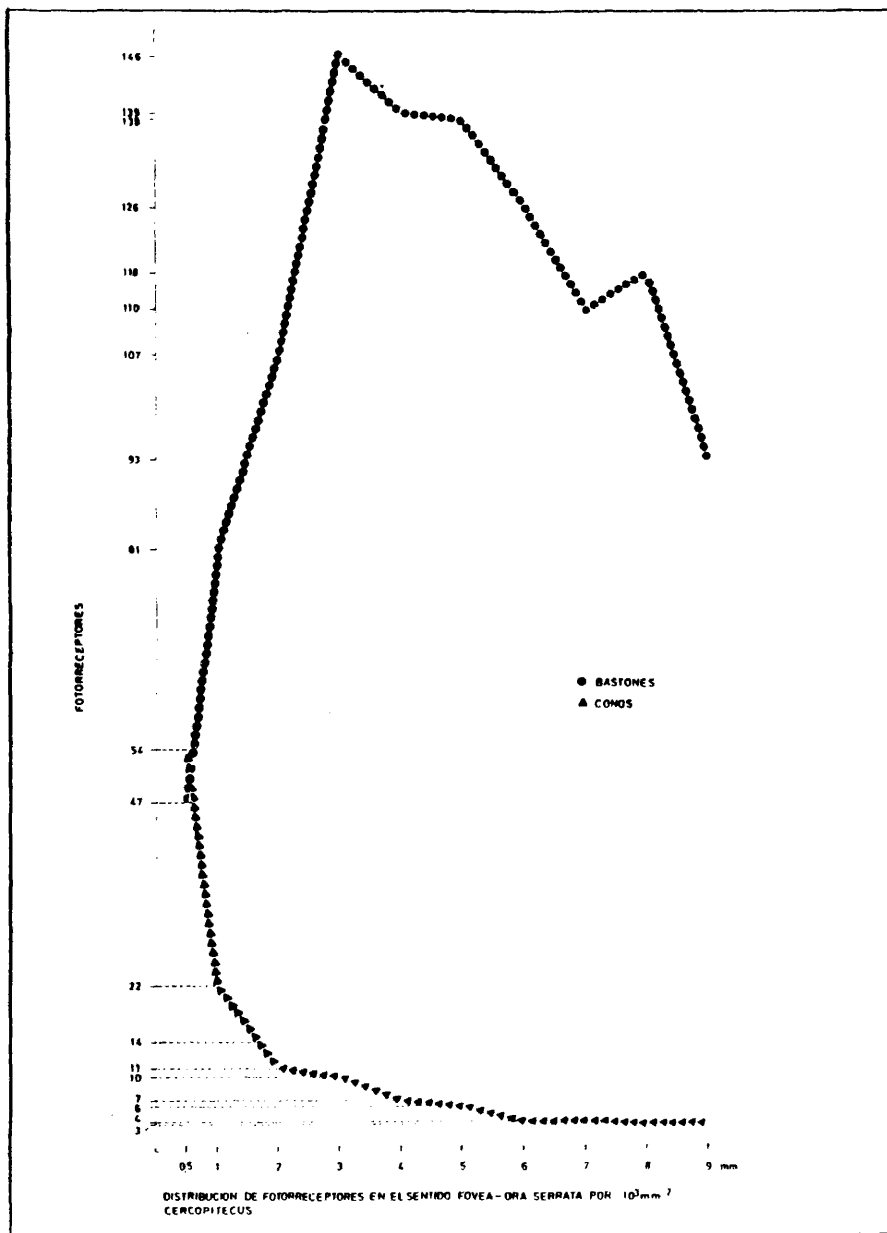
Retina de Baboon, montada en glicerina que muestra la f6vea y zonas parafoveales as4 como la distribuci6n de fotorreceptores.



LAMINA XIII.

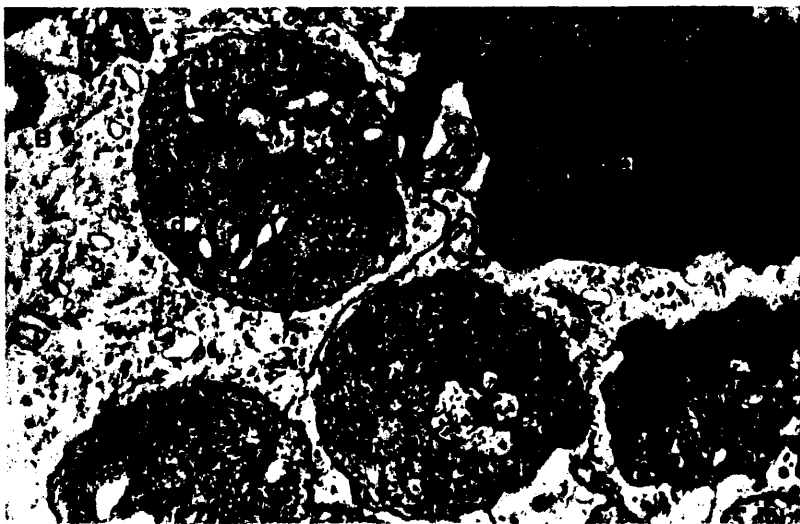
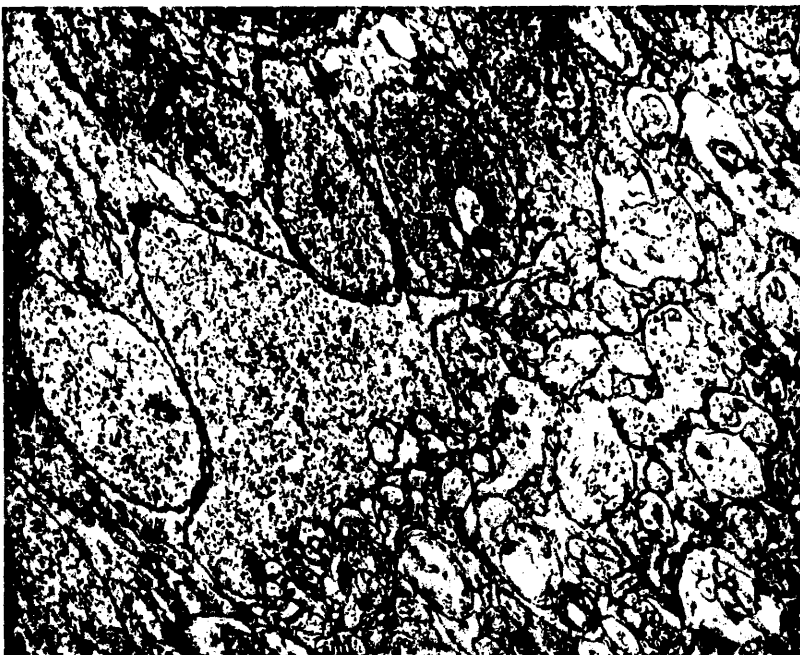
Retina de Baboon teñida con la técnica de GOLGI-COLONNIER que muestra: A) el centro de la fóvea y los tractos radiales constituidos por las fibras de MULLER y B) vasos retinianos que bordean y delimitan la fóvea.

135



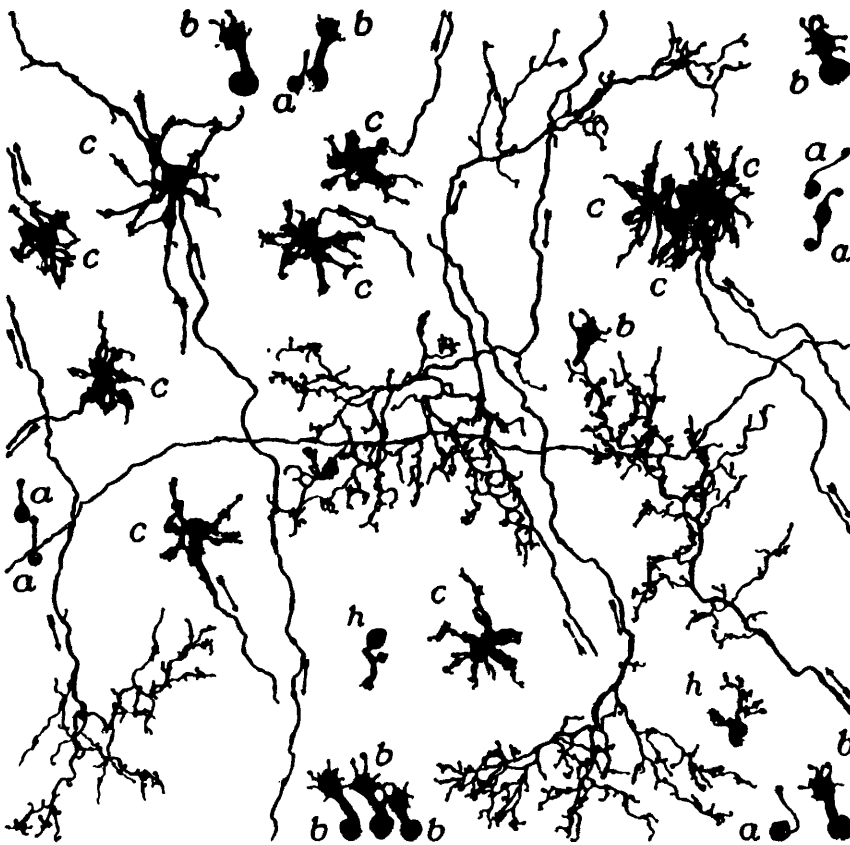
LAMINA XIV.

Gráfica de distribución de conos y bastones en el sentido -- fovea-ora serrata.



LAMINA XV.

ME: corte perpendicular (A) y transversal (B) de retina de Baboon, - que muestra las terminales sinápticas de los fotorreceptores.- Terminal de cono (a) con sus múltiples triadas. Terminales de bastón (b) y (c) que establecen contacto con el filamento basilar de un cono en los puntos señalados con flechas. Terminal de bastón (d) que hace -- contacto con el filamento basilar del cono (e).



