

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**



TESIS DOCTORAL

**Organización funcional de la capa I de la corteza cerebral  
celulas de Cajal**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**Margarita Barón Maldonado**

Madrid, 2015

R. 55 109

DE 611.8.048.24  
BAR

---

**MARGARITA BARON MALDONADO**

Departamento de Fisiología y Bioquímica. Cátedra I de Fisiología  
Prof. A. GALLEGO

**ORGANIZACION FUNCIONAL DE LA CAPA I DE LA CORTEZA  
CEREBRAL. CELULAS DE CAJAL**

Tesis para aspirar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía, leída y defendida el 14 de julio de 1971 en la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense ante el Tribunal, que la calificó de Sobresaliente «cum laude». Premio Extraordinario en la Sección de Fundamentales concedido por la Junta de Profesores de la Facultad de Medicina, 24 de enero de 1972.

Realizada con una ayuda de la Fundación Marqués de Urquijo, bajo la dirección del Prof. A. GALLEGO



**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**



5316072499

*In memoriam:*  
*Don Santiago Ramón y Cajal*  
*(1852-1934)*

*Al profesor Antonio Gallego*

## INDICE

	Págs.
AGRADECIMIENTO . . . . .	31
INTRODUCCION . . . . .	124
MATERIAL Y METODOS . . . . .	33
A. Animales utilizados . . . . .	50
B. Obtención del tejido . . . . .	50
C. Técnicas utilizadas para m. óptica . . . . .	50
D. Técnicas utilizadas para m. electrón. . . . .	51
RESULTADOS . . . . .	53
I. Células de <i>Cajal</i> : su demostración . . . . .	54
II. Resultados con M/O: en el gato . . . . .	54
Resultados con M/O: en el conejo . . . . .	56
Resultados con M/O: en perro y ratón . . . . .	69
III. Resultados con M/E: en el gato . . . . .	72
A. En el gato de doce días . . . . .	73
B. En el gato de cuarenta días . . . . .	73
C. En el gato adulto . . . . .	85
DISCUSION . . . . .	91
RESUMEN . . . . .	99
CONCLUSIONES . . . . .	119
SUMMARY . . . . .	122
BIBLIOGRAFIA . . . . .	126
LAMINAS	
I. Microscopía óptica . . . . . I-XX . . . . .	136-181
II. Microscopía electrónica. . . . . XXI-XLV . . . . .	182-239
Gato de doce días . . . . . XXI-XXVIII . . . . .	182-197
Gato de cuarenta días . . . . . XXIX-XXXIII . . . . .	198-211
Gato adulto . . . . . XXXIV-XLV . . . . .	212-239

## AGRADECIMIENTO

*A mi familia, y en especial a mi madre, quienes desde los comienzos, en mis años de estudiante, constituyeron un estímulo eficaz y constante en la consecución del objetivo final. Agradézcóles también la ayuda directa o indirecta que he recibido de todos ellos durante la larga convivencia familiar, así como su ejemplo estudioso, que me ha servido de aliciente en todo momento. He de mencionar específicamente a mi hermano don Carlos Barón y su mujer doña Estrella Pinacho, por su colaboración en el diseño de algunos esquemas y dibujos.*

*Al Profesor don Antonio Gallego Fernández, a quien dedico este trabajo por haber sido él quien ha hecho posible la puesta en marcha del mismo dedicándole posteriormente muchas horas de trabajo personal. La vitalidad y energía de su personalidad y la enorme fe que posee en la investigación científica, evitaron en mí el abandono y desánimo que surgen a menudo ante la dificultad. Los trabajos colaterales que se han realizado a partir del presente estudio han sido orientados y atisbados por lo acusado de su imaginación y por su ingenio. He de agradecerle también las enseñanzas que he recibido a lo largo de mis años de trabajo a su lado. Enseñanzas que abarcan amplios terrenos de la formación humana, científica y universitaria, y que al ser las básicas esenciales representan para mí un bagaje muy valioso en el futuro de mi vida.*

*A doña Rosa Ayllón, cuyo manejo de las técnicas histológicas ha constituido una ayuda de gran valor para la ejecución de este trabajo. Mi agradecimiento es tanto más efusivo cuanto que valoro en su medida correspondiente los conocimientos que me ha transmitido y la dedicación que me ha prestado en todo momento.*

*A doña Heydé Agoff y don Manuel Taboada, quienes han contribuido durante el período final en la preparación de las piezas para microscopía electrónica y en el trabajo fotográfico respectivamente, acelerando así su terminación.*

*Al alumno interno, doña Juana Lope Oter, por su colaboración activa en la confección de los volúmenes gráficos, deseando que el contemplar la obra terminada represente estímulo y motivación en su futura vocación profesional.*

*A todo el equipo de la Cátedra, que por su espíritu sano y joven crean un ambiente de trabajo atractivo y confortable. En especial a aquellos que coincidieron conmigo en la iniciación universitaria.*

## INTRODUCCION

La capa I de la corteza cerebral fue denominada por *Cajal* *capa plexiforme externa*, ya que, «como paraje de articulación interneuronal, recuerda por completo los estratos plexiformes de la retina y el molecular del cerebelo» (*Cajal*, 1904, pág. 794). Desde el comienzo de su estudio las discordancias que han existido acerca de su constitución estructural quizás expliquen los diferentes nombres con que ha sido descrita dicha capa: así, *Stieda* (1868) la denominaba «zona pobre en granos»; *Meynert* (1874), «capa molecular»; *Retzius* (1893), «capa de las células de *Cajal*», y *Brodmann* (1906), «lámina zonalis».

De acuerdo con la clásica descripción de *Cajal*, a nivel de la capa I se encuentran los *penachos dendríticos* de las células piramidales subyacentes en las diferentes capas corticales y de otras neuronas de la corteza; *neuronas propias de la capa I*, esto es, células de axon corto y células de *Cajal*; *axones* de las células de axon corto de las neuronas corticales y axones procedentes de otras áreas corticales o de núcleos subcorticales, así como células de *neuroglia* y abundantes *vasos*. El descubrimiento de la microglia por *Río Hortega* (1919) y sus estudios sobre la distribución de este elemento celular en el sistema nervioso central (1920) le permitieron señalar su abundancia a nivel de la capa I de la corteza cerebral.

En estos últimos años sin embargo, los autores que se han ocupado del estudio de esta capa de la corteza cerebral no están de acuerdo acerca de su estructura, en especial en lo referente a la presencia en el animal adulto de neuronas propias de dicha capa. Por otra parte, la misma existencia de la microglía en la sustancia gris cerebral ha sido puesta en duda en el caso del tejido nervioso normal.

El conocimiento de la estructura de la capa I de la corteza cerebral es, sin embargo, esencial para comprender la integración funcional de las neuronas corticales, en especial a la luz de los modernos estudios que plantean la organización de la corteza en sistemas de «columnas funcionales» verticales que se extienden desde la superficie pial a la sustancia blanca; sistemas constituidos por cadenas de neuronas que representarían unidades funcionales más o menos superpuestas tangencialmente (*Mountcastle*, 1957; *Powell* y *Mountcas-*

tle, 1959). La interpretación correcta de los fenómenos bioeléctricos que se registran a nivel cortical sólo será posible merced a un conocimiento más acabado de la estructura de la corteza cerebral. Se impone pues, un estudio morfológico previo para tratar de llegar a un concepto de organización cortical como base de interpretaciones funcionales.

## A) Neuronas de la capa I

### 1. Células de Cajal

La escasez de cuerpos neuronales en la capa I de la corteza cerebral de los animales adultos, y las dificultades técnicas para ponerlos en evidencia, señaladas ya por los autores clásicos, han hecho que autores que estudian la corteza, principalmente con microscopía electrónica (*Jones y Powell, 1970, a, b*), no consideren más que como excepción la presencia de neuronas a nivel de dicha capa. Sin embargo, *Cajal* en 1890, en su trabajo titulado «Sobre la existencia de células nerviosas especiales en la primera capa de las circunvoluciones cerebrales», demostró sin lugar a dudas la existencia constante de neuronas a nivel de dicha capa. En estudios posteriores (*Cajal, 1897*) describió además diversos tipos de células de axon corto en la capa I, «molecular» según la nomenclatura de *Retzius*.

Las células «especiales» descritas por *Cajal* en su trabajo de 1890 tendrían una función asociativa: «células superficiales de asociación», las denomina al final del citado trabajo. «... nos inclinaríamos a pensar —escribe— que su oficio es enlazar o asociar las acciones de células piramidales subyacentes en distinto radio cerebral. A este fin, todas las células piramidales, ya grandes, ya pequeñas, envían a la capa primera un tallo protoplasmático, que se arboriza ricamente entre las fibras nerviosas mencionadas, terminando por ramitas libres erizadas de espinas y golfos de impresión.» *Cajal* describió las «células especiales» en la corteza cerebral de los pequeños mamíferos (gato, conejo, perro y rata), y en su trabajo de 1890 diferencia ya dos tipos distintos: *a*) «fusiformes», situadas en el plano superficial; y *b*) «poliédricas» en los planos más profundos. Más tarde las describe diciendo: «... una célula voluminosa, de figura en huso o triangular, y caracterizada por la lisura, horizontalidad y longitud enorme de las expansiones polares, así como por la circunstancia de que *varias* de las ramas finas brotadas de los tallos *muestran aspectos de cilindro-ejes*» (*Cajal, 1904, pág. 799*). Estas características le hicieron clasificar a tales células incluidas en el grupo de las células amacrinas de la plexiforme interna y de los granos del bulbo olfatorio. La clasificación de los distintos tipos de neuronas que aparece en el tomo I de la edición española de su *Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados* (*Cajal, 1899*) es la siguiente:

1.º Células provistas exclusivamente de expansiones nerviosas o apéndices somatófugos .....	Células de expansiones relativamente cortas .....	Amacrinas de la retina. Granos del bulbo olfatorio. Células especiales de la corteza cerebral.
	Células de prolongaciones larguísimas .....	Corpúsculos intersticiales de las glándulas y del gran simpático intestinal.
	Células con una expansión medulada y larga .....	Corpúsculos monopolares del núcleo masticador superior.
2.º Células provistas de expansiones receptoras y axon o expansión dendrífuga .....	Células sensoriales, es decir, provistas de una expansión receptora y de axon .....	Bipolares olfatorias, retinianas, del ganglio espiral del caracol, del ganglio de Scarpa y ganglionares raquídeas.
	Células provistas de varias expansiones receptoras y de axon largo .....	Células motrices, simpáticas y de asociación y proyección de los centros.
	Células portadoras de varios apéndices protoplásmicos y un axon corto.	Células de Golgi del cerebelo, cerebro, etc.
	Células con expansiones dendríticas y un axon largo continuado con varias fibras nerviosas de la substancia blanca ....	Células en T del cerebelo y médula, células de axon complejo.

Morfológicamente, tanto las «células especiales» de la corteza como las amacrinas de la retina y los granos del bulbo olfatorio presentaban caracteres que las convertían en excepciones dentro de una interpretación ortodoxa de la teoría de la neurona. Quizás por ello *Cajal* (1904) se dejó convencer fácilmente por *Retzius* (1893) y *Veratti* (1897), admitiendo que de los varios apéndices somatófugos, sólo uno tenía carácter axónico; así, ya en el tomo II de la edición española de su *Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados*, publicado en 1904 (pág. 801), escribía: «... Por estudios efectuados con el azul de metileno en el cerebro del gato (1897), las observaciones de *Retzius* (1893) en el feto humano y de *Veratti* (1897) en el conejo, y los nuevos trabajos emprendidos por nosotros sobre la anatomía cerebral del niño recién nacido (1899, 1900, 1901) nos han persuadido de que entre las prolongaciones polares o colaterales de los tallos sólo una merece ser estimada como axon.» Como consecuencia

cia de sus nuevas ideas, en la clasificación general de las neuronas que aparece en el tomo I de la edición francesa de su libro elimina a sus «células especiales» del grupo celular «provisto únicamente de apéndices somatófugos». La clasificación de neuronas en esta edición (1909) es la siguiente:

<i>Classe</i>	<i>Sous-classe</i>	<i>Types</i>
Cellules pourvues exclusivement des prolongements nerveux ou appendices cellulifuges.	Cellules à prolongements relativement courts.	Amacrines de la rétine. Grains du bulbe olfactif.
	Cellules à prolongements longs.	Corpuscules interstitiels des glandes et du grand Sympathique intestinal.
	Cellules pourvues d'un prolongement myélinisé et long.	Corpuscules unipolaires du noyau masticateur supérieur.
Cellules pourvues d'expansions réceptrices ou cellulipètes et d'un axone ou prolongement somatofuge.	Cellules sensorielles, c'est-à-dire munies d'une expansion réceptrice et d'un axone.	Bipolaires, olfactives, rétinienne, du ganglion spiral du limaçon, du ganglion de Scarpa et des ganglions rachidiens.
	Cellules pourvues de plusieurs expansions et d'un cylindre-axe long.	Cellules motrices, sympathiques, d'associations et de projection dans les centres.
	Cellules pourvues de plusieurs appendices protoplasmiques et d'un cylindre-axe court.	Cellules de Golgi du cervelet, du cerveau, etc.
	Cellules munies de plusieurs expansions dendritiques et d'un axone long qui se divise pour se continuer par plusieurs fibres nerveuses de la substance blanche.	Cellules à cylindre-axe en T du cervelet et de la moelle, cellules à axone complexe.

En sus estudios sobre el cerebro del feto humano *Retzius* designa a las células especiales con el nombre de células de *Cajal*, llegando a denominar a la capa I «capa de las células de *Cajal*». Algunos autores desde entonces conocen dichas células con el nombre de células de *Cajal-Retzius*. Otro problema relacionado con este tipo celular ha sido

su posible evolución a otras formas neuronales en los animales adultos. La demostración de las células de *Cajal* se hizo inicialmente en animales jóvenes o en fetos, tanto en los pequeños mamíferos (*Cajal* y *Veratti*) como en el hombre (*Retzius*). Los autores clásicos señalaron la dificultad de ponerlas en evidencia en los animales adultos hasta el punto de que *Cajal*, al considerar la evolución de las células especiales en la corteza cerebral del hombre, considera formas «fetales» y «adultas», estas últimas estudiadas en cerebros de niños de uno a dos meses. No es de extrañar que los autores modernos que han estudiado de nuevo las células de *Cajal*, al encontrarse con las mismas dificultades con que tropezaron sus antecesores clásicos se muestren discordes en sus conclusiones. Entre ellos únicamente *Fox* e *Inmann* (1966) han sido capaces de demostrar la persistencia de las células de *Cajal* en la corteza cerebral de animales adultos, concretamente del perro. En la corteza humana, *Marín-Padilla* (1970, *a*) sostiene la opinión de que dichas células persisten en el adulto.

Ante la dificultad de la demostración de tales células en los animales adultos, varios autores han llegado a la conclusión de que no existen en la corteza cerebral del animal adulto, y, como consecuencia de tal conclusión, explican su desaparición después del nacimiento, bien suponiendo que se transforman en células de axon corto, como hacen *Purpura* y cols. (1964), siguiendo una opinión anterior de *Lorente de No* (1922), o bien en grandes células piramidales, tal como opinan *Duckett* y *Pearse* (1968). En apoyo de una evolución postnatal de las células de *Cajal*, *Meller* y cols. (1968, *a, b*) describen en la corteza cerebral del ratón blanco cómo hasta los seis días después del nacimiento las células de *Cajal* tienen aspecto bipolar e inmaduro y a partir del séptimo día tales células cambian su primitiva morfología, haciéndose multipolares y mostrando varias dendritas con espinas y un axon. Una posición más radical referente a las células de *Cajal* es la de *Jones* y *Powell* (1970, *a, b, c, d, e*), que simplemente ignoran su existencia. En sus estudios sobre la corteza cerebral del gato, estos autores admiten como hecho establecido que en la capa I no existen neuronas.

En lo que se refiere a las células de *Cajal* y en la literatura actual, nos encontramos ante «un estado de opiniones» heterogéneo y problemático, que podríamos resumir del siguiente modo:

*Grupo I.*—Autores que sostienen la teoría de la *persistencia* en los cerebros adultos, constituyendo un tipo neuronal definido e individualizado (*Fox* e *Inman*, 1966; *Marín-Padilla*, 1970, *a, b*; *Barón* y *Gallego*, 1971).

*Grupo II.*—Autores que insisten en que dichas células sufrirían un proceso *evolutivo* en virtud del cual madurarían en tipos neuronales adultos: células piramidales o células de axon corto (*Duckett* y *Pearse*, 1968; *Purpura* y cols., 1964).

*Grupo III.*—Autores que afirman que dichas células sufrirían cambios progresivos, totales o parciales, *desapareciendo* tempranamente durante la ontogénesis postnatal (Conel, 1947 y 1951; Noback y Purpura, 1961, y Astrom, 1967).

*Grupo IV.*—Autores que utilizándolas como *criterio de madurez* de la capa I de la corteza en desarrollo, admiten tácitamente su existencia sin describirlas o discutir las en el animal adulto (Rabinowicz, 1964; Kobayashi, 1964, y Meller y cols., 1968). En este grupo cabría incluir aquéllos que las mencionan de pasada sin testimonio gráfico ni discusión sobre las mismas (Pappas y Purpura, 1961).

*Grupo V.*—Autores que hablando de la estructura de la capa I *no las mencionan* (Jones y Powell, a, b, 1970; Colonnier, 1968, y Lund y Lund, 1970).

La confusión existente en relación con las células de *Cajal* hace necesario un estudio más detallado de las mismas, en especial ante los estudios que revelan la existencia en el sistema nervioso central de elementos celulares desprovistos de axon (células amacrinas), o provistos de un axon extremadamente corto que desde un punto de vista funcional no parece pueda conducir señales propagadas, esto es, spikes. Gallego (1971) señala que uno de los tipos de células horizontales de la plexiforme externa y las amacrinas de la plexiforme interna de la retina carecen de las características funcionales y morfológicas de las neuronas de tipo I y tipo II de *Golgi* (o neuronas de axon largo y corto respectivamente, según la nomenclatura de *Cajal*); tales células, o no tienen axon o poseen únicamente un proceso celular extremadamente corto («axonoides»), y por ende, en lugar de estar organizadas como interneuronas en circuitos de cadena «cerrada» o «múltiple» (Lorente de No, 1939) imbricadas en los arcos reflejos formados por las neuronas de axon largo, forman plexos situados perpendicularmente a las vías ópticas centripetas y sus contactos sinápticos difieren de los establecidos por las neuronas de axon largo y corto. La respuesta funcional de las horizontales sin axon consiste principalmente en variaciones lentas de su potencial de membrana según las condiciones de excitación. Dichas células careciendo de axon o teniendo sólo procesos celulares «axonoides» en contraste tanto con las neuronas típicas como con las interneuronas no producen «spikes» o señal conducida.

Las células horizontales sin axon de la plexiforme externa y las amacrinas de la retina no parecen ser la única excepción existente en el sistema nervioso. En las vías sensoriales a nivel de los contactos sinápticos pueden ser encontradas células sin axon o con procesos «axonoides». Tales células fueron incompletamente descritas por los autores clásicos. Por ejemplo, *Cajal* parece haberlas entrevisto en otros lugares: a nivel del bulbo olfatorio capa plexiforme externa; del ganglio acústico; del cuerpo geniculado y de la sustancia de Rolando en la médula espinal.

Al estudiar *Cajal* (1904) la zona molecular o plexiforme externa del bulbo olfativo, describe en ella los siguientes elementos: «dendritas accesorias de las células mitrales; células empenachadas medias y periféricas; el penacho terminal de los granos, y las colaterales recurrentes de los axones de los corpúsculos empenachados y mitrales». Pero en el dibujo que aparece en la página 924 (fig. 734) recoge la presencia de un tipo celular (*a* y *b* en la figura) como «pequeñas células nerviosas de morfología no bien estudiada». Según *Gallego* (1971), estas neuronas corresponden a las células amacrinas descritas por él. Cuando *Cajal* (1904) describe la estructura del ganglio anterior o ventral del coclear señala a nivel de la zona de los granos la presencia de «pequeños núcleos esféricos o elipsoides» que parecen ser «células minúsculas, multipolares, provistas de varias finas dendritas ramificadas a no mucha distancia. Prolongación funcional no hemos visto hasta hoy...». «... parece mucho más probable que sean células sin axon, comparables a los espongioblastos de la retina o células de axon finísimo, a la manera de los granos del cerebelo» (pág. 122). Las células de axon corto del cuerpo geniculado externo presentan, según *Cajal*, un «axon» diminuto que se distribuye dentro del mismo área que cubren las expansiones dendríticas. Este tipo de prolongación «axonóide» posiblemente se comporte funcionalmente de forma análoga a las células horizontales de la retina situadas en la plexiforme externa y que aparecen con estructura muy similar. En la obra de *Cajal* pueden encontrarse algunos ejemplos más de estos tipos celulares cuya morfología y, por supuesto, función no ha sido, aún hoy día aclarada.

Recientemente *Sobrino* (1970) ha estudiado en detalle la zona de los granos a nivel de la capa molecular del ganglio acústico ventral, siéndole imposible demostrar la presencia de axon en los mismos. En un trabajo previo sobre la corteza cerebral, *Barón y Gallego* (1971) demuestran la existencia de células de *Cajal* en la capa I de la corteza cerebral del conejo que exhiben una extraordinaria semejanza con las células amacrinas de la capa plexiforme interna de la retina del mismo animal.

Un estudio objetivo de los trabajos existentes sobre la estructura de la capa I de la corteza cerebral de los mamíferos permite sistematizar la problemática de las células de *Cajal* en la forma siguiente:

- a) Células de *Cajal* en el animal joven:
  - su morfología;
  - presencia o ausencia de axon.
- b) Células de *Cajal* en el animal adulto: persistencia o desaparición. Caso de persistencia de las mismas, estudio de:
  - su morfología;
  - presencia o ausencia de axon;
  - relaciones funcionales que establecen.

- c) Evolución postnatal de las células de *Cajal*: si existe, establecer su destino:
- regresión;
  - transformación en otros tipos celulares adultos:
    - células de axon corto;
    - células piramidales.
  - simples modificaciones de la célula a formas adultas morfológicamente diferentes al tipo juvenil.

## 2. Células de axon corto de la capa I

Las células de axon corto de la capa I de la corteza cerebral fueron descubiertas por *Cajal* (1897) en el conejo y la rata; posteriormente estudiadas también en la corteza cerebral del gato mediante la técnica de *Ehrlich-Dogiel* y en la corteza cerebral del hombre, donde presentan gran variedad de tipos morfológicos. Distingue *Cajal* (1904) las siguientes variedades: *a*) tipo mediano o de grosor regular; *b*) tipo grueso; *c*) tipo diminuto, y *d*) tipo neurogliforme. *Lorente de No* (1922) comprueba su existencia en el ratón, concretamente en la corteza acústica. *Cajal* (1922), en su trabajo sobre la estructura de la corteza regional de los roedores, insiste en que lo característico de la corteza homogenética o isocortex es el «enorme desarrollo de la capa plexiforme o I, que encierra contingente riquísimo de neuronas de axon corto y de larguísima neurita tangencial». En la literatura anglosajona, las células de axon corto se citan bajo el nombre de «stellate cells», «star-cells» y, con menor frecuencia, bajo el de «short axon cells» o «cells of the Golgi II type».

Es sorprendente la poca atención prestada por los autores modernos a la existencia de neuronas en la capa I. En la descripción general de neuronas presentes en la corteza sensorial del gato, *Jones y Powell* (1970, *a*) escriben «other neurons perikarya are frankly non-pyramidal in shape... Such cells are found most commonly in layers II, IV and VI, to a lesser extent in layers III and V and, though rare are the only type present in layer I». Por su descripción a continuación de la cita mencionada se refieren indudablemente a las células de axon corto, término que evitan utilizar. Es curioso comprobar que en su bibliografía únicamente citan la *Histología del sistema nervioso de Cajal* (1909-1911) en su edición francesa, sin hacer referencia a las numerosas monografías dedicadas por *Cajal* y sus discípulos españoles al estudio de la corteza cerebral de diversos mamíferos. En la descripción específica de la capa I dichos autores insisten en que «Neurons are rarely present ... but a small rounded perikaryon is occasionally seen»; siendo ésta toda la referencia a la existencia de neuronas en la capa I.

Igualmente, *Meller y cols.* (1968, *a, b*), que citan ampliamente los trabajos de *Lorente de No* sobre la corteza cerebral del ratón, se

refieren en su descripción únicamente a la evolución de las células de *Cajal*, sin mencionar la existencia o no de células de axon corto como entidades morfológicas diferentes (derivadas o no de las células de *Cajal*) en la capa I de la corteza. Estos autores las mencionan integradas solamente en la porción más externa de la capa II (outer granular layer). Sin embargo, el mismo *Lorente de No* (1922) establece claramente la existencia de dos tipos celulares: células especiales y células de axon corto. *Fox e Inman* (1966), en su breve trabajo sobre la corteza cerebral del perro, se refieren también a las células de *Cajal*, mencionando las células de axon corto como posibles células de *Cajal* modificadas. *Marín-Padilla* (1970, a), al estudiar la ontogénesis temprana de la corteza cerebral del hombre, no menciona específicamente la presencia en ella de células de axon corto, si bien en la discusión afirma que las células tipo II de *Golgi* se desarrollan en todas las capas corticales. Otros autores (*Colonnier*, 1968; *Lund y Lund*, 1970) admiten claramente la existencia de células de axon corto (stellate cells) en la capa I, aunque con poca o ninguna expresividad gráfica.

Parece evidente que en el momento actual existe también una cierta confusión en lo referente a las células de axon corto de la capa I que puede resumirse en la forma siguiente:

- a) ¿Existen o no células de axon corto en la capa I de la corteza cerebral de los mamíferos?
- b) Dada su existencia, ¿derivan de las células especiales o tienen origen independiente desde los primeros estadios de desarrollo de la corteza cerebral?

## B) Neuroglía de la capa I

Los abundantes estudios sobre la neuroglía de la corteza cerebral llevados a cabo por los autores clásicos, y en especial por la escuela de *Cajal*, parecen ignorados por buen número de autores modernos que estudian, con microscopía electrónica, la estructura de la capa I. El grado de confusión en algunos casos es evidente, llegándose a hablar de tres tipos de neuroglía (*Mori y Leblond*, 1969): astroglia, oligodendroglía y ¡microglía!, sin reconocer diferencias embriológicas y funcionales entre ellos.

En la capa I describe *Cajal* una variedad de células neuróglicas de «largas radiaciones» descubierta por *Martinotti* y estudiada por *Retzius* y *Andriezzen* (cit. por *Cajal*, 1904), y células de «cortas radiaciones» con morfología «en cometa» y «fusiformes vellosas». Los estudios de microscopía electrónica en la corteza somatosensorial en general demuestran que la glía es análoga a la descrita en otras partes del sistema nervioso (*Mugnaini y Walberg*, 1964; *Maxwell y Kruger*, 1965; *Kruger y Maxwell*, 1966; *Vaughn y Peters*, 1967). Según

*Jones y Powell (1970, a)*, astroцитos y oligodendrocitos pueden ser distinguidos por sus diferencias estructurales: núcleos, citoplasma y contenido en orgánulos intracitoplásmicos. Raramente puede ser demostrado según estos autores un tercer tipo de célula glial con núcleo denso como el de la oligodendroglía, pero de protoplasma «luciente», claro, como el de los astroцитos. El citoplasma de ambos es diferente, conteniendo un gran número de cisternas paralelas de retículo endoplásmico, al que hay escasos ribosomas adheridos. En lo que se refiere explícitamente a la capa I, en su estudio de microscopía electrónica, estos autores no citan la presencia de oligodendroglía en la misma, limitándose a describir la pía y la glía subpial, estando ésta constituida por astroglía con somas más aplastados que en otras zonas de la corteza. Los oligodendrocitos, concluyen, están prácticamente ausentes en la capa I. *Meller y cols. (1968, a)* describen en la capa I de la corteza del ratón albino dos tipos de células neuróglicas en proceso de maduración: uno formando la «membrana limitans gliae» subpial y otro tipo astrocítico común. Ambos tienen un mismo origen: el glioblasto. Tampoco se menciona en este trabajo la presencia de oligodendrocitos en la capa I de los animales estudiados (ratones de hasta veintiún días de vida postnatal).

La importancia de un conocimiento acabado de la estructura de la neuroglía se pone de manifiesto en el momento actual, ya que los estudios funcionales sobre la misma han adquirido una importancia preponderante en neurofisiología durante los últimos años. Ocasionalmente se han producido confusiones, en especial en estudios realizados con microelectrodos por carecer de una información morfológica precisa. Una vez más los datos obtenidos en el estudio de la retina han servido para indicar nuevas vías de trabajo y sugerir hipótesis.

El descubrimiento de los potenciales S (*Svaetichin, 1953*) en la retina de los peces, por sus peculiares características, tan distintos de los descritos hasta entonces en las neuronas centrales, llevó a *Svaetichin* y a su escuela a suponer que se producían en los elementos neuróglicos de la retina (resumen en *Vallecalle y Svaetichin, 1961*) las células de *Müller*, y también a desarrollar la hipótesis del papel regulador de las neuronas por los elementos gliales, resucitando con ello ideas existentes en las obras de *Cajal* y *Achúcarro*. Fueron los trabajos de *Svaetichin* los que llevaron a *Gallego* a sugerir (1964, 1965) que los potenciales S se producían con toda probabilidad en las células horizontales con axon y sin axon de la plexiforme externa de la retina, hipótesis que fué comprobada posteriormente por el mismo *Svaetichin* y otros autores (resumen en *Svaetichin y Muriel, 1970*).

Los estudios con microelectrodos de la capa I de la corteza cerebral, de los que este trabajo es preparatorio, requieren pues, precisar bien la estructura neuróglica y la de neuronas tipo *Cajal* o axon corto que se encuentran en dicha capa, para la interpretación de los potenciales bioeléctricos que de ella se pueden obtener.

### C) Microglía de la capa I

Ya *Río Hortega* (1920) señalaba que la micrología en la capa I de la corteza cerebral era más abundante que en las capas más profundas. Los autores modernos, que han estudiado específicamente la capa I de la corteza cerebral con microscopía electrónica, no mencionan la existencia de microglía a dicho nivel (*Jones y Powell, 1970, a, b, c, d, e*, entre otros muchos). No es ello de extrañar si se tiene en cuenta que la misma existencia de la microglía en el tejido nervioso normal ha sido puesta en duda por autores modernos (*Maxwell y Krüger, 1965; King, 1968*), y que inclusive las descripciones que se han hecho a microscopía electrónica han sido un tanto confusas (*Bodian, 1964; Herdorn, 1964*). Los trabajos de *Río Hortega* y de su escuela dejaron claramente establecida la existencia de la microglía como un componente normal del tejido nervioso y su movilización y transformación en una serie de células descritas con diversos nombres (*Stabchenzellen, Abräumzellen, Gitterzellen*, corpúsculos granuloadiposos, o *Körnchenzellen*) en condiciones patológicas. El que autores modernos citados más arriba pongan en duda la existencia de la microglía normal y su transformación en elementos fagocitarios descritos con diversos nombres, vuelve en cierto modo a resucitar una polémica dilucidada hace más de cuarenta años por la escuela de *Río Hortega*. Tal confusión puede ser debida al empleo exclusivo de técnicas de microscopía electrónica, ya que para cualquiera familiarizado con las técnicas de *Río Hortega* es obvia la existencia de la microglía en el sistema nervioso central, como un componente normal del mismo. Por ello *Mori y Leblond* (1969), que han estudiado la microglía combinando las técnicas de microscopía óptica y electrónica, la identifican con toda claridad, describiendo en la corteza cerebral dos tipos, «pericítica» e «intersticial». Ahora bien, sigue sin estar aclarado completamente el origen de la microglía de la corteza cerebral. *Río Hortega* supuso un origen mesodérmico hasta el punto de que en su trabajo de 1920 proponía para la misma el nombre de «mesoglia», que había sido acuñado anteriormente por *Robertson* (1900) para designar un tipo celular que posteriormente el mismo *Río Hortega* demostró que serían sus oligocitos y no las células de *Hortega*, la microglía.