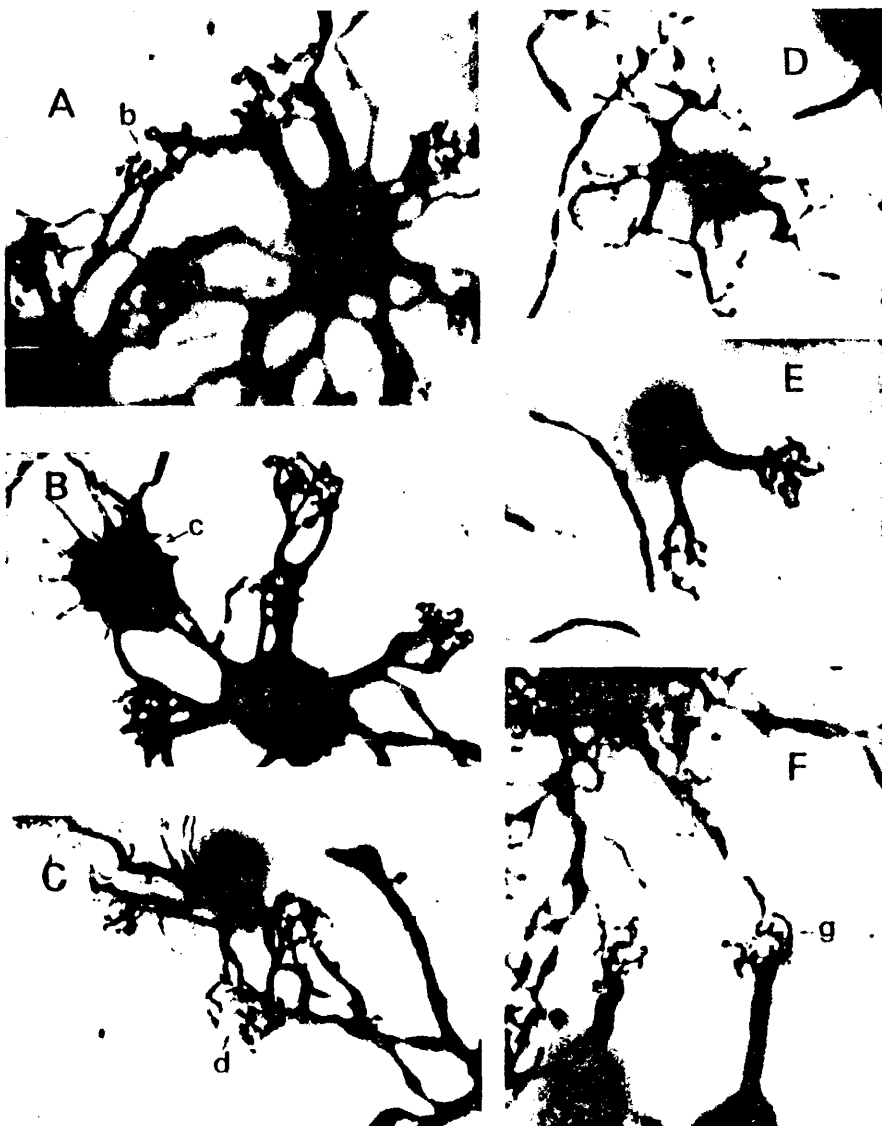
LAMINA XVI.

Estructuras de la capa plexiforme externa de la retina de ---  
Macacus Rhesus teñida con el método de GOLGI, en la que se ob-  
servan: (a) bastones; (b) conos; (c) células horizontales; (h)  
célula individual enana o bipolar de cono. (Tomado de POLYAK,  
1941).



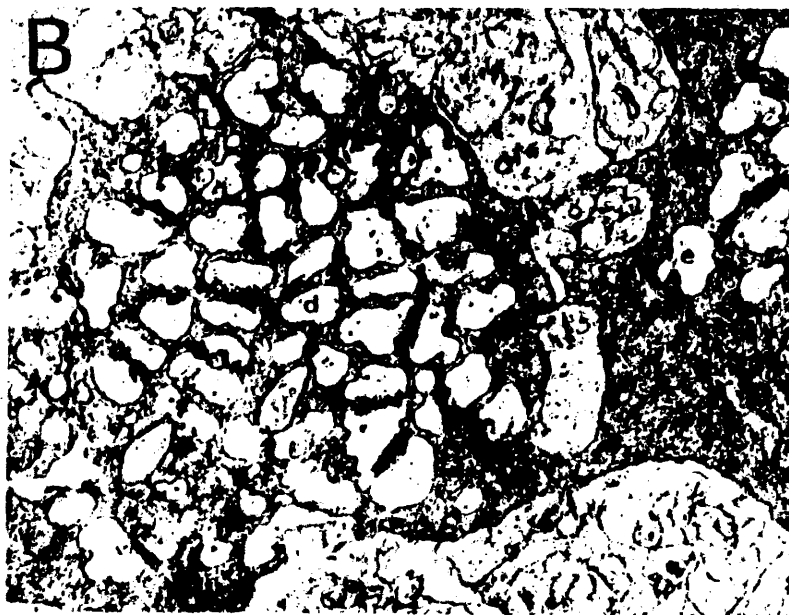
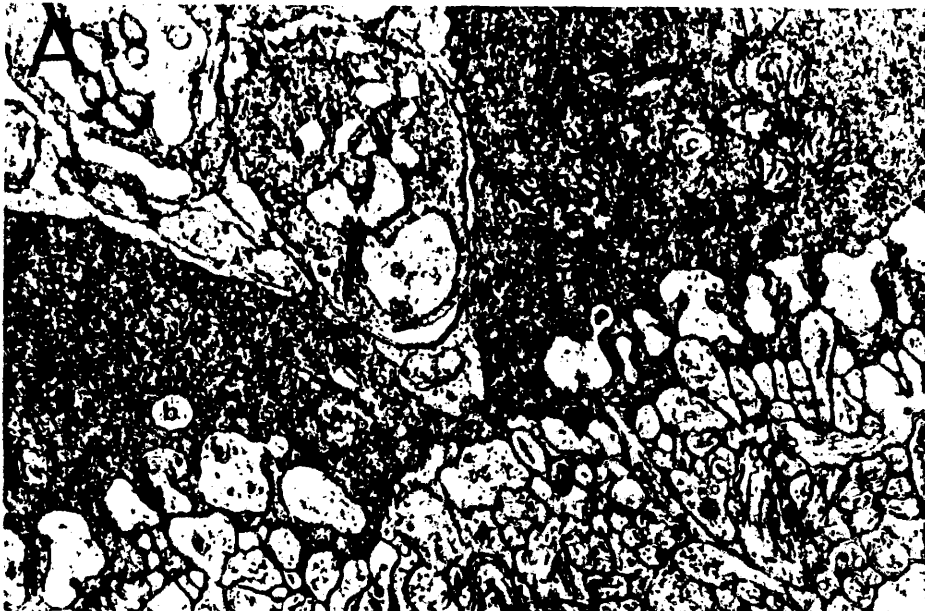
LAMINA XVII.

Células horizontales de tipo I (A) y (B) situadas a 2 y 8 milímetros del centro de la fovea respectivamente.



LAMINA XVIII

A: Célula horizontal de tipo I parafoveal en la que se distinguen con toda nitidez los botones terminales. En (b) confluyen los botones terminales de dos CH-I próximas.- B: CH-I parafoveal en una de cuyas dendritas, se superpone un pie de cono (c).- C: confluencia de una dendrita de CH-I con una de las dendritas de la bipolar "flat". D: bipolar "flat".- E: bipolar "midget".- F: en (g) - confluencia de una dendrita de CH-I con una de las dendritas de la bipolar "midget".



## LAMIÑA XIX.

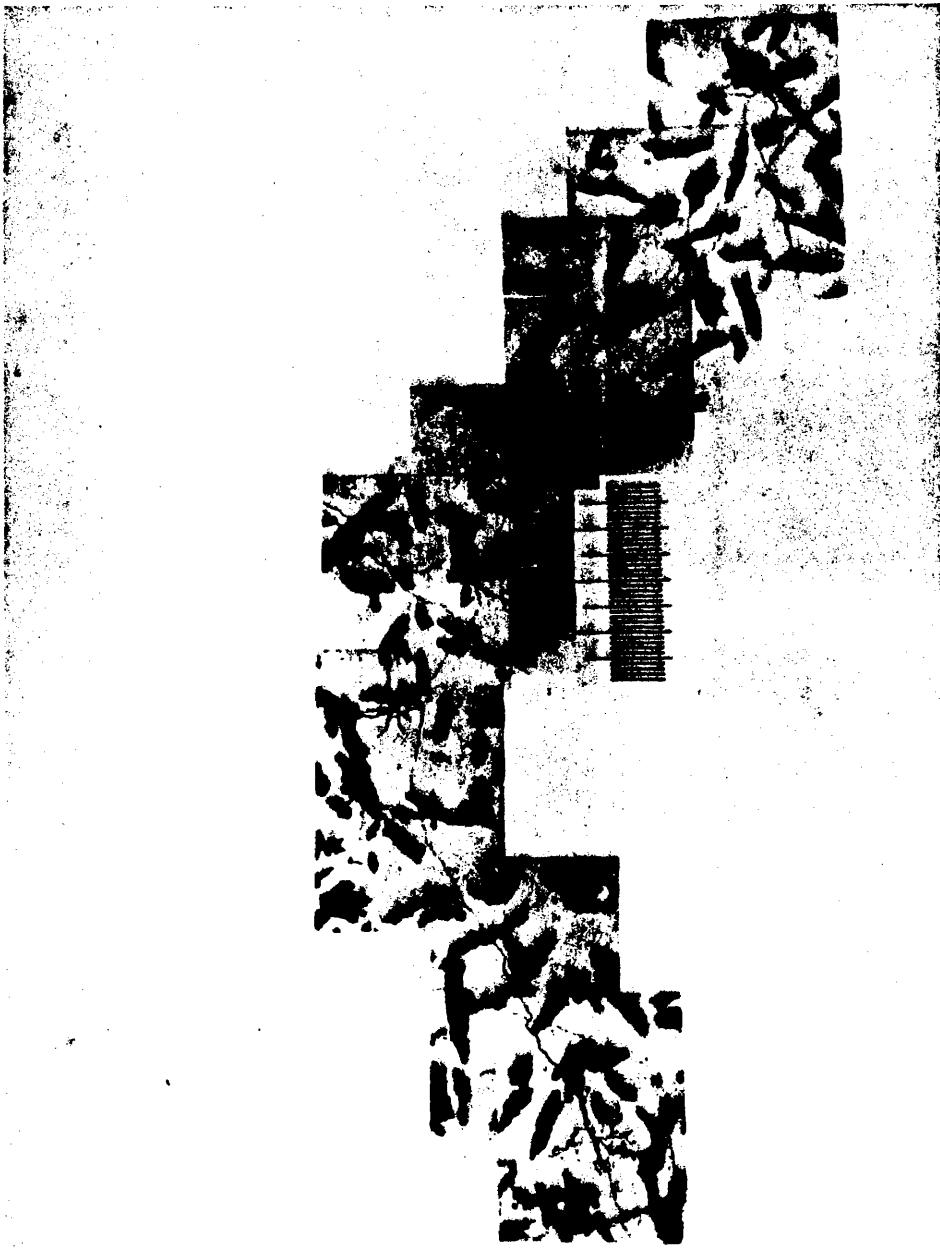
Microscopía electrónica: cortes perpendicular (A) y transversal - (B) de los cuerpos sinápticos de bastones y conos.- Contactos entre filamentos basilares de conos (b), (c), (d) y (e) señalados -- con flechas.



LAMINA XX.

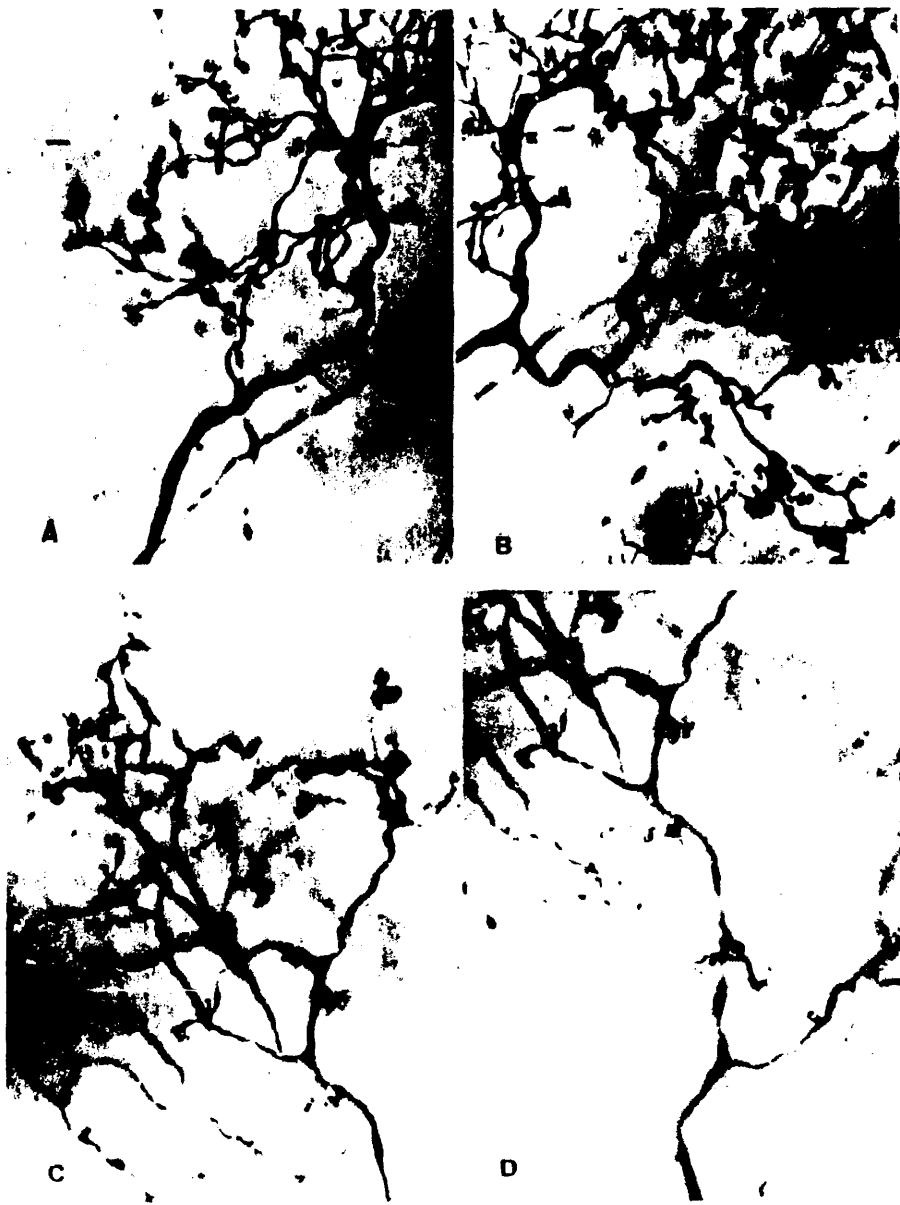
Tinción completa de una CH-I parafoveal (C) en la que se observan detalles del soma (A) y terminal axónica (B). La longitud del axón es de 1.700 micras.





LAMINA XXI.

Célula horizontal de tipo I próxima a la ora serrata, teñida en --  
su totalidad. La longitud del axón es de 2.100 micras.



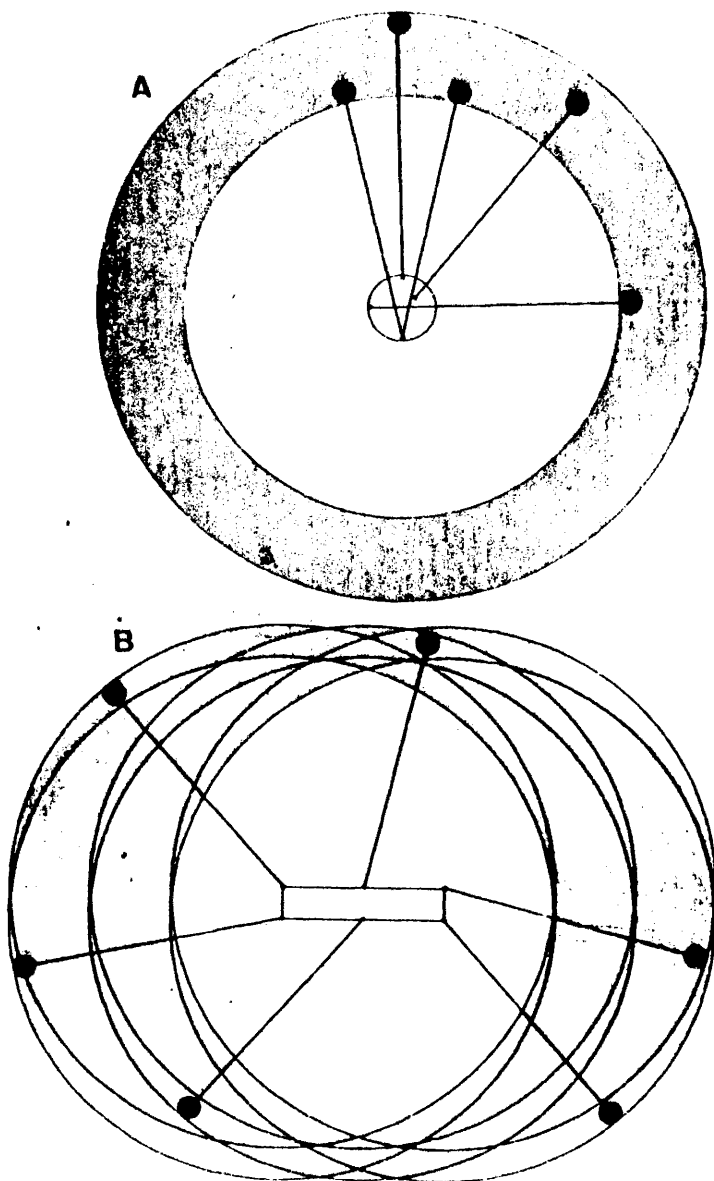
LAMINA XXII.

Terminales axónicas de CH-I de Macacus Rhesus A-B y de Baboon C-D.



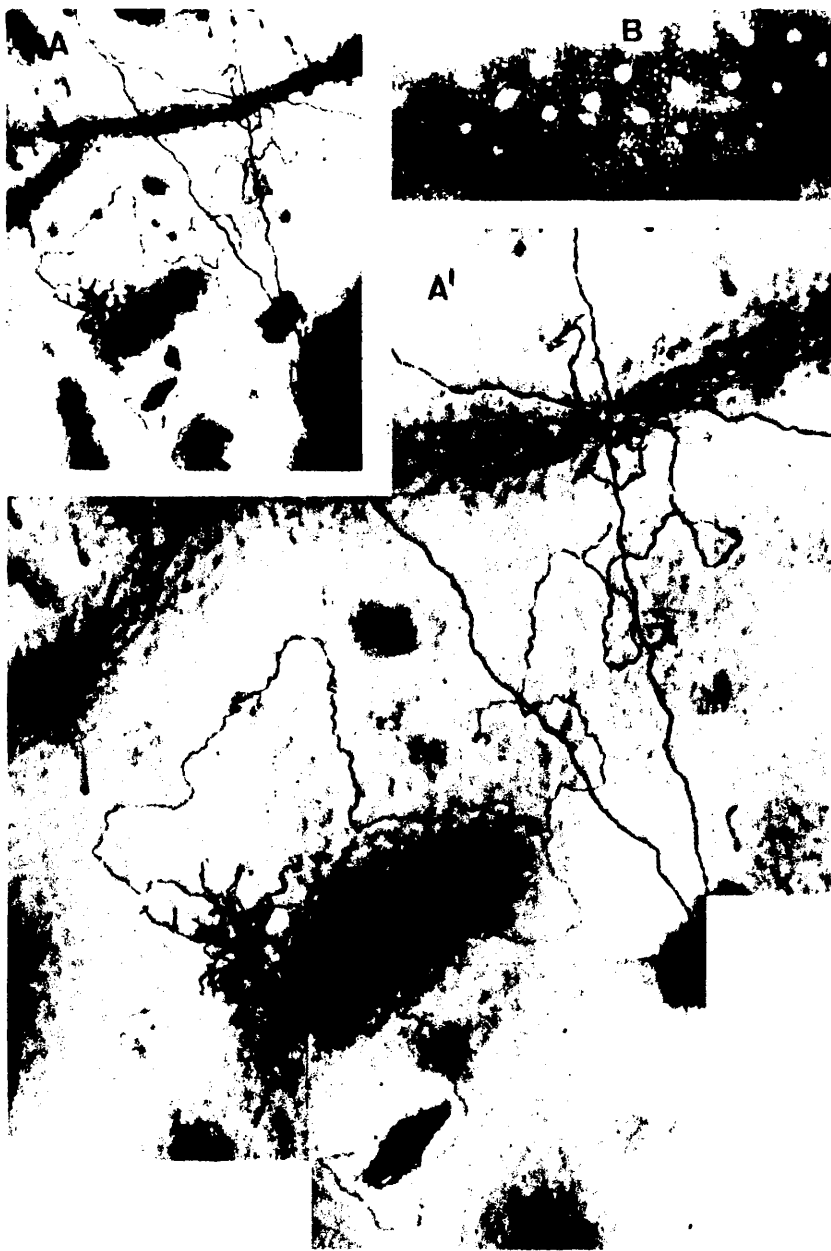
LAMINA XXIII

Campo retiniano de Macacus Rhesus donde se ven numerosas CH-I cuyos axones se dirigen en todas las direcciones.