Siendo de origen mesodérmico, la microglía puede derivar de las meninges, de las estructuras vasculares o del contenido sanguíneo. La relación de la microglía con los vasos cerebrales fue establecida por *Río Hortega* (1920), que describió una microglía «satélite vascular» que acompaña a los vasos formando series a lo largo de ellos y «orientada en su misma dirección, otras veces perpendicular u oblicuamente en relación con la pared vascular». La descripción de *Río Hortega* de microglía «íntimamente adosada a la pared del vaso» parece corresponder a la microglía que *Mori y Leblond* llaman «pericítica», ya que para *Río Hortega* la microglía «satélite vascular» «extiende su protoplasma en forma de láminas irregulares sobre la pared del vaso» y aparece a veces como «corpúsculos algo distanciados del

vaso, pero en relación con él por medio de prolongaciones lameliformes». Aparte de la neuroglía fibrosa perivascular se han descrito elementos celulares perivascuales que podrían estar relacionados con el origen de la microglía: los «pericitos» (Zimmerman, 1923), el «elemento intermediario» de la neuroglía perivascular descrita por Rodríguez Moya (1970) y la célula intermediaria precursora de la neuroglía de origen mesodérmico según la bizarra interpretación de Valenzuela (1970).

Algunos autores consideran que es más importante la participación de las células sanguíneas en la formación de macrófagos que los elementos derivados de la microglía, en especial en los casos de hemorragias intracerebrales (Schultz y Pease, 1959; Russel, 1962; Königsmark y Sidman, 1963). Sin embargo, el origen hematógeno de los macrófagos se deduce a veces simplemente de la situación perivascular de muchas de las células que se encuentran en lesiones del tejido nervioso (Hills, 1964).

Los estudios realizados sobre microglía de la capa I en este trabajo tratan de demostrar su existencia en condiciones normales del tejido y su origen a partir de los elementos celulares perivascuales.

#### D) Fibras nerviosas de la capa I

Todas las técnicas de estudio microscópico, tanto ópticas como electrónicas, revelan la gran riqueza fibrilar de la capa I. Prescindiendo de los penachos dendríticos de las células piramidales, los cuales contribuyen en gran proporción a formar el «plexo» que define esta capa, consideraremos las fibras nerviosas que han podido demostrarse a nivel de la misma y que clasificaremos en la forma siguiente:

##### a) Fibras intrínsecas:

1. Axones o procesos celulares somatófugos de células propias de la capa I: células de axon corto y células de Cajal.
2. Axones procedentes de neuronas corticales de las capas subyacentes: colaterales recurrentes de los axones de células piramidales, axones de las células de Martinotti y axones de células de axon corto de otras capas corticales.

##### b) Fibras extrínsecas:

1. Procedentes de otras áreas de la corteza cerebral del mismo hemisferio (fibras intrahemisféricas).
2. Fibras callosas, esto es axones de neuronas situadas en el otro hemisferio cerebral (fibras interhemisféricas).

### 3. Fibras procedentes de núcleos grises subcorticales, en especial fibras talámicas.

La sistematización de las fibras nerviosas presentes en la capa I puede intentarse sobre la base del análisis de su disposición con relación a la superficie pial y por su carácter mielínico o amielínico.

A nivel de la capa I, los primeros estudios morfológicos revelaron la existencia de una capa o banda de fibras gruesas bien estudiada por *Exner* (1881) y que algunos autores designan como «estría o banda de *Exner*». Se encuentra situada paralelamente a la superficie pial y separada de ella por el espacio que *Cajal* (1904) llama «limbo subpial» y *Jones y Powell* (1970, b) simplemente zona subpial. En el límite de la capa I con los somas de las células pequeñas piramidales de la capa II, se destaca una condensación de finas fibras también paralelas a la superficie pial, que *Kaes* (cit. *Cajal*, 1904) propuso designar con el nombre de «estría de *Bechterew*». Los autores anglosajones suelen designarla con el nombre de estría de *Kaes*, a todas luces inapropiado. La «estría de *Bechterew*» falta en los animales y es poco constante en el hombre (*Cajal*, 1904). El estudio de las fibras mielínicas que aparecen en la capa I fue ya hecho por *Cajal* mediante el método de *Weigert-Pal*. Distinguía *Cajal* dos tipos de fibras: los «conductores finos» localizados en la mitad profunda de la capa I y «continuados evidentemente con los axones ascendentes de *Martinotti*» (*Cajal*, 1904) y los «tubos gruesos tangenciales» que habían sido previamente vistos por otros autores, en especial por *Exner* (estría o banda de *Exner*). Para *Cajal* estos «tubos gruesos tangenciales» son «pertenecientes a nuestro sentir a los robustos axones de las células horizontales o especiales de la zona primera». Estos tubos gruesos habitan preferentemente en el tercio medio de la capa primera, «mostrándose larguísimos, provistos de estrangulaciones y bifurcaciones y sin tendencia alguna a descender, lo que permite distinguirlos de las ramas horizontales de los axones de *Martinotti*». «Inmediatamente por debajo de la pía hay un delgado limbo desprovisto por completo de tubos medulares ... pero no faltan arborizaciones nerviosas finales, así como penachos protoplasmáticos de piramidales ... Tales plexos submeningeos pertenecen a fibras ascendentes de *Martinotti*» (*Cajal*, 1904). *Cajal* describe también en el conejo y, sobre todo, en el ratón que de los fascículos de asociación intercortical, el haz arqueado y cingulo, proceden ramas terminales que se terminan mediante arborizaciones libres en toda la corteza y preferentemente en la zona plexiforme.

La capa I queda definida perfectamente por el borde superficial formado por la pía y profundamente por las filas de somas neuronales que forman la capa II. *Jones y Powell* (1970, b), con microscopía óptica ven dos zonas principales: el cuarto superficial de la capa I se caracteriza por gran número de dendritas cortadas transversalmente y algunos axones mielínicos, mientras que los tres cuartos restan-

tes más profundos muestran las dendritas cortadas horizontal u oblicuamente y dispuestas en líneas verticales en las que las dendritas individuales se ramifican. Las dos zonas, superficial y profunda, visibles con microscopía óptica se ven claramente a microscopía electrónica. Además se hace obvia una tercera zona consistente en la pía y un cierto número de laminillas subyacentes subpiales. Para *Jones y Powell*, inmediatamente debajo de la laminilla astrocítica existe una agregación no muy densa de axones finos con mielina de 0,5 a 1 micra de diámetro, que corren paralelos a la superficie en todas direcciones, lo que hace que se corten perpendicular y longitudinalmente en todos los cortes. Debajo de este nivel los axones mielinizados en la capa I son menos frecuentes; aparte de los axones inmediatos a la glía subpial, el cuarto superficial de la capa I contiene una masa densa de pequeñas dendritas, grandes espinas dendríticas y terminales axónicos. Entre ellas se encuentran entremezclados gran número de axones amielínicos pequeños y procesos de astroglia. *Jones y Powell* suponen a continuación de la descripción anterior que como la parte superficial de la capa I carece de neuronas, los axones deben proceder de células más profundas. Para *Cajal* los «tubos tangenciales» que habitan el tercio medio de la capa I son los axones de sus células especiales. Corresponden a los axones estudiados por *Jones y Powell* que, situados inmediatamente debajo de la glía, se distribuyen en todas direcciones y degeneran hasta distancias de unos milímetros cuando se producen lesiones en la corteza. Son fibras intrínsecas a la corteza, ya que no degeneran después de lesiones en el tálamo o en la corteza del otro hemisferio (*Jones y Powell*, 1970, d, e), pero, dicen, *su origen y terminación son desconocidos*.

Hay discrepancia entre la interpretación de *Jones y Powell* y la descripción de *Cajal*, ya que para los primeros son los pequeños axones amielínicos que forman un plexo denso en la unión de las dos partes de la capa I los que derivarían de las células horizontales de la capa I, y citan en su apoyo a *Cajal* (1911) y *Lorente de No* (1941), «si bien el número de estos axones en relación con el extremadamente escaso número de neuronas en la capa I parece excesivo, y sugiere que algunos al menos deriven de otras fuentes».

Entre las fibras intrínsecas que se encuentran en la capa I figuran los axones de las células de axon corto de la misma, células que no son consideradas por la gran mayoría de autores modernos, y los procesos o axones de las células especiales de la capa I, cuya problemática ha quedado establecida en las páginas anteriores. Fibras intrínsecas procedentes de capas subyacentes están constituidas por axones de células de axon corto al menos demostradas en la capa II, capa III y capa IV, sin que se pueda excluir la posibilidad de axones de células de axon corto de otras capas corticales. Igualmente existen colaterales de los axones de células piramidales que alcanzan la capa I, en especial las colaterales de axones de las células piramidales de la capa II.

Las fibras extrínsecas que alcanzan la capa I quedaron perfectamente definidas por los estudios de *Cajal*. Los posteriores de *Lorente de No* en la corteza cerebral del ratón confirmaron los datos de su maestro. En la literatura moderna todo lo que no se apoya en la información de *Cajal*, morfológicamente hablando, es mera especulación. Salvo las aferentes específicas tálamo-corticales descubiertas por *Cajal* que se arborizan en la capa IV y parte de la III, el resto de fibras extrínsecas aferentes terminan todas a nivel de la capa I después de haber dado colaterales para el resto de las capas corticales. Estas fibras son las de asociación intercortical, homolaterales, las interhemisféricas (fibras callosas) y el tipo de fibras procedentes de colaterales de la sustancia blanca. Este último tipo de fibras ha sido interpretado por algunos como fibras del sistema talámico difuso, pero no existen datos confirmatorios definitivos de esta suposición.

En este trabajo tratamos de sistematizar la disposición sináptica de las fibras presentes en la capa I de la corteza cerebral del gato.

#### E) **Arquitectura general de la sustancia gris cerebral**

La organización de la sustancia gris cerebral presenta una disposición muy definida, tanto desde el punto de vista de su composición elemental como estructural. Sin embargo, estamos muy lejos de conocer con precisión la organización sináptica de la corteza, a pesar de los numerosos estudios, tanto con microscopía óptica como electrónica, que han sido llevados a cabo. Entre los obstáculos para llegar a ese conocimiento hay uno, a nuestro modo de ver, conceptual: todos los esquemas de organización y de estructura cortical se basan en el planteamiento de secciones verticales del cerebro, sin hacer más énfasis en el hecho evidente de que la estructura cerebral hemos de comprenderla como una organización en volumen, tridimensional. Quizás por ello algunos aspectos de la organización horizontal o paralela a la superficie pial de la corteza cerebral no han sido sometidos a estudio detenido.

Para simplificar el estudio de la corteza cerebral puede tomarse como plano de referencia la superficie meníngea y estudiar su organización sobre la base de dos planos definidos que se cortan perpendicularmente entre sí: *el plano horizontal*, paralelo a la superficie de la corteza, y *el plano vertical*, perpendicular a ella.

La *estructura general* se organiza del mismo modo, siguiendo rígidamente ambos planos de orientación. En el isocórtex, la población neuronal se agrupa homogéneamente para dar lugar a una laminación horizontal de la corteza formada por seis estratos celulares consecutivos. Se pueden encontrar elementos ectópicos y dislocados en todo su espesor, pero este hallazgo no es frecuente. El espesor de la corteza queda determinado por estas seis capas celulares. El espesor de cada una de las láminas de estratificación no es totalmente homogé-

neo en toda el área cortical; algunas láminas, especialmente, aparecen más o menos gruesas, dependiendo del área cortical en observación. Esto ocurre en particular con las capas IV y V (de los granos y de las células piramidales gigantes). En las áreas motoras corticales, el espesor de las capas III y V es superior al que se observa en otras áreas no motoras; por el contrario, el espesor de la capa IV es muy reducido (corteza agranular). En las áreas sensitivas se encuentra muy desarrollada la capa IV (koniocórtex). Esto demuestra que la laminación horizontal, basada aparentemente sobre un criterio de homogeneidad morfológica, viene condicionada por la especificidad funcional de las diferentes neuronas que pueblan la corteza. La laminación estructural entraña pues, un principio funcional altamente específico.

La corteza cerebral representa funcionalmente el nivel de integración nerviosa más elevado del sistema nervioso. A ella llegan numerosas aferencias que informan del estado ambiental e interno, exigiendo o no una respuesta de variada naturaleza. Estas aferencias se disponen también formando bandas horizontales muy definidas en los diferentes estratos corticales. Del mismo modo, la situación especial de estas bandas fibrilares se basa en un principio derivado de la especificidad funcional de la laminación celular primera.

Por último, la corteza está organizada funcionalmente en sistemas verticales constituidos por columnas o paredes que se extienden desde la superficie pial a la sustancia blanca, como han demostrado *Mountcastle* (1957) y *Hubel y Wiesel* (1962 y 1968), en algunas áreas corticales y en algunos mamíferos. Son, pues, lengüetas de tejido cortical orientadas verticalmente y funcionando como unidades individuales. Están compuestas por el encadenamiento de neuronas del tipo I y II de Golgi, actuando estas últimas como neuronas «intercaladas» (*Von Monakow*), «internunciales» (*Lorente de No*) o siguiendo la nomenclatura más usada, «interneuronas». En el concepto de *Lorente de No*, las interneuronas se dispondrían completando un círculo de tipo abierto que enlazaría aferencias y células efectoras. Estos sistemas columnares presentarían un grado mayor o menor de superposición horizontal, como consecuencia de la superposición tangencial existente en el sustrato morfológico. De este modo las «columnas» han de considerarse con un concepto funcional menos restringido que el puramente morfológico, convirtiéndose en bandas verticales. La amplitud horizontal de dichas bandas vendría definida por el área de cobertura funcional de las interneuronas integradas en cada columna.

Un análisis detallado de los elementos celulares presentes en la corteza cerebral, basado en las descripciones de *Cajal* (1904), que no han sido posteriormente mejoradas, nos permite diferenciar dentro de los mismos células orientadas, tanto por sus dendritas como por las proyecciones de su cilindroeje en sentido VERTICAL; otras en sentido HORIZONTAL, y, finalmente, otro grupo celular con dendritas y axon pluridireccional.

El grupo celular orientado verticalmente está formado por las células piramidales de las seis capas corticales, incluidas las fusiformes de la capa VI y las células bipenachadas presentes en las capas II, III, IV y V. Es de señalar que los axones de estas células bipenachadas presentan claros cestos pericelulares destinados con toda probabilidad a los cuerpos de las células piramidales.

Con una clara orientación de sus procesos celulares o axon en sentido paralelo a la superficie pial encontramos únicamente las células de *Cajal* de la capa I y el axon de las células estrelladas provisto de cestas pericelulares destinadas igualmente a los cuerpos de las pirámides, células descubiertas por *Cajal* y que han sido objeto de un reciente estudio por *Marín Padilla* (1970, *b*).

La mayor parte de células de axon corto de la corteza cerebral no comprendidas en los dos grupos anteriores poseen un axon pluridireccional. Si bien hay elementos con axon preponderadamente vertical u horizontal, siempre dan ramas en las otras direcciones.

Actualmente no es mucho lo que podemos establecer acerca de la sinaptología de la corteza cerebral si no se hace sobre una base en gran parte especulativa. De los datos morfológicos anteriormente mencionados puede deducirse que las células bipenachadas por su disposición especial contribuirán en forma decisiva a la organización en columnas «verticales» de la corteza cerebral, si bien no puede ser precisado si su papel será meramente inhibitorio, suponiendo como tales a las sinapsis axo-somáticas sobre las células piramidales, o si además pueden poseer sinapsis excitadoras sobre las grandes dendritas de las mismas células. Es interesante la disposición de las células de axon corto provistas de cestas pericelulares, que fueron descritas por *Cajal*, y a las que *Marín-Padilla* supone una acción inhibitoria. Dichas células podrían estar imbricadas en circuitos de asociación transversal en dos formas, bien a través de un circuito de inhibición retrógrada del tipo descrito por vez primera por *Renshaw* en la médula espinal, o bien en forma análoga a las células en cesta del cerebelo con arreglo al esquema dibujado por *Cajal* (1904, pág. 446, figura 448), y que constituye quizá el primer circuito biológico descrito sobre la base de conceptos que cristalizaron con el nombre de «cibernética» en la obra de *Norbert Wiener*.

El intentar establecer circuitos sobre la base de la disposición de las células de axon corto, de axon pluridireccional, no nos llevaría más allá de la genial concepción de *Lorente de No* (1941), en la que se apoyan todos los esquemas estructurales que han sido considerados con posterioridad. *Lorente de No* se basó para el establecimiento de dichos circuitos en sus estudios funcionales y morfológicos sobre el análisis de los reflejos tónicos oculares de origen laberíntico (*Lorente de No*, 1939), y llegó a la conclusión de la existencia generalizada en el sistema nervioso de dos tipos de circuitos establecidos a través de la operación de las neuronas de axon corto: el circuito ce-

rrado y el múltiple. Sobre este concepto diseñó los esquemas anteriormente mencionados.

## **MATERIAL Y METODOS**

### **A) Animales empleados**

En la realización de este estudio se han empleado los siguientes animales:

- 1) *Ratones*: Del tipo común existentes en los laboratorios, de cinco días de vida postnatal.
- 2) *Conejos*: Del tipo común. En período neonatal, comprendiendo animales de seis a veinticuatro días de vida extrauterina, y período plenamente adulto.
- 3) *Perros*: Recién nacidos, a las veinticuatro horas del nacimiento, y adultos.
- 4) *Gatos*: Este animal ha sido el utilizado con más frecuencia. La corteza del gato ha sido tratada con todas las técnicas que a continuación se describen, tanto para microscopía óptica como electrónica. Las edades de los animales estudiados comprenden los siguientes períodos de su ciclo vital:
  - a) Período neonatal: de cuatro a quince días de vida extrauterina.
  - b) Período de plena madurez del animal. El peso de los animales adultos osciló entre 2.000 y 3.500 gramos.

### **B) Obtención del tejido**

#### **1. Anestesia**

Para la obtención del tejido mediante manipulaciones quirúrgicas, se anestesiaba previamente al animal según dos métodos. En los animales recién nacidos o de corta vida extrauterina (hasta siete días de edad) se procedía a su anestesia, sometiéndoles durante el tiempo exigido a respiración de éter en campana cerrada. Los animales de más edad fueron fácilmente anestesiados con Pentobarbital sódico intraperitoneal en dosis de 30 mg/kg. de peso corporal. La dosis total del anestésico era generalmente diluida en un volumen doble de solución de ClNa al 0,9 por 100. Los ratones utilizados de cinco días de vida extrauterina fueron muertos por decapitación rápida.

#### **2. Procedimiento quirúrgico**

En los animales de corta edad se procedía con toda rapidez a la fijación de los mismos en decúbito prono sobre una placa de corcho.

Se abría inmediatamente la piel y se dejaba la superficie craneal al descubierto; seguidamente se levantaba la calota craneal con ayuda simplemente de unas tijeras fuertes (animales muy jóvenes), y se exponía la mayor parte de la superficie cerebral, excindiendo y repliegando la dura-madre para dejar libre la superficie cerebral. En todos los casos se evitó dañar la finísima membrana pial como base de protección de la capa I de la sustancia gris cortical. En los animales adultos el método general fue el mismo, excepción hecha del mantenimiento de respiración artificial. Para ello, una vez anestesiado el animal, y fijo a una mesa Palmer, se procedía a la traqueotomía, canulación de la tráquea y conexión a una bomba de respiración artificial del tipo Palmer. Previa eliminación por resección de los músculos que recubren el cráneo, se procede a la apertura del mismo con ayuda de una broca a nivel de uno de los parietales; a continuación son resecados los huesos de la calota craneal mediante una pinza gubia. Una vez expuesta la superficie cerebral se procedía a la extracción del tejido de las áreas seleccionadas. Para microscopía óptica un cubo de tejido de 1/2 cm. de lado, aproximadamente, era sumergido en el fijador correspondiente. Para microscopía electrónica una pieza cúbica de 1 mm. de lado era sumergida en el fijador adecuado.

En el gato las áreas seleccionadas fueron, según la nomenclatura de *Thompson* y cols. (1963): el área anterolateral de asociación (A L A), el área somático-sensorial primaria SI y las áreas visuales primarias VI y VII (lámina I, fig. 1). En los demás animales el tejido fue extraído de la corteza parietal y parieto-occipital. El tratamiento de las piezas así obtenidas variaba según la técnica empleada.

### C) Técnicas utilizadas para microscopía óptica

#### 1. Método de Nissl

Previa fijación de las piezas en alcohol y posterior inclusión en celoidina según los métodos rutinarios, la pieza se orientaba convenientemente y seccionaba según el plano vertical en cortes de 10 micras de espesor. Para la coloración de los cortes se utilizó Tionina o Azul de Toluidina en soluciones acuosas al 1 por 100, diferenciando en alcohol o en el líquido de Gothard.

#### 2. Coloración vital con azul de metileno

El método original de *Ehrlich* de coloración de neuronas y fibras nerviosas mediante el azul de metileno ha dado resultados contradictorios en manos de diversos investigadores, habiéndose imaginado gran número de modificaciones del mismo con objeto de obtener tinciones constantes y completas. Nosotros hemos obtenido los mejores resultados mediante la inyección subpial en animales vivos anestesiados de azul de metileno al 1 por 100 en solución salina (0,9 por 100). La preparación del animal era la habitual; para evitar hemorragias

se ligaban previamente las dos carótidas, quedando la circulación asegurada por las arterias vertebrales. Con ayuda de una jeringuilla de 1 cc. y una aguja muy fina, de inyección intradérmica, se inyecta lentamente la solución de azul de metileno por debajo de la pía. El mejor procedimiento para efectuar la inyección es la perforación de la pía en la zona correspondiente a uno de los surcos cerebrales. Si la inyección se ha hecho cuidadosamente, se observa cómo el azul de metileno se distribuye subpialmente por toda la superficie cortical. Al cabo de unos quince minutos, con un par de pinzas finas de relojero se rompe y despega la membrana pial, dejando la superficie de la corteza en contacto directo con el aire. Cada dos minutos aproximadamente se irriga esta superficie con la solución de azul de metileno, teniendo buen cuidado de evitar la desecación de la corteza. El tiempo que tardan en teñirse las neuronas de la capa I puede controlarse directamente «in situ» con ayuda de una lupa binocular. Este tiempo oscila entre media y una hora, contando a partir del momento de la inyección subpial. Cuando se observan signos de coloración se procede al sacrificio del animal y extracción del cerebro, pudiendo a continuación pasar a la observación directa de cortes finos de tejido montados con glicerina y cubre.

Si se quieren obtener preparaciones duraderas se procede a la fijación de las piezas (una-dos horas) en la siguiente solución: molibdato amónico al 10 por 100, 5 ml.; ácido acético al 50 por 100, 2 ml.; formol comercial, 50 ml. La duración de la fijación es de una a dos horas.

A continuación se procede a la deshidratación del tejido en alcohol absoluto y a su inclusión en parafina según la técnica habitual. La sección de los bloques en cortes de 10 micras de espesor se ha realizado siguiendo los dos planos fundamentales de orientación cortical: 1) perpendicular a la superficie cerebral; 2) tangencial a la misma. La técnica de la inyección subpial nos ha dado resultados donde había fallado la inyección intracarotídea o la simple impregnación postmortem en estufa a 37° C. El producto utilizado ha sido el azul de metileno *Grübler, Leipzig*, existente en el laboratorio de tiempo antiguo. Los azules modernos suelen dar coloraciones más defectuosas.

### 3. *Método de Cajal del nitrato de plata reducido (Modificación de De Castro)*

En ratones de cinco días hemos utilizado este método para el estudio de la cabeza completa en cortes seriados según los tres planos de orientación: sagital, horizontal y frontal. El método empleado combina uno de los numerosos métodos de Cajal con la modificación introducida por *De Castro*, consistente en fijación previa y descalcificación.

#### 4. *Método de Golgi*

Hemos utilizado el método original o rápido de *Golgi*, y como modificación secundaria el de la doble e incluso triple impregnación.

#### 5. *Método de Gallego para la retina entera*

Este método de impregnación argéntica de la retina entera es una modificación de *Gallego* (1953) de la tinción de Gros.

### D) **Técnicas utilizadas para microscopía electrónica**

La preparación de las piezas para microscopía electrónica variaba según se tratara de un animal joven o de uno adulto. La corteza cerebral del gato, el animal que ha sido objeto más frecuentemente utilizado, presenta una fijación buena y homogénea, si en el animal adulto se utiliza como fijador primario el tetróxido de osmio. Sin embargo, en el animal de corta edad los resultados son mejores cuando las piezas son fijadas con glutaraldehído y sometidas a un endurecimiento posterior en solución de osmio.

#### 1. *Fijación con $O_4O_8$*

Las piezas de tejido eran extraídas según la técnica descrita, e inmediatamente inmersas en solución de tetróxido de osmio al 2 por 100 en tampón fosfato 0,1 M a pH 7,4. La solución se mantenía en la oscuridad y a temperatura de 4° C. Al ser el osmio lento en su penetración, y siendo necesaria una rápida fijación, se procuraban obtener piezas de volumen mínimo. Los frascos conteniendo las piezas se conservaban en nevera rodeados de hielo fundente durante treinta minutos. A continuación, las piezas se tallaban en una gota de la solución de osmio, y con ayuda de una lupa binocular eran reducidos a dimensiones adecuadas. Las piezas talladas se colocaban en nueva solución fijadora de osmio. Se mantenían a 4° C en la oscuridad por un período de hora y media de tiempo. Previo lavado breve en agua destilada, el tejido se pasaba a una solución acuosa de Acetato de Uranilo (*Merck*) al 2 por 100, donde permanecían las piezas durante dos horas a temperatura ambiente. Posteriormente se procedía a la deshidratación en alcoholes y finalmente se procedía a la inclusión en Epon (*Luft*, 1961).

#### 2. *Fijación con glutaraldehído*

La solución fijadora era glutaraldehído al 3 por 100 en tampón fosfato 0,1 M (pH 7,4), manteniéndose las piezas en nevera durante treinta minutos. Transcurrido este tiempo, se talló el tejido en una gota de la solución fijadora con ayuda de lupa binocular, permaneciendo éstas en una nueva solución del mismo fijador, y a la misma temperatura de 4° C durante un período de tiempo de hora y media. Previo lavado en tampón fosfato con sacarosa durante cinco

minutos, las piezas permanecían durante dos horas en la solución de tetróxido de osmio al 2 por 100 en tampón fosfato 0,1 M a pH 7,4 a 4° C. A continuación se lavaban las piezas ligeramente con agua destilada, y se procedía a la inclusión en Epon. Los cortes ultrafinos fueron hechos con un ultramicrotomo automático Porter-Blum MT-2. Las navajas empleadas de vidrio L. K. B. El vidrio para la fabricación de las navajas fue cortado en un aparato apropiado al efecto L. K. B.

La coloración posterior se hacía colocando las rejillas con los cortes sobre gotas de solución acuosa de Acetato de Uranilo al 2 por 100 y a continuación se teñían con el plomo de *Reynolds* (1963) según el método de *Pease* (1964).

En todos los casos han sido obtenidos cortes control de una micra de espesor, durante la sección del bloque. Se hacían en el ultramicrotomo con navaja de vidrio y se montaban en bálsamo y con cubre para su estudio. No fueron teñidos por no considerarlo necesario. Los cortes de un mismo bloque se hacían previamente a la sección ultrafina, durante ella y al finalizar la misma. Fueron estudiados con microscopía de contraste de fase.

El tetróxido de osmio empleado fue adquirido a la firma *Merck* (Estados Unidos y Alemania). Ambos dieron excelentes resultados. También utilizamos osmio adquirido a la firma *Mallinkrodt* (Estados Unidos) y el glutaraldehído de la casa *Fluka*. Los cortes ultrafinos fueron analizados en un microscopio Philips EM-200. En microscopía óptica fue utilizado un microscopio Zeiss Ultraphot II y un equipo Tessovar Zeiss.

## RESULTADOS

### I. CELULAS DE CAJAL: DEMOSTRACION DE SU EXISTENCIA EN LA CORTEZA CEREBRAL DE ANIMALES ADULTOS

Dadas las dudas existentes sobre la presencia de células nerviosas en la capa I de la corteza cerebral de los animales adultos (véase Introducción), nuestros esfuerzos han ido encaminados al establecimiento definitivo de cuál es la población neuronal, si ésta existe, en dicha capa cortical.

#### A) Metodología adecuada

Los métodos de impregnación argéntica, y en especial el método de *Golgi* en todas sus variantes, constituyen la técnica de elección para el estudio con microscopía óptica de la estructura y disposición arquitectónica de las células nerviosas; si bien, teniendo algunos inconvenientes, se excluye su uso en determinadas ocasiones. Se

caracteriza el método de *Golgi* por demostrar únicamente elementos aislados en número muy inferior al que realmente existe. Es precisamente esta característica la que confiere valor extraordinario a esta técnica histológica. Ahora bien, el inconveniente surge cuando se trata de estudiar células nerviosas cuantitativamente escasas. Por ello, una vez agotadas las posibilidades de trabajo empleando la técnica de *Golgi*, hemos recurrido a un método abandonado por la mayoría de los autores modernos que estudian actualmente la corteza cerebral. La clásica técnica de coloración vital con el azul de metileno introduciendo algunas variantes (véase *Material y métodos*). Con la técnica de inyección subpial hemos obtenido resultados absolutamente constantes en la demostración de los elementos celulares nerviosos en la capa I de la corteza cerebral.

#### **B) Presencia de células nerviosas en la capa I cortical del animal adulto**

Utilizando este método de coloración, hemos podido demostrar de forma evidente algunos hechos que constituyen el punto de arranque de nuestros estudios posteriores: 1) Existencia de elementos nerviosos en la capa I de la corteza cerebral de los animales adultos. 2) Población neuronal cualitativamente diferente. 3) Población neuronal cuantitativamente diferente, según la topografía cortical estudiada. 4) Las células nerviosas de la capa I del animal adulto no presentan rasgos diferenciales manifiestos con las del animal joven.

En el gato adulto, una vez sacrificado el animal, con el cerebro «in situ», separando cuidadosamente la pía y con la ayuda de una lupa binocular se observan claramente las células de la capa I o molecular, que, fotografiadas a muy pequeños aumentos con el equipo *Tessovar Zeiss*, aparecen en la lámina II, fig. 2. Las células pueden ser observadas a mayores aumentos montando cortes de tejido relativamente gruesos con glicerina (lámina II, fig. 3).

Para un estudio más detallado de dichas células es necesario recurrir a su observación con mayores aumentos (lámina III). Las células de *Cajal* presentan dendritas gruesas, que recorren un trayecto más o menos largo antes de ramificarse; son de tamaño grande y la morfología de su soma es fácilmente clasificable en poligonal, bipolar o piriforme (véase más adelante). Hecho fundamental es el que no hayamos podido identificar en ninguna de ellas entre la enorme cantidad estudiadas y fotografiadas ninguna prolongación con características de cilindroeje. El número de células de *Cajal* halladas en la capa I es pequeño, pero significativo. (Ver más adelante: DISTRIBUCION REGIONAL DE LAS CELULAS DE CAJAL EN LA CORTEZA CEREBRAL DEL GATO ADULTO).

En todo caso hay que señalar que no existe posibilidad de confusión con elementos nerviosos situados en láminas corticales más

profundas: células piramidales o de axon corto de capas inferiores. En los cortes perpendiculares a la superficie cerebral se comprueba cómo el azul de metileno no es tomado más que por los elementos ubicados en el espesor de la primera capa cortical, no llegando a teñirse las células de la capa II (láminas IV y IV bis).

Mediante esta técnica hemos logrado también demostrar que no existen diferencias morfológicas entre las células de *Cajal* existentes en la corteza de animales jóvenes, un mes de edad, y las halladas en el cerebro de animales adultos (compárese láminas III y V). Ello es de interés, ya que otros autores (*Lorente de No*, 1922; *Conel*, 1947 y 1951; *Noback y Purpura*, 1961; *Purpura y cols.*, 1964; *Astrom*, 1967, y *Duckett y Pearse*, 1968), suponen que si bien las demostraciones de los clásicos (*Cajal*, *Reitzius* y *Veratti*) son indiscutibles en los animales jóvenes, la dificultad para demostrarlas en los adultos es indicio de que dichas células evolucionan en el curso de la ontogénesis hacia otras formas celulares o simplemente se reabsorben.

Esta técnica ofrece unas posibilidades de trabajo futuro muy interesantes: ya hemos visto que con el cerebro bajo una lupa binocular aparecen las células de la capa molecular (fig. 2) claramente teñidas. Su fácil demostración en esta forma y por un colorante no tóxico para las células nerviosas (*Lorente de No*, 1953) permitiría el trabajo con microelectrodos bajo control visual directo. Consideramos esta posibilidad de gran importancia en técnica neurofisiológica, ya que, como es sabido, la identificación celular de las respuestas electrofisiológicas obtenidas con microelectrodos en el sistema nervioso central de los mamíferos, ha de hacerse «a posteriori», por inyección de colorantes diversos (el más idóneo parece ser el «proción yellow» *Kaneko*, 1969, 1970), buscando en cortes seriados la célula que ha sido teñida.

## II. RESULTADOS CON MICROSCOPIA OPTICA

### A) Estudios en el gato: capa molecular

Partiendo de la demostración de las células de *Cajal* en el gato adulto y en el joven (1 mes de edad) mediante tinción con azul de metileno, el objetivo siguiente ha sido el de conocer la morfología general de dichas células, su enclave topográfico en la capa cortical primera y su posible evolución durante el período de ontogénesis postnatal temprana. Para ello hemos utilizado las diferentes técnicas ya descritas (ver *Material y métodos*) en gatos de muy diversas edades. El período postnatal estudiado incluye gatos desde los cinco días de vida hasta animales de dos meses de edad y gatos adultos. La técnica de *Golgi* para estudios con microscopía óptica ha sido la más frecuentemente empleada.

### 1. Gato de cinco días

El más joven de los animales estudiados ha sido el gato de cinco días. En él las células de *Cajal* aparecen con morfología muy definida. Se hallan por lo general en el tercio más externo de la capa molecular, inmediatamente por debajo de la superficie pial. En los cortes perpendiculares a la superficie cerebral se observan cómo las clásicas descritas por *Cajal* en el niño recién nacido (1899, 1900 y 1901) y sistematizadas por él dentro del grupo evolutivo que constituye la «forma fetal» de estas células. Su soma es voluminoso, de forma piriforme o bipolar; en este último caso, la forma del cuerpo celular limita una figura más o menos poligonal (lámina VI, fig. 27). De los polos celulares parten sendas prolongaciones gruesas que se extienden paralelamente a la superficie cortical en todo su trayecto. El aspecto morfológico de las prolongaciones es idéntico entre sí y en los casos en que el precipitado argéntico no oculta la zona subpial, las prolongaciones pueden ser seguidas durante todo su recorrido, que puede ser incluso de 400 micras. Uno de los caracteres que confiere aspecto fetal a dichas células es la existencia de ramas finas ascendentes hacia la pía que parten en ángulo recto de las prolongaciones polares. *Cajal* las considera disposiciones embrionarias destinadas a desaparecer en el curso de la maduración cortical. En el grupo evolutivo de «forma adulta» en el niño de uno o dos meses de edad no observa ya estas ramificaciones ascendentes. El soma celular a esta edad no aparece finamente delimitado, sino que presenta límites irregulares. Las dendritas, aparte de gruesas, presentan en toda su longitud límites irregulares, lo que las confiere su aspecto varicoso, pero no poseen espinas.

En cortes tangenciales aparece con más frecuencia el tipo celular triangular hallado en el tercio externo o medio de la capa I; de sus vértices se originan las respectivas prolongaciones que se orientan de igual modo en planos paralelos a la superficie cortical; son largas, originadas en procesos celulares muy gruesos y presentan el mismo aspecto irregular o varicoso; generalmente recorren largos trayectos. En la figura 28 se muestra una célula de este tipo con una de sus prolongaciones ramificada a poca distancia de su origen somático.

Las pirámides externas de la capa II se observan en proceso de maduración hacia la forma adulta definitiva. Las dendritas basales son cortas y poco desarrolladas, y la apical presenta un pequeñísimo número de espinas dendríticas (fig. 29). El tallo protoplasmático dirigido hacia la superficie pial no presenta apenas ramificaciones más que en su porción final externa.

En este estadio evolutivo, las células de *Cajal* son tan evidentes que se hace innecesaria su diferenciación con las células de axon corto que se hallan en la misma lámina cortical.

## 2. Gato de 9, 10, 11 y 12 días

En los animales estudiados las tinciones con el método de *Golgi* han dado resultados positivos, en el sentido de que han aparecido cuerpos celulares de distinto tipo en la capa I o molecular, pudiéndose así establecer los caracteres diferenciales entre ellos.

a) *Células de Cajal*.—A estas edades aparecen teñidas con relativa frecuencia. En los cortes perpendiculares a la superficie cortical puede estudiarse preferentemente el nivel de situación dentro de la capa I y la morfología general de la célula. Sin embargo, las prolongaciones a que dan origen raramente pueden ser seguidas en todo su trayecto. Los cortes tangenciales a la superficie son, por el contrario, óptimos para la visualización de las largas prolongaciones celulares. La explicación es lógica y sencilla, si pensamos en que el corte perpendicular, aunque perfectamente orientado con respecto de la superficie cortical (aparición de las células piramidales en una misma imagen) incluye solamente las prolongaciones celulares que se extienden en el espesor de un corte de 60-80 micras. En los cortes tangenciales el área visualizada corresponde totalmente a la capa I, siendo el campo más amplio las prolongaciones que se disponen en un mismo nivel intralaminar aparecen larguísimas y en todo su recorrido (Lámina XIV, fig. 69).

La forma del cuerpo celular marca definitivamente tres tipos celulares, corroborando la clasificación de *Cajal*: piriformes, bipolares y triangulares.

El tipo más frecuentemente hallado es el bipolar (figs. 33, 35, 37 y 39 en el gato de nueve días en un plano perpendicular). El tipo piriforme le sigue en frecuencia (fig. 30 en el gato de diez días y figs. 34 y 36 en el de nueve días, todas en cortes perpendiculares). Con el método *Golgi* se observan menos veces las células de forma triangular o difusamente poligonales: de todas formas, el hecho de que el soma celular dé origen a más de dos prolongaciones (generalmente tres) es el factor más importante en la diferenciación de este último tipo (fig. 31 en el gato de diez días en corte tangencial, figura 40, en el de nueve días en corte perpendicular y figura 69 en el de doce días, corte tangencial).

*La situación intralaminar* de los diferentes tipos celulares parece ser particularmente específica para las células piriformes. Estas suelen hallarse casi exclusivamente en la zona inmediatamente subpial, a veces incluso entremezcladas con las células gliales que limitan la superficie de la corteza. *Cajal* las denominaba células especiales «marginales». Las triangulares y bipolares aparecen con más frecuencia situadas en el tercio medio de la capa molecular. Las halladas en el tercio profundo, a nivel del límite de demarcación con la capa II, son siempre bipolares o triangulares y no piriformes. Hay que señalar que en los animales de edad comprendida entre los nueve y

los doce días, las células de *Cajal* ocupan con más frecuencia los niveles laminares altos, tercio externo y medio de la capa I.

*La orientación* de las células de *Cajal* con respecto a la superficie cortical suele ser netamente paralela a la misma. Cuando se trata de células del tipo piriforme, su estudio en cortes perpendiculares revela su orientación claramente definida, con el eje polar dispuesto perpendicularmente a la superficie cortical, mientras que las prolongaciones a que dan lugar toman dirección horizontal a la misma. Las células del tipo bipolar disponen su eje mayor en planos horizontales a la superficie cortical o ligeramente oblicuo a la misma.

*Las prolongaciones* a que dan origen estas células parten en un principio de procesos celulares gruesos. En las piriformes, la prolongación única está representada por un grueso proceso celular que provoca la aparición de una célula de límites somáticos muy imprecisos. Este tallo polar puede presentar una longitud de hasta 10 micras, lo cual hace imposible la medida del soma celular en uno de sus ejes. Finalmente la gruesa prolongación polar se resuelve en dos prolongaciones menos gruesas que tienden a horizontalizarse ascendiendo o descendiendo (figs. 30, 34 y 36). El tipo bipolar da origen a dos tallos polares de calibre considerable, los cuales durante su recorrido se ramifican sucesivamente (fig. 33) o se dividen en dos o tres ramas en un mismo punto de su trayecto (figs. 35, 37 y 39). La bipolaridad celular se observa claramente en los cortes tangenciales. Las células triangulares o poligonales originan varias prolongaciones (en número mayor de dos) que parten de gruesos procesos celulares, los cuales determinan la forma de la célula. En los cortes perpendiculares a la superficie cortical puede observarse que mientras dos de las prolongaciones siguen un recorrido paralelo a la superficie existe una tercera que desciende hacia las profundidades de la capa I (fig. 38), lo cual hace pensar que alguna de las células que aparecen del tipo bipolar en cortes tangenciales podrían tener una configuración más o menos triangular si hubieran sido estudiadas en planos perpendiculares a la superficie del cerebro. El proceso celular que da origen a las ramificaciones es de grueso calibre, adelgazándose progresivamente en dirección distal al soma celular; este hecho provoca la falta de demarcación clara de los límites celulares. El recorrido más o menos largo de estos procesos celulares en forma individualizada presenta la mayoría de las veces límites irregulares, varicosos y accidentados a veces por pequeñísimas excrescencias. Las ramas en las que se resuelven suelen ser generalmente en número de dos a tres. Estas ramas de calibre menos grueso tienen poca tendencia a dividirse, y desde luego nunca se arborizan profusamente, como ocurre con las prolongaciones de las células de axon corto. De todas formas, durante su recorrido emiten alguna que otra ramita terminal fina y corta. El contorno de las prolongaciones sigue siendo irregular y varicoso, no poseyendo espinas propiamente dichas.

La característica fundamental que presentan las prolongaciones

de las células de *Cajal* es la similitud morfológica entre sí. En las células estudiadas de los animales de estas edades no hemos podido encontrar ninguna prolongación que se diferenciara morfológicamente de las demás. Todas las prolongaciones de una misma célula son idénticas. La imposibilidad de demostrar en ellas una prolongación diferenciable en cilindroeje nos indujo al estudio intensivo en cortes seriados de estas células, y en diferentes proyecciones. El resultado ha sido siempre negativo, no hallando nunca el axon correspondiente a la célula estudiada. En la figura 40 presentamos el dibujo obtenido del estudio de la célula de la figura 38. Las prolongaciones son exactas entre sí; algunas de ellas han sido seguidas hasta el punto terminal, mientras que otras terminaban bruscamente (barras en la figura), apareciendo como cortadas o con la tinción interrumpida.

En los casos en que la célula es bipolar y de disposición claramente paralela a la superficie cortical vemos siempre que las prolongaciones polares recorren largos trayectos en planos paralelos a aquélla, pudiendo originar en su recorrido algunas ramas con tendencia ascendente o descendente (visibles en los cortes perpendiculares) y otras pequeñas ramas que se disponen en el mismo plano horizontal (visibles en los cortes tangenciales). Es interesante el hecho observado de que algunas de las células triangulares o poligonales emitan desde su soma una prolongación que desciende en profundidad por la capa I sin traspasarla. Las células bipolares de disposición más o menos oblicua a la superficie de la corteza presentan, como ya hemos dicho, dos gruesos tallos polares que se ramifican poco profusamente, formando dos complejos de expansiones celulares, uno dirigido hacia la superficie pial, llegando a las cercanías de la misma, y otro hacia las profundidades de la capa molecular, no traspasando sus límites. En el caso de las piriformes, su único tallo polar se resuelve en un complejo de expansiones ascendente o descendente, según la orientación del soma. Cuando son ascendentes alcanzan la superficie cortical, ya que su soma suele situarse inmediatamente por debajo de la misma.

La longitud de las prolongaciones es grande. En los casos en que sus prolongaciones han podido seguirse en todo su recorrido hemos encontrado longitudes de hasta 550 micras. Por término medio, las prolongaciones más largas son de 300 a 350 micras, existiendo algunas de longitud mediana comprendida entre 60 y 100 micras, sobre todo en las piriformes. En cuanto al tamaño del soma celular, haciendo abstracción de la falta de delimitación neta del mismo, hemos constatado que son células voluminosas en general, presentando un eje mayor que oscila entre 18 y 25 micras y un eje menor entre 10 y 15 micras. Las más voluminosas han sido halladas en la corteza cerebral del gato de cinco días, siendo en este caso también donde los límites celulares aparecen más difusos.

b) *Células de axon corto*.—Las células de axon corto de la capa molecular en la corteza cerebral fueron descubiertas y descritas ex-

haustivamente por *Cajal* (1897) en el conejo y en la rata. En la capa molecular cortical de estos animales, *Cajal* señala la relativa abundancia en células de axon corto que clasifica en varios tipos según su tamaño, disposición de las prolongaciones dendríticas y arborización axónica (gruesas, medianas, diminutas, neurogliformes, etc.).

Nosotros las hemos estudiado en la corteza cerebral del gato de nueve días con objeto de establecer claramente las diferencias con las células de *Cajal* y, por lo tanto, la autenticidad de éstas como grupo individual. El soma de las células de axon corto suele ser redondeado u ovoideo. A veces se encuentran somas más o menos fusiformes o poligonales. El tamaño del soma celular es por lo general más pequeño que el de las células de *Cajal*, de contornos netos. Los diámetros del soma oscilan entre 15 y 7 micras para las células pequeñas y 18 a 10 micras para las grandes (figs. 41, 43, 44, 45).

Las células de axon corto de la capa molecular se sitúan de preferencia en las profundidades de la misma a unas 150-175 micras de distancia a la superficie cortical. En la porción más externa de esta lámina sólo hemos hallado células de axon corto del tipo denominado neurogliforme por *Cajal*. Quizá a ello se deba el escaso número de células de axon corto que aparecen teñidas por azul de metileno en inyección subpial. El aspecto estrellado de estas células nos impide establecer cualquier sistemática en su orientación intralaminar. Únicamente las células fusiformes aparecen con su eje mayor dispuesto perpendicularmente a la superficie de la corteza (figura 45). Las prolongaciones de las células de axon corto arrancan del soma en forma definida e individualizada desde sus comienzos. La existencia de gruesos procesos celulares en las células de *Cajal*, dando origen a las prolongaciones, es una característica diferencial de las mismas.

Las células con forma somática en huso dan lugar a dos complejos dendríticos polares que se distribuyen en ambos extremos celulares; son, pues, estas células de aspecto bipenachado, como ya observara *Cajal* desde sus primeros estudios (fig. 45). En los casos de células redondeadas u ovals la distribución del aparato dendrítico es radial al soma, confiriéndolas su aspecto «stellate», que las define en la literatura anglosajona (figs. 43 y 44). Las del tipo neurogliforme presentan un aparato dendrítico profuso más o menos arborizado en las cercanías del soma celular. En todos los casos, el número de prolongaciones que componen el complejo dendrítico de estas células es variable, pero elevado, oscilando entre un número de 4 a 8.

El axon se puede identificar en algunos casos. El recorrido y la dirección del cilindroeje es variable. Cuando se trata de células bipenachadas suele tener su origen en uno de los polos celulares con dirección ascendente o descendente. En el caso de las redondas u ovals puede llevar una dirección oblicua o paralela a la superficie

cortical. El cilindroeje nace del soma celular, pero con relativa frecuencia puede originarse en los comienzos de alguna de las dendritas.

c) *Células de la capa II.*—En la capa II encontramos dos tipos de cuerpos neuronales: células piramidales externas o pequeñas y células de axon corto.

En el gato de nueve días, las células piramidales externas se hallan en un estadio evolutivo intermedio (fig. 46). Las dendritas basales están más desarrolladas que en el gato de cinco días, y las apicales más ramificadas, apareciendo un mayor número de espinas en las mismas. Se hallan a 175-225 micras de profundidad y su identificación no ofrece ninguna dificultad, siendo el tamaño aproximado de su soma de  $26 \times 20$  micras. Las células de axon corto de la capa II relativamente abundantes se hallan representadas en todos sus tipos. Aparecen con similares características a las de la capa I; el tipo que se encuentra con más frecuencia es el que tiende a la elongación de su soma con dos tallos protoplasmáticos polares, es decir, el tipo de células bipenachadas (fig. 41); la elongación de estas células y sus ramificaciones dendríticas sigue el eje perpendicular a la superficie cortical, pudiendo su axon dirigirse hacia la misma o, por el contrario, hacia las profundidades de la sustancia gris de la corteza. Por último encontramos en la capa II o de las pirámides externas un tipo de células de axon corto especial, cuyo soma y dendritas recuerda por su forma, apariencia espinosa y número y disposición de las últimas, a las células piramidales, pero que, sin embargo, su axon se dirige definitivamente hacia la superficie cortical ramificándose terminalmente en la capa I; nos referimos a la célula de *Martinotti* (fig. 42).

Dada la inconstancia del método de *Golgi* para la tinción completa del tejido nervioso, hemos utilizado la coloración de *Nissl* en el gato de once días con objeto de visualizar todos los cuerpos celulares presentes en la capa I.

Con esta técnica se observan claramente los núcleos de las células de neuroglía y de las neuronas propias de esta capa. El número de células de *Cajal* existentes por unidad de superficie (recuento sencillo con este tipo de técnica) no lo presentamos en este caso, por haberse hecho un estudio más completo del número y distribución de estas células coloreadas con azul de metileno (ver más adelante). Los resultados obtenidos en el animal de once días en cuanto a forma, tamaño, situación y orientación de las células de *Cajal* de la capa I concuerdan en forma absoluta con los resultados obtenidos con la técnica de *Golgi* (lámina IX). La capa molecular de la corteza cerebral presenta a esta edad un espesor medio de 150-200 micras. Su límite inferior queda claramente definido por la línea determinada por las células piramidales externas en compacta agrupación. Mientras que el límite superior lo constituyen las células gliales que componen la «*limitans gliae*», por encima de las cuales

puede observarse la membrana pial. Los cuerpos celulares presentes en la capa molecular son en gran proporción núcleos de glía entre los que se diferencian de modo disperso células grandes y medianas de forma definida que corresponden a las células de *Cajal* y de axon corto. El soma de estas células se hace visible por la aparición en él de la «sustancia tigroide» o «grumos de *NISSL*». Encontramos las células de *Cajal* en todas sus formas: poligonales o triangulares, bipolares y piriformes. Su orientación con respecto a la superficie de la corteza es claramente horizontal en los dos primeros casos. Las piriformes se orientan con el tallo polar en el eje perpendicular de la sustancia gris cortical. El tamaño de su soma concuerda absolutamente con los resultados obtenidos con impregnación argéntica. El nivel intralaminar que ocupan es, a esta edad, claramente superficial, es decir subpial, o en el tercio medio y externo, siendo más raro el hallarlas en el tercio profundo.

### 3. *Gato de doce días*

Ver más adelante resultados con microscopía electrónica y lámina XIV, fig. 69.

### 4. *Gato de treinta días*

Los animales de esta edad han sido estudiados únicamente con la técnica de azul de metileno (Lámina V).

En cortes tangenciales a la superficie cortical se obtienen claras imágenes de la morfología de estas neuronas, tanto, de su soma como de los comienzos de sus prolongaciones. El soma lo podemos clasificar morfológicamente en los mismos tipos celulares sistematizados en los animales de menos edad. En las células de tipo bipolar (figuras 19, 21 y 22), los comienzos de las prolongaciones polares son gruesos, y se observa cómo después de un recorrido medio como prolongación individualizada se resuelve dando lugar a un corto número de ramas secundarias. Las de tipo poligonal originan directamente a partir de gruesos procesos celulares prolongaciones en número de 3 a 5, normalmente 4, que se adelgazan en dirección distal al soma celular (figs. 23 a 26). El tamaño celular sigue siendo voluminoso y concordante con el de las mismas células en animales más jóvenes. Cuando son piriformes o bipolares presentan un eje mayor de 18 a 25 micras, siendo su eje menor de 10 a 15 micras. En las poligonales o triangulares pueden existir o no diferencias en sus diámetros, siendo éstos de 20 micras aproximadamente. La orientación horizontal a la superficie cortical se evidencia en todas sus formas y especialmente en las células del tipo bipolar. La ramificación de los procesos principales nunca es profusa, sino que cada uno de ellos da lugar a dos o tres ramas con poca tendencia a arborizarse. Hay que destacar el hecho nuevamente constatado de que todas las prolongaciones celulares tienen el mismo carácter morfológico tipificándolas pues, como expansiones protoplasmáticas. No

hemos podido observar en ninguno de los casos (a pesar de haber estudiado un gran número de células en todos sus planos focales) la diferenciación de cilindroeje entre las ramas de una misma célula. Es decir, no hemos podido encontrar su axon.

5. *Gato de cuarenta días*

(Ver más adelante resultados con microscopía electrónica.)

6. *Gato de sesenta días*

El método de *Golgi* aplicado al animal de esta edad ha ofrecido resultados excelentes contra lo que cabría esperar. Resultando ser especialmente útil en el estudio de la posible evolución de las células de *Cajal* durante el desarrollo cortical.

a) *Células de Cajal*.—Curiosamente, en el animal de esta edad y en cortes perpendiculares a la superficie han aparecido teñidas las células de *Cajal* de la capa molecular con relativa frecuencia (láminas X y XI). La semejanza con las células de la misma naturaleza en el gato de nueve días es total, así como su situación y orientación. Morfológicamente las células que aparecen en la lámina X pueden homologarse a las de la lámina VII. La célula de la figura 51 de soma más o menos poligonal es en todo comparable a la de la figura 38 del gato de nueve días. Las células bipolares de las figuras 53 y 54 son a su vez idénticas a las del gato de nueve días representadas en las figuras 35, 37 y 39. A una distancia media de 50 micras a la superficie cortical se disponen en forma oblicua a la misma con tallos protoplasmáticos que arrancan de procesos polares gruesos. Dando uno de ellos ramas que se dirigen hacia la superficie y el otro ramas que se dirigen hacia la profundidad de la molecular. En cuanto al tipo piriforme tenemos que comparar las células de la figura 55, pero sobre todo la célula de las figuras 57 y 58, con las que aparecen en las figuras 34 y 36 del animal de nueve días y figura 30 del de diez días.

El tamaño aproximado de estas células es igual que el determinado para las mismas en animales más jóvenes. Con relación a las prolongaciones podemos decir que su longitud en los cortes estudiados (planos perpendiculares a la superficie) es similar a la que presentan las del gato de nueve días estudiadas según el mismo plano. El aspecto morfológico de las prolongaciones y gruesos procesos celulares en el gato de sesenta días puede igualarse al de las mismas en animales más jóvenes. Son robustas y arrancan de los mencionados procesos celulares; sus contornos son muy irregulares y están accidentados por rugosidades o varicosidades (figs. 57 y 58). Un hecho importante a señalar en relación con las mismas es su carencia de espinas. Vimos que las células del gato de nueve, diez y doce días no poseían espinas en sus prolongaciones, pero también observamos que las dendritas de las pirámides externas las presentaban en núme-

ro muy escaso. En el animal de sesenta días observamos en las dendritas de las piramidales una riqueza extraordinaria en espinas y, sin embargo, la ausencia de espinas en las prolongaciones de las células de *Cajal* persiste. En forma muy poco frecuente aparecen en las ramas de estas células excrescencias bulbosas o no, semejantes a las espinas dendríticas, pero más largas. El carácter idéntico entre las prolongaciones de una misma célula continúa haciendo imposible la diferenciación del cilindroeje en ninguna de las estudiadas.

b) *Pirámides externas*.—A esta edad las células piramidales externas aparecen plenamente desarrolladas, como cabía esperar. La arborización terminal de la dendrita apical es abundante. Las dendritas basilares son ya largas y ramificadas. Los tallos protoplasmáticos se hallan prácticamente cubiertos por apéndices espinosos. Los primeros somas piramidales aparecen a 175-200 micras de profundidad en la sustancia gris de la corteza.

## 7. Gato adulto

En los estudios *con el método de Golgi* realizados en el gato adulto ha fallado casi sistemáticamente la impregnación de las células de *Cajal*. Han sido estudiadas larguísimas series de cortes pertenecientes a la corteza cerebral de gran número de animales orientadas según los dos planos de sección rutinarias y con algunas variantes introducidas en la técnica básica. De todas formas hemos encontrado algunas células en número escasísimo. El mejor exponente lo presentamos en la lámina XII, en la que fotografiamos una célula de *Cajal* en tres planos diferentes, y en corte perpendicular a la superficie de la corteza. Esta célula se sitúa a una profundidad de 150 micras, es decir, en los comienzos del tercio profundo de la capa I. Es de tipo poligonal, siendo los diámetros de su soma de 20 por 12 micras. Como siempre, el eje mayor de la célula se dispone horizontalmente a la superficie cortical. Del cuerpo parten cuatro procesos celulares que recorren un trayecto más o menos largo antes de producir las escasas ramificaciones a que dan lugar. Estas expansiones caminan en diferentes planos paralelos a la superficie y su recorrido oscila entre 200 y 300 micras de longitud. Son de calibre grueso, de contornos irregulares y relativamente varicosos. Entre todas las prolongaciones no hemos podido observar ninguna clasificable por su aspecto morfológico en axon; por el contrario, todas son morfológicamente iguales.

Con el *método de Nissl* estudiamos los cuerpos celulares presentes en la capa I, y los resultados se muestran en la lámina XIII. En general puede apreciarse una disminución relativa con relación a la capa I de animales más jóvenes en los núcleos que pueblan la misma por unidad de superficie. Disminución que incluye tanto los núcleos de células neuróglícas como los somas neuronales. El espesor de la lámina I ha aumentado ligeramente si lo comparamos con el que presenta la corteza de los animales más jóvenes; oscila entre

las 200 y las 250 micras. En algunas zonas pueden hallarse varias células de *Cajal* dentro de un campo muy reducido (fig. 63). Pero de ordinario se encuentran en menor abundancia que en gatos más jóvenes. No siendo, pues, la técnica de *Nissl* la más adecuada para la valoración cuantitativa de las células de *Cajal*, la hemos utilizado únicamente para comprobar algunos de los resultados obtenidos con otras técnicas. Con la técnica de *Nissl* pueden estudiarse, aunque pocos, algunos detalles de la morfología general de las células de *Cajal*, siendo ésta similar a la descrita en animales más jóvenes.

Con esta técnica, y al haberse utilizado en cortes perpendiculares a la superficie cortical, se evidencian dos hechos fundamentales: por una parte, la distribución intralaminar de las mismas, y, por otra, su orientación con respecto a la superficie cortical. Las células se distribuyen intralaminarmente en todos sus niveles. La orientación es claramente paralela a la superficie cortical en los casos en que se trata de células bipolares o triangulares. Las piriformes se disponen con el tallo polar en el eje vertical de la corteza, al igual que en animales de menor edad. El tamaño celular mensurable sigue siendo el mismo que el hallado en los otros animales estudiados. En la figura 67 presentamos un ejemplo de célula de *Cajal* y célula probable de axon corto encontradas cercanas en el mismo campo. La de axon corto presenta unas dimensiones menores (10 por 7 micras), y es de forma redondeada.

La técnica mediante coloración vital con *azul de metileno* ha proporcionado los mejores resultados obtenidos en el gato adulto. En este caso, se observa la capa molecular en planos horizontales a la corteza cerebral, y en cortes perpendiculares a la misma (láminas III y IV, respectivamente).

La capa molecular en planos horizontales muestra somas celulares de forma triangular, poligonal o claramente bipolar. Las expansiones celulares son gruesas en número de dos, tres o cuatro, dependiendo de la forma celular, parten de gruesos procesos iniciados en el soma, recorriendo un trayecto variable como ramas individuales, para después ramificarse con poca profusión. Dado que las podemos ver en el mismo plano focal que el soma y considerando que observamos la corteza horizontalmente, no es difícil deducir que dichas prolongaciones se sitúan en planos paralelos a la superficie cortical. El axon no ha podido ser demostrado en ninguno de los casos. Teniendo en cuenta, además, que la coloración con azul de metileno ofrece una imagen muy fina y selectiva de las prolongaciones teñidas, la diferenciación de cilindroeje entre ellas hubiera sido un hallazgo relativamente frecuente y sencillo de hacer. Por el contrario, y a pesar del gran número de células estudiadas en diferentes áreas corticales, nos ha sido imposible determinar su existencia (lámina III).

En la lámina IV presentamos las imágenes que ofrece el tejido

teñido con azul de metileno en sección perpendicular a la superficie.

En las figuras 11, 12 y 13 se puede ver una célula de *Cajal* situada a unas 20 micras de profundidad en la capa molecular, orientada paralelamente a la superficie, dando lugar a un proceso que asciende hacia la pía y termina a muy poca distancia de la misma (4-5 micras) mediante un engrosamiento. Solamente se halla teñida esta célula, apareciendo la capa de las pirámides externas vacía. Observando este corte con microscopía de contraste de fases (fig. 10) se sitúa la célula y el nivel cortical a que aparecen los somas de las pirámides externas, es decir, la capa II. Otro ejemplo aparece en las figuras 14 y 15, en que aparece una célula de *Cajal* poligonal muy externa en observación normal y en contraste de fases donde se puede advertir la laminación cortical claramente. En las demás figuras (16, 17 y 18) aparecen ejemplos de células piriformes subpiales con su tallo polar dirigido en sentido opuesto, y un ejemplo de célula bipolar en perfecta disposición paralela con respecto del margen pial (figura 18).

#### **B) Estudios en el gato: comparación de las células de Cajal con otras neuronas del SNC**

Ya vimos en la Introducción de este trabajo cómo *Cajal* (1899-1904) clasificaba las células especiales de la corteza cerebral dentro del grupo neuronal de «células provistas exclusivamente de expansiones nerviosas o apéndices somatófugos» junto con las amacrinas de la retina y otros tipos celulares. Mediante la elaboración mental de todo lo observado escribe: «Las células especiales de la corteza deben colocarse, pues, al lado de los espongioblastos de la retina, pues como éstos parecen desprovistos de expansiones receptoras, encargándose el soma de recoger las corrientes arribadas de fibrillas nerviosas terminales» (*Cajal*, 1899-1904, p. 45). Con anterioridad, en otro párrafo de la extensa obra del histólogo español podemos leer con relación a sus células especiales lo siguiente (*Cajal*, 1895, p. 49): «Il ne faut cependant pas meconnaître l'analogie de ce type cellulaire avec certains spongioblastes de la rétine (spongioblastes à fibres rayonées et très fines), dont les expansions variqueuses et horizontales ressemblent aussi à des fibres nerveuses. Le caractère différentiel le plus remarquable entre ces spongioblastes et les corpuscules spéciaux de l'écorce, c'est que ceux-ci fournissent des ramuscules pseudo-cylindro-axiles, non pas seulement et d'une manière exclusive à la terminaison des tiges protoplasmiques, mais aussi sur le trajet de ces mêmes tiges. Remarquons encore la particularité que possèdent en commun les spongioblastes rétiniens et les éléments spéciaux de l'écorce d'habiter uniquement dans les zones moléculaires, c'est-à-dire en des régions où se trouvent les terminaisons des bouquets protoplasmiques provenant des cellules ganglionnaires sous-jacentes.» El problema, pues, como en tantas ocasiones, quedó ya planteado por *Cajal* a finales del

siglo pasado. En nuestro estudio, basado fundamentalmente en sus primeros resultados, hemos buscado la comprobación de sus datos, estudiando la retina y corteza de distintos animales simultáneamente.

Las células de *Cajal* observadas según ambos planos de orientación cortical han sido comparadas con las grandes amacrinas de la plexiforme interna de la retina, células también conocidas con el nombre de espongioblastos con que las designó *Müller* en 1875.

También las amacrinas de la plexiforme interna de la retina pueden observarse según dos planos de orientación perpendiculares entre sí: 1) Perpendicular a las vías de conducción centripeta, plano homologable con el horizontal en la corteza cerebral y que se consigue con el método de *Gallego* (1953) para la retina entera. 2) Paralelo a las grandes vías de conducción centripeta, homologable al plano perpendicular en la corteza cerebral y que se consigue con la impregnación de *Golgi* y el método de «enroulement» de la retina ideado por *Cajal*.

La semejanza morfológica entre ambos tipos neuronales es extraordinaria en los dos planos de observación (lámina XIV). En visión horizontal de ambas células (figs. 69 y 70) comparamos una célula de *Cajal* del gato de 12 días y una amacrina de la plexiforme interna de la retina de un gato adulto. La forma y tamaños celulares son similares aun en el caso de haberse empleado diferentes técnicas. La bipolaridad de sus procesos celulares es evidente en ambos casos, así como la poca tendencia a la ramificación de los mismos. El grueso calibre de las expansiones, su orientación en planos netamente horizontales, la irregularidad de sus contornos y la longitud considerable de su recorrido es marcadamente similar. El que ambas células se encuentren en niveles de articulación nerviosa (zonas plexiformes), como ya apuntara *Cajal*, y el que nosotros no hayamos podido encontrar ninguna prolongación designable como cilindroeje en las células de *Cajal*, acrecienta su analogía desde un punto de vista funcional.