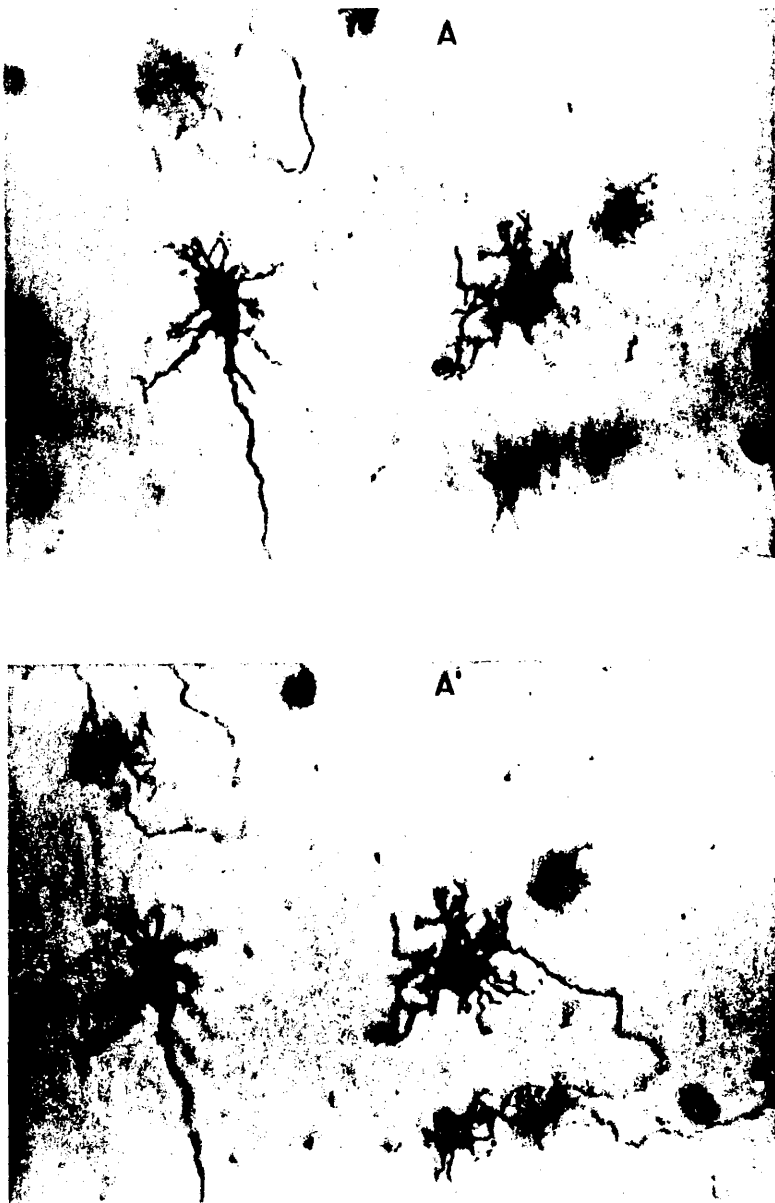
LAMINA XXIV

Esquemas que muestran las zonas de distribución de las terminales axónicas de las células horizontales comprendidas en las áreas retinianas iluminadas: (A) circular y (B) rectangular.



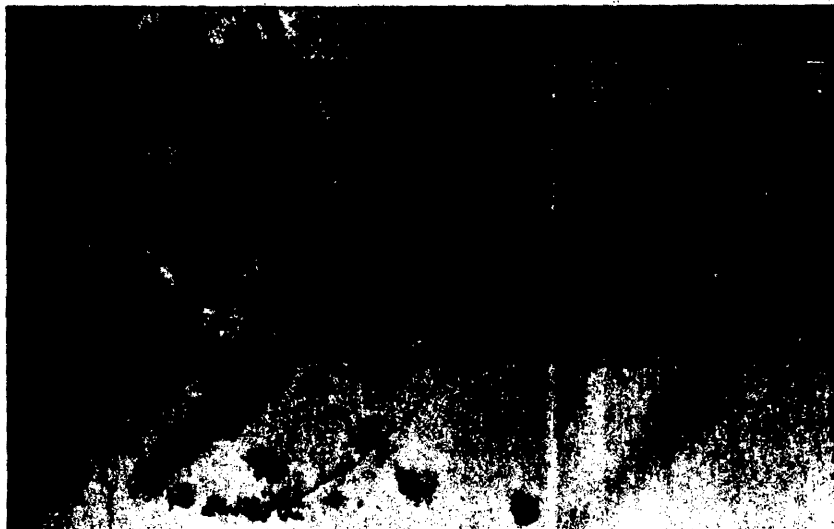
LAMINA XXV.

Retina de *Macacus Rhesus* teñida por el método de GOLGI, en la que puede apreciarse célula horizontal de tipo II (A y A') con su soma, cilindroeje y terminal axónica, así como un detalle del plano de fotorreceptores correspondiente (B).



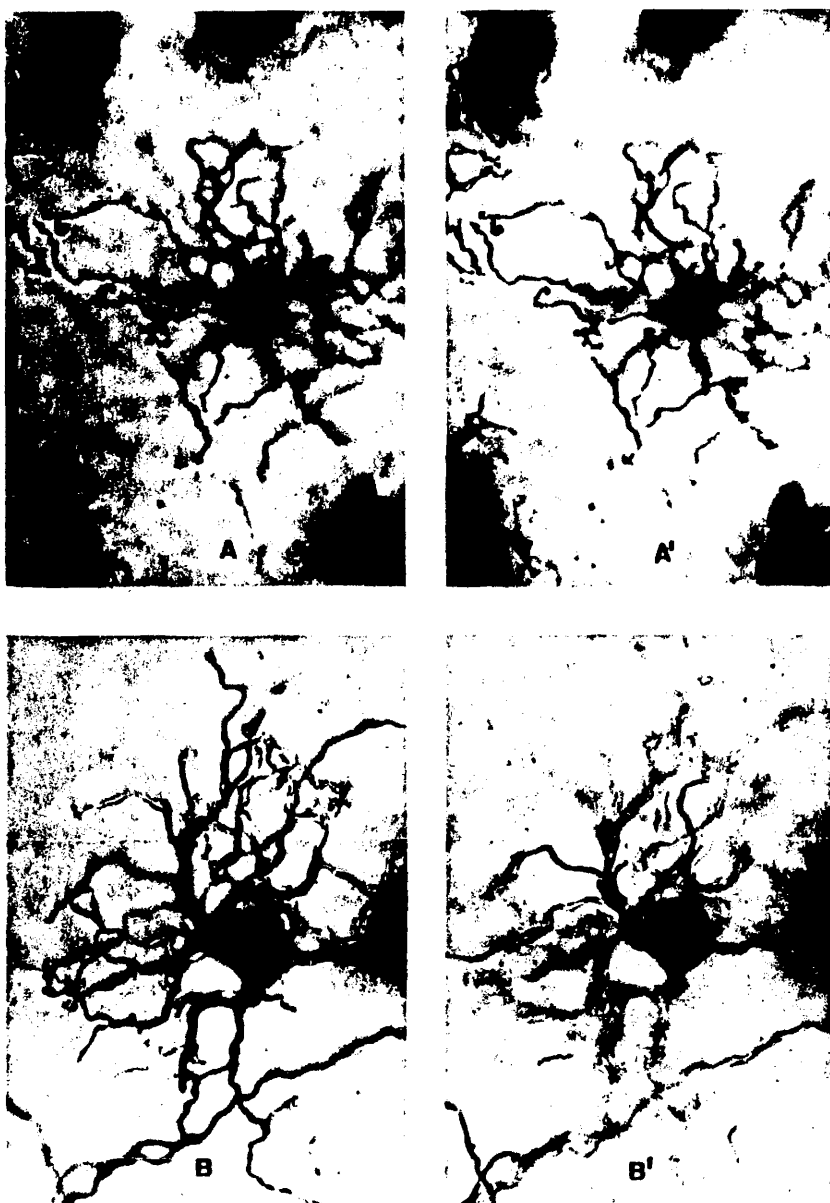
LAMINA XXVI

Retina de Macacus Rhesus teñida por el método de GOLGI en la que en un mismo campo retiniano pueden verse (en dos planos de enfoque, --- A y A') la diferencias entre el soma y árbol dendrítico de las CH-I y CH-II.



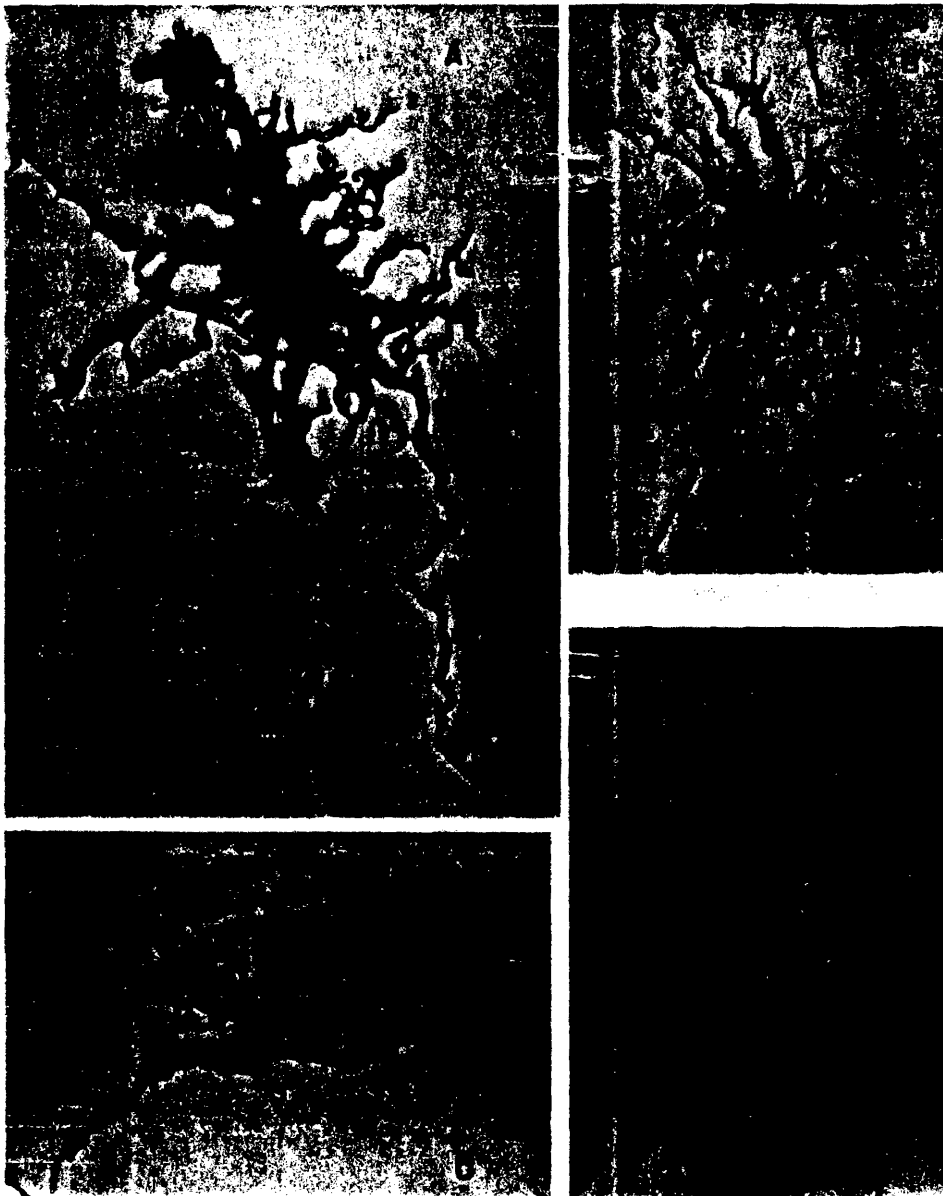
## LAMINA XXVII.