Observadas estas neuronas en el plano opuesto de sección, se evidencia igualmente la similitud morfológica de su soma y de sus expansiones. En las figuras 71 y 72 comparamos una célula de *Cajal* del gato de 9 días con un espongioblasto retiniano del gato adulto; compárese para mayor evidencia el espongioblasto de la figura 72 con la célula de *Cajal* subpial hallada en el gato de 60 días de la figura 52.

### **C) Estudios en el gato: distribución regional de las células de Cajal en la corteza cerebral del gato adulto**

Mediante la técnica de inyección subpial de azul de metileno pueden ponerse en evidencia las células de *Cajal* de la capa plexiforme

externa en forma susceptible de un análisis cuantitativo regional. Hemos procedido al estudio inicial del «gyrus lateralis» desde el área somáticosensorial primaria SI, situada frontalmente hasta el área visual primaria VI localizada en el polo occipital. Las zonas estudiadas corresponden a las áreas SI, ALA, VII y VI del diagrama de *Thompson* y cols. (lámina XV). El número de gatos estudiados detenidamente hasta ahora es aún pequeño, por lo que los resultados obtenidos, aunque muy concordantes, pueden considerarse como provisionales. El número de células contadas por milímetro cuadrado de superficie (capa molecular en todo su espesor, lámina XV) en las distintas áreas corticales de los cuatro gatos estudiados se resume en el cuadro siguiente:

GATOS	VI	VII	ALA	SI
22-2-71 ... ..	23	25	17	8
5-4-71 ... ..	20	21	18	6
12-4-71 ... ..	26	22	15	10
16-4-71 ... ..	23,5	24	16,7	8,2

Como puede comprobarse de los resultados obtenidos, el número de células de *Cajal* en la corteza visual primaria parece ser tres veces superior al de dichas células en la corteza somáticosensorial primaria, ocupando el área anterolateral de asociación un puesto intermedio. Hay que tener en cuenta que solamente se tiñen con el azul las células situadas en la zona más externa de la capa molecular, como puede observarse en los cortes perpendiculares con la misma técnica (lám. IV), lo que indica que el número real de éstas es mayor.

#### D) Estudios en el conejo: capa molecular

Nuestros estudios en el conejo han sido realizados en animales jóvenes y adultos con el método de *Golgi*, con la tinción de *Nissl* y con el azul de metileno. Sólo presentaremos aquí los resultados obtenidos mediante impregnación argéntica como base de comparación con los descritos en el gato utilizando la misma técnica.

En la corteza cerebral del conejo adulto teñida con el azul de metileno aparecen claramente cuerpos celulares en la capa molecular correspondientes a las células de *Cajal*. Por los datos que arrojan los estudios realizados en este animal y mediante esta técnica, el número de células de *Cajal* por unidad de superficie y visualizando la capa molecular en toda su profundidad es superior por término medio al que presenta la corteza del gato. De todas formas, es preciso ampliar la casuística para llegar a conclusiones definitivas. Al igual que en el gato, la distribución de las células de *Cajal* en la capa molecular

del conejo parece ser variable en las diferentes áreas corticales, siendo la corteza visual la región que las contiene en mayor abundancia. Para obtener datos significativos en este punto, necesitamos de igual modo estudiar un mayor número de animales.

La serie de animales estudiados abarca desde los 6-7 días de vida postnatal hasta los 24 días, y también animales adultos. Los planos de sección han sido los rutinarios: paralelos a la superficie de la corteza cerebral o perpendiculares a la misma. Al ser los resultados muy similares a los obtenidos en el gato, nos limitaremos a reseñar algunas particularidades.

#### 1. Conejo de 10 días

En todos los casos estudiados la tinción del plexo molecular ha sido más completa que en el gato. Es ésta la razón por la cual en algunas ocasiones los elementos celulares de la capa I no destacan nítidamente, sino que tienden a confundirse u oscurecerse por el abundante plexo fibrilar también impregnado, siendo estas imágenes poco demostrativas.

##### a) Células de *Cajal*.

De todas formas, el hallazgo de estas células es muy frecuente. En el conejo de 10 días aparecen con mayor abundancia que en el gato de la misma edad, gracias a lo cual su estudio es relativamente sencillo. Las imágenes obtenidas en cortes paralelos a la superficie cortical son óptimas para el estudio de sus prolongaciones, siendo los cortes perpendiculares los ideales para determinar la situación intralaminar. Puesto que los resultados son en todo similares a los hallados en el conejo de 12 días de vida postnatal, continuamos con la descripción de las células de *Cajal* en este último.

#### 2. Conejo de 12 días

Las imágenes obtenidas en el conejo de esta edad han sido muy demostrativas, permitiéndonos un estudio detallado de las células de *Cajal*.

##### a) Células de *Cajal*.

En el conejo de 12 días, y tanto en los cortes perpendiculares como tangenciales, encontramos gran número de células de *Cajal* en todas sus formas, triangulares o poligonales, bipolares y piriformes. En los cortes tangenciales aparecen con forma triangular o claramente bipolar; mientras que en los perpendiculares su forma es bipolar o piriforme. El aspecto no parece haber cambiado con respecto de las mismas células en el animal de 10 días. Las células triangulares (figuras 79, 84 y 88) dan lugar a tres gruesos procesos celulares; su soma presenta un eje mayor de 15 a 20 micras y un eje menor de 8 a 14 micras. Las prolongaciones a que dan lugar recorren largos trayec-

tos y tienen poca tendencia a la arborización en un complejo expansivo. El trayecto recorrido por estas prolongaciones puede ser de hasta 500 micras, lo que se observa en forma óptima en secciones tangenciales, y a veces en las perpendiculares. Algunas de las prolongaciones pueden ser seguidas hasta su terminación después de tan largo recorrido, en cuyo caso observamos que se han ido adelgazando progresivamente, para terminar en una fina ramilla. Aparte de la tendencia a ascender hacia la superficie pial que presentan algunas de las prolongaciones, observamos cómo dan de trecho en trecho colaterales muy definidas que ascienden hacia la misma, perdiéndose en el precipitado argéntico que las oculta (figs. 81 y 82).

En los cortes perpendiculares, la situación de estas células con respecto a la superficie cortical se observa con toda claridad (fig 83). Las prolongaciones celulares recorren largo trayectos (300 micras) en un plano paralelo a la superficie cortical. Las células del tipo bipolar se encuentran con relativa frecuencia en los cortes tangenciales a la superficie (figs. 80 y 86); su bipolaridad viene determinada por la aparición de dos gruesos procesos polares emergiendo del soma celular, los cuales dan lugar a prolongaciones más finas de gran longitud que se ramifican en contadas ocasiones.

En ninguna de las células estudiadas en el animal de esta edad, y en ambos planos de sección, hemos podido identificar el cilindroeje, presentando todas las prolongaciones un aspecto morfológico idéntico entre sí. Las prolongaciones de la célula que aparece en la figura 88 fueron estudiadas hasta sus últimas ramificaciones, haciéndose todas las fotografías necesarias. Posteriormente fueron reconstruidas, obteniéndose así una imagen completa de la célula y de sus expansiones. La más larga de ellas recorría un trayecto de hasta 700 micras, lo cual nos da una idea de la magnitud del área cubierta por las prolongaciones de una célula de este tipo. Todas las prolongaciones son gruesas, carentes de espinas y de límites irregulares.

### 3. Conejo de 14, 20 y 22 días de vida postnatal

En el conejo adulto el hallazgo de células de *Cajal* en la corteza impregnada con la plata de *Golgi* es muy escaso, a pesar del gran número de piezas estudiadas. De todas formas, recordaremos que con otras técnicas de tinción (*Nissl*, azul de metileno) han sido claramente demostradas.

### E) Estudios en el conejo: comparación de las células de Cajal con otras neuronas del SNC

Al igual que en el gato, y basados en las sugerencias que ya hiciera *Cajal* a finales del siglo pasado, hemos hecho un estudio comparativo de las células de *Cajal* en la corteza cerebral y las grandes amarinas de la capa plexiforme interna de la retina (denominadas clási-

camente con el nombre de espongioblastos). Ambos tejidos, corteza cerebral y retina, han sido estudiados en sus dos planos de sección principales con las mismas técnicas utilizadas en el gato.

En la lámina XIX se muestra el estudio comparativo de estas células, ambas teñidas con el método de *Golgi* y observadas en el plano de sección perpendicular a la superficie de los órganos a que pertenecen. Las microfotografías han sido hechas a iguales aumentos (820X). Podemos apreciar la semejanza morfológica que existe entre una célula amacrina de la plexiforme interna de la retina del conejo adulto (fig. 90) y una célula de *Cajal* de la capa molecular de la corteza cerebral (fig. 91). La forma y tamaño del soma son notablemente idénticos. Las prolongaciones polares a que dan origen son igualmente gruesas y se distribuyen en ambos casos recorriendo horizontalmente las zonas plexiformes en que se sitúan. El soma de la célula de *Cajal* aparece en segundo plano focal con objeto de hacer evidentes sus prolongaciones.

La semejanza entre ambos tipos celulares se hace todavía más evidente cuando los estudiamos en el plano opuesto: paralelo a la superficie de corteza y retina. En este caso, y aun cuando los métodos de tinción son diferentes, el de *Golgi* en corteza y el de *Gallego* en retina, muestran gran similitud. El soma de ambos aparece en forma bipolar o triangular (figs. 86 y 87, y figs. 84, 85, 88 y 89). El tamaño del mismo es semejante en ambas células (microfotografías a iguales aumentos); cuando la polaridad de la célula determina la existencia de un eje mayor, éste suele ser de 20-23 micras, siendo el menor de unas 10 micras. La presencia de gruesos procesos celulares que van a originar las expansiones de la célula aparece también, sistemáticamente, en las amacrinas de la plexiforme interna de la retina (figs. 85, 87 y 89). Las expansiones de ambos tipos celulares son gruesas, de trayecto muy definido, de recorrido largo y de distribución tal que en ambos casos cubren áreas extensas de las zonas plexiformes a que pertenecen. Su disposición en planos paralelos a las mismas es evidente, apareciendo en un mismo campo focal las prolongaciones de una célula. Haciendo las mismas consideraciones que expusimos para el gato, es decir, situación de ambos tipos en zonas plexiformes, orientación intralaminar horizontal, y ausencia de prolongación funcional, la semejanza no ya desde un punto de vista meramente morfológico, sino también funcional, es manifiesta.

#### F) Estudios en el perro

Los trabajos en el perro han sido realizados en su totalidad con el método de *Golgi*.

En la corteza del animal de 24 horas de vida extrauterina aparece un plexo fibrilar finamente teñido, y entre él abundantes cuerpos celulares, pertenecientes a las células de *Cajal*. En el animal de esta

edad es manifiesta la bipolaridad del soma celular. El resto de los caracteres morfológicos son en todo iguales a las de las células de *Cajal* de otras especies animales y a una edad más avanzada. Gruesos procesos celulares dan origen a prolongaciones muy definidas y de gran longitud. El aspecto de las prolongaciones es igualmente grueso, poco ramificado y de contornos irregulares. El tamaño de su soma es de iguales dimensiones que el de los otros casos estudiados.

### G) Estudios en el ratón

En esta especie animal, las células de *Cajal* han sido estudiadas ocasionalmente en los ratones de cinco días de vida postnatal. Con otros propósitos, sus cabezas fueron tratadas con el método de la plata reducida de *Cajal* modificado por *De Castro*. La observación de la capa I de la sustancia gris cortical ofreció imágenes evidentes que mostramos en la lámina XX. Elegimos los cortes seccionados según el plano perpendicular a la superficie cerebral, por ser los que dan una información más general sobre algunos aspectos de las células de *Cajal*. Las células de aspecto bipolar se sitúan en todos los niveles de la capa I: tercio externo (figs. 94, 95 y 96); tercio medio (figuras 97 y 99) y en el tercio profundo ya en el límite con la capa II (figura 98). Su disposición paralela a la superficie se observa fácilmente. Las de forma piriforme se encuentran en el tercio más externo inmediatamente por debajo de la superficie pial (figs. 95 y 96). La corteza de animales de otras edades y con otros métodos no ha sido estudiada, excepción hecha de algunas piezas observadas al microscopio electrónico.

## III. RESULTADOS CON MICROSCOPIA ELECTRONICA

### A) Gato de doce días

#### 1. CÉLULAS PROPIAS DE LA CAPA I

##### *Control con microscopía de contraste de fases*

En la lámina XXI presentamos microfotografías de algunos de los cortes control con microscopía de contraste de fases. En cortes obtenidos según el plano perpendicular a la corteza se puede observar la relativa vacuidad de la capa molecular cortical en lo que a somas neuronales se refiere (fig. 100). A pesar de ello, en un área muy reducida podemos observar dos somas neuronales dispuestos en el tercio medio de la capa I con una cierta orientación netamente horizontal con respecto de la superficie cerebral. El citoplasma que rodea su núcleo es muy abundante, y una de las células presenta un claro nucleolo resaltando sobre el nucleoplasma. Los demás núcleos,

pequeños, oscuros, pertenecen a células de naturaleza glial. Se observan vasos, y el comienzo de la capa II de las pequeñas pirámides que queda determinado por la aparición de núcleos redondeados de aspecto claro y conteniendo nucleolos; se disponen en formación apretada, apareciendo también núcleos gliales satélites dispersos. Observadas las células horizontales con objetivo de inmersión (fig. 102) se aprecian algunas de sus características estructurales: citoplasma muy abundante y núcleo indentado con nucleolo bien definido.

En las secciones obtenidas según el plano tangencial a la superficie cortical encontramos los mismos hechos en imágenes diferentes. La microfotografía de la figura 101 muestra la superficie pial de la corteza por haberse obtenido este corte antes del tallado de la pieza en el bloque. En las proximidades de la superficie cortical podemos apreciar varios somas de tipo polar o piriforme, y uno muy definido de forma triangular con nucleolo evidente. A mayor aumento, en las figuras 103 y 104 aparecen dos de los tipos celulares encontrados. El piriforme, hallado inmediatamente por debajo de la superficie pial y el tipo alargado bi o monopolar. En los cortes control más profundos, de las piezas orientadas tangencialmente, comienzan a aparecer las pirámides externas (de la capa II), cuyas características más llamativas podemos apreciar (fig. 105).

#### *Microscopía electrónica*

a) *Tipos celulares.*—En el gato de 12 días de edad hemos podido diferenciar en ambos planos de sección los dos tipos celulares, «células especiales» o células de *Cajal* y células de axon corto o «stellate cells» de los anglosajones, que constituyen la población neuromal de la capa I.

#### *Células de Cajal*

Las podemos clasificar en tipos A y B.

*Tipo A.*—Son células encontradas a todos los niveles de la capa I. Sus características son las siguientes (lámina XXII):

*Tamaño.*—Son células grandes o medianas. Sus dimensiones se hacen difícilmente mensurables, pues en caso de aparición de sus prolongaciones los límites entre éstas y el cuerpo celular no están claramente demarcados, lo que da lugar a imprecisión en la medida. En todo caso, podemos establecer un valor medio en las dimensiones celulares: cuando el soma es redondeado, el diámetro aproximado es de 10 a 15 micras; cuando el soma presenta un eje claramente superior, éste no suele sobrepasar las 18 micras, oscilando entre 15 y 18 micras, siendo el diámetro menor de 8 a 10 micras.

*Forma.*—Hemos podido hallar tres subtipos celulares, diferenciables por la forma que presentan sus somas. La diferente morfología somática ha podido ser comparada con los resultados obtenidos con

microscopía óptica y de contraste de fases. Están presentes en los cortes orientados según ambos planos principales de sección (perpendicular y paralelo a la superficie de la corteza). Son células de soma triangular o poligonal, piriforme y bipolar.

#### *Situación y orientación*

En el tejido observado en el plano perpendicular se pueden apreciar dos circunstancias importantes en la definición de estas neuronas: el nivel intralaminar en que se sitúan y la orientación que mantienen con respecto a la superficie externa de la corteza.

Este tipo celular se encuentra diseminado por la capa I, ocupando todos sus niveles. Se encuentran en gran número (relativo a su población, naturalmente) en el *tercio medio* de la molecular; a continuación, como paraje preferido por ellas está el *tercio superior*, y, por último, la *zona limitante con la lámina de las pirámides externas*, zona en la que son escasas (figs. 130 y 131). Las células halladas en el tercio medio suelen corresponder a los subtipos morfológicos triangular y bipolar. Es raro encontrar en esta zona células piriformes. Por el contrario, éstas se localizan casi exclusivamente en el tercio superior. En el tercio profundo se sitúan las bipolares. La orientación de estas células con respecto a la superficie cortical suele ser neta y definida para todos los subtipos. Las piriformes, además de situarse selectivamente en el tercio superior, se orientan en forma tal que la prolongación de su eje mayor incidiría perpendicularmente sobre la superficie de la corteza. La prolongación central al soma parte hacia la profundidad de la plexiforme, o se dirige hacia la superficie. Las células triangulares, que en volumen representarían una figura geométrica de tipo poliédrico, se disponen con la base más amplia, situada en un plano paralelo a la superficie cortical. Por último, con el eje mayor orientado fielmente en los planos paralelos a la superficie, encontramos las células bipolares.

*Núcleo.*—La forma del núcleo es variada, y generalmente se adapta a la morfología externa de la célula. Unas veces aparece ovalado y otras poligonal. La mayoría de las veces el núcleo es de forma muy irregular, presentando bien una única indentación más o menos profunda (fig. 106), o bien varias indentaciones que ondulan sucesivamente la membrana nuclear. Otras veces aparece una única melladura que por su escasa profundidad no la calificamos de indentación.

El nucleoplasma es moderadamente denso, no se observan masas cromáticas agrupadas o dispersas. La cromatina nuclear se condensa casi siempre constituyéndose en nucleolo único.

*Citoplasma.*—El citoplasma de estas células muestra, a primera vista, un rasgo característico: su relativa densidad con respecto al de otras células nerviosas. La densidad evidente del citoplasma, que, a pequeños aumentos, aparece homogéneamente gris, determina el que

estas células no se destaquen o resalten del medio que las rodea. No es tan oscuro como el de los oligocitos o ciertas células gliales fibrosas. Incluso el citoplasma de las células piramidales aparece mucho más claro que el de estas células.

La segunda característica que llama la atención es la gran cantidad de citoplasma que poseen. La relación N/C sería muy pequeña, sobre todo si se tiene en cuenta el que los comienzos de las prolongaciones pueden ser considerados como continuaciones o procesos celulares más que como prolongaciones propiamente dichas. El citoplasma que rodea al núcleo no se dispone simétricamente con respecto de él, excepción hecha de algunas células de tipo bipolar, sino que suele acumularse en uno de los polos celulares o formando a modo de base para el cuerpo neuronal; de tal forma que esta asimetría se refleja en imágenes de núcleos rechazados, la porción nuclear más periférica queda recubierta por un anillo citoplásmico discreto.

#### *Contenido citoplásmico*

El citoplasma está totalmente ocupado por retículo endoplásmico, polirribosomas y variados orgánulos. Es la abundancia de estos componentes la que confiere al citoplasma su apariencia densa y homogénea a pequeños aumentos. El *retículo endoplásmico*, representado principalmente por la variedad rugosa, se acumula en los polos celulares, en forma de largas cisternas paralelas a la membrana citoplasmática, y a su vez paralelas entre sí. En los casos en que el plano de sección es favorable, la citada disposición se hace muy evidente, observándose comunicaciones entre cisternas contiguas, formando puentes de unión transversos. La localización del retículo endoplásmico es por lo común periférica, alejada del espacio perinuclear y acumulada en las áreas de expansión citoplasmática. En las zonas en que el núcleo se encuentra rodeado por un anillo citoplásmico delgado (piriformes o bipolares), las cisternas características desaparecen, hallándose en todo caso elementos escasos y de corta longitud.

Los *ribosomas* se encuentran adheridos a las cisternas de retículo endoplasmático, o dispersos libremente por todo el citoplasma en forma de rosetas polirribosómicas o en forma de ribosomas individuales, siendo siempre abundantes.

El *complejo de Golgi* está presente de igual modo en forma abundante. Es del tipo cisternal y vesiculoso con matriz clara; se halla repartido por todo el citoplasma. A menudo se pueden observar varias formaciones golgianas independientes y alejadas entre sí, situándose invariablemente uno de ellos en la zona perinuclear.

Las *mitocondrias* son, por lo general, abundantes, pequeñas y de matriz densa, conteniendo asimismo numerosas crestas en su interior. De forma son redondeadas u ovoides las más pequeñas, y alar-

gadas y angulares las grandes y medianas. Se localizan, como la mayoría de los orgánulos citoplásmicos, en las zonas de mayor abundancia citoplasmática.

*Lisosomas y cuerpos densos.*—Relativamente abundantes se sitúan, como siempre, en los polos expansivos de la célula, confundándose con las mitocondrias, de las que se diferencian por su mayor densidad y contenido homogéneo.

*Vesículas de núcleo denso.*—Una de las características es su rico contenido en vesículas de este tipo. Se encuentran dispersas por todo el citoplasma, hallándose incluso en las zonas en que solamente existe un fino anillo citoplásmico perinuclear, en cuyo caso son ellas, los polirribosomas y las escasas cisternas de retículo endoplásmico, los únicos orgánulos presentes. El núcleo denso está rodeado por un halo electrónicamente claro y por la membrana limitante, siendo su diámetro de unos 500-1.000 Å. A pesar de su dispersión general, se encuentra en forma casi sistemática en las cercanías de los complejos de Golgi, como formando parte de su componente vesiculoso o derivando de él. Pero se pueden ver de igual modo en la perifería celular, cercanas a las zonas sinápticas e incluso también en sus expansiones.

Podemos encontrar, además de los orgánulos ya citados, otras estructuras diferenciadas en el medio protoplásmico: neurotúbulos, cisternas, submembranas, cuerpos multivesiculares y muy frecuentemente estructuras ciliares (lámina XXIV, figs. 111 a 114).

*Tipo B.*—El tipo celular que vamos a describir a continuación presenta una serie de características similares a las que se han descrito en el tipo A. La razón de describir este tipo celular independientemente es que presenta algunas peculiaridades estructurales, en especial su menor contenido en orgánulos citoplásmicos y la menor densidad electrónica de su citoplasma, lo que las hace aparecer como células «claras» frente a las de tipo A, más «oscuras» (lámina XXIII, figuras 107 y 108).

*Tamaño.*—Es similar o idéntico al que presentan las neuronas del tipo A. Del mismo modo, la demarcación entre soma y prolongaciones aparece muy poco definida, dando lugar a una zona fronteriza de amplios límites.

*Forma.*—La incidencia más frecuente es su aparición en forma polar, mono o bipolar; pero en ocasiones se hallan formas que se mejen figuras poligonales, unas veces triangulares y otras más o menos redondeadas.

*Situación y orientación.*—Se distribuyen en todos los niveles de la capa I: muy cerca de la superficie pial, en el tercio medio y, en contadas ocasiones, en las profundidades de la lámina I (figs. 132 y 133). La orientación con respecto a la superficie de la corteza es

netamente horizontal a ella; esto es, el eje mayor de la célula se dispone en un plano paralelo.

La característica que destaca en la localización del tipo celular B es que se encuentran frecuentemente descansando sobre la pared de un vaso, mediante una amplia base. Esta circunstancia no hallada en el tipo celular A es una de las razones que nos han servido de base para la individualización de este tipo. Así, pues, dependiendo de sus relaciones vasculares, hemos diferenciado dos subtipos: perivascular e intersticial. Ambos tipos no difieren entre sí más que por su situación perivascular, o alejada de los vasos, siendo idénticos el resto de los caracteres estructurales que las definen.

*Núcleo.*—El núcleo es de forma ovoide o redondeada, y la membrana nuclear limita un espacio nucleoplásmico más regular que el de las células de tipo A. Es muy frecuente hallar una indentación moderada y única que penetra poco profundamente en el nucleoplasma (figura 108). El nucleoplasma ofrece un aspecto menos denso que el de las células descritas del tipo A, y la presencia de un nucleolo generalmente grande es la regla.

*Citoplasma.*—Destacan con más intensidad del medio plexiforme que las del tipo A, probablemente debido al hecho de poseer un núcleo más «luciente» con una estructura nucleolar muy definida. Uno de los rasgos estructurales que comparten con las células A es la abundancia de citoplasma que rodea al núcleo, disponiéndose a su alrededor en forma asimétrica, excepción hecha de los tipos bipolares encontrados.

*Contenido citoplasmático.*—Es muy semejante al de las neuronas A, por lo que lo describiremos brevemente. El *retículo endoplásmico* del tipo rugoso se dispone formando largas cisternas generalmente paralelas entre sí y paralelas a la membrana celular. Los *ribosomas* se acumulan en rosetas polirribosómicas o se esparcen intracitoplasmáticamente en forma individual. La presencia de numerosos *complejos de Golgi* con componente cisternal y vesiculoso ocupando porciones diseminadas del protoplasma es constante. Las *mitocondrias* presentan aspecto similar al de las del tipo A y son de tamaños aproximadamente iguales. La relativa abundancia de *lisosomas* y *cuerpos densos* ya descrita en las neuronas del tipo A es en unos casos similar y en otros parece ser menor en las del tipo A. Guardando analogía con las células A, las B son también ricas en *versículas de núcleo denso* de iguales dimensiones y características. Pueden encontrarse también neurotúbulos, cisternas submembrana, cuerpos multivesiculares y estructuras ciliares, así como espículas protoplasmáticas, siendo la matriz citoplasmática granulosa.

#### *Células de axon corto*

Se diferencian claramente de las células de *Cajal* (figs. 109 y 110).

*Tamaño.*—De tamaño menor que las anteriores, su eje mayor no suele sobrepasar las 12 micras. En los casos en que se observa el inicio de una prolongación celular, la demarcación entre ésta y el soma aparece claramente definida.

*Forma.*—Suele ser redondeada u ovoidea, y nunca se encuentran formas diferenciadas netamente en sentido bipolar o triangular.

*Situación y orientación.*—Se han hallado en la zona superficial, en la media y profunda de la capa I. Su forma poco definida y generalmente sin presentar eje dominante determina la imposibilidad e inutilidad en la definición de una orientación específica (figs. 134 y 135).

Un hecho muy importante que hay que señalar es su menor abundancia en relación a las células de *Cajal*. Son generalmente pequeñas, de forma redondeada u oval; y las medianas, alargadas. Las mitocondrias son de matriz considerablemente menos densa, de contenido crestal menos rico, hallándose presentes en forma casi exclusiva en las áreas de acúmulo protoplásmico. Los *lisosomas* y *cuerpos densos* están prácticamente ausentes. Se encuentran también cuerpos multivesiculares, neurotúbulos y cisternas submembrana, aunque en ningún caso hemos encontrado estructura ciliar o cuerpo basal.

b) *Procesos celulares.*—El hallazgo de prolongaciones manifiestas o su inicio es frecuente en las células del tipo A y B. En algunas ocasiones la continuidad con el soma se ve interrumpida por algún otro proceso del plexo molecular.

#### *Procesos de las células tipo A*

Son de 1 a 2 micras de diámetro, y en ocasiones han podido ser seguidas durante trayectos considerablemente largos, si consideramos el finísimo espesor de los cortes. Su hallazgo es más frecuente en los cortes realizados según el plano de sección paralelo a la superficie de la corteza. Los resultados con microscopía óptica muestran también que este plano es el óptimo para visualizar las células que se disponen paralelamente a aquélla. Usualmente las prolongaciones celulares emergen de polos expansivos protoplásmáticos, en los que suelen acumularse los orgánulos de todo tipo. En las células del tipo A, todas las expansiones que hemos observado como pertenecientes a ellas muestran carácter dendrítico, clasificándose pues, en el grupo de «expansiones protoplasmáticas» (lámina XXV, figuras 117 y 118). Son prolongaciones gruesas limitadas por una membrana más o menos flexuosa. Emergen de abultamientos considerables del soma celular, siendo difícil establecer los límites somaprolongación en forma tajante. Ultraestructuralmente parecen ser continuación del citoplasma neuronal. En sus inicios se insinúan toda clase de componentes protoplásmicos. Las cisternas de retículo endoplásmico no desaparecen bruscamente, sino que lo hacen gradualmente en sentido distal al soma. De todos modos, podemos encontrarlas

ocasionalmente en segmentos de prolongación alejados del cuerpo celular, aunque en estos casos aparecen en menor cantidad e incluso han perdido los ribosomas siendo lisas. Los ribosomas libres o agrupados en rosetas penetran la prolongación, haciéndose progresivamente menos abundantes en sentido distal al soma, para súbitamente, aparecer de nuevo con relativa abundancia. A menudo podemos observar que estos elementos se disponen en la periferia de la expansión, bordeando asimétricamente uno de sus lados. Las mitocondrias, abundantes y con características similares a las somáticas, disponen su eje siguiendo el de la prolongación a la que pertenecen. Las más abundantes pues, son las de tipo alargado, aunque también se puede encontrar alguna que otra pequeña y redondeada.

Son dos las características principales que definen este tipo de prolongación: por una parte, su abundante contenido tubular (lámina XXV). Los *neurotúbulos* se agrupan y hacen más patentes en el polo citoplásmico expansivo, formando a modo de manojo tubular entrecruzado paralelo u ondulado que penetra con firmeza en el inicio de la prolongación, permaneciendo en ella a lo largo de todo el recorrido observado. Una vez situados en la prolongación, se organizan paralelamente entre sí, siguiendo los accidentes de la membrana. La segunda característica es la presencia en ellas de un modo sistemático, de vesículas de núcleo denso en número más o menos abundante. Además, éstas suelen observarse en la expansión somática que da origen a la prolongación. Suelen ser estructuralmente idénticas a las del cuerpo neuronal, y existen en las zonas más distales al soma.

*Procesos de las células tipo B.*—Son en todo idénticas a las anteriores, conteniendo ribosomas, retículo endoplásmico rugoso y liso, mitocondrias elongadas, abundantes neurotúbulos y vesículas de núcleo denso diseminadas (lámina XXV, figs. 115 y 116).

*Prolongaciones de las células de axon corto.*—Emergiendo del soma celular es muy difícil observarlas. Lo que da idea de que han de ser más finas. En el caso en que el plano de sección ha sido favorable hemos hallado una prolongación de tipo axónico: siendo fina (0,7 micras de diámetro aproximado), limitada por una membrana regular en su recorrido y con escaso contenido en su matriz (fig. 110). La zona de arranque somático se adelgaza progresivamente hasta determinar el espesor mencionado y presenta una sinapsis de tipo simétrico. La demarcación fronteriza soma-prolongación aparece netamente definida. Por su morfología nos parece ser el inicio del axon.

*Espículas.*—En las células del tipo A y B, así como en sus prolongaciones, encontramos con relativa frecuencia espículas protoplásmicas muy finas (0,2-0,3 micras) y siempre cortas. En ocasiones se observa una estructura ciliar emergiendo del soma a favor de estas espículas.

c) *Sus sinapsis.*—Los tres tipos celulares han sido clasificados

como neuronas no solamente por sus características morfológicas y estructurales, sino por haber sido encontrados numerosos contactos sinápticos sobre su soma y prolongaciones. Las zonas sinápticas pre y postsinápticas corresponden fundamentalmente a los dos grandes grupos descritos por *Gray* (1959) en la corteza cerebral fijada por inmersión en tetróxido de osmio. A pesar de todo, en muchas ocasiones las sinapsis no han podido ser clasificadas dentro de ninguno de los dos tipos por aparecer en un plano de sección desfavorable. El criterio seguido por *Gray* para establecer la diferenciación entre ambos tipos (I y II), basado en el mayor o menor espesor de la densidad en la membrana postsináptica, ha sido recientemente criticado y traído a nueva revisión por algunos autores (*Van der Loos*, 1965), aludiendo que ambos tipos sinápticos no representarían sino los extremos de un tipo de sinapsis única.