Retina de *Macacus Rhesus* teñida por el método de GOLGI, en la que pueden apreciarse a pequeño aumento células horizontales de tipo - I y II en un mismo campo retiniano cuyas diferencias morfológicas pueden verse claramente.



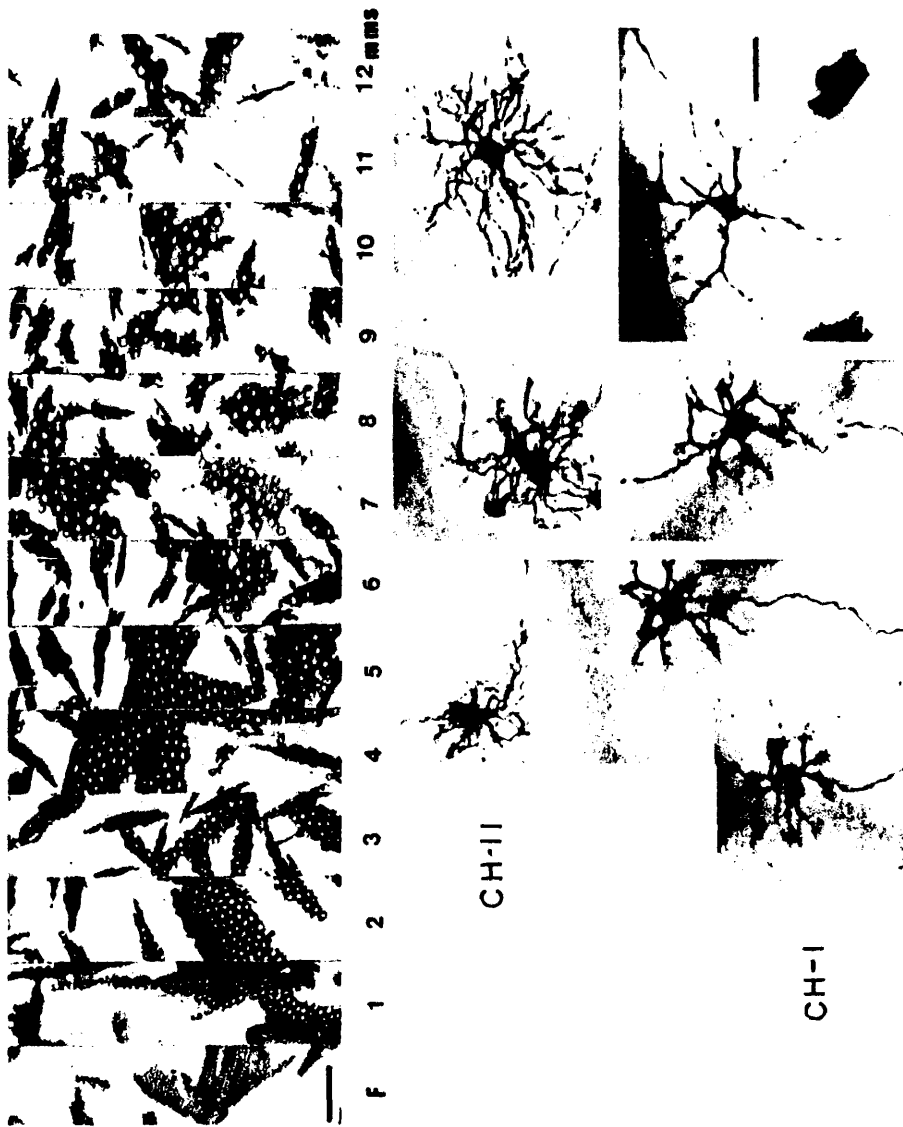
LAMINA XXVIII.

Retina de *Macacus Rhesus* teñida por el método de GOLGI, en la que pueden verse varios planos de enfoque de soma y árbol dendrítico de CH-II (A-A') y (B-B') con sus botones terminales.



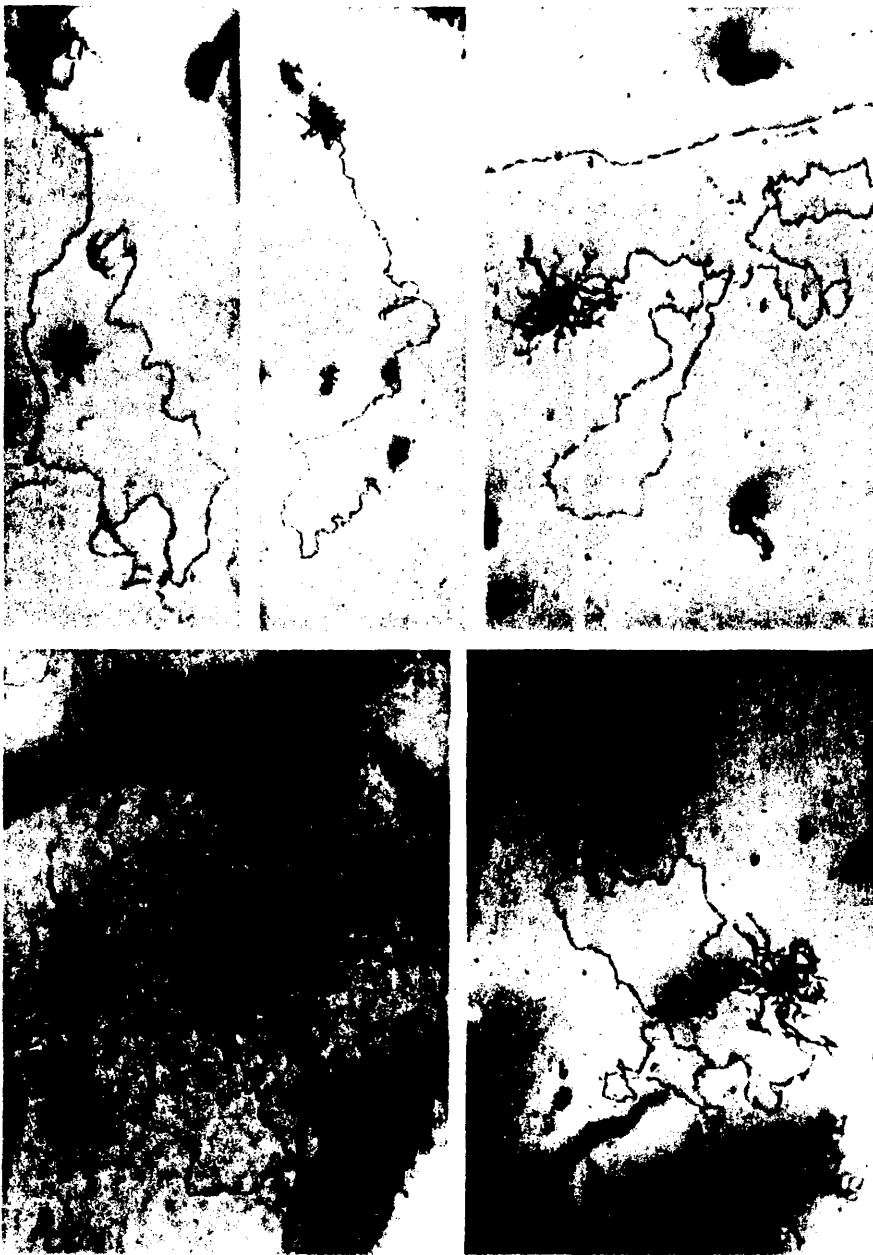
LAMINA XXIX.

Retina de Macacus Rhesus teñida por el método de GOLGI.- A y B: --- Soma de CH-II con su árbol dendrítico enmarañado.- C: Terminal axónica de CH-II.- D: CH-II teñida en su totalidad.



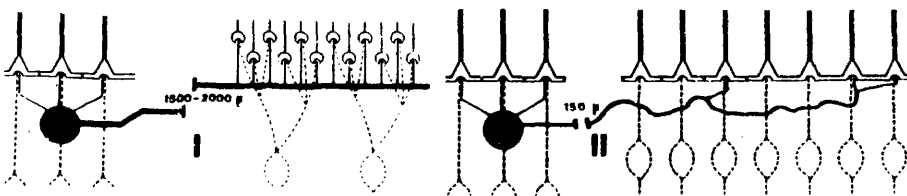
LAMINA XXX.

Retina de Macacus Rhesus teñida con el método de GOLGI. Somas de - CH-I y CH-II con su plano de fotorreceptores tomadas a distintas - distancias de la fovea (F).



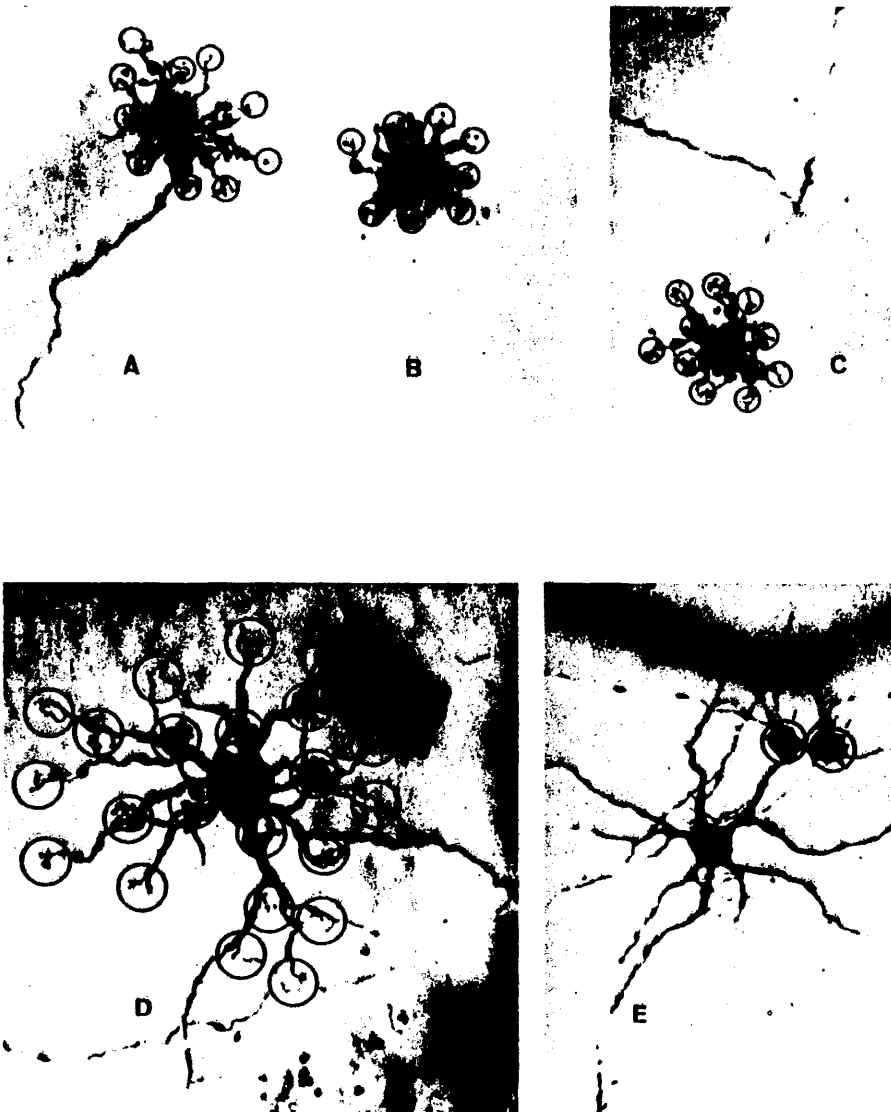
LAMINA XXXI.