*Colonnier* (1968) hace un estudio profundo de los tipos de sinapsis de la corteza visual del gato, y concluye de acuerdo con *Gray*, en que hay dos tipos sinápticos diferentes y desigualmente repartidos en lugares específicos. Según este autor, habrían de denominarse ambos tipos siguiendo un criterio basado en la simetría o asimetría del espesamiento de las membranas pre y postsináptica. La población vesicular de ambos tipos sinápticos es también diferente y específica para este autor, que emplea material perfundido con formalina. Para él, las sinapsis con un espesor de la membrana postsináptica muy aparente presentan vesículas esféricas o esferoidales, mientras que las de espesor postsináptico ligero se asocian con una población de vesículas aplanadas o de diferente morfología. La existencia de vesículas de núcleo denso en la población vesicular es escasísima, según el trabajo de este autor. Por otra parte, existen contados tipos sinápticos difícilmente clasificables. Como nuestra intención en el presente trabajo no ha ido dirigida específicamente hacia el estudio de la morfología sináptica, tema por otra parte exhaustivamente comentado por todos los autores que trabajan en estructura del sistema nervioso central, nos abstendremos de describir en detalle la ultraestructura sináptica finamente establecida por *De Robertis* (1965) y otros investigadores.

Lo que sí nos interesa determinar en este trabajo es la diferente distribución sináptica en la capa I. De acuerdo con el criterio de *Colonnier*, que por otra parte no añade grandes novedades al previo de *Gray*, diferenciaremos dos tipos fundamentales de sinapsis axodendríticas y axosomáticas:

- 1) Tipo II de *Gray*: Simétricas de *Colonnier* y para él asociadas con vesículas de tipo aplastado o polimorfo.
- 2) Tipo I de *Gray*: Asimétricas de *Colonnier* y para él asociadas con vesículas esféricas o esferoidales.

En desacuerdo con los resultados de *Colonnier*, nosotros hemos

encontrado gran cantidad de botones sinápticos con vesículas de núcleo denso entremezcladas con las de matriz clara; por tanto, también diferenciaremos dentro de cada grupo las que contienen este tipo de vesículas de las que no las presentan (lámina XXVI). En cuanto a la asociación con cada tipo sináptico de vesículas esferoidales o polimorfas, haremos poco énfasis en este punto, por aparecer esta particularidad en el tejido fijado con aldehídos y no en el fijado con  $O_3O_4$ . La distribución de los distintos tipos de sinapsis sobre las células de *Cajal* tipos A, B y de axon corto se resume en la tabla I.

TABLA I

TIPO	N.º	S.A. (V)	S.A.	S.S. (V)	S.S.	S.A. (T)	S.S. (T)	S. (T)
A	31	6	27	12	28	33	40	73
B	7	3	8	1	8	11	9	20
Axon corto	3	1	3	2	2	4	4	8
TOTAL	41	10	38	15	38	48	53	101

TIPO = Tipo celular.

N.º = Número de células estudiadas.

S.A. (V) = Sinapsis del tipo asimétrico (I de *Gray*) con vesículas de núcleo denso.

S.A. = Sinapsis del tipo asimétrico (I de *Gray*) sin vesículas de núcleo denso.

S.S. (V) = Sinapsis del tipo simétrico (II de *Gray*) con vesículas de núcleo denso.

S.S. = Sinapsis del tipo simétrico (II de *Gray*) sin vesículas de núcleo denso.

S.A. (T) = Número total de sinapsis asimétricas.

S.S. (T) = Número total de sinapsis simétricas.

S. (T) = Número total de sinapsis estudiadas.

Hay que tener en cuenta el hecho de haberse despreciado por inclasificables gran número de formaciones sinápticas en todas las células. Los tipos celulares A y B presentan una media de 2-3 sinapsis clasificables por soma. Siendo de 2,36/soma en las del tipo A y de 2,85/soma en las del tipo B; son más numerosas las simétricas sobre las del tipo A (54,8 por 100) y las asimétricas sobre las del tipo B (55 por 100).

Como se ve, las diferencias son poco significativas, y partiendo de la base de que estas células (las A y B) pertenecen al mismo grupo celular (células de *Cajal*), las diferencias tienden a desaparecer. Para un número total de 38 células estudiadas, hemos contado 44 sinapsis del tipo asimétrico y 49 del simétrico. Pero es de señalar el hecho que no admite discusión de que estas células son verdaderamente neuronales, presentando una cierta riqueza sináptica de ambos tipos. Haremos hincapié sobre la presencia relativamente frecuente de botones sinápticos con vesículas de núcleo denso entre su población

vesicular. Muy a menudo aparece asociada con el área sináptica un tipo de unión desmosómico, entre la membrana del botón axónico y la celular (lámina XXVI).

## 2. PEQUEÑAS PIRÁMIDES DE LA CAPA II

Estas células sólo constituyen motivo de estudio para nosotros en cuanto que debemos establecer las diferencias estructurales que presentan con las células propias de la primera lámina cortical. Están situadas en la lámina inmediatamente consecutiva a la molecular. En un corte favorable se diferencian inmediatamente por su forma acusadamente triangular que da lugar a gruesas expansiones desde sus vértices, las dendritas apical y basilares. En muchos casos aparece situado en la base celular el oligocito satélite. Muy a menudo en la corteza de animales jóvenes la dendrita apical se individualiza en dos gruesas ramas desde su arranque somático, siguiendo direcciones divergentes en su alejamiento del soma neuronal. La *forma* es, pues, un rasgo característico diferencial. También la abundancia de estas células, su cercanía y su similitud, son características evidentes que aparecen cuando traspasamos el límite de la plexiforme. Además del número de células por campo, el plexo es totalmente diferente al que nos encontramos en la capa I. Constituido por una imagen apretada de gruesas prolongaciones cortadas transversalmente o siguiendo su eje mayor (planos de sección horizontal y perpendicular, respectivamente). Son células algo mayores que las estudiadas en la capa I. Su eje mayor puede ser de 20 micras. El núcleo suele ser redondeado u oval, pero siempre muy regular y con nucleolo. El citoplasma es relativamente «luciente», no muy abundante, se dispone homogéneamente rodeando al núcleo, dando lugar en los vértices del triángulo a acúmulos ligeros que se resuelven inmediatamente en la prolongación dendrítica. Las gruesas dendritas que emergen del soma celular contienen en un principio una cierta abundancia de retículo endoplásmico y ribosomas, pero pierden estos componentes rápidamente, quedando sus prolongaciones casi vacías de ribosomas. En sus porciones más distales sólo contienen mitocondrias alargadas gigantes, rosetas polirribosómicas ocasionales y cisternas de retículo endoplásmico liso. Las mitocondrias permanecen en todo su recorrido. A menudo se observa el axon emergiendo de la base celular por un cono de arranque o colina axónica finamente delimitado. El axon en su segmento inicial ha perdido ya el contenido protoplásmico, permaneciendo solamente los neurotúbulos, algunos ribosomas dispersos, mitocondrias y cisternas de retículo endoplásmico liso. Las sinapsis son escasas sobre el soma celular y origen dendrítico. Acostumbran a ser del tipo II de *Gray* o simétrico de *Collonnier*, aunque también se hallan del tipo I asimétrico. Por todo lo expuesto es sencillo diferenciar las células piramidales externas (pequeñas pirámides de la capa II), con las neuronas propias de la capa I.

### 3. CÉLULAS DE GLÍA

La glía en la capa I es abundante, y proporcionalmente son los cuerpos celulares que se encuentran con más frecuencia.

a) *Oligodendrocitos*.—La mayoría de los autores omiten la descripción de este tipo glial cuando se refieren a la capa I, por considerar que son muy poco abundantes o casi ausentes. Nosotros los hemos encontrado con relativa frecuencia. Sus caracteres morfológicos son los comunes a los oligodendrocitos de otras capas corticales (figs. 128 y 129).

b) *Astrocitos*.—En los animales estudiados de 12 días hemos encontrado particularmente bien desarrollada la glía astrocitaria fibrosa, muy abundante y repartida por toda la capa molecular de la corteza. Los astrocitos protoplasmáticos no aparecen en forma tan típica como lo hacen en el animal adulto; de todas formas, se pueden distinguir dos tipos de células astrocíticas, una con marcado carácter fibroso y otra de aspecto preferentemente protoplásmico.

*Glía subpial*.—La superficie cortical inmediatamente por debajo de la pía está formada exclusivamente por procesos astrocitarios, que son generalmente del tipo fibroso y por astrocitos del mismo tipo. Los procesos astrocíticos pueden provenir de células alejadas de la superficie cortical, o de células superficiales limitantes. Los procesos fibrosos dispuestos en forma compacta sin dar lugar a intersticios son los que realmente limitan la corteza cerebral en su parte más externa. Por debajo de este límite nos encontramos con una barrera astrocítica formada por células de glía y láminas superpuestas de prolongaciones gliales, en las que se pueden observar las gliofibrillas cortadas longitudinalmente o de través. La limitante glial solamente se ve interrumpida a lo largo de la superficie cortical por la entrada de algún vaso meníngeo hacia la sustancia gris cerebral. Inmediatamente por debajo de la limitante astrocítica la arquitectura cortical se compone de terminales axónicas sinaptando sobre finísimos procesos dendríticos, cortados normalmente en sentido transversal. Entre ellos se observan numerosas prolongaciones astrocíticas de tamaño considerable (fig. 127).

### 4. DISPOSICIÓN GENERAL DEL NEUROPILO

Está constituido por un entramado de prolongaciones de tipo diverso. Inmediatamente por debajo de la capa glial que limita la superficie se observan multitud de pequeñas prolongaciones recibiendo una sinapsis. Es raro encontrar en esta zona, en ninguno de los dos planos de sección, prolongaciones capaces de ser seguidas durante un recorrido discreto. Parece como si en este lugar las prolongaciones se entrecruzaran en todos los sentidos, de lo que derivaría la incapacidad para encontrarlas en el sentido longitudinal.

Más profundamente lo que predomina son los botones axónicos terminales, en los que se hallan frecuentemente un tallo prebulbar finísimo, constituido casi siempre por dos o tres neurotúbulos que se pierden a la entrada del ensanchamiento sináptico. Esta disposición la encontramos sobre todo en los cortes obtenidos según el plano tangencial a la superficie. Las dendritas de las células piramidales se encuentran preferentemente en zonas relativamente profundas, y cuando el plano de sección es transversal a ellas se diferencian del resto del neuropilo por su escasa densidad y contenido. Vistas en zonas profundas en cortes perpendiculares, no presentan confusión por su dirección primero vertical que tiende a hacerse oblicua al acercarse a la superficie.

El intrincadísimo plexo está salpicado de células que se disponen en su mayoría en forma horizontal o paralela a la superficie: las células de *Cajal* del tipo A y B, las cuales dan origen a robustas prolongaciones identificables aun separadas de su soma. El tipo celular de axon corto es mucho menos frecuente (lámina XXVIII). Existen células gliales de tipo fibroso fundamentalmente, y la superficie pial está limitada por ellas o sus prolongaciones. No existe todavía ningún indicio de aparición miélica en esta zona cortical. Los vasos no presentan todavía el entorno glial característico ni las uniones típicas del endotelio desarrollado. Un aspecto llamativo es la enorme abundancia de vesículas de núcleo denso en los somas celulares, en los botones y fibras axónicas y en algunas dendritas.

## B) Gato de cuarenta días

### 1. CÉLULAS PROPIAS DE LA CAPA I

La capa molecular de la corteza cerebral del gato de cuarenta días ha sido estudiada en sus dos planos de sección habituales: tangencial y perpendicular a la superficie de la misma. Los resultados obtenidos en cuanto a los elementos que se hallan en la capa I, ya sean celulares o componentes del neuropilo, no difieren grandemente de los ya descritos para el gato de doce días, por lo cual nos limitaremos a describir las diferencias o hallazgos nuevos presentes en la capa I del gato de cuarenta días con relación al de doce días de edad.

#### a) *Tipos celulares*

En la capa molecular de la corteza cerebral del gato de cuarenta días hemos podido identificar los tres tipos celulares ya clasificados: las células de los tipos A y B que corresponden a las células de *Cajal* o «células especiales», y las células de axon corto.

*Tipo A.*—Este tipo celular aparece a todos los niveles de la capa I; se hallan también todos los subtipos clasificados según su *forma*: piriformes, bipolares y triangulares o poligonales (lámina XXIX). El

*tamaño* de su soma coincide estrechamente con las dimensiones que presentan las mismas células en animales más jóvenes. El eje mayor puede alcanzar las 18-19 micras, y el menor suele ser de 8 a 15 micras. La *orientación* de las mismas es claramente paralela a la superficie de la corteza. En cuanto a la *situación* intralaminar, se ve claramente que estas células ocupan todos los niveles de la capa I, encontrándose de preferencia en los tercios medio y superior y con menor frecuencia en el profundo, en cuyo caso la célula es francamente bipolar. El *núcleo* suele ser grande con nucleolo. Su membrana suele presentar irregularidades que van desde la indentación profunda hasta la ondulación, pasando por la simple melladura. El *citoplasma*, muy abundante, suele repartirse en forma asimétrica alrededor del núcleo, y conserva las características ya enumeradas. El *contenido citoplásmico* es característico. Las membranas de retículo endoplásmico se disponen paralelamente a la membrana citoplásmica y en la periferia celular; los ribosomas se encuentran libres o en rosetas. El resto de los orgánulos suele acumularse en los polos expansivos de la célula. Las mitocondrias son muy abundantes, así como los cuerpos densos y los lisosomas, que parecen haber aumentado en cantidad con respecto a los hallados en las células del gato de doce días. Se encuentran varios complejos de *Golgi* dispersos por el citoplasma de contenido cisternal y vesiculoso. La presencia de vesículas de núcleo denso es constante (fig. 140).

Dos elementos han sido encontrados con más frecuencia que en las células del gato de doce días: las estructuras ciliares y las cisternas submembrana.

Las *cisternas submembrana* se hallan relacionadas o no con una zona sináptica (fig. 141); lo más común es que se encuentren en forma individual, siendo, pues, la imagen de la figura 141 una excepción. Están formadas por la unión de ambas paredes de una cisterna de retículo endoplásmico a cuyo nivel pierde los ribosomas.

Las *estructuras ciliares* se encuentran sistemáticamente en la zona periférica de la célula; en el plano de sección puede aparecer o no su cuerpo basal. De todas formas, es clásico que esta estructura vaya acompañada de un complejo de *Golgi* (figs. 143 a 146), así como que el cilio se insinúe a través de una espícula de la membrana celular. Estructuras de este tipo han sido descritas por otros autores en otros lugares del SNC y en diversas especies (*Hillman*, 1969; *Uchizono*, 1969, y *Dahl*, 1963).

La presencia de *espículas* originadas por evaginaciones de la membrana citoplásmica, recibiendo por lo general una sinapsis asimétrica, es otro rasgo característico (fig. 142).

*Tipo B.*—En el gato de 40 días presenta las mismas características que en el de 12 días, excepción hecha de su situación perivascular que no hemos hallado, encontrándose todas en el parénquima ner-

vioso sin relación alguna con los vasos (lámina XXX). El tamaño de alguna de las estudiadas es superior al general, llegando su eje mayor a superar las 20 micras (fig. 139). Al ser la demarcación entre soma y prolongaciones tan difusa, pudiera ser que midiéramos éstas además del soma. Se hallan fundamentalmente en el tercio medio; la orientación, cuando presentan forma polar, es netamente paralela a la superficie cortical. El núcleo, «luciente» y con un nucleolo muy organizado, es una de sus características más notables; puede presentar melladuras u ondulaciones de su membrana (fig. 138). El citoplasma y su contenido son idénticos al que presentan las células de este tipo en el gato de 12 días.

El estudio comparativo de las neuronas de tipo A y B (células de Cajal) entre los gatos de 12 y 40 días muestra los siguientes resultados: la morfología general de estas células no ha variado; el tamaño celular, la forma, el citoplasma y su contenido son cualitativamente los mismos, y aparecen con iguales características. La situación y orientación en el espesor de la capa I no ha sufrido ninguna modificación. En número son las células del tipo A las más abundantes. En conjunto, su hallazgo se hace más difícil, lo que indica un menor número por unidad de superficie, debido probablemente al crecimiento del plexo en general.

Como diferencias hemos hallado algunas muy ligeras: relación N/C más proporcionada en las células A. Contenido quizás más abundante en mitocondrias, cuerpos densos y lisosomas, pero no en retículo endoplásmico rugoso.

*Células de axon corto.*—El tipo celular identificado como el de axon corto lo hemos hallado con mayor frecuencia en la capa molecular del gato de 40 días que en el de 12 días. Sus características tanto nucleares como citoplasmáticas se diferencian claramente de las halladas en las células de Cajal A y B. El tamaño de soma es menor, no sobrepasando sus diámetros las 14 micras (fig. 147). Su forma es muy regular, sin eje dominante; suele ser redondeada u oval. El núcleo no presenta indentaciones ni irregularidades; es claro y suele contener un nucleolo. El citoplasma que lo rodea simétricamente es rico en retículo endoplásmico rugoso, pero pobre en otros orgánulos (mitocondrias, lisosomas, etc.) si lo comparamos con los de las células A y B. El aparato de Golgi suele concretarse a uno o dos complejos. En rarísimas ocasiones se observa el origen de una prolongación.

#### b) *Prolongaciones de estos tipos celulares*

Las prolongaciones que emergen de ambos tipos celulares A y B son de aspecto idéntico al descrito en el capítulo anterior. De calibre grueso, oscilando entre 1,5 y 2,0 micras, y algunas veces, especialmente en los cortes según el plano de sección tangencial, hemos podido seguirlas en un recorrido de hasta 30 micras. El contenido

de estas prolongaciones presenta los mismos elementos que el de las prolongaciones celulares del gato de 12 días. Ahora bien, se observa que los neurotúbulos han perdido la extrema nitidez de sus límites y que aparecen más cisternas de retículo endoplásmico liso, elementos vesiculosos y cuerpos multivesiculares en forma casi sistemática. Se observan ribosomas, vesículas de núcleo denso, mitocondrias y espículas de la membrana. Un hecho notable, de trascendencia funcional, es el gran número de sinapsis que reciben. En un recuento de 17 prolongaciones cuya longitud oscilaba entre 4 y 8 micras, comprendiendo las prolongaciones de las células de tipo A y B, hemos contado un total de 76 sinapsis, perteneciendo al tipo simétrico 26, y al asimétrico, 50. Predominan, pues, las simétricas (65,8 por 100) sobre las asimétricas (34,2 por 100).

c) *Sinapsis sobre el soma celular*

Siguiendo el mismo criterio que en el estudio del gato de 12 días, diferenciamos entre sinapsis asimétricas y simétricas, dependiendo del espesor en la diferenciación postsináptica y haciendo caso omiso de la forma de la población vesicular sináptica.

Los resultados los presentamos en la tabla II:

TABLA II

TIPO	N.º	S.A.	S.S.	S. (T)	S.A. %	S.S. %	S/S
A	17	48	66	114	42,1	57,9	6,6
B	4	2	6	8	25,0	75,0	2,0
Axon corto	7	14	23	37	37,8	62,1	5,2
TOTAL	28	64	95	159	34,9	65,1	

- TIPO = Tipo celular.
- N.º = Número de células estudiadas.
- S.A. = Sinapsis del tipo asimétrico (I de Gray).
- S.S. = Sinapsis del tipo simétrico (II de Gray).
- S. (T) = Número total de sinapsis estudiadas.
- S.A. % y S.S. % = Porcentajes respectivos.
- S/S = Media del número de sinapsis por soma celular.

El que sobre las células del tipo B hayamos encontrado un número tan reducido de sinapsis se debe, con toda probabilidad, al pequeño recuento efectuado. El resultado de interés es el hallazgo de un número relativamente elevado de sinapsis sobre el soma de todos los tipos celulares presentes en la capa I, y el que predominen las del tipo simétrico. En las células de *Cajal* del tipo A el número de sinapsis por soma ha aumentado con relación al que presentan las

mismas células en el gato de 12 días, hecho muy interesante, ya que constituye la diferencia más notable entre las células de ambos gatos.

## 2. PEQUEÑAS PIRÁMIDES DE LA CAPA II

Las pirámides externas son inconfundibles, como quedó ya indicado para el gato de 12 días (fig. 150).

## 3. CÉLULAS DE GLÍA

Muy abundantes en la capa I. Se diferencian los dos grandes tipos: astrocitos y oligodendrocitos. Los astrocitos, a su vez, se dividen en fibrosos y protoplásmicos.

Los *astrocitos fibrosos* se hallan por todo el espesor de la capa I, acumulándose preferentemente en la zona más externa, formando parte de la «limitans gliae» (fig. 149). En ellas los orgánulos citoplásmicos son abundantes (mitocondrias, lisosomas, cuerpos densos). Los ribosomas se dispersan en poca cantidad por todo el citoplasma, no hallándose casi retículo endoplásmico rugoso. Lo más característico de estas células es su contenido en gliofibrillas, que aparecen seccionadas en todas direcciones.

Los astrocitos protoplásmicos se hallan en todo el espesor de la capa I. Son evidentes por su aspecto acusadamente claro; los ribosomas y el retículo endoplásmico rugoso están casi ausentes, y la matriz es muy clara; todo ello les confiere su apariencia descrita como «watery» (acuosa) en la literatura anglosajona. Destacan nítidamente los lisosomas, mitocondrias y cuerpos densos. Los contornos de estas células son muy irregulares a causa de la salida de numerosas prolongaciones. Se pueden apreciar algunas gliofibrillas.

Las células de oligodendroglía se encuentran presentes en escasa cantidad, pero en modo alguno ausentes. Se destacan del resto del neuropilo por su densidad acusada, son típicas y no presentan diferencia alguna con las halladas en la capa molecular del gato de 12 días.

## 4. MICROGLÍA

Hay que señalar que este elemento, que para muchos autores no existe como entidad celular separada de la glía, y para otros no existe en absoluto (ver Introducción), ha sido hallado en la capa molecular del gato de 40 días (fig. 148).

La densidad de su núcleo, su elongación, sus contornos irregulares, así como la escasez de citoplasma circundante, son caracteres típicos de este elemento. La microglía hallada en el animal de esta edad no presenta rasgos de activación: no aparecen cuerpos de in-

clusión, ni finas prolongaciones, insinuándose en el tejido nervioso, ni tampoco prolongaciones engrosadas cargadas de material incluido. Este elemento, que lo podemos calificar de microglía «en reposo», lo vamos a encontrar en la capa I de la corteza cerebral del gato adulto y con caracteres de franca activación. La microglía ha sido objeto de estudio más detallado en los animales adultos y viejos (ver más adelante).

## 5. NEUROPILO

En el gato de 40 días encontramos un neuropilo más intrincado que el del gato de 12 días. En un intento de sistematización, dividiremos la capa molecular en tres zonas que, desde la superficie cortical hasta el comienzo de la capa II, son: tercio externo, tercio medio y tercio profundo.

### a) *Tercio externo*

Esta zona la hemos de dividir a su vez en una más externa o subpial, inmediatamente por debajo de la membrana basal que limita la superficie de la corteza, y otra más profunda dentro del mismo tercio externo.

La zona externa viene definida por la presencia de una apretada barrera glial formada por la superposición de láminas astrocitarias que no dejan intersticios entre sí, o incluso por somas de astrocitos del tipo fibroso en directo contacto con la membrana basal (fig. 149).

Inmediatamente por debajo de la misma encontramos un plexo formado por botones axónicos (en su mayor parte de aspecto denso), que hacen sinapsis con espinas dendríticas o con prolongaciones seccionadas en todos los sentidos, de un calibre medio de 0,5-1,5 micras. Las sinapsis sobre estas últimas suelen ser de tipo asimétrico. Estas prolongaciones son claras, de aspecto vesiculoso, con gran cantidad de mitocondrias en su interior y otros orgánulos (cuerpos multivesiculares, vesículas de núcleo denso) y a veces ribosomas escasos. Además, encontramos finos tallos axónicos prebulbares y ramas astrocíticas que ascienden hacia la superficie (fig. 151).

La zona profunda del tercio externo es también característica. En secciones apropiadas se ven prolongaciones varicosas de una micra de diámetro aproximado que se dirigen definitivamente hacia la zona más externa, encontrándose algunas en la zona inmediatamente subglial (fig. 151). Por lo regular son de aspecto vesiculoso, con numerosas mitocondrias y otros orgánulos. Su rasgo fundamental es el gran número de sinapsis que reciben, siendo las más numerosas las del tipo asimétrico. También es característico de ellas el no poseer espinas. Hemos contado 93 sinapsis sobre estas prolongaciones, de las cuales 62 resultaron ser del tipo asimétrico y 31 del tipo simétrico, predominando, pues, las primeras en un 66 por 100 del total.

## b) *Tercio medio*

En esta zona el neuropilo está compuesto por dendritas de las células piramidales de grueso calibre (1-2 micras), prolongaciones de las células propias de la capa I y numerosas sinapsis axoespinosas.

Se observa la salida de las espinas dendríticas con facilidad; su estructura es fundamentalmente tubular, no recibiendo apenas sinapsis en sus tallos, y cuando esto sucede las sinapsis pertenecen en su mayoría al tipo simétrico. De un total de 37 sinapsis contadas, 24 eran simétricas y 13 asimétricas. Es decir, un 64 por 100 del primer tipo. Se encuentran también numerosas sinapsis axoespinosas siempre del tipo asimétrico, y prolongaciones de células no piramidales orientadas en paralelo con la superficie cortical y con numerosas sinapsis sobre su membrana. Este último tipo de prolongación, hallado también en el tercio medio, presenta con mucha frecuencia vesículas de núcleo denso en su interior; son de aspecto tubular y vesiculoso; contienen más orgánulos que las de células piramidales; no emiten espinas, y presentan numerosas sinapsis de tipo asimétrico fundamentalmente. De un total de 25 sinapsis contadas, 22 eran asimétricas y 3 simétricas. Aunque el número de sinapsis contado haya sido reducido, el predominio de las asimétricas es evidente (88 por 100).

## C) **Gato adulto**

La capa molecular del gato adulto presenta una estructura muy similar a la de animales más jóvenes. Describiremos solamente las diferencias más notables.

### 1. CÉLULAS PROPIAS DE LA CAPA I

En la capa I de la corteza cerebral del gato adulto han sido identificados en ambos planos de sección los tres tipos celulares presentes en la capa I de los animales más jóvenes (40 y 12 días de edad). Las células de *Cajal* tipos A y B son estructural y morfológicamente idénticas (fig. 153) a las descritas anteriormente. Su única diferencia con respecto a las de animales más jóvenes es cuantitativa: los lisosomas, cuerpos densos y cuerpos multivesiculares que se hallan en el citoplasma han aumentado; aparecen también figuras de mielina. Las células del tipo de axon corto no han variado en absoluto.

Algunos de los *detalles estructurales* de las células de los tipos A y B se presentan en la lámina XXXV: la existencia de vesículas de núcleo denso en el citoplasma, estructuras ciliares que emergen por espículas o prolongaciones finísimas, espículas de la membrana citoplasmática y cisternas submembrana es constante. Las estructuras ciliares y las cisternas submembrana se encuentran con más frecuencia que en las células de animales de 40 días y, sobre todo, de 12 días.

Las *prolongaciones* de estas células con respecto a las de los animales ya estudiados no difieren en ninguno de sus caracteres estructurales (figs. 168 a 171).

Las *sinapsis* sobre su soma son abundantes, predominando las de tipo simétrico. En las prolongaciones predominan las asimétricas. Un hecho no encontrado anteriormente es el representado por algu-

TABLA III  
SINAPSIS DEL NEUROPILO

A) CELULAS

TIPO	N.º	S.A.	S.S.	S. (T)	S.A. %	S.S. %	S/S
A	40	108	138	246	43,9	56,1	6,1
B	3	5	10	15	33,3	66,6	5,0
Axon corto	4	10	13	23	43,4	56,5	5,7
TOTAL	47	123	161	284	40,2	59,7	5,6

B) PROLONGACIONES

	S.A.	S.S.	S. (T)	S.A. %	S.S. %
1. De las células A y B.	42	18	60	70,0	30,0
2. Lejos del soma (A y B) con vesículas de núcleo denso.	78	25	103	75,7	24,2
3. Varicosas.	138	30	168	82,2	17,8
4. Subpiales.	138	30	168	82,2	17,8
5. Piramidales.	12	30	42	28,5	71,5

Tipo = Tipo celular.

N.º = Número de células estudiadas.

S.A. = Sinapsis asimétricas (I de Gray).

S.S. = Sinapsis simétricas (II de Gray).

S. (T) = Número total de sinapsis estudiadas.

S.A. % = Porcentaje de las sinapsis asimétricas sobre el total.

S.S. % = Porcentaje de las sinapsis simétricas sobre el total.

S/S = Media del número de sinapsis por soma celular.

nos botones axónicos que se hallan englobados por el plasma de la prolongación o de la célula con quien sinaptan. Tanto las células como sus prolongaciones presentan contactos desmosómicos con otras es-

estructuras, siendo muy frecuente el hallazgo del desmosoma asociado con una zona sináptica (figs. 162 a 167).

La distribución del tipo simétrico o asimétrico sobre soma y prolongaciones la presentamos en la tabla III.

## 2. PEQUEÑAS PIRÁMIDES DE LA CAPA II

Las pirámides de la capa II no presentan diferencias con las de animales más jóvenes. Las sinapsis son poco numerosas sobre su soma y grandes tallos dendríticos, y en su mayoría del tipo simétrico y muy poco densos electrónicamente.

## 3. CÉLULAS DE GLÍA

Sin diferencias con las de la capa molecular del gato de 40 días. Hallamos los astrocitos del tipo *fibroso* a todos los niveles, y en especial en la superficie externa de la corteza cerebral, tomando parte en la formación de la «limitans gliae». Los astrocitos *protoplásmicos* son típicos, y los *oligodendrocitos* inconfundibles. La escasez de estos elementos en la capa I de la sustancia gris cortical es muy relativa, en contra de la descripción hecha por algunos autores que han estudiado esta lámina cortical (ver Introducción). Los oligodendrocitos se encuentran muy a menudo apoyados sobre la mielina de un axon que la contiene, en cuyo caso no hay posibilidad de confusión.

## 4. MICROGLÍA

La existencia de este elemento en la capa I de la corteza cerebral del gato adulto, y especialmente en la de los gatos viejos, ha llamado nuestra atención por su abundancia, conduciéndonos a la realización de un estudio detallado de este elemento y de sus orígenes. Al estar este elemento muy relacionado con las estructuras vasculares, como iremos viendo en lo sucesivo, comenzamos por el estudio y descripción de estas últimas.

### a) Estructura de los capilares corticales

El estudio del ambiente perivascular, tanto pericitico como glial, nos ofrece los siguientes resultados:

La estructura de los capilares hallada por nosotros coincide con la descrita por otros autores en la corteza cerebral de diferentes especies animales y en distintos estadios evolutivos (*Farquhar y Hartmann, 1956; Maynard, 1957; Donahue y Pappas, 1961; Caley y Maxwell, 1970*).

La luz vascular puede estar ocupada o no por una célula sanguínea, o simplemente repleta de plasma (animales no perfundidos), que

aparece como material granular. En los casos en que el plano de sección es favorable, aparece el citoplasma y núcleo de una célula endotelial, este último haciendo protrusión en la luz vascular (lámina XXXVIII).

La célula endotelial tiene un citoplasma electrónicamente denso que bordea por completo la luz vascular. En su núcleo, la cromatina se dispone formando un reborde más denso por debajo de la membrana nucleoplasmática y en toda su extensión; a veces existen masas irregulares de cromatina dispersas por el nucleoplasma. En las figuras de la lámina XXXVIII se puede ver la forma del núcleo arriñonado, redondeado y en algunos casos muy irregular. El citoplasma, muy escaso en la zona perinuclear, se dispone en forma de procesos que van adelgazándose distalmente al núcleo y que tienden a rodear la luz vascular. A menudo las prolongaciones se superponen en la porción terminal, imbricándose íntimamente y presentando a este nivel uniones de tipo estrecho. El citoplasma endotelial presenta ribosomas dispersos, un retículo endoplásmico poco abundante, y algunas cisternas del mismo con ribosomas adheridos. El aparato de *Golgi* aparece ocasionalmente alojado en una lobulación nuclear. El hecho más notable del citoplasma endotelial es su aspecto vesiculoso, determinado por la presencia intracitoplásmica de numerosas vesículas de todo tamaño. Las mitocondrias son pequeñas, poco aparentes y de densidad media.

El endotelio del vaso se encuentra rodeado en toda su extensión por una membrana basal de 400-500 Å de espesor, bien definida y homogénea. La cobertura del endotelio por la membrana basal se halla interrumpida solamente en aquellos puntos en los cuales una fina prolongación del pericito entra en contacto directo con el endotelio vascular.