Retina de *Macacus Rhesus* teñida por el método de GOLGI en la que - pueden apreciarse varias CH-II que se han logrado teñir en su totalidad.



LAMINA XXXII.

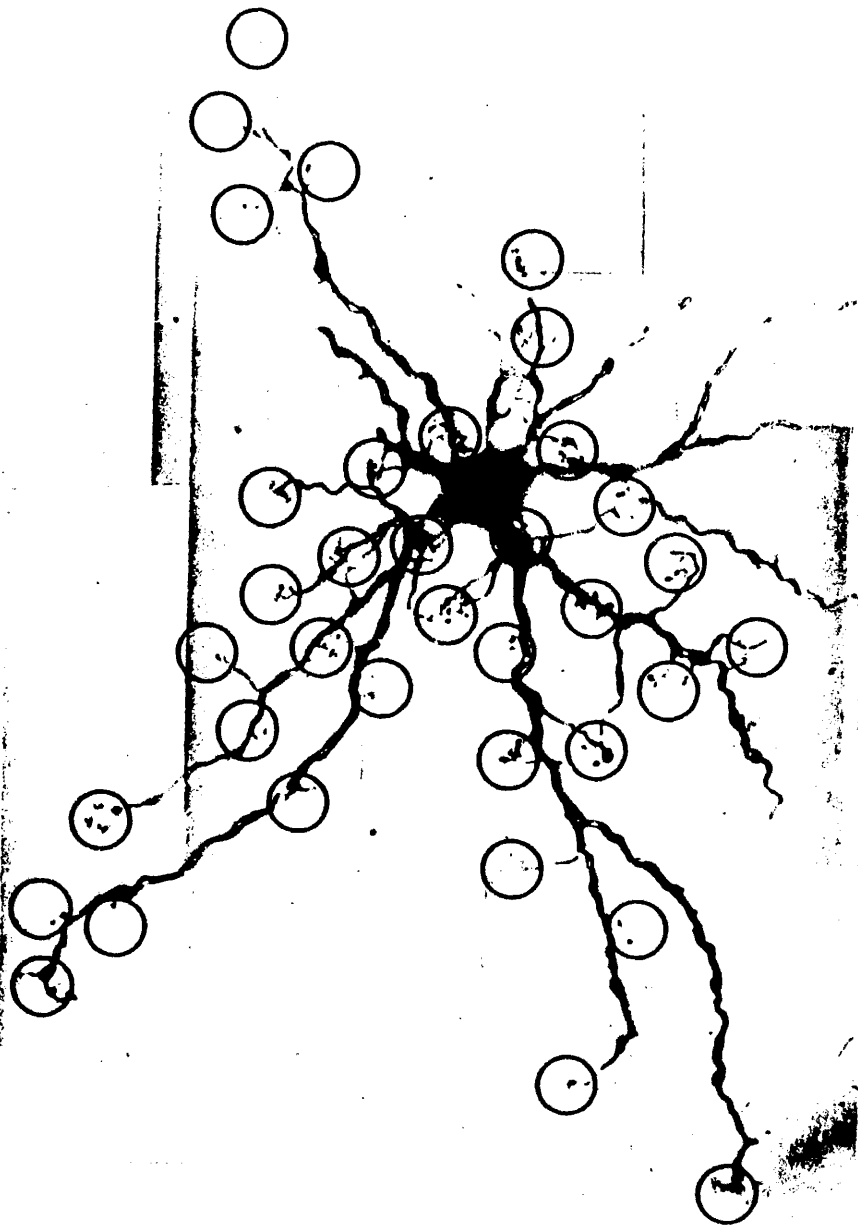
Esquema representativo de los contactos de las  
CH-I y CH-II con los fotorreceptores.



LAMINA XXXIII.

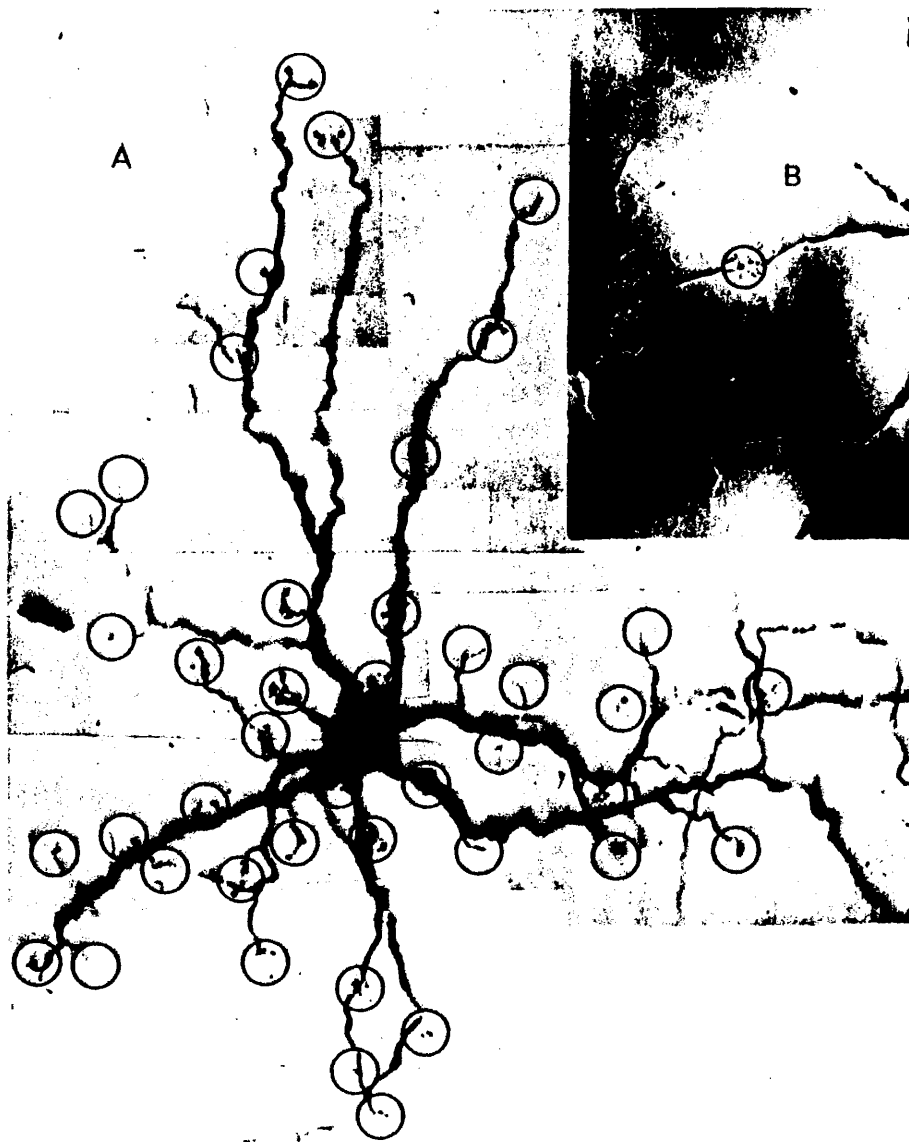
Células horizontales tipo I de Macacus Rhesus.

A) CH-I situada a 2,5 mm. del centro de la fóvea.-B) CH-I situada a 2 mm. del centro de la fóvea.-C) CH-I situada a 1,5 mm. del centro de la fóvea.- D) CH-I situada a 4 mm. del centro de la fóvea.- E) - CH-I próxima a la "ora serrata". Dos pies de conos señalados con -- flechas se superponen sobre el árbol dendrítico de la CH-I.- Los botones terminales de todas estas células están enmarcados con círculos cuyo diámetro se corresponde con los de los pies de conos.



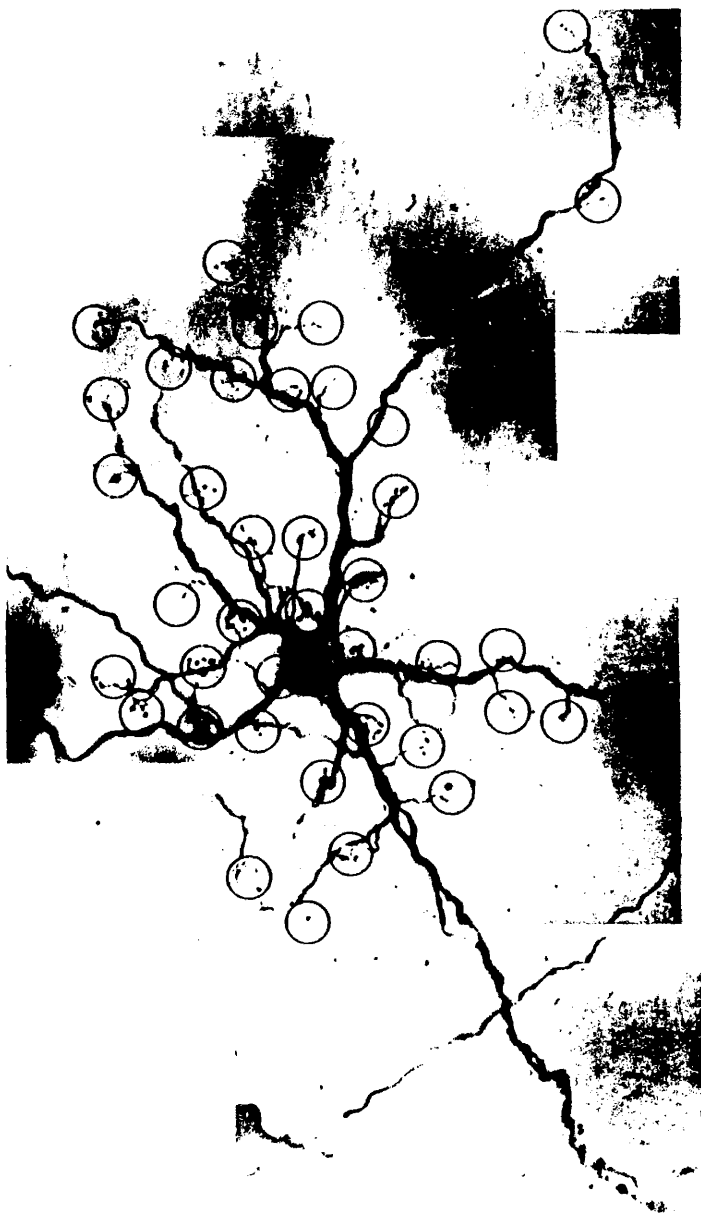
LAMINA XXXIV.