Por fuera de la membrana basal y en íntimo contacto con ella se encuentran los pies vasculares de la glía astrocítica, en forma de grandes pies («pies chupadores») terminales que abrazan el capilar (lámina XXXVIII) o en forma de láminas astrocitarias finas que bordean paralelamente el contorno capilar. Entre las láminas astrocitarias, las uniones del tipo «hendido» («gap junction») analizadas por *Brightman* y *Reese* (1969) son numerosas; en el plasma de las prolongaciones gliales se hallan las estructuras habituales, en especial gliofilamentos. Las prolongaciones astrocíticas crean alrededor del capilar una atmósfera glial cerrada. La atmósfera astrocítica sólo se ve interrumpida por la presencia relativamente frecuente, de pericitos (*Zimmerman*, 1923). La membrana basal que rodea al pericito deja de estar rodeada exclusivamente por la glía: el pericito a su vez, estará rodeado total o parcialmente por un ambiente astrocitario.

#### b) *Los pericitos y sus prolongaciones*

Los pericitos son células ovoides, pequeñas, cuyo diámetro máxi-

mo no suele superar el que ostenta la luz vascular y su pared. Están apoyados directamente sobre la membrana basal del capilar y separados de la glía y neuropilo por una membrana basal continuación de la anterior. Así, ésta última recubre la célula endotelial del capilar y el elemento comparsa, el pericito (lámina XXXVII).

Los pericitos son células con citoplasma electrónicamente denso que se destacan nítidamente del neuropilo y especialmente de las prolongaciones astrocitarias que los rodean, al menos en parte; sin embargo, si no fuera por la separación definida que establece la membrana basal, serían difíciles de distinguir de las células endoteliales del vaso. El núcleo, al igual que el de las células endoteliales, ocupa prácticamente todo el soma celular; la cromatina, muy oscura, se dispone en forma de ribete debajo de la membrana nuclear, y existen también masas cromáticas dispersas, y ocasionalmente un intento de organización nucleolar (fig. 173). El resto del nucleoplasma es denso y granuloso. La forma nuclear queda configurada por la de la célula siguiendo los accidentes de la membrana que la limita. Cuando aparece una ligera lobulación nuclear (fig. 172), se alojan en la invaginación nuclear orgánulos citoplasmáticos (aparato de *Golgi*, centriolo, mitocondrias y retículo endoplásmico). El citoplasma en sus rasgos fundamentales es muy similar al del endotelio vascular.

En las secciones perpendiculares al eje del capilar se ponen en evidencia las prolongaciones celulares del pericito: las próximas al cuerpo celular son gruesas y están completamente rodeadas de membrana basal (figs. 172 y 174). Las prolongaciones más alejadas del soma son más finas, y en su porción terminal aparecen en contacto directo con los procesos celulares de la célula endotelial, en zonas donde la membrana basal no existe.

La membrana basal que recubre las células endoteliales, esto es la del capilar propiamente dicho, está completamente rodeada por prolongaciones astrocíticas, generalmente de amplio tamaño. Sin embargo, la membrana basal del pericito, en su límite con el tejido nervioso, puede estar completamente rodeada por ambiente astrocítico, pero frecuentemente sólo algunas láminas gliales entran en contacto con ella, comprobándose cómo el resto de la misma está en aposición directa con finos procesos del neuropilo: dendritas, axones mielínicos o amielínicos (figs. 172, 173 y 174).

### c) *Células de microglía*

El estudio de la capa I de la corteza cerebral del gato adulto revela la existencia de células de microglía, que por su situación respecto de los vasos pueden dividirse en: microglía perivascular y microglía intersticial.

La microglía *perivascular* la forman células pequeñas, alargadas, cuyo núcleo y citoplasma son prácticamente idénticos a los de los

pericitos que acabamos de describir (lámina XXXIX). En la figura 188 aparece la célula de microglía descansando por su superficie próxima al vaso, sobre los pies terminales astrocitarios que componen la atmósfera glial del mismo. La superficie micróglica que no está en contacto con la glía perivascular está rodeada por procesos de diversa naturaleza (gliales y nerviosos). En esta microfotografía se observa una membrana basal, entre capilar y célula de microglía, de apariencia anómala e interdigitada por procesos astrocíticos; son evidentes la vacuolización, hipertrofia y aspecto heterogéneo de la membrana basal. En la figura 189 la célula de microglía aparece separada en uno de sus polos por una cuña astrocítica, y en el otro, por una delgadísima lámina glial (flechas) que se interpone entre la membrana basal del capilar y la membrana citoplásmica de la microglía. En la figura 190 se ve una célula típica de microglía perivascular relativamente distante del capilar, siendo de señalar su acompañamiento por un pie astrocitario que la abraza parcialmente, hecho que encontraremos en la microglía intersticial frecuentemente. La microglía perivascular no suele presentar inclusiones en su citoplasma, y si existen son pequeñas y densas (fig. 188).

En plena sustancia gris, alejadas de los vasos, aparece la microglía *intersticial*, unas veces rodeada de extensa atmósfera glial (figuras 191 a 196) y otras sin atmósfera glial aparente. Las células de microglía rodeadas de ambiente glial tienen un aspecto estructural semejante al de la microglía perivascular, diferenciándose de ella en su mayor tamaño, elongación marcada, presencia de inclusiones intracitoplásmicas grandes y de menor densidad y presencia de expansiones muy finas que penetran entre los elementos del neuropilo. Su núcleo es muy irregular, siguiendo los accidentes de la membrana protoplasmática y quedando sus contornos marcados por el alojamiento de las inclusiones. Las masas de cromatina se encuentran dispersas en el nucleoplasma y formando un ribete en la periferia nuclear. Son abundantes y grandes los procesos gliales que rodean a estas células, algunos de ellos paralelos a la superficie de elongación de las mismas y en directo contacto con ellas (Lámina XL). En la figura 191 aparece una célula de microglía cercana a un vaso, pero que por sus caracteres fundamentales la podemos considerar como de tipo intersticial, siendo de señalar la finísima prolongación que emite en dirección al parénquima nervioso.

Otras células de microglía intersticial se presentan completamente desprovistas de «atmósfera glial», pero el resto de sus caracteres sigue siendo el mismo. Los procesos microgliales que emite el protoplasma son finos cuando no poseen cuerpos de inclusión, pero aparecen engrosados cuando se cargan de ellos.

Existe otro tipo de microglía por su localización intralaminar: la microglía *subpial*. Está situada cerca de la superficie cortical y separada de ella por las prolongaciones astrocíticas que limitan aquélla

junto con la membrana basal. Este tipo es en todo comparable a la microglía perivascular. Una de sus superficies de elongación suele estar en contacto o en la proximidad de la «limitans gliae». Puede presentar inclusiones (pequeñas y densas) o estar libre de ellas.

## 5. NEUROPILO

Resulta muy interesante el estudio del neuropilo del gato adulto para, en lo posible, determinar su estructura definitiva. Lo dividiremos, al igual que lo hemos hecho en el gato de cuarenta días, en tres zonas (Lámina XLII).

### a) *Tercio externo*

La limitante glial está formada por prolongaciones de astrocitos fibrosos superpuestos o por células de la misma naturaleza, inmediatamente por debajo de la membrana basal. Por encima de la misma se observan los núcleos y procesos atenuados de la membrana pial. La barrera astrocítica es continua, de un grosor máximo de dos a cuatro micras, y presenta las típicas uniones «hendidadas» y algunos puntos de fusión intermembrana (figs. 203 y 216).

Inmediatamente por debajo de esta barrera astrocitaria encontramos terminaciones o prolongaciones seccionadas en todos sentidos cuya característica esencial es la de presentar numerosas sinapsis con predominio de las del tipo asimétrico, y la de ser (cuando se cortan según su eje mayor) varicosas, contener muchas mitocondrias, presentar un plasma de aspecto vesiculoso, siendo frecuente el hallazgo de vesículas de núcleo denso en su interior. Son de calibre aproximado de 0,8 a 1,5 micras. Otro componente subpial muy abundante son los botones axónicos, densos la mayoría, sinapsis axoespinosas y prolongaciones gliales ascendentes y axones mielínicos. La zona más profunda del tercio externo la forman prolongaciones ascendentes hacia la zona más superficial, que atraviesan esta porción de la molecular vertical u oblicuamente; no tienen espinas, son a menudo muy varicosas y reciben numerosas sinapsis en su mayoría del tipo asimétrico; también encontramos tallos dendríticos de células piramidales identificables por sus espinas (figs. 204, 205 y 206).

### b) *Tercio medio*

Los elementos son los mismos que los que componen esta zona en el gato de cuarenta días: dendritas de células piramidales con espinas, prolongaciones de células propias de la capa I gruesas y con vesículas de núcleo denso en su interior, sinapsis axoespinosas, axones que en algunas ocasiones aparecen en sección longitudinal y axones mielínicos en menor proporción que en el tercio externo y generalmente cortados según su eje mayor (figs. 207, 208 y 210). Aparecen en todo el espesor de la capa I prolongaciones muy oscuras,

recibiendo gran número de sinapsis y que llegan hasta la zona más externa. Probablemente representen prolongaciones de las células de *Cajal*. El problema de las células «oscuras» en el SNC no está resuelto (*Cammermeyer*, 1962; *Cohen y Pappas*, 1969).

c) *Tercio profundo*

Los mismos elementos que hallamos en la zona media componen el tercio profundo. Las prolongaciones, tanto de células piramidales como de células propias de la capa I son más gruesas, especialmente las primeras. Aparecen prolongaciones varicosas con gran cantidad de sinapsis del tipo asimétrico; son en todo idénticas a las halladas en el tercio externo y se disponen en paralelo con la superficie cortical. Otras imágenes obtenidas en el espesor del tercio profundo se presentan en las figuras 207, 208 y 210. Los axones mielínicos aparecen aquí seccionados transversalmente. Siguen siendo pequeños de unas 0,5-1,5 micras.

5. SINAPSIS Y UNIONES

a) *Desmosomas y contactos membrana-membrana*

Estos dos tipos de contacto son frecuentes. Los desmosomas, aparte de asociados con la zona sináptica, existen entre todo tipo de prolongaciones. Las uniones del tipo estrecho no han podido ser demostradas definitivamente, aparecen imágenes como las de las figuras 213 y 214, entre prolongaciones del mismo carácter y generalmente de grueso calibre que sugieren su existencia. Entre las láminas de glía astrocítica perivasculares y subpiales se establecen las uniones de tipo «hendido» (fig. 216).

b) *Sinapsis axoespinosas y axodendríticas*

Las axoespinosas permanecen invariables: son muy numerosas, de tipo asimétrico siempre, dando un mismo botón una sinapsis con varias zonas funcionales (3 ó 4) (figs. 211 y 217). Las axodendríticas no varían, y su proporción en cada elemento la mostramos en la Tabla III (figs. 210 y 215). A nuestro juicio, la sinapsis del gato adulto presenta una diferencia de tipo general con respecto a la de animales más jóvenes: las zonas funcionales que establece un mismo botón sobre el elemento postsináptico se ha incrementado.

c) *Sinapsis axo-axónicas*

Parecen existir sobre el tallo fino prebulbar (figs. 219 y 220), o bien sobre el mismo botón axónico, aparecen imágenes muy sugerentes con o sin especialización postsináptica (figs. 218, 221, 222 y 223).

Sobre la existencia de *sinapsis recíprocas* hemos de decir que los botones sinápticos que aparentan ser de este tipo suelen tener sus

membranas interdigitadas mediante sendas ondulaciones de las mismas. La polaridad recíproca de sus poblaciones vesiculares respectivas es en muchos casos clarísima. La especialización de las membranas puede aparecer como un espesamiento en una de ellas o en ambas, o la mayoría de las veces aparece situado inmediatamente submembrana por debajo del acúmulo vesicular inverso, un material granular y filamentosos más denso que constituye el halo o «fuzz» de la membrana postsináptica (figs. 224 a 228).

## DISCUSION

En años recientes se ha incrementado el número de trabajos que estudian el desarrollo ontogénico de la corteza cerebral en varias especies animales, incluido el hombre. Ello ha sido consecuencia del reconocimiento de que los estudios ontogénicos, enfocados desde los puntos de vista morfológico, bioquímico y electrofisiológico, pueden ser un medio analítico de gran valía para el estudio de la organización cortical.

Son pocos, sin embargo, los autores que dentro de dicho estudio prestan atención a las células de la capa I de la corteza cerebral y concretamente a las células de *Cajal*; hecho curioso si se tiene en cuenta que en la historia de su descubrimiento se planteó inicialmente por los autores clásicos (*Cajal*, *Retzius*, *Veratti*) la problemática de su evolución morfológica desde las formas «fetales» a las «adultas». Nuestros estudios, tanto con microscopía óptica como electrónica, demuestran la existencia a nivel de la capa I en los animales adultos de células de axon corto y de células de *Cajal*. En el gato de 5 y 9 días cuando todavía las células de *Cajal* no han alcanzado su morfología adulta, las células de axon corto están plenamente diferenciadas. Nuestros datos de microscopía óptica no muestran nada nuevo en relación con la clásica descripción de *Cajal*. A microscopía electrónica el soma de todas las células de axon corto presenta las mismas características, por lo que no es posible diferenciar los diversos subtipos de estas células que fueron magistralmente descritos por *Cajal*. Son más escasas en las zonas más superficiales de la capa I y se van haciendo más abundantes conforme penetramos en profundidad, para confundirse con el mismo tipo celular presente en la capa II y en las capas corticales más profundas. De acuerdo, pues, con *Cajal*, suponemos que tempranamente se diferencian las células de axon corto como un tipo celular distinto de las «células especiales». Discutiremos por ello más ampliamente la problemática de las «células especiales» o células de *Cajal* en relación con las cuales creemos haber demostrado algunos puntos de interés morfológicos que conllevan implicaciones funcionales importantes.

Los autores clásicos y la mayor parte de los contemporáneos que se han ocupado del estudio de la capa I de la corteza cerebral admiten la presencia de células de *Cajal* en la corteza cerebral del feto

y animal recién nacido. Las discrepancias aparecen cuando se trata de determinar su presencia en la corteza cerebral de los animales adultos (véase Introducción).

Nuestros resultados demuestran inequívocamente la presencia de células de *Cajal* en la corteza cerebral del animal adulto, hecho que está en clara contradicción con las afirmaciones de algunos autores. Por ejemplo, *Duckett* y *Pearse* (1968) identifican morfológica y enzimáticamente las células de *Cajal* desde el cuarto mes de vida fetal hasta poco después del nacimiento en la corteza cerebral del hombre. Según estos autores, el aspecto fetal se modifica en los cuatro últimos meses de vida intrauterina; las células de *Cajal* pierden sus colaterales dirigidas hacia la pía —sus «uniones» con la pía— y adheriéndose «a los vasos con su soma y procesos celulares penetran más profundamente en la capa molecular». *Duckett* y *Pearse* no demuestran las células de *Cajal* en el animal adulto y como consecuencia suponen que la emigración celular que ellos postulan finaliza con su transformación en células piramidales: «Debido a su tamaño, es tentador pensar en las células de *Cajal-Retzius* como posibles precursoras de las grandes piramidales tales como las células de *Betz*.»

La evolución de las «células especiales» desde la vida fetal hasta dos meses después del nacimiento había sido ya demostrada por *Cajal* (1899, 1900 y 1901) en trabajos que parecen ignorar los autores citados, ya que al comentarlos discurren en la forma siguiente: «*Cajal* incluso creía que sus fibras horizontales (las de las células especiales) podrían persistir indefinidamente, opinión discutida por *Conel*, quien, de acuerdo con la teoría de la neurona, no podía admitir la persistencia de fibras en ausencia de un cuerpo celular.» Tanto *Duckett* y *Pearse* como *Conel* ignoran al parecer que *Cajal* admitía la persistencia en el adulto de sus «células especiales» y como consecuencia también de las gruesas expansiones de las mismas presentes en la capa I. La débil argumentación de *Duckett* y *Pearse* se pone en evidencia al suponer que las células de *Cajal*, simplemente porque son grandes, al emigrar a las profundidades de la capa molecular, van a terminar transformándose en las grandes piramidales de *Betz*, ¡presentes en la quinta capa cerebral!

Nuestra demostración de la presencia de células de *Cajal* en el animal adulto está completamente de acuerdo con las ideas de *Cajal*. Sus «células especiales» pierden, efectivamente, su aspecto «fetal» en forma progresiva, al «reabsorberse» numerosas prolongaciones colaterales dirigidas hacia la pía y que proceden de los largos procesos celulares que discurren paralelamente a la superficie cortical. Sin embargo, todavía en el gato de 9 a 12 días pueden observarse algunas de estas prolongaciones que alcanzan la pía, si bien la mayoría quedan como colaterales dirigidas hacia la superficie cortical, pero que no llegan a alcanzar el nivel de la misma. Ha de tenerse en cuenta que, conforme veremos más adelante, podemos considerar

«madura» la corteza cerebral del gato a partir de 12 a 15 días de vida postnatal.

La mayor parte de los autores que se han ocupado del estudio de la capa I de la corteza cerebral eluden atacar decididamente el problema que plantean las células de *Cajal*, y en consecuencia, o bien hacen referencia de pasada a las mismas o dan por hechos establecidos las sugerencias o estudios incompletos de otros autores.

Entre los autores contemporáneos únicamente *Fox e Inmann* (1966) en el perro, *Marín Padila* (1970 a y b) en la corteza humana y *Baron y Gallego* (1971) en el conejo afirman, con pruebas objetivas, la persistencia de las células de *Cajal* en la corteza cerebral de los animales adultos. El grupo de *Purpura*, en varios trabajos publicados en los últimos años, mantiene una posición ambigua. En el gato, *Purpura y cols.* (1964) demuestran con claridad las células de *Cajal* en la corteza cerebral de animales de hasta tres días de edad con todas las características del aspecto «fetal», inmaduro, descrito por los autores clásicos. Como todos los autores que han estudiado este tipo celular en su fase «fetal», describen las colaterales dirigidas hacia la pía. A los ocho días del nacimiento escriben textualmente: «Las células de *Cajal-Retzius*, tal como aparecen en el estadio neonatal, no han podido ser vistas. Ocasionalmente se ven células bipolares con procesos orientados horizontalmente y células estrelladas, pero los procesos dendríticos de estas células no poseen espinas». Como se deduce de su texto, *Purpura y cols.*, aunque no lo admiten, comprueban la presencia de las células de *Cajal-Retzius* a los 8 días: son esas células bipolares cuyos procesos han perdido ya las colaterales dirigidas hacia la pía. El que sus procesos no presenten espinas es precisamente una característica de las células de *Cajal*; la falta de razonamiento lógico por parte de estos autores es la única explicación ante su asombro por la ausencia de las mismas. Una vez descartadas las células de *Cajal-Retzius* en el gato de 8 días en la forma que acabamos de describir, *Purpura y cols.* no las mencionan siquiera en el gato de 14 y 21 días de vida postnatal. Si bien estos autores eluden definirse acerca de la desaparición de las células de *Cajal* en los animales de 8, 14 y 21 días, en los cuales, según ellos, no logran demostrarlas, su descripción en la corteza cerebral del animal de tres días hace suponer que las consideran precursoras de otros tipos celulares, ya que en la capa molecular de estos animales describen «otros tipos celulares, probablemente células de *Cajal-Retzius* modificadas...». Estos otros tipos celulares incluyen: «1/ neuronas con su soma celular en la superficie pial y 2/ «stellate» cells, células triangulares de *Cajal* de axon corto».

La demostración evidente de las células de *Cajal* que hemos hecho en este trabajo en la corteza cerebral del animal adulto nos exige de comentar otros trabajos como los arriba citados. Ahora bien, dada la importancia de la presencia de una población neuronal en la capa I para la interpretación de datos funcionales obtenidos por

métodos electrofisiológicos, debe quedar bien sentado que los trabajos recientes en los que se ignoran las células de *Cajal* han de ser considerados con reservas en lo que se refiere a interpretación de posibles conexiones intercelulares analizadas con microscopía de luz y electrónica.

La explicación probable del fracaso de los autores mencionados en demostrar la población neuronal de la capa I de la corteza cerebral quizá radique en las dificultades técnicas de impregnación de estas células en el animal adulto y su escaso número si se comparan con otros tipos celulares de la corteza, en especial con las células piramidales. No es de extrañar que el método de *Golgi*, inconstante y que sólo tiñe algunos elementos celulares, haya fracasado en manos de autores que no han insistido suficientemente en su empleo. Es más explicable el no encontrar las células de *Cajal* en estudios de microscopía electrónica, dada la escasez celular presente, el pequeño tamaño de los bloques y la finura de las secciones.

Entre las neuronas identificadas en la capa I, tanto con métodos ópticos como con microscopía electrónica hemos podido distinguir las células de *Cajal* por un lado (A y B en los estudios con microscopía electrónica) y por otro las células de axon corto que igualmente habían sido descritas por *Cajal*. Ahora bien, en ninguna de las células de *Cajal* identificadas como tales, hemos podido demostrar un axon: el valor morfológico de todos los procesos o expansiones celulares ha sido siempre el mismo. Esta observación está en contradicción con los estudios de diversos autores, pero está de acuerdo con la primera descripción de *Cajal* hecha al descubrimiento de este tipo celular.

Para *Cajal* —en su primer trabajo sobre sus «células especiales»—, todos los procesos celulares tendrían los mismos caracteres morfológicos. Es lógico suponer que esta peculiaridad llamara la atención de *Cajal*. Dentro de su concepción morfológica y funcional de la neurona, y, en consecuencia, de la forma de conexiarse unas células nerviosas con otras, tal peculiaridad no tendría otra explicación que suponer que los procesos celulares tenían todos el carácter funcional de axon; que sus células especiales poseían varios axones. De esta forma admitía para las mismas una disposición análoga a la que había descrito para los grandes espongioblastos de la retina de las aves, esto es, contactos con fibras presinápticas a nivel del cuerpo celular y propagación centrífuga del impulso por todos los procesos celulares, esto es, «axones». Era obligado para los histólogos de la época, una vez establecida la teoría neuronal, el definir morfológicamente dendritas y axon en cada elemento nervioso descubierto. En esta línea de pensamiento trabajaron *Retzius* y *Veratti*, los cuales, más defensores de la teoría de la neurona que el propio *Cajal*, llegaron a la conclusión de que sólo una de las prolongaciones tenía carácter de axon. *Veratti* trabajó con la corteza cerebral del conejo

y *Retzius* con la humana, de fetos. En las figuras de *Veratti* (figs. 2, 4, 5 y 6 de su trabajo de 1897) o bien no se diferencia morfológicamente la «nervenforsatz» de las «pseudonervenforsatz» o sus dibujos no son muy convincentes. Incluso la forma de denominación de los procesos celulares de las células de *Cajal*, «nervenforsatz» y «pseudonervenforsatz» implica dificultad en diferenciarlas.

En numerosas células de *Cajal* estudiadas en el conejo, mismo animal utilizado por *Veratti*, nunca hemos podido demostrar el axon, siendo de señalar que alguna de nuestras microfotografías reproducen células idénticas a las dibujadas por *Veratti*, especialmente las de tipo bipolar.

Las comunicaciones de *Veratti* y *Retzius* convencieron a *Cajal*, el cual rectificó sus descripciones anteriores admitiendo que uno de los procesos celulares es en realidad un axon. A partir de los trabajos de *Cajal* nadie ha puesto en duda la existencia del axon, pero ningún autor tampoco se ha preocupado en discutir de nuevo el problema, excluyendo quizá a *Meller y cols.* (1968, a y b). Estos autores, al estudiar la evolución celular en la corteza cerebral de los ratones recién nacidos, se plantean el momento de aparición de axon y dendritas en las células de *Cajal*. Según ellos, en la primera semana después del nacimiento las células de *Cajal* tienen aspecto bipolar sin que pueda ser diferenciado el axon y las dendritas; es a partir del séptimo día cuando comenzaría la diferenciación. Nuestros resultados, volvemos a repetir, no nos permiten afirmar la existencia de axon en este tipo celular, sin que las pruebas aducidas por *Meller y cols.* nos puedan convencer de lo contrario, ya que en su trabajo aparecen contradicciones evidentes: al describir células con diferenciación en axon y dendritas presentan como ejemplo la figura 1 A y B. Pero la figura 1 A pertenece a la corteza cerebral del ratón de UN DIA, y la figura 1 B, a la corteza cerebral del ratón de SEIS DIAS. Según sus propias afirmaciones, en este período de desarrollo las células son exclusivamente bipolares, sin diferenciación. La presencia de células nerviosas desprovistas de axon en una capa plexiforme no es hallazgo extraordinario. Las células amacrinias de la capa plexiforme interna de la retina, según demostró *Cajal* (1892), inicialmente carecen de axon, hecho comprobado en años recientes mediante estudios con microscopía electrónica. En los estudios comparativos entre estos tipos celulares y las células de *Cajal* sorprende su similitud morfológica, así como su disposición en plexos perpendiculares a las vías de neuronas de axon largo a nivel de ambas capas plexiformes, tanto en el conejo (*Baron y Gallego*, 1971) como en el gato, según pruebas aportadas en el presente estudio.

Recientemente se ha demostrado la existencia de neuronas desprovistas de axon a nivel de otras capas plexiformes: *Gallego* (1964, 65, 71) ha descrito a nivel de la capa plexiforme externa en la retina de animales con visión escotópica un tipo especial de célula horizontal desprovisto de axon, que considera ligado a la función de

los bastones en las retinas pobres en conos. En la capa plexiforme externa del bulbo olfativo han sido descritas sinapsis recíprocas (*Hinds*, 1970) análogas a las descubiertas en la plexiforme interna de la retina por *Kidd* (1962) posiblemente pertenecientes a las células desprovistas de axon que han sido estudiadas por *Gallego* (1971). Por otra parte, *Sobrino* (1970), en la vía acústica y a nivel del ganglio ventral, ha descrito en la capa molecular neuronas desprovistas de axon, que habían sido entrevistadas por *Cajal*.

Para nosotros es evidente que las células de *Cajal*, tal como habían mantenido los autores clásicos, evolucionan desde una forma «fetal» a la forma «adulta», pero persisten en esta forma en la corteza cerebral madura: ni se reabsorben, ni se transforman en otros tipos celulares, bien sean piramidales o células de axon corto. Es por ello interesante determinar el momento en el cual las células de *Cajal* han alcanzado su forma definitiva, su madurez neuronal. El resultado de nuestro trabajo parece demostrar que las células de *Cajal* «maduran» al mismo tiempo que la corteza cerebral en conjunto, e inclusive que alcanzan su madurez en primer lugar tal como sugiere *Marín Padilla* para la capa I de la corteza cerebral humana (1970 a). Para nosotros la morfología de las células de *Cajal* estudiada con microscopía óptica no se modifica sustancialmente a partir del 15 día de vida postnatal. La «maduración» morfológica de dichas células termina entre el 12 y 15 días. El desarrollo ulterior de su máxima capacidad funcional —hoy desconocida— puede continuar posteriormente como se deduce del mayor número de sinapsis, demostrables con microscopía electrónica, que hemos detectado en el animal de 40 días y adulto.

El grado de madurez cerebral en una especie animal puede establecerse sobre la base de correlacionar el desarrollo de los módulos funcionales y de comportamiento con los cambios morfológicos, bioquímicos y neurofisiológicos que pueden detectarse a nivel cerebral (*Himwich*, 1962). Cuando se estudian diversas especies de mamíferos debe tenerse en cuenta que existen marcadas diferencias en el curso evolutivo de su maduración cerebral, por lo que no es lícito extrapolar datos obtenidos en la misma edad postnatal entre animales de diversas especies.

El estado de desarrollo cerebral se refleja en diferencias de comportamiento estudiadas desde el nacimiento de distintos animales. Los mamíferos a este respecto pueden ser divididos en dos grandes grupos: 1) Animales que nacen relativamente maduros y pueden servirse por sí solos en su relación con el medio ambiente (cobaya, caballo, cabra, oveja y vaca). y 2) Animales que nacen relativamente inmaduros y requieren cuidados postnatales por parte de los padres para sobrevivir (ratón, rata, conejo, perro, gato y hombre). En el estudio clásico realizado por *Tilnev* y *Kuhie* se analiza la aparición sucesiva de funciones cerebrales hasta el desarrollo total del módulo de comportamiento de la especie correspondiente. En sus gráficas

se comprueba que el cobaya a partir del segundo día del nacimiento presenta ya completamente desarrollada su «stream of behaviour». No sucede lo mismo ni en el gato ni en la rata, estos animales sólo terminan de adquirir las reacciones de comportamiento más complejas (escape, defensa, carrera) hacia la edad de 27 a 30 días después del nacimiento. En estrecha correspondencia con estos datos de compleción de sus funciones cerebrales se ha demostrado que el cobaya tiene ya desarrollada su forma adulta de EEG al nacer, mientras que tanto la rata como el gato sólo adquieren la forma adulta de EEG a partir de 12 a 15 días después del nacimiento. Puede establecerse una relación entre la aparición en el tiempo de las diversas funciones cerebrales y la evolución anatómica bioquímica y neurofisiológica de los cerebros en las diversas especies animales.

La síntesis de los tres parámetros, morfológico, bioquímico y neurofisiológico, se trató de llevar a cabo a través de la discusión del llamado «período crítico» (*Flexner, 1955*), esto es, el momento en el cual las neuronas se acercan a su madurez estimada por su volumen nuclear, presencia de sustancia de NISSL y desarrollo de sus procesos dendríticos, acompañados estos cambios morfológicos de un aumento rápido de enzimas respiratorias y acúmulo de proteínas y aminoácidos por encima del 50 por 100 del nivel que alcanzan en el adulto. En correspondencia con los datos funcionales de comportamiento, que indican completa madurez al nacer, el cobaya tiene un EEG adulto a los 44-46 días de vida intrauterina y presenta también al nacer tanto polarización cortical como el fenómeno de la depresión propagada. En la rata el EEG aparece entre 4 y 10 días después del nacimiento, se acumulan rápidamente enzimas respiratorias y glutámico decarboxilasa, así como proteínas y aminoácidos. El crecimiento dendrítico se acelera después del 6.º día y se completa rápidamente a partir del 12. En este momento el EEG tiene los caracteres de la corteza del animal adulto. El ratón presenta un «período crítico» similar a la rata: el EEG aparece claramente detectable entre el 6.º y 9.º día, haciéndose de tipo adulto a partir del día 12. El crecimiento dendrítico se acelera entre el 8.º y el 15.º.

En el conejo las etapas de desarrollo cerebral parecen mostrar un tipo intermedio entre los animales mencionados y otros mamíferos más superiores: si bien los caracteres anatómicos del conejo de 10 a 15 días están suficientemente evolucionados y sirven ya un EEG de tipo adulto, su contenido en DNA no se completa hasta el nivel del cerebro adulto más que hacia el 30º día después del nacimiento. En el perro, gato y hombre es difícil definir el «período crítico». En el perro, el EEG espontáneo de tipo adulto sólo se manifiesta hacia el 28 día de vida postnatal, el cual va precedido, ya en los animales recién nacidos, de respuestas electrocorticales de gran complejidad (*Purpura y cols., 1964*), lo que indica desarrollo de sistemas sinápticos operativos a nivel del neuropilo superficial, esto es, en la capa I de la corteza cerebral. La corteza cerebral del gato recién na-

cido muestra ya la respuesta cortical directa (RCD) (*Purpura* y cols., 1960), respuestas transcallosas (*Grafstein*, 1963) y respuestas evocadas a estímulos aferentes (*Scherrer* y *Oeconomos*, 1955; *Marty*, 1962).

Para el análisis funcional de la capa I es de especial interés la respuesta cortical directa, ya que toda la evidencia que poseemos apunta hacia su producción en dicha capa con exclusión de la participación de elementos celulares situados en capas más profundas de la corteza cerebral. *Purpura* y cols. (1964) estudiaron la RCD en gatos en desarrollo comprobando su presencia desde el nacimiento en forma de la negatividad superficial descrita inicialmente por *Adrian* (1936), de duración variable según la distancia del electrodo de registro al de estímulo cortical y de magnitud también variable según la intensidad del estímulo aplicado. Su estudio se refiere a animales comprendidos entre 8 horas y 9 días de vida postnatal, así como a animales de 5 y 6 semanas de edad. La forma del potencial que se considera de tipo adulto está claramente establecida en los animales de 5 y 6 semanas. Ahora bien, en los registros de *Purpura* y cols. parece ya configurarse la forma adulta de respuesta en el animal de 9 días. Es de suponer que antes de las cinco semanas, posiblemente hacia las dos semanas después del nacimiento, la RCD sea ya de tipo adulto, de acuerdo con los datos de maduración de la corteza cerebral mencionados más arriba. En la actualidad procedemos a un estudio sistemático de la RCD en animales de edades comprendidas entre los 5 y los 20 días de edad para comprobar tal hipótesis.