Célula horizontal de tipo I de Macacus Rhesus situada a 10 mm. de la fovea, que establece contacto con 36 conos.



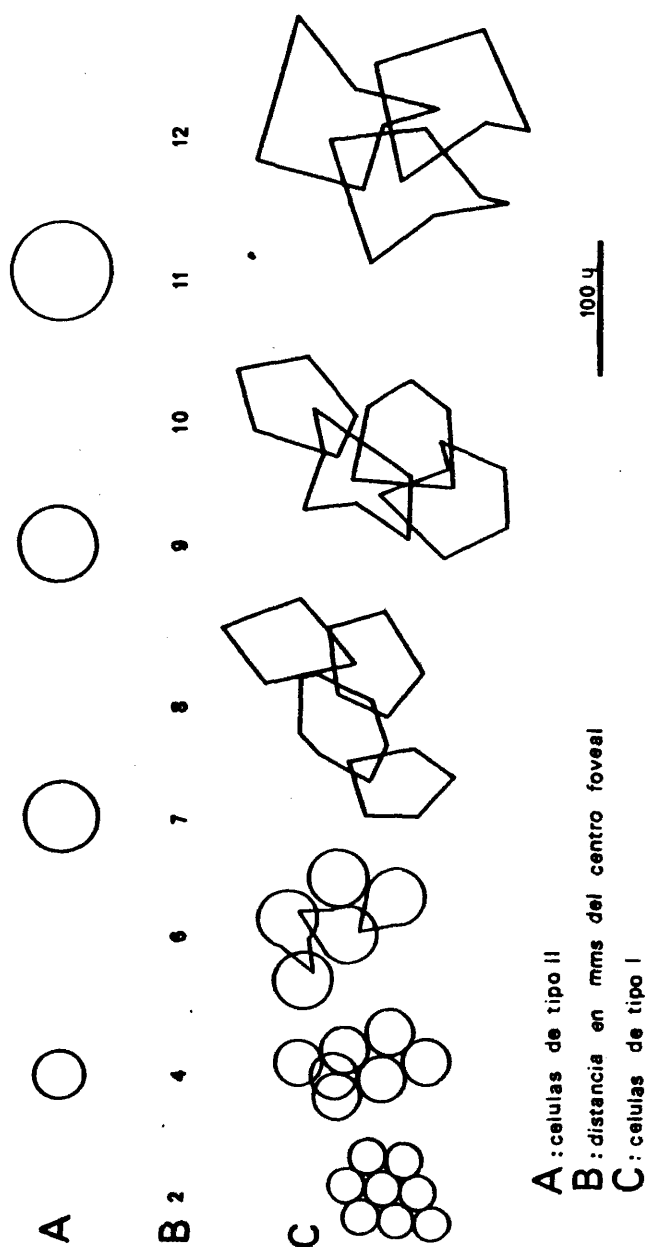
LAMINA XXXV.

A) CH de Macacus Rhesus teñida con el método de GOLGI-COLONNIER próxima a la "ora serrata", situada a 11 mm. del centro de la fovea, - en la que puede apreciarse con toda claridad los botones terminales enmarcados por un círculo cuyo diámetro corresponde a un pie de cono.- B) Botones terminales de dos células horizontales distintas que se suponen contactan con un mismo pie de cono.



LAMINA XXXVI.

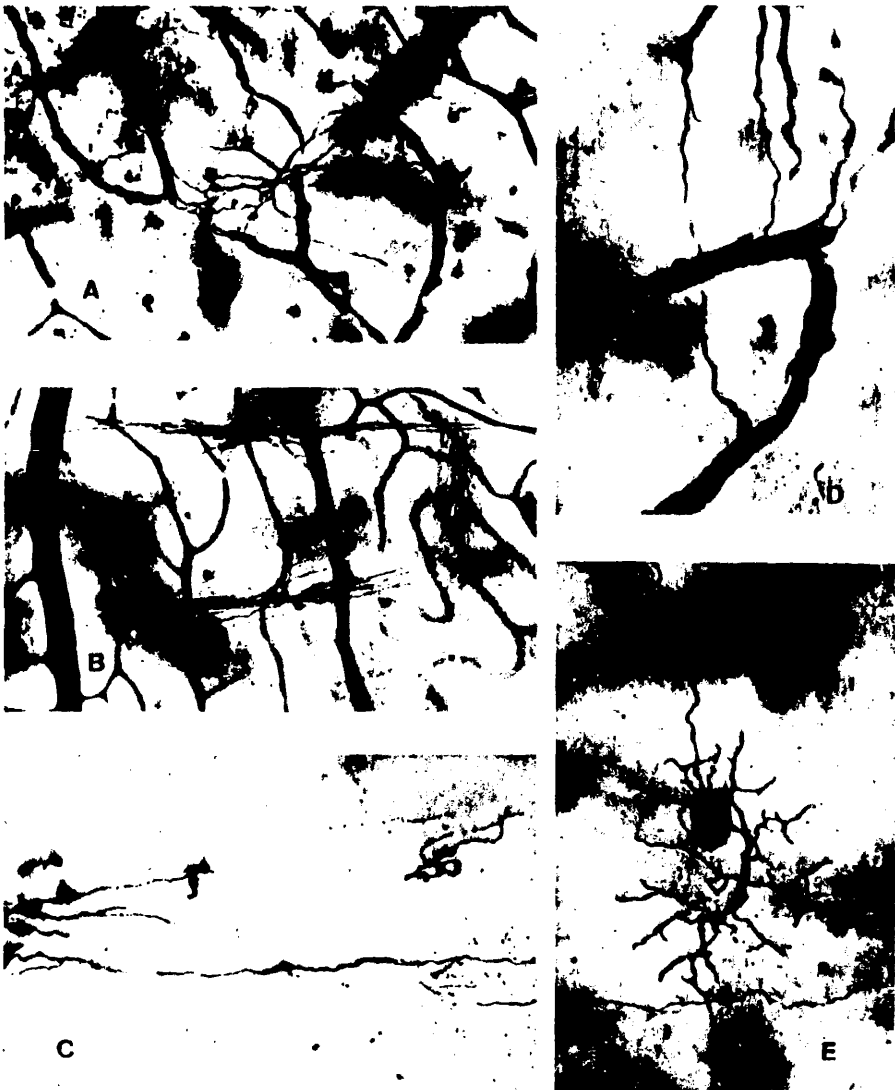
Célula horizontal de tipo I de Macacus Rhesus situada a 11 mm. -  
del centro de la fovea que establece contacto con 39 conos.



A : células de tipo II  
 B : distancia en mms del centro foveal  
 C : células de tipo I

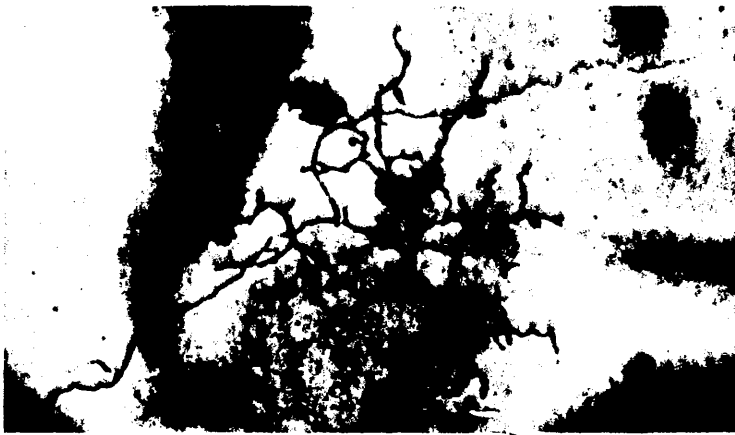
LAMINA XXXVII.

Representación esquemática de las áreas cubiertas por el soma y -- dendritas de las CH-I (C) y de las CH-II (A) con arreglo a su distancia a la fovea.



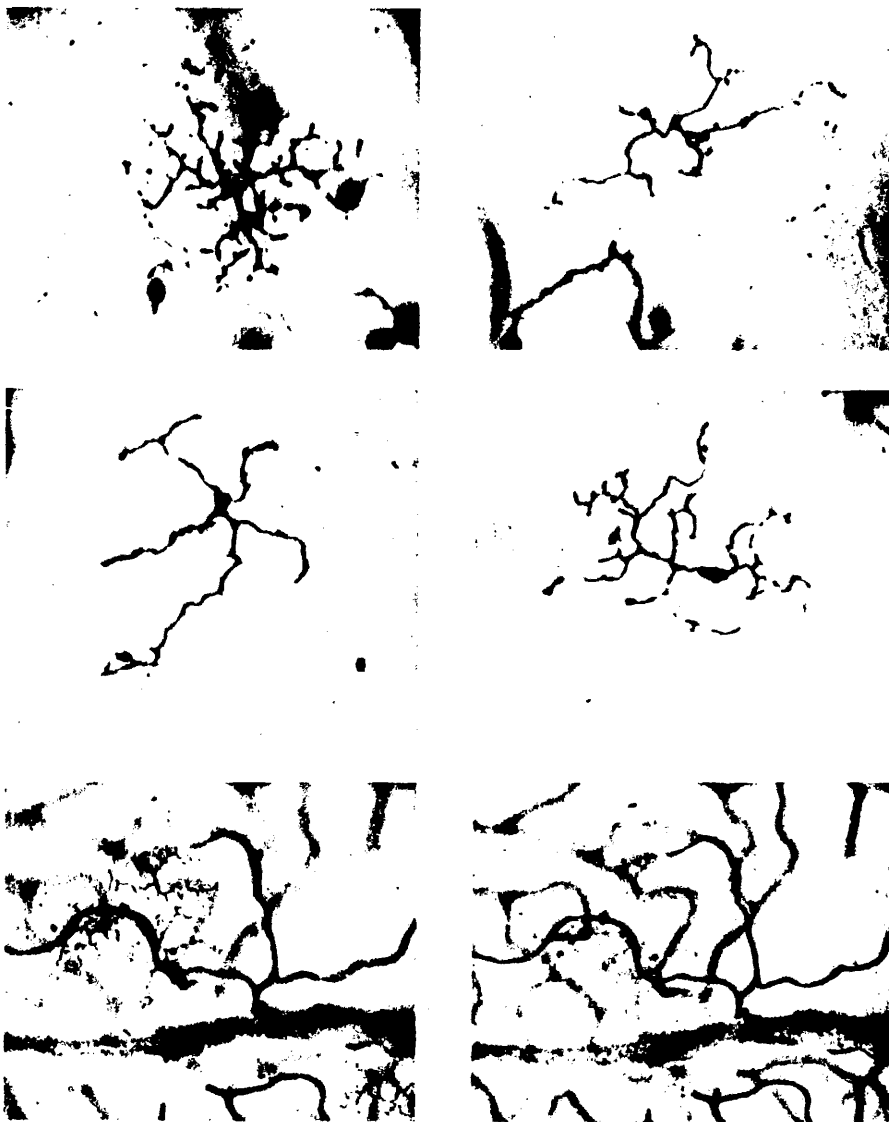
LAMINA XXXVIII.