La RCD descrita por *Adrian* (1936) se provoca con intensidades pequeñas de estímulo eléctrico y se registra a distancias cortas del electrodo estimulador, hasta unos 5 milímetros en el recién nacido y de 8 a 10 milímetros en el adulto. La zona de mayor acción de una corriente débil aplicada a la superficie cortical, siguiendo la técnica utilizada para provocar la RCD, está indudablemente limitada a las zonas corticales más superficiales según la opinión inicial de *Adrian* y con la que están de acuerdo todos los autores posteriores.

*Chang* (1951), *Purpura* y *Grundfest* (1956), *Purpura* y cols. (1964) admiten que dicho estímulo da lugar a actividad conducida en axones orientados horizontalmente y a potenciales postsinápticos originados en las dendritas apicales. Según el grupo de *Purpura*, la larga duración de la RCD (hasta 20 milisegundos) registrada a distancia del punto estimulado es debida a la sumación de potenciales excitadores postsinápticos en una zona densamente poblada con elementos dendríticos. Del estudio de la distribución de potenciales en un conductor de volumen se deduce que cualquier cambio eléctrico registrado en la superficie del conductor (en este caso la corteza cerebral) se debe a la disposición ordenada y simétrica de algún tipo de células dentro de la corteza. *Mountcastle* y *Poggio* (1968), de acuerdo con la mayoría de los autores actuales, apuntan a las célu-

las piramidales corticales como los candidatos más calificados para producir la RCD. Deberíamos añadir, por su disposición paralela y también perpendicular a la superficie cortical, todo el sistema de vías aferentes durante su curso ascendente en corteza, antes de transformarse en paralelas a la superficie cortical a nivel de los neuropilos de la sustancia gris. Las células piramidales están perfectamente ordenadas con su eje mayor perpendicular a la superficie cortical. Cualquier modificación de su potencial de membrana, en dendritas o soma, puede dar lugar a «sumideros» o «fuentes» de corriente que originan cambios abiertos de flujo detectables en la superficie de la corteza. Las células de axon corto no parece que puedan contribuir a cambios eléctricos registrables en la superficie cortical, ya que la orientación de sus dendritas (esfera con el soma en el centro) y disposición multidireccional de los axones tiende a crear campos cerrados de flujo de corriente que «vistos» a gran distancia, desde la superficie cortical, no proyectarán ninguna diferencia de potencial.

La interpretación mencionada acerca del origen de la RCD, acorde con los dogmas actuales, es criticable desde diversos puntos de vista. Por un lado, la carencia de información morfológica elimina en la discusión de los resultados obtenidos a las células de *Cajal*. Hemos visto en este trabajo que las células de *Cajal* existen tanto en el recién nacido como en el adulto. Estas células se encuentran situadas con una disposición de sus procesos celulares principalmente paralela a la superficie cortical; su activación tan cerca de la misma ha de ser detectada como cambios eléctricos en un electrodo situado en las condiciones en las que se obtiene la RCD. Tan lógica es esta suposición que buscando la interpretación de la RCD ya *Eccles* (1963) señalaba que podrían ser responsables de ella las células de *Cajal*, sugerencia que fue posteriormente abandonada ante la suposición generalmente admitida de que dichas células en el adulto se han reabsorbido o transformado en otros elementos celulares de la corteza. Por otra parte no existen diferencias claras entre las respuestas lentas (la RCD) del recién nacido y las de los animales con corteza en progresivo desarrollo. Si la RCD fuese debida a la suma de los potenciales excitadores postsinápticos, tal como se ha señalado e insistido experimentalmente por *Creutzfeld y cols.* (1966), parece lógico deducir que ha de ir aumentando paulatinamente, en forma progresiva, conforme aumenta con la maduración cerebral el número de sinapsis axodendríticas. Como sabemos, ello no sucede. Aún hay más, la interpretación de la RCD en los términos señalados más arriba supone respuestas de las fibras aferentes, células de axon corto y, por supuesto, piramidales de tipo convencional. Sin embargo, se ha prestado poca atención, quizá por su «heterodoxia», a las respuestas obtenidas con microelectrodos y registro intracelular de las llamadas «idle cells».

*Phillips* (1956), estudiando la corteza motora y somatosensitiva

del cerebro del gato mediante la técnica de registro intracelular con microelectrodos, descubrió células que presentan potenciales de membrana del orden de 90 milivoltios, pero que no parecían responder a la estimulación de la corteza cerebral, tálamo o a estímulos antidrómicos en la vía piramidal. Estas células que por su respuesta eléctrica «heterodoxa» o peculiar *Phillips* denominó «idle cells» fueron posteriormente estudiadas por varios autores (*Martin y Branch*, 1958; *Li*, 1959; *Sugaya y cols.*, 1964), pero fueron *Karahashi y Goldring* (1966) los que pudieron determinar un hecho de importancia y al que según nuestra opinión no se ha prestado suficiente atención: durante la evocación repetida de la RCD, así como durante la estimulación a frecuencias de 6-60 impulsos por segundo de los núcleos talámicos de la línea media y posteroventral, las «idle cells» presentaban una *respuesta despolarizante lenta* que llega a ser de unos 20 milivoltios, que se suma y persiste por uno o más segundos después de la supresión del estímulo, sin dar lugar a descargas celulares (spikes). La respuesta despolarizante lenta obtenida de las «idle cells» corresponde en configuración a las variaciones negativas superficiales evocadas (la RCD). Si el estímulo no es capaz de producir la RCD, tampoco aparecen en los registros intracelulares de las «idle cells» las respuestas despolarizantes.

*Karahashi y Goldring* demostraron igualmente que la depresión cortical propagada va acompañada de una despolarización más acentuada de las «idle cells», del orden de 20-40 milivoltios. Durante la depresión cortical propagada, el estímulo cortical no produce ni RCD ni la respuesta despolarizante lenta de las «idle cells». Ellos discuten la posible identidad de las «idle cells», considerando que podrían ser teóricamente: neuroglia, neuronas incapaces de dar respuestas todo o nada o simplemente las dendritas de las grandes células piramidales. Los argumentos en favor de cada uno de estos «candidatos» son tan débiles que según los mismos autores la «identificación positiva de las «idle cells» debe esperar verificación histológica mediante el desarrollo de una técnica adecuada de marcaje».

Nos encontramos de nuevo, lo mismo que al discutir la RCD, ante discusiones acerca del origen de fenómenos bioeléctricos en la corteza sin tener presente la estructura funcional de la misma: por las mismas razones que anteriormente mencionábamos no se ha tenido en consideración a las células de *Cajal* como las posibles «idle cells» y, sin embargo, son muchos los argumentos en favor de esta interpretación. En primer lugar, células desprovistas de axon o a lo sumo provistas de procesos «axonoides», es difícil que den respuesta todo o nada, dominan en ellas las variaciones lentas de membrana tal como se ha demostrado en la retina para las células similares por *Svaetichin y cols.* (1961), *Kaneko* (1970) y *Werblin y Dowling* (1969); las células de *Cajal*, pues, son un candidato muy calificado para su identificación con las «idle cells» por su tipo teóricamente posible de respuesta eléctrica.

En segundo lugar se ha prestado poca atención también al hecho de que respuestas de «idle cells» se obtengan a 70 micras y 150 micras por debajo de la pía (ver figs. 5 y 1 del trabajo de *Karahashi* y *Goldring*, 1966), esto es, en plena capa I, la cual, según algunos morfólogos y fisiólogos actuales, carece de elementos celulares. Más lógico es suponer que las «idle cells» son neuronas peculiares de la corteza, del tipo de las células de *Cajal*, que tratar de identificarlas con neuroglia o con dendritas de células piramidales. Las células de neuroglia son pequeñas y parece poco probable que puedan ser empaladas fácilmente con el microelectrodo sobre todo más fácilmente que las células piramidales como es el caso de las «idle cells». *Bullcock* (1959) ha sugerido que las células de axon corto podrían responder de la forma como lo hacen las «idle cells», pero sería paradójico que células tan pequeñas fueran empaladas fácilmente por el microelectrodo; el mismo argumento podría aplicarse al posible origen de respuestas lentas en las dendritas de las células piramidales.

Dados los hallazgos morfológicos obtenidos en el presente estudio y la discusión acerca del origen de los potenciales bioeléctricos lentos evocados en la corteza cerebral según la argumentación precedente, es admisible la hipótesis de que las células de *Cajal*:

- a) Pueden ser las «idle cells» de *Phillips*.
- b) Pueden ser responsables en gran parte de los componentes lentos de los potenciales corticales registrados en la RCD.
- c) La depresión cortical propagada de *Leao*, confinada a la zona más superficial de la corteza cerebral, podría tener como substrato la despolarización profunda del plexo paralelo a la superficie cortical formado por las células de *Cajal*.

Estas hipótesis deben ser confirmadas experimentalmente.

Es de señalar que tanto los datos morfológicos descritos en este trabajo como la argumentación antes desarrollada abogan en favor de la tesis defendida por *Gallego* (1964, 65 y 71) de la existencia en el sistema nervioso central de un tipo de neuronas, que por sus caracteres morfológicos y respuestas bioeléctricas, lentas, de hiper o despolarización, y por su disposición en plexos a nivel de los neuropilos son distintas de las neuronas de axon corto y de las neuronas de axon largo, los dos tipos neuronales básicos según se considera desde los trabajos de *Golgi* y de *Cajal*. A este grupo neuronal pertenecerían las amacrinas de la capa plexiforme interna de la retina, las horizontales con «axon» y horizontales sin axon de las retinas ricas en bastones, los granos externos e internos del bulbo olfatorio, las células amacrinas de la capa plexiforme externa del bulbo olfativo, los granos del ganglio ventral del acústico y las células de *Cajal*. A nivel de los neuropilos en las grandes vías senso-

riales es de prever la descripción de nuevos elementos de este tipo. Las horizontales y amacrinas de la retina, por su peculiar comportamiento electrofisiológico, han sido denominadas células «controladoras» por *Svaetichin*. Nos parece más adecuado designar tentativamente con el nombre de «moduladoras» a los tipos celulares mencionados más arriba, tal como se hace en nuestro laboratorio, a expensas de que los estudios electrofisiológicos confirmen las hipótesis que han sido expuestas. Desde un punto de vista estrictamente morfológico, las células carentes de axon, los tipos celulares mencionados pueden ser consideradas como células «amacrinas».

No es fácil enfrentarse con la discusión de las conexiones sinápticas a nivel de la capa I de la corteza cerebral. El trabajo inicial de *Lorente de No* sobre arquitectura funcional de la corteza cerebral fue seguido de algunos estudios, poco numerosos si se tiene en cuenta el interés del problema, y la cantidad de trabajos orientados funcionalmente que se han realizado desde entonces. A pesar de esta falta de información es de resaltar el gran número de modelos matemáticos que han sido desarrollados en un intento de aclarar el problema del funcionamiento cortical. Las conexiones sinápticas de la corteza en general han sido estudiadas, sin embargo, por algunos autores modernos: *Gray* (1959, 61); *Van der Loos* (1963); *Westrum* (1966); *Van der Loos* (1964); *Lund y Lund* (1970); *Colonnier* (1968).

Los resultados de nuestro estudio, comentados anteriormente, ponen de nuevo en evidencia la falta de información morfológica con que se han venido llevando a cabo, tanto las interpretaciones funcionales como el desarrollo de modelos. La presencia en el animal adulto de un sistema neuronal bien definido, desarrollado y organizado a nivel de la capa I, ha de hacernos modificar nuestros conceptos hipotéticos sobre el funcionamiento de la corteza cerebral. El concepto de organización columnar desarrollado por *Mountcastle* sobre datos funcionales tenía sus antecedentes en los estudios de *Lorente de No*, ya que, según este autor, las cadenas verticales de neuronas de la corteza inervadas por una fibra aferente podrían ser consideradas como las unidades funcionales más simples de la organización cortical. Esta hipótesis de *Lorente de No* requiere el estudio preciso del «cilindro» cortical inervado por una fibra aferente y de las conexiones transversales a distintos niveles de las capas de neuronas corticales.

*O'Leary* (1941) señaló ya las diferencias que podían existir entre diferentes especies animales en la distribución horizontal de las fibras aferentes corticales: en el gato, por ejemplo, son mucho más amplias que en el conejo, lo que indicaría dentro de la hipótesis «columnar» la existencia en el gato de «unidades funcionales» de un soporte estructural más amplio. *Scholl* (1953) hizo especial hincapié, después de analizar las fibras corticales aferentes y su distribución a nivel de las varias capas corticales, en que la consecuencia

de una organización sobre «unidades elementales corticales» funcionales requería admitir una localización precisa cortical, lo que era insostenible, ya que existían demasiadas células con conexiones entre sí muy numerosas y diversas. El mismo *Lorente de No* especifica el haber omitido en sus esquemas, para no complicarlos, gran número de colaterales de los axones aferentes, lo cual inducía a pensar que la distribución intracortical de las aferentes específicas era más bien limitada. Pero, por el contrario, *Ruiz Marcos y Valverde* (1970) demuestran recientemente que en el ratón la arborización terminal de las aferentes específicas alcanza extensiones de hasta 400 micras, confirmando estudios anteriores de *Polyakov* (1961) y *O'Leary* (1941), los que habían señalado la distribución en la sustancia gris de fibras aferentes de áreas del orden de las 600 micras de diámetro e incluso mayores.

Las secciones tangenciales para el estudio de la organización cortical puede dar imágenes de las posibles conexiones transversales o áreas horizontales a diversos niveles de la sustancia gris cortical (*Colonnier*, 1966; *Von Bonnin y Mehler*, 1971). La distribución horizontal de las dendritas de las piramidales según *Colonnier* no excede 0,5 mm., excepto en la capa I, donde puede alcanzar 1-2 mm. De sus estudios deduce que las columnas no son entidades anatómicas morfológicamente separadas, sino que las columnas funcionales resultan del estímulo del campo de la vía aferente acoplado con la inhibición de las unidades vecinas, probablemente mediada por las células de axon corto en cesta de la capa IV. El papel inhibitorio de las células en cesta ha sido sugerido por *Marín Padilla* (1970 b).

Para *Van der Loos* (1965), la propagación transversal de las dendritas basilares en el conejo alcanza diámetros de 600 micras, y según sus observaciones insiste en que parecen hacerse más amplias las dendritas colaterales basales según avanzan en evolución la corteza cerebral. Ello parece postular un mayor grado de interacción transversal. Pero donde, dados los datos morfológicos, puede postularse un mayor grado de interacción transversal es precisamente a nivel de la capa I. Por un lado es grande el número de fibras aferentes que discurren paralelamente a la superficie cortical y *orientadas en todas direcciones*; por otro, los penachos dendríticos de las células piramidales subyacentes se entremezclan profusamente a nivel de dicha capa, pero el argumento más sólido en favor de un alto grado de interacción transversal lo proporciona la presencia de las células de *Cajal*, con sus procesos celulares orientados en un plano principal paralelo a la superficie de la corteza, perpendicular por lo tanto, al eje longitudinal de las células piramidales, y si éstas se organizan funcionalmente en columnas, los datos morfológicos que aportamos hacen suponer una gran interacción funcional transversal entre ellas a nivel de la capa I, confiriendo a esta capa un posible papel integrador de gran interés teórico.

La microscopía óptica no puede proporcionarnos resultados fidedignos para el análisis de la organización sináptica intercelular, pero nos ha proporcionado la prueba evidente de la existencia en el animal adulto de dos tipos de neuronas: células de *Cajal* y axon corto, a nivel de la capa I. Ello ha de ser tenido en cuenta para la interpretación de los contactos sinápticos en ella, que han sido estudiados con microscopía electrónica, lo que no ha ocurrido en forma específica hasta el presente momento. El estudio moderno más completo y reciente sobre sinaptología de la corteza cerebral, en especial de la capa I del cerebro de gato es el de *Jones y Powell* (1970, a, b, c, d y e). Estos autores, como mencionábamos al comienzo de este estudio, no tienen en consideración neuronas de ningún tipo en su estudio de las sinapsis a nivel de la misma. En el cuarto más superficial de la capa I describen estos autores axones de pequeño diámetro, mielínicos, situados inmediatamente por debajo de la línea astrocitaria subpial que discurren en un plexo formado por dendritas finas y terminales axónicas entremezcladas con axones amielínicos y procesos gliales, aspecto morfológico con el que coincidimos. Todas las expansiones celulares que consideran de tipo dendrítico deben proceder, según *Jones y Powell*, de células situadas más profundamente, especialmente de células piramidales, ya que según ellos «esta parte superficial carece de somas neuronales».

La presencia en nuestras preparaciones estudiadas con microscopía electrónica, de somas neuronales identificables como células de *Cajal* y, en menor proporción, como células de axon corto, introduce un nuevo elemento en la interpretación de la organización sináptica de la capa I. Es de señalar que en el gato de 40 días, cuando la corteza ha alcanzado ya un pleno desarrollo, deducido de los datos de comportamiento y electrofisiológicos, las sinapsis axosomáticas sobre las células de *Cajal* son más numerosas que en el gato en período de maduración (hasta los 15 días después del nacimiento), predominando ligeramente las sinapsis simétricas (¿inhibidoras?) sobre las asimétricas (¿excitadoras?). El citoplasma de las células de *Cajal* parece enriquecerse, con la edad, en lisosomas, cuerpos densos, mitocondrias.

Nosotros hemos podido distinguir en el tercio superior de la capa I, por un lado, axones y, por otro, dos tipos de expansiones celulares: dendritas de piramidales y procesos celulares probablemente correspondientes a los de las células de *Cajal*, aunque no podemos excluir por completo la posibilidad de que sean dendritas de las células de axon corto. Son características este tipo de prolongaciones de células no piramidales: se seccionan con frecuencia longitudinalmente en cortes perpendiculares a la superficie de la corteza, lo que indica que presentan un trayecto ascendente hacia la pía; inmediatamente por debajo de la «limitans gliae» se comprueban «procesos celulares» gruesos que bien podrían ser las terminaciones varicosas de las colaterales ascendentes de los largos

procesos celulares de las células de *Cajal*, demostradas con microscopía electrónica en los animales de 40 días y adultos. Con microscopía óptica, estos procesos ascendentes aparecen con más profusión en los animales jóvenes. Se diferencian de las dendritas piramidales por su mayor densidad en el trayecto no varicoso, carecer de espinas, presentar varicosidades y agrupaciones mitocondriales y cuerpos multivesiculares, presentando frecuentemente vesículas de núcleo denso. Se comprueban sobre tales procesos celulares gran número de sinapsis en gran proporción del tipo asimétrico (¿excitadoras?). En la misma zona aparecen finos terminales espinosos provistos de sinapsis del tipo asimétrico invariablemente. Si bien, como sucede frecuentemente, no podemos distinguir el aparato «espinular», las espinas dendríticas son diferenciables, aparte de por su tamaño, por carecer de neurotúbulos, ribosomas y mitocondrias.

Según *Jones y Powell* no se ven sinapsis simétricas a nivel del tercio superior de la capa I. Nosotros las encontramos con relativa frecuencia tanto sobre el soma de las células de *Cajal* más superficiales como sobre sus expansiones celulares. Los terminales axónicos se caracterizan por el acúmulo de vesículas sinápticas, entre ellas frecuentemente aparecen vesículas de núcleo denso, presentan un aspecto electrónicamente denso, terminando generalmente por medio de contactos sinápticos. Las zonas más profundas de la capa I se caracterizan por una mayor proporción de tallos dendríticos piramidales, provistos de espinas. Aparecen grandes procesos celulares orientados en todas direcciones que pueden diferenciarse fácilmente de las dendritas de piramidales por su aspecto varicoso, profusión de orgánulos y vesículas de núcleo denso de aparición frecuente, así como por la ausencia de espinas. En las dendritas de células piramidales no distinguimos vesículas de núcleo denso; tienen contornos irregulares, pero no varicosidades, y las espinas son fácilmente identificables. La apariencia del citoplasma es más clara y pobre en orgánulos, las mitocondrias grandes y alargadas son menos densas y suelen presentarse en forma aislada. Sobre los procesos de las células de *Cajal* se comprueban gran número de sinapsis del tipo asimétrico y algunas simétricas y sobre el tallo dendrítico de las piramidales aparecen sinapsis en abundancia mucho menor y generalmente simétricas. Los terminales axónicos a este nivel son mayores y aparecen del tipo claro con más frecuencia, terminando en forma de contactos de todo tipo y asimétrico invariablemente sobre la gran población espinosa de la zona. El número de sinapsis axoespinosas es doble que el axon-tallo de piramidales. Nosotros encontramos una menor proporción de terminaciones axon-tallo.

Los estudios de *Cajal* y *Lorente de No* con microscopía óptica habían dejado claramente definida la distribución en las distintas capas corticales de las fibras aferentes extrínsecas. Salvo las tálamo-corticales específicas que terminan en la capa IV, el resto de fibras extrínsecas aferentes alcanza la capa I: las fibras intercortica-

les homolaterales (de asociación), las fibras interhemisféricas (callosas) y las colaterales de la sustancia blanca descritas por *Cajal*, que pertenecerían según algunos al sistema talamocortical difuso. Los experimentos de degeneración llevados a cabo por *Jones y Powell* (1970, d y e) les llevan a la conclusión de que en la capa I y en su parte más profunda terminan las fibras comisurales sobre espinas de dendritas de pequeño y mediano tamaño. Igualmente, por la capa molecular, se distribuyen fibras corticales de asociación (entre las áreas SI y SII en los estudios de estos autores), terminando igualmente sobre espinas dendríticas. Los axones degenerados talamocorticales terminan en espinas y tallos de dendritas de pequeño tamaño en la capa IV, con algunas adicionales en las capas III y pocas en la I. En un reciente estudio, *Jacobson y Marcus* (1970) comparan la distribución intralaminar de las fibras callosas en la corteza cerebral del gato, rata, mono (m. rhesus) y chimpancé, llegando a la conclusión de que ésta es diferente. En la rata y el gato, la terminación de este tipo de fibras extrínsecas es en las capas I y II, mientras que en el mono (m. rhesus) y chimpancé las terminaciones se hallan en la III y la IV. Con respecto a los estudios degenerativos llevados a cabo por *Jones y Powell*, la única discrepancia aparente con *Cajal* es la distribución en la capa I de fibras de procedencia talámica. Mientras que para *Cajal* éstas terminan exclusivamente en la capa IV, para *Jones y Powell* terminan en cierta proporción en las capas III y I también. Sin embargo, bien pudieran ser las talamocorticales difusas las proyectadas a la capa I que se comprueban en los experimentos de degeneración de los últimos autores; con ello, los resultados en ambos casos serían concordantes.

Nuestros resultados vienen a confirmar una vez más el hallazgo inicial de *Gray* (1959) de que todas las terminaciones en las espinas de las dendritas de células piramidales son de tipo asimétrico. Si admitimos, como se hace generalmente, que todas las sinapsis con vesículas regulares y esferoidales y del tipo asimétrico son excitadoras (*Uchizono*, 1965; *Larramendi y cols.*, 1967, v *Colonnier*, 1968), se deduce que todas las fibras aferentes extrínsecas son funcionalmente excitadoras, ya que, según acabamos de comprobar, terminan sobre las espinas dendríticas.

Por otra parte, terminales axónicas con vesículas aplastadas y contactos simétricos están frecuentemente asociadas con sinapsis de conocida acción inhibitoria (*Bodian*, 1966; *Price*, 1968; *Uchizono*, 1968, y *Larramendi y cols.*, 1967), por lo que obligadamente, según se deduce de los estudios degenerativos, está ligado a la participación de axones intrínsecos en la zona cortical estudiada, esto es, provenientes de células de axon corto. Este razonamiento viene apoyado por los hallazgos de *Mountcastle* con su demostración de que no existen fibras primarias aferentes directamente inhibitorias; ello es además perfectamente compatible con el conocido hecho de que la inhibición presenta una latencia mayor que la facilitación o excitación.

Ahora bien, ninguno de los estudios de degeneración realizados con microscopía electrónica tiene en cuenta la presencia de las células de *Cajal* en la capa I, por lo que se hace necesario un estudio complementario para analizar la degeneración de las sinapsis somáticas y de procesos celulares que hemos descrito en el presente trabajo, con la finalidad de determinar por este procedimiento el verdadero origen de las fibras presinápticas sobre las células de *Cajal* y sobre sus prolongaciones. Pero sí podemos deducir de lo expuesto más arriba que las sinapsis simétricas dominantes en el soma de dichas células proceden de células de axon corto de la misma capa I o de láminas corticales inferiores cuyos axones ascienden hasta dicha capa I (incluidas las células de *Martinotti*), mientras que las sinapsis asimétricas que predominan en los procesos de las células de *Cajal* proceden de aferentes extrínsecas que alcanzan la capa I, esto es, son fibras talamocorticales difusas, de asociación interhemisférica (callosas) o intercortical (asociación).

Si bien es verdad, a microscopía electrónica, no es posible distinguir los terminales axónicos procedentes de las fibras aferentes o de las células de axon corto, pero para *Jones* y *Powell* las fibras comisurales y de asociación tienen en sus botones terminales un aspecto más denso que las talamocorticales. Estas últimas más frecuentes en las porciones profundas de la capa I. Ciertamente es que en nuestras preparaciones las sinapsis sobre el soma de las piramidales de la capa II son en su mayoría simétricas y de botones sinápticos «claros», pero a nivel de la capa I la mayoría de los botones axónicos son en su mayoría densos, por lo tanto pocas serían las talamocorticales que terminarían en la capa I, siguiendo el criterio de identificación de los últimos autores.

La presencia de sinapsis de ambos tipos sobre las células de *Cajal* y sus prolongaciones y su aparente carencia de axon, hecho apoyado por el estudio comparativo de las prolongaciones halladas emergiendo de su soma, y otros axones claramente identificados, además de por el hecho de que ninguna de las prolongaciones estudiadas con el microscopio electrónico presentara los caracteres ultraestructurales que definen los axones (*Peters y cols.*, 1968), nos plantearía un serio problema interpretativo sin la posible existencia de contactos membrana-membrana. En efecto, sería incomprensible una neurona que únicamente presenta sinapsis aferentes a ella; su excitación o inhibición, ante la ausencia de axon, representaría un callejón sin salida a los impulsos que llegaran a esta célula. La presencia de contactos membrana-membrana permitiría admitir que las células de *Cajal* están en contacto funcional unas con otras y que pueden influenciarse mutuamente, estableciendo igualmente una relación funcional con las dendritas de las células piramidales.

La hiperpolarización (mediada por las sinapsis simétricas de terminales axónicos provenientes de células de axon corto), esto es, in-

hibición en el sentido clásico, o la despolarización (mediada por las sinapsis asimétricas pertenecientes a las fibras aferentes extrínsecas), esto es, facilitación funcional, podrían propagarse por el plexo de células de *Cajal*, e invadir las dendritas de piramidales en forma análoga a la demostrada para los potenciales S en la retina, que lo hacen a una velocidad de 0,3 m/s (*Mitarai y cols.*, 1961; *Svaetichin y cols.*, 1961, y *Svetichin y Muriel*, 1970), con un decremento en la amplitud de la respuesta (*Naka y Rushton*, 1967, *Negishi y Sujita*, 1969). Funcionarían a nivel cortical de integración entre las columnas funcionales de células piramidales como un sistema MODULADOR a través de variaciones del potencial de reposo del árbol dendrítico piramidal densamente entremezclado a nivel de la capa I de la corteza cerebral.

Los hallazgos con microscopía electrónica referentes a la microglía de esta lámina cortical creemos que tienen especial significación, dada la confusión actual existente sobre las «células de *Río Hortega*». Por ello discutiremos ampliamente nuestros hallazgos en este terreno.

De acuerdo con *Mori y Leblond* (1969), los resultados obtenidos en el presente estudio permiten identificar inequívocamente, con microscopía electrónica las células de microglía en la sustancia gris de la corteza cerebral. Con microscopía de luz, la presencia de microglía en la corteza cerebral de animales normales y su especial abundancia en la capa I de la misma se había demostrado ya por *Río Hortega* (1921, b). La identificación de las células de microglía no ha ofrecido ninguna dificultad en nuestras preparaciones. No hay posibilidad de confusión ni con la glía astrocitaria ni con las neuronas de la sustancia gris; sin embargo, merece que sean discutidos sus caracteres diferenciales con las células de oligodendroglía, ya que han sido objeto de confusión por parte de autores que han trabajado en este campo. *Mori y Leblond* señalan la ambigüedad de las descripciones que se habían hecho con anterioridad a sus trabajos, ya que la microglía descrita por *Herdorn* (1964) y *Bodian* (1964) era completamente diferente de la que figura en los trabajos de *Stensaas y Stensaas* (1968). Inclusive *Maxwell y Kruger* (1965) llegan a sugerir que la microglía no son más que las células descritas por *Río Hortega* como células de oligodendroglía. En su extenso estudio sobre la corteza cerebral del gato, *Jones y Powell* no detectan la presencia de oligodendroglía en la capa I de la corteza cerebral. Sin embargo, nosotros hemos constatado la presencia constante de oligodendrocitos en la misma a diferentes edades del animal, si bien en escasa cantidad. Ello no es de extrañar, dada la presencia de fibras mielínicas en dicha zona. La diferencia de las células de oligodendroglía con las de microglía ha podido hacerse fácilmente por los caracteres morfológicos generales de ambas. Las células de oligodendroglía son redondeadas de citoplasma a veces muy aparente, mientras que la microglía es alargada, y contiene alrededor del nú-

cleo un anillo escasísimo de citoplasma. Es frecuente encontrar las prolongaciones de la microglía, hecho más difícil en los oligocitos. El núcleo de los oligocitos presenta sobre un fondo electrónicamente menos denso que el de la microglía, masas cromáticas más definidas y oscuras y que pueden conformar o no un ribete continuo perinuclear, característico de los elementos de microglía. Pero cualquier duda que pudiera existir queda resuelta al estudiar el citoplasma. En el oligodendrocito no se encuentran intracitoplasmáticamente inclusiones que pudieran confundirse con las del citoplasma de la microglía. Las figuras de mielina aparecen más frecuentemente en las células de oligodendroglía. El núcleo alargado y lobulado o irregular de la microglía con un eje francamente dominante es absolutamente un rasgo contrapuesto a la redondez regularidad y pequeñez del núcleo oligodendroglial.

En los animales viejos parece ser mayor la presencia de células de microglía que en los animales jóvenes, v. en especial, de inclusiones intracitoplásmicas en soma y prolongaciones. Este rasgo en las prolongaciones que lo presentan las hace fácilmente identificables. La morfología general de las células de microglía puede variar según sea su localización perivascular o francamente intersticial. La perivascular está formada por células más redondeadas y regulares, con menos cuerpos de inclusión o sin ellos. La intersticial ostenta una forma muy alargada e irregular, su citoplasma y prolongaciones contienen cuerpos de inclusión típicos y de gran tamaño y emiten prolongaciones finísimas que se insinúan entre los intersticios del neuropilo.

Las modificaciones morfológicas de la microglía, según su localización, fueron ya señaladas por *Río Hortega* (1920) al definir el carácter migratorio de la misma. Al considerar a la microglía como un elemento que se desplaza por los intersticios del tejido nervioso con un carácter dinámico, su morfología puede variar adaptándose a los intersticios del tejido en que penetra.

La presencia de pericitos en los capilares de la capa I es constante. Estas células, descritas a nivel de los capilares en general por *Zimmerman* (1923), pueden ser claramente evidenciables mediante la variante de *Río Hortega* al método de *Golgi*, según ha demostrado *Aguirre* (1971). Los pericitos se originan a partir de los cordones mesodérmicos que van a dar origen a los vasos cerebrales: con microscopía electrónica, *Caley* y *Maxwell* (1970) han demostrado la presencia en el seno del tejido nervioso, de cordones mesodérmicos demostrables hasta días después del nacimiento. Las células que los forman van a dar origen, por un lado, a las células del endotelio vascular, y por otro a los pericitos. Según la descripción de *Caley* y *Maxwell*, la membrana basal comienza a formarse como una condensación electrónicamente más densa en aquellos puntos en los que la glía entra en contacto con los elementos celulares de dichos

cordones mesodérmicos. El capilar queda finalmente constituido hacia el décimo día después del nacimiento (Lámina XLII, figs. 194 y 195).