Retina de *Macacus Rhesus* teñida por el método de GOLGI-COLONNIER.-  
 A) Astrocito.- B) Astrocito fibroso.- C) Oligodendroglia.- D) Det  
 alle de los pies chupadores de los astrocitos.- E) Microglia.



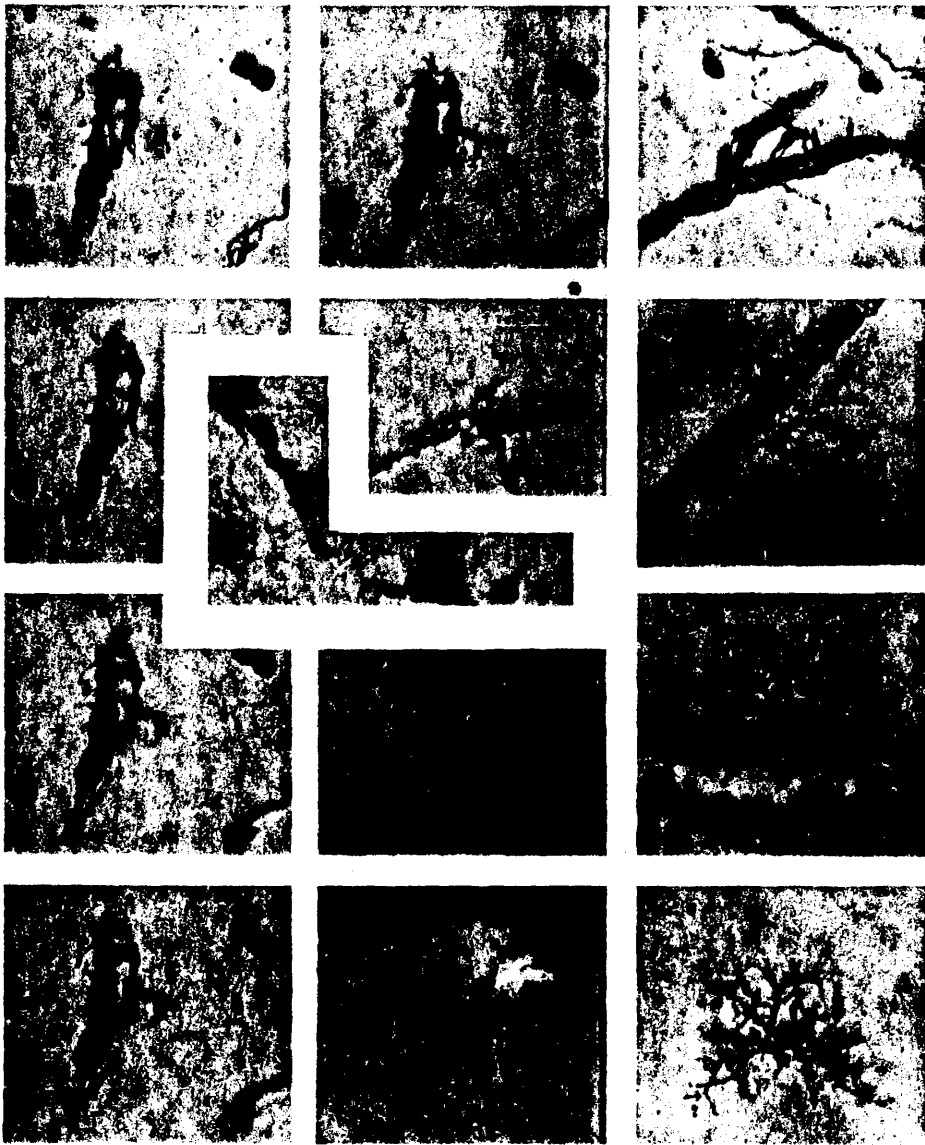
LAMINA XXXIX.

Retina de Baboon teñida por el método de GOLGI-COLONNIER.- Célula - de microglia obtenida con distinto aumento, cuyos procesos celulares parecen estar rematados por botones terminales.



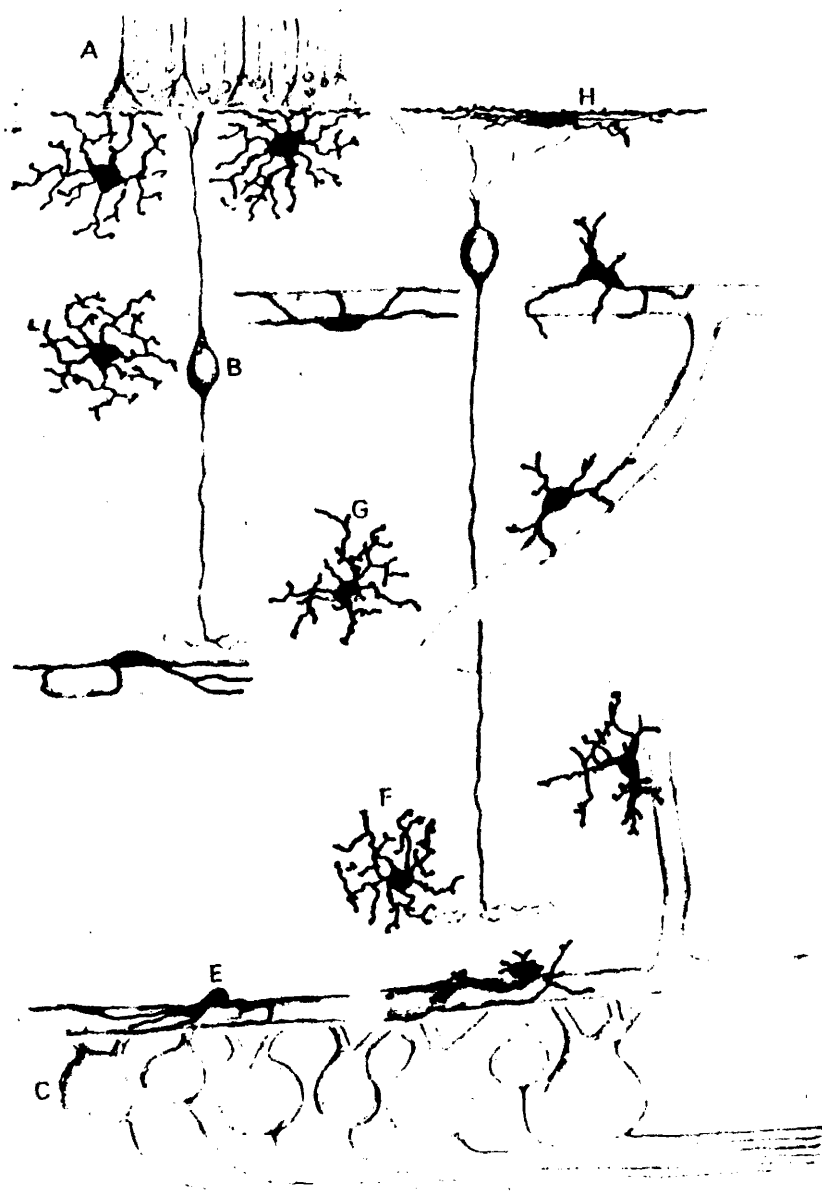
LAMINA XL.

Retina de Baboon teñida por el método de GOLGI-COLONNIER, en la --  
que pueden apreciarse células de microglia a distintos niveles de  
vascularización retiniana.



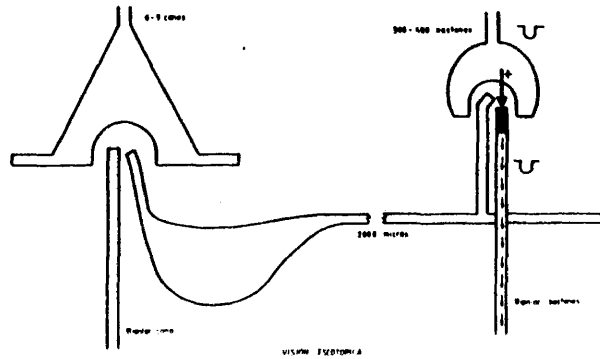
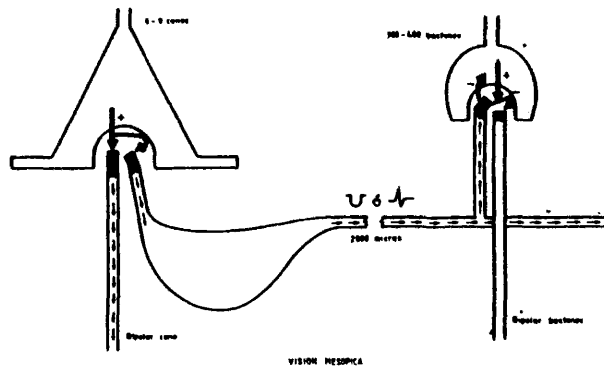
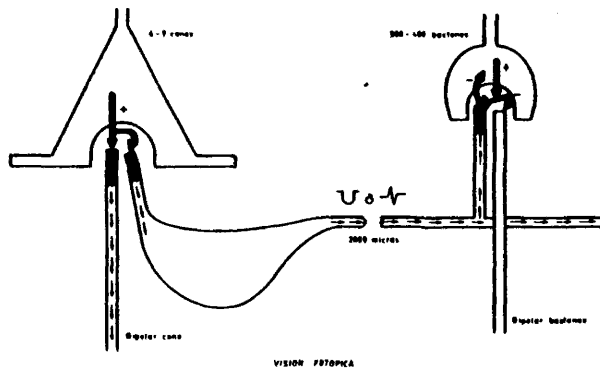
LAMINA XLI.

Retina de Baboon teñida por el método de GOLGI-COLONNIER en la que se observan pericitos transformándose en microglia.



LAMINA XLII.

Representación esquemática de la movilización de pericitos y microglia hasta alcanzar el plano de fotorreceptores.



LAMINA XLIII

Representación esquemática de la posible intervención de las CH-I a diferentes niveles de intensidad luminosa.