En nuestras preparaciones se observa que la neuroglía perivascular penetra insinuándose entre el pericito y la membrana basal perivascular, separando y produciendo una alteración en la membrana basal, la cual llega a desaparecer. A veces se observa la alteración de la membrana en puntos de la misma en contacto con las prolongaciones astrocitarias, pero hacia el polo nervioso del pericito. En forma progresiva, la membrana basal que rodea al pericito acaba por desaparecer, quedando liberada la célula que puede considerarse como una célula de microglía perivascular en este momento. Tiene todavía un aspecto más redondeado que las formas de microglía que al desplazarse hacia el tejido nervioso, se insinúan entre el neuropilo, adquiriendo una forma alargada característica y con finas prolongaciones arrancando de su soma, o sea, adquiriendo el aspecto de microglía intersticial (Lámina XLII, figs. 196 a 199).

La fase de separación del pericito en su transformación en célula de microglía, cuando es estudiada con microscopía de luz, da imágenes celulares que han sido descritas con diversos nombres e interpretaciones. Recientemente, *Moya Rodríguez* (1970) describe una célula intermediaria (satélite) de la neuroglía perivascular, que en nuestra opinión es la imagen con microscopía de luz de un pericito en el curso de su separación de la pared vascular, rodeado por el pie chupador de la glía vascular. De la misma forma pueden interpretarse las imágenes de elementos perivasculares presentadas por *Valenzuela* (1970) como prueba del origen mesodérmico de la neuroglía, interpretación que juzgamos arriesgada y hecha sin base suficiente.

El origen mesodérmico de la microglía, a partir de células de la pared vascular o de elementos sanguíneos, fue ya postulado por *Río Hortega*, que sugirió por ello para designar a este elemento el nombre de «mesoglia». Este término había sido utilizado previamente por *Robertson* (1900) en un trabajo muy poco conocido y que tuvo relevancia gracias a los estudios de *Río Hortega* y a que *Cajal* (1920) utilizó inicialmente el mismo término, «mesoglia», para denominar a las células de *Río Hortega*. Posiblemente si el término «mesoglia» se hubiera generalizado para designar a la microglía se hubiera evitado la confusión que muestran los autores actuales, los cuales consideran a la microglía como una forma más de la glía del tejido nervioso. Por su estructura, origen y función, la microglía debe distinguirse netamente de la glía astrocitaria y de la oligodendroglía.

Nuestros resultados apoyan fuertemente la tesis del origen mesodérmico de la microglía, al demostrar que son los pericitos sus células madres. Estamos en ello, de acuerdo con los resultados y de-

ducciones de *Mori* y *Leblond*, si bien debemos precisar que el concepto de microglía pericítica defendido por estos autores no nos parece adecuado, ya que no revela bien el origen y movilidad funcional de las células de microglía: los pericitos, que cuando se encuentran «en reposo» sobre la pared del vaso no son microglía estrictamente hablando, sino células que pueden transformarse en microglía en virtud de un proceso de activación en el que parece jugar un papel decisivo la glía astrocítica perivascular. El que en procesos patológicos del sistema nervioso, además de los pericitos, participen otros elementos vasculares o sanguíneos en la formación de la microglía y en las diversas células descritas en los mismos («stabchenzellen», «abraumzellen», «gitterzellen», «kornchenzellen»...), así como la demostración con microscopía electrónica de la transformación o no de la microglía en dichos elementos celulares, debe ser objeto de estudios ulteriores.

#### RESUMEN

En este trabajo se ha estudiado, mediante microscopía electrónica, la estructura de la capa I de la corteza cerebral del ratón, gato y conejo de diversas edades, desde el nacimiento hasta animales adultos.

El conocimiento de la estructura y organización sináptica de la capa I de la sustancia gris cortical es necesario para la interpretación de los datos electrofisiológicos obtenidos con registros a nivel cortical, como etapa previa para llegar al conocimiento de los complejos fenómenos de integración nerviosa que tienen lugar aquí. Es necesario, dado que los estudios con microscopía óptica y electrónica de autores contemporáneos omiten la descripción de neuronas en dicha lámina cortical. Las «células especiales» de la corteza o células de *Cajal*, si bien son demostradas por todos los autores en el período fetal, no son vistas en la corteza cerebral de los animales adultos, lo que ha llevado a suponer que o bien se reabsorben o bien se transforman en neuronas de axon corto o células piramidales. Los estudios con microscopía electrónica describen la capa I como constituida simplemente por un neuropilo sin que posea elementos neuronales. La aplicación de la microscopía de luz y electrónica para el estudio de la estructura de la capa I nos ha permitido demostrar la persistencia de las células de *Cajal* en el animal adulto. Mediante una técnica original de inyección subpial de azul de metileno, en vivo, se han podido poner en evidencia las células de *Cajal* en la capa I de la sustancia gris cortical de animales adultos, así como estudiar su distribución regional en distintas áreas corticales; este estudio puede ser realizado en vivo, lo que proporciona un procedimiento ideal para el «marcaje» de las células antes de tratar de obtener registros eléctricos con electrodos. Esta técnica supone una contribución que puede ser de importancia para el estudio de los po-

tenciales bioeléctricos celulares en aquellas células que son asequibles a la tinción vital con azul de metileno. Los estudios realizados con microscopía de luz, tanto con azul de metileno como con el método de *Golgi*, no nos han permitido poner en evidencia la presencia de axon en las células de *Cajal*, de acuerdo con las descripciones iniciales del histólogo español. Dentro de las células de *Cajal* se han comprobado en el animal adulto los tipos celulares descritos primariamente por *Cajal* para los animales jóvenes.

En estudios de corteza cerebral de gato de 5, 9, 12, 30, 40, 60 días después del nacimiento y adultos se ha podido precisar que morfológicamente, con microscopía de luz, las células de *Cajal* alcanzan su madurez hacia el 15 día de vida postnatal, de acuerdo con los datos tanto bioquímicos como electrofisiológicos y de comportamiento, los cuales establecen el «período crítico» en este animal alrededor de esa edad. A microscopía de luz no existen diferencias significativas entre las células «especiales» de la corteza cerebral del animal de 9 y 12 días, con las de animales de 60 días y adultos.

Por primera vez se ha podido demostrar y estudiar con microscopía electrónica las células de *Cajal* en animales de 12, 40 días de edad y en animales adultos. Se han encontrado numerosos contactos sinápticos sobre su soma y sobre sus prolongaciones. Las sinapsis sobre el soma son tanto del tipo simétrico como asimétrico, dominando en número las del primer tipo a las que se atribuye una función inhibitoria. Sobre las expansiones celulares dominan las sinapsis asimétricas, de función al parecer, facilitadora o excitadora. Así como con microscopía de luz no se comprueban diferencias entre las células del gato de 12, 30 y 60 días de edad o adultos, a microscopía electrónica se demuestra un enriquecimiento del citoplasma en orgánulos que componen la maquinaria metabólica de la célula, y sobre todo un mayor número de sinapsis sobre su soma en los animales de mayor edad.

Las células de axon corto aparecen claramente diferenciadas en la corteza cerebral de animales cuyas células de *Cajal* se encuentran todavía en evolución, por lo que es lícito suponer que células de axon corto y células de *Cajal* de la capa I de la corteza cerebral son entidades neuronales diferentes; hecho apoyado también por la circunstancia de haberse identificado ambas en todo el período evolutivo estudiado.

Con microscopía electrónica se han observado posibles contactos membrana-membrana entre expansiones de células de *Cajal* y entre éstas y las dendritas de las células piramidales. Del estudio de sus conexiones sinápticas se deduce que las células de *Cajal* reciben influencias excitadoras principalmente por sus expansiones o prolongaciones, procedentes de las vías aferentes extrínsecas: talamocorticales específicas y difusas, fibras callosas y de asociación; y reciben sobre su soma fundamentalmente influencias inhibitorias proce-

dentes de las células de axon corto de la capa I y de células del mismo tipo, incluidas las de *Martinotti*, situadas en láminas corticales más profundas.

Tanto la morfología a microscopía de luz como la posible presencia de contactos membrana-membrana detectables con microscopía electrónica y su disposición en plexos perpendiculares al eje longitudinal de las vías largas permiten comparar las células de *Cajal* con otros tipos celulares descritos a nivel de los neuropilos de las vías sensoriales, en especial con las grandes amacrinas de la plexiforme interna de la retina, en las cuales la ausencia de axon quedó ya demostrada por *Cajal*.

La interpretación de los potenciales bioeléctricos registrados a nivel cortical se hace hoy día de acuerdo con la teoría de conductores de volumen, suponiendo que los únicos elementos significativos en la producción de flujo abierto de corriente detectable por el electrodo cortical serían las células piramidales, dada su disposición simétrica y con su eje mayor perpendicular a la superficie cortical.

La existencia a nivel de la capa I de un sistema de neuronas como el formado por las células de *Cajal* dispuestas con sus expansiones celulares principales en un plano paralelo a la superficie de la corteza introduce un nuevo elemento para la interpretación de tales potenciales bioeléctricos, los cuales habrían de ser analizados a la luz de estos hallazgos. Sobre la base de los mismos se discuten las interpretaciones actuales de la respuesta cortical directa, de la depresión propagada de *Leao* y de las respuestas lentas de despolarización obtenidas con microelectrodos intracelulares en las denominadas «idle cells» cuya identidad se desconoce.

Como hipótesis de trabajo, consecuencia de los estudios realizados, se plantea el posible origen de los componentes lentos de la respuesta cortical directa a partir de las células de *Cajal*, las cuales serían responsables, por una despolarización profunda, del fenómeno de la depresión propagada. De forma análoga sugerimos la probable identidad de las «idle cells» con las células de *Cajal*.

En el estudio de la glía presente en la capa I de la corteza cerebral del gato, los resultados encontrados por nosotros coinciden con los ya publicados, salvo en la demostración que hemos podido hacer con microscopía electrónica de células de oligodendroglía, tipo celular que se había considerado ausente en la capa I de la sustancia gris cortical. Es de señalar que con microscopía electrónica hemos demostrado la presencia en la capa I de la corteza de células de microglía, tanto en los animales jóvenes como en los adultos. La presencia de microglía en los cerebros normales ha sido puesta en duda por autores contemporáneos, dado su fracaso al tratar de identificarla por métodos de microscopía electrónica.

En animales viejos se han podido seguir las etapas de formación de microglía a partir de los pericitos vasculares en virtud de un proceso de independización de estos elementos de la pared del vaso en la que se hallan, proceso en el cual la glía astrocitaria perivascular parece jugar un papel decisivo por lo que se deduce del estudio morfológico. Con ello se confirma mediante la microscopía electrónica el origen mesodérmico de la microglía tal y como lo había postulado *Río Hortega*. Se describe por vez primera su origen a partir de los pericitos de la pared vascular. Ello no excluye que en condiciones patológicas puedan tomar parte en la reacción de defensa otros elementos, por ejemplo, procedentes de los sanguíneos.

#### CONCLUSIONES

1. En la capa I de la corteza cerebral de los mamíferos adultos estudiados (conejo, gato) y en contra de lo generalmente admitido existe una población neuronal constituida por células de *Cajal* y células de axon corto.
2. Aparte de la glía astrocitaria, bien estudiada por otros autores con métodos de microscopía óptica y electrónica, a nivel de la capa I pueden demostrarse células de oligodendroglía en pequeña cantidad mediante la microscopía electrónica.
3. En la capa I y en el gato puede identificarse con microscopía electrónica las células de microglía, cuya existencia como entidad individual es puesta en duda por algunos investigadores actuales.
4. El estudio de las células de *Cajal* en el animal adulto, mediante la técnica de inyección subpial de azul de metileno, revela una distribución diferente en las distintas áreas corticales estudiadas, siendo más abundantes en la corteza visual primaria (VI y VII).
5. Las células de *Cajal* evolucionan desde la forma «fetal» a la «adulta», adquiriendo su morfología de células «adultas» (estudio con microscopía óptica) hacia los 12-15 días después del nacimiento.
6. Los estudios con microscopía electrónica de las células de *Cajal* revelan una adquisición progresiva de orgánulos citoplasmáticos y el incremento, con la edad, del número de sinapsis tanto sobre el soma como sobre las prolongaciones de estas células, hecho evidente comparando los resultados obtenidos en el gato de 12 días con los obtenidos en el de 40 días y en los gatos adultos.
7. Todas las expansiones o prolongaciones de las células de *Cajal* tienen el mismo valor morfológico. Al parecer carecen de axon,

siendo muy similares estructuralmente a las grandes amacrinas (espongioblastos) de la capa plexiforme interna de la retina.

8. Las células de axon corto de la capa I aparecen claramente diferenciadas de las células de *Cajal* ya en los primeros días después del nacimiento. A esta edad las células de *Cajal* se encuentran en etapa de transición de la forma «fetal» a la «adulta». En contra de la opinión mantenida por varios autores, las células de *Cajal* ni se reabsorben ni se transforman en células de axon corto o piramidales. Persisten en el animal adulto como entidad neuronal bien definida.
9. Con microscopía electrónica han sido identificadas en el animal adulto tanto las células de *Cajal* como las de axon corto presentes en la capa I de la sustancia gris cortical.
10. Las células de *Cajal* presentan sobre su soma y expansiones celulares abundantes sinapsis a partir de terminales axónicos, dominando las del tipo simétrico sobre el soma y las del tipo asimétrico sobre las prolongaciones.
11. Las células de *Cajal* presentan a nivel de sus expansiones imágenes de contactos membrana-membrana con otras expansiones de su misma especie, con dendritas de células piramidales y de otros tipos celulares.
12. La existencia de un plexo compuesto por células cuya orientación principal de sus procesos celulares es paralela a la superficie cortical, perpendicular, por tanto, al eje longitudinal de las células piramidales, ha de ser tenida en cuenta para la interpretación de los registros eléctricos corticales. Actualmente, sobre la base de la teoría de conductores de volumen, sólo se tiene en cuenta para la interpretación de dichos registros a las células piramidales.
13. A la luz de nuestros hallazgos se discute la interpretación de la «respuesta cortical directa» y de la «depresión propagada», así como de las respuestas lentas, obtenidas con microelectrodos, de las llamadas «idle cells» por *Phillips*, células hoy día no identificadas.
14. Como hipótesis de trabajos ulteriores se plantean:
  - a) la demostración de la posible identidad de las «idle cells» con las células de *Cajal*;
  - b) la participación de las células de *Cajal* en la creación de los potenciales lentos característicos de la «respuesta cortical directa»;
  - c) la interpretación de la «depresión propagada» como un fenómeno de despolarización profunda del plexo neuronal formado por las células de *Cajal*.

15. La demostración de las células de *Cajal*, desprovistas de axon, en la corteza cerebral de los animales adultos, dispuestas con sus expansiones celulares en planos paralelos a la superficie cortical y formando un plexo perpendicular a las «columnas» de células piramidales, muestra un ejemplo más de un tipo neuronal diferente de las células de axon corto y de axon largo, clásicamente admitidas como los dos tipos básicos diferenciables por sus caracteres morfológicos y funcionales.
16. Del análisis de los contactos sinápticos de las células de *Cajal* se llega a la hipótesis de que estas células podrían funcionar como «MODULADORAS» de la respuesta de las células piramidales, a través de modificaciones del potencial de reposo de su árbol dendrítico, por un mecanismo análogo al demostrado para los potenciales S en la capa plexiforme externa de la retina.
17. Mediante microscopía electrónica hemos podido demostrar las etapas de transformación de los pericitos vasculares en células de microglía, las cuales adquieren morfología diferente según su situación perivascular o puramente intersticial. Esta demostración viene a poner en claro el problema planteado por muchos autores contemporáneos sobre este elemento en contradicción con los hallazgos iniciales de *Río Hortega*, confirmando tal como mantenía el histólogo español la existencia de microglía en el tejido nervioso normal. Describimos este elemento con microscopía electrónica y demostramos su origen a partir de los pericitos de la pared vascular, con lo que se comprueba directamente su origen mesodérmico tal como postuló *Río Hortega*.

#### SUMMARY

All investigators who study the cerebral cortex, show the *Cajal* cells in the layer I of animals during their foetal and early postnatal development, but they fail to show such cells in the adult cortex. The theory has been put forward that such nervous cells either disappear or transform themselves into other cortical elements (short axon or pyramidal cells) during the postnatal ontogenesis. The current idea is that the layer I consists of a neuropile containing few nerve cells to which most investigators do not pay much attention.

It seems to us that a study of the nerve cell, if there are any, present at this level is of paramount importance to interpret correctly some of the electrophysiological data recorded from the cortical surface. Therefore the present work attempts to clarify the structure of the layer I from the standpoint of its cell population. With this purpose an analysis by light and electron microscopy has been made on the cerebral cortex of cat, rabbit and mouse at different stages of their postnatal development.

1. *Light microscopy.* Using the methylene blue injected under the pia in adult anesthetized animals we have been able to show the persistence of *Cajal* cells in the adult cortex and their different distribution through cortical areas. They are more abundant in the primary visual areas (VI and VII). By means of the Golgi method we have studied the layer I of the cerebral cortex in the 5, 9, 12, 30 and 60 days old cat and in the adult. The morphological study of the impregnated cells show that the *Cajal* cells reach maturity in the cat

around the 15th day of postnatal life. This result is in agreement with the biochemical, electrophysiological and behavioural data reported in the literature, in which the cat «critical period» is determined at this age. The impregnated cells of the 60 days old cat show no differences with the *Cajal* cells found in the 9 days old cortex. In the adult cat efforts have been made to impregnate the *Cajal* cells, but with no success except in one case where the cell observed can be easily classified as belonging to the *Cajal* group. The capricious nature of this technique explains this failure since such cells have been demonstrated with other techniques in the adult cortex.

Using both the methylene blue and the Golgi techniques no axon has been observed in any of the great number of cells that have been analysed. All prolongations have identical morphological appearance. They do not show any of the features that are characteristic to the axons. In this respect we fully agree with the first description of *Cajal* where he characterizes these cells as having no cylinder axis. In our study the short axon cells of the cortical layer I are also described by light microscopy. We emphasize the differences between these cells and the *Cajal* cells from the morphological standpoint.

The structural features of the *Cajal* cells as well as their classification in different types according to their shape is described in detail. Also these cells are compared with other found at other plexiform layers, namely the amacrine cells of the inner plexiform layer of the retina. Both types of cells have no axon, their morphology is strikingly similar and their prolongations extend perpendicularly to the nerve pathways. They are both located at two different plexiform layers.

2. *Electron microscopy.* The cerebral cortex of the 12 and 40 days old cat as well as that of the adult has been studied with conventional electron microscopic techniques. The *Cajal* cells have been identified in all cases. Ultrastructurally there are some differences between those present in the 12 day old cat and those in the adult. Adult cells have enriched their cytoplasm in organelles and also the synaptic ends on their soma are more abundant. However synapses on the *Cajal* cells are already very numerous in the 12 days old animal.

*Cajal* cell prolongations show also many synaptic boutons on them. The type I synapse is more numerous on the prolongations whereas the type II predominates on the soma. The cytoplasm and the prolongations of the *Cajal* cells are rich in mitochondria, dense bodies, rough endoplasmic reticulum and other organelles, as well as in dense core vesicles. The analysis of the *Cajal* cells with the electron microscope reveals also their laminar orientation. The main axis of the cell body lies in a plane parallel to the cortical surface at different levels in the layer I. The prolongations extend in the same plane for long distances. Thus the general orientation of the *Cajal* cells is perpendicular to the vertical cell arrangement (pyramidal cells).

The short axon cells found in the layer I are also shown. Finally an analysis of the microglia present in this layer in the adult cat has been made. The observations strongly suggest that the microglia originates from the pericytes of the capillaries by virtue of a process in which those cells migrate and become independent subsequently to the desintegration of the basement membrane in which the perivascular astrocytic processes seem to play an important role.

Electrical phenomena recorded at the cortical surface are discussed taking in account the presence of *Cajal* cells with long prolongations and their peculiar orientation in the cortical layer I and the numerous synapses of both types, that they receive on their soma and on their prolongations thought to represent inhibitory and excitatory influences. The interpretation of the Direct Cortical Response (DCR) and of the spread depression of *Leao* should be reviewed bearing in mind this new findings. Also the intracellular recordings made by Phillips from some cells which respond with slow potentials are discussed. Phillips named those cells «idle cells»; it might well be that the «idle cells» are in fact the *Cajal* cells of the layer I of the cerebral cortex.

## BIBLIOGRAFIA

- ADRIAN, E. D. (1936): «The spread of activity in the cerebral cortex», *J. Physiol.* (London), 88, 127-161.
- AGUIRRE, C. (1971): Comunicación personal.
- ASTROM, K. E. (1967): «On the early development of the isocortex in fetal sheep». En: *Progress in Brain Research*, vol. 26. Eds. C. G. Bernhard y J. P. Shadé. Elsevier, Amsterdam (p. 1).
- BARON, M., y A. GALLEG0 (1971): «Cajal cells of the rabbit cerebral cortex», *Experientia*, 27, 430-432.
- BLOOM, F. E., y G. K. AGHAJANIAN (1968): «Fine structural and cytochemical analysis of the staining of synaptic junctions with phosphotungstic acid», *J. Ultrastruct. Res.*, 22, 361-375.
- BODIAN, D. (1964): «An electron microscopic study of the monkey spinal cord», *Johns Hopkins Med. J.*, 114, 13-119.
- BODIAN, D. (1966): «Electron Microscopy: Two major synaptic types on spinal motoneurons», *Science*, 151, 1093-1094.
- BODIAN, D. (1970): «An electron microscopic characterization of classes of synaptic vesicles by means of controlled aldehyde fixation», *J. Cell. Biol.*, 44, 115-124.
- BRIGHTMAN, M. W., y T. S. REESE (1969): «Junctions between intimately apposed cell membranes in the vertebrate brain», *J. Cell. Biol.*, 40, 648-677.
- BRODMANN, K. (1906): Citado por Lorente de No, 1939.
- BULLOCK, T. H. (1959): «Neuron doctrine and electrophysiology», *Science*, 129, 997-1002.
- CALEY, D. W. y D. S. MAXWELL (1970): «Development of the blood vessels and extracellular spaces during postnatal maturation of rat cerebral cortex», *J. Comp. Neurol.*, 138, 31-48.
- CAMMERMEYER, J. (1962): «An evaluation of the significance of the "dark" neuron», *Ergebn. Anat. Entwickl. Gesch.*, 36, 1-61.
- COHEN, E. B. y G. D. PAPPAS (1969): «Dark profiles in the apparently normal Central Nervous System: A problem in the electron microscopic identification of early anterograde axonal degeneration», *J. Comp. Neurol.*, 136, 375-396.
- COLONNIER, M. (1966): «The structural design of the neocortex». En: *Brain and Conscious Experience*, Springer, New York (p. 1).
- COLONNIER, M. (1968): «Synaptic patterns on different cell types in the different laminae of the cat visual cortex, an electron microscope study», *Brain Research*, 9, 268-287.
- CONEL, J. L. (1947): *The postnatal development of the human cerebral cortex*. Vol. III. *The cortex of the three-month infant*. Harvard University Press, Cambridge, Mass.
- CONEL, J. L. (1951): *The postnatal development of the human cerebral cortex*. Vol. IV. *The cortex of the six-month infant*. Harvard University Press, Cambridge, Mass.

- CREUTZFELDT, O. D.; S. WATANABE, y H. D. LUX (1966): «Relations between EEG phenomena and potentials of single cortical cells. I. Evoked responses after thalamic and epicortical stimulation». *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 20, 1-19.
- CHANG, H. T. (1951): «Dendritic potential of cortical neurons as produced by direct stimulation of the cerebral cortex», *J. Neurophysiol.*, 14, 1-21.
- DAHL, H. A. (1963): «Fine structure of cilia in rat cerebral cortex», *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, 60, 369-386.
- DE ROBERTIS, E. D. P. (1965): «The synapse: morphological and chemical correlates of function», *Neurosciences Res. Prog. Bull.*, 3, 43-45.
- DONAHUE, S., y G. P. PAPPAS (1961): «The fine structure of capillaries in the cerebral cortex of the rat at various stages of development», *Am. J. Anat.*, 108, 331-347.
- DUCKETT, S. y A. G. E. PEARSE (1968): «The cells of Cajal-Retzius in the developing human brain», *J. Anat (London)*, 102, 183-187.
- EAGER, R. y P. EAGER (1966): «Glial responses to degenerating cerebellar cortico-nuclear pathways in the cat», *Science*, 153, 553-554.
- ECCLES, J. C. (1963): «Brain mechanisms: Specific and unspecific mechanisms of sensory motor integration». En: *Progress in Brain Research*, vol. 1. Eds. G. Moruzzi, A. Fessard y H. H. Jasper. Elsevier, Amsterdam (p. 263).
- EXNER (1881): Citado por Veratti, 1897.
- FARQUHAR, M. G. y J. F. HARTMAN (1956): «Electron microscopy of cerebral capillaries», *J. Neuropathol. Exptl. Neurol.*, 16, 18-39.
- FARQUHAR, M. G., y G. E. PALADE (1963): «Junctional complexes in various epithelia», *J. Cell. Biol.*, 17, 375-412.
- FLEXNER, L. B. (1955): «Enzymatic and functional patterns of the developing mammalian brain». En: *Biochemistry of the Developing Nervous System*. Ed. H. Waelsch, New York, Academic Press.
- FOX, M. W., y O. INMAN (1966): «Persistence of Retzius-Cajal cells in developing dog brain», *Brain Research*, 3, 192-194.
- GALLEGO, A. (1953): «Procedimiento de impregnación argéntica de la retina entera», *An. Inst. Farm. Esp.*, 2, 171-176.
- GALLEGO, A. (1964): «Description d'une nouvelle couche cellulaire dans la rétine des mammifères et son rôle fonctionnel possible», *Bull de l'Assoc. des Anat.* XLIXe Réunion (Madrid, 6-10 septiembere 1964).
- GALLEGO, A. (1965): «Connexions transversales au niveau des couches plexiformes de la rétine», *Actualités Neurophysiologiques*, 6e Série, pp. 5-27. Ed. A. Monnier. Masson, París.
- GALLEGO, A. (1971 a): «Horizontal and amacrine cells in the mammal's retina», *Vision Research*, Suppl. 3, 11: 33-50.
- GALLEGO, A. (1971 b): *Conexiones centrales entre neuronas. Células moduladoras de las capas plexiformes*. En prensa.
- GRAFSTEIN, B. (1963): En: *Brain Function*. Ed. M. Brazier. University of California Press. Berkeley.

- GRAY, E. G. (1959): «Axo-somatic and axo-dendritic synapses of the cerebral cortex. An electron microscope study», *J. Anat.* (London), 93, 420-433.
- GRAY, E. G. (1961): «Electron microscopy of synaptic contacts on dendrite spines of the cerebral cortex», *Nature* (London), 183, 1592-1593.
- GRAY, E. G., y R. W. GUILLERY (1966): «Synaptic morphology in the normal and degenerating nervous system», *Internat. Rev. Cytol.*, 19, 111-182.
- HERDORN, R. M. (1964): «The fine structure of the rat cerebellum. II. The stellate neurons, granule cells and glia», *J. Cell Biol.*, 23, 277-293.
- HILLMAN, D. E. (1969): «Neuronal organization of the cerebellar cortex in amphibia and reptilia». En: *Neurobiology of Cerebellar Evolution and Development*. Ed. R. Llinás. Am. Med. Assn. Educ. and Res. Fdn. Chicago.
- HILLS, C. P. (1964): «Ultrastructural changes in the capillary bed of the rat cerebral cortex in anoxic ischemic brain lesions», *Am. J. Pathol.*, 44, 531-551.
- HIMWICH, W. A. (1962): «Biochemical and neurophysiological development of the brain in the neonatal period», *Internat. Rev. Neurobiol.*, 4, 117-158.
- HINDS, J. W. (1970): «Reciprocal and serial dendro-dendritic synapses in the glomerular layer of the rat olfactory bulb», *Brain Research*, 17, 530-534.
- HUBEL, D. H., y T. N. WIESEL (1962): «Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex», *J. Physiol.* (London), 160, 106-154.
- HUBEL, D. H., y T. N. WIESEL (1968): «Receptive fields and functional architecture of monkey striate cortex», *J. Physiol.* (London), 195, 215-243.
- HUBEL, D. H., y T. N. WIESEL (1969): «Anatomical demonstration of columns in the monkey striate cortex», *Nature* (London), 221, 747-750.
- JACOBSON, S., y MASCUS, E. M. (1970): «The laminar distribution of fibers of the corpus callosum: a comparative study in the rat, rhesus monkey and chimpanzee», *Brain Research*, 24, 517-520.
- JONES, E. G., y T. P. S. POWELL (1970 b): «Electron microscopy of the somatic sensory cortex of the cat. I. Cell types and synaptic organization», *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B*, 257, 1-11.
- JONES, E. G., y T. P. S. POWELL (1970 b): «Electron microscopy of the somatic sensory cortex of the cat. II. The fine structure of layers I and II», *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B*, 257, 13-21.
- JONES, E. G., y T. P. S. POWELL (1970 c): «Electron microscopy of the somatic sensory cortex of the cat. III. The fine structure of layers III to VI», *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B*, 257, 23-28.
- JONES, E. G., y T. P. S. POWELL (1970 d): «An electron microscopic study of terminal degeneration in the neocortex of the cat», *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B*, 257, 29-43.
- JONES, E. G., y T. P. S. POWELL (1970 e): «An electron microscopic study of the laminar pattern and mode of termination of afferent fibre pathways in the somatic sensory cortex of the cat», *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B*, 257, 53-62.
- KANEKO, A., y H. HASHIMOTO (1969): «Electrophysiological studies of single

- neurons in the inner nuclear layer of the carp retina», *Vision Research*, 9, 37-55.
- KANEKO, A. (1970): «Physiological and morphological identification of horizontal, bipolar and amacrine cells in goldfish retina», *J. Physiol.* (London), 207, 623-633.
- KARAHASHI, Y., y S. GOLDRING (1966): «Intracellular potentials from "idle" cells in cerebral cortex of the cat», *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 20, 600-607.
- KIDD, M. (1962): «Electron microscopy of the inner plexiform layer of the retina in the cat and pigeon», *J. Anat.* (London), 96, 179-188.
- KING, J. S. (1968): «A light and electron microscopy study of perineuronal glial cells and processes in the rabbit neocortex», *Anat. Rec.*, 161, 111-124.
- KOBAYASHI, T., O. R. INMAN, W. BUNO y H. HIMWICH (1964): «Neurohistological studies of developing mouse brain». En: *Progress in Brain Research*, vol. 9. Eds. W. Himwich y H. Himwich. Elsevier, Amsterdam (p. 87).
- KONIGSMARK, B. W., y R. L. SIDMAN (1963): «Origin of brain macrophages in the mouse», *J. Neuropathol. Exptl. Neurol.*, 22, 643-676.
- KRUGER, L., y D. S. MAXWELL (1966): «Electron microscopy of oligodendrocytes in normal rat cerebrum», *Am. J. Anat.*, 118, 391-409.
- LARRAMENDI, L. M. H., L. FICKENSCHER y N. LEMKEY-JOHNSTON (1967): «Synaptic vesicles of inhibitory and excitatory terminals in the cerebellum», *Science*, 156, 967-969.
- LI, C. L. (1959): «Some properties of pyramidal neurons in motor cortex with particular reference to sensory stimulation», *J. Neurophysiol.*, 22, 385-394.
- LORENTE DE NO, R. (1922): *La corteza cerebral del ratón*. Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid, 20, 41-78.
- LORENTE DE NO, R. (1939): «Cerebral cortex: architecture, intracortical connections, motor projections». En: J. F. Fulton (Ed.), *Physiology of the Nervous System*. Oxford University Press, London (p. 274).
- LORENTE DE NO, R. (1941): «La corteza cerebral: arquitectura, conexiones intracorticales y proyecciones motoras», en *Fisiología del sistema nervioso*, Atlanta, México (p. 283).
- LORENTE DE NO, R. (1953): «Observations on vital staining of the axon of myelinated fibers», *Folia Psychiatr. Neurol. et Neurochir.*, Neerland., 56, 479-487.
- LUFT, J. H. (1961): «Improvements in epoxy resin embedding methods», *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 9, 409-414.
- LUND, J. S., y R. D. LUND (1970): «The termination of callosal fibers in the paraviscual cortex of the rat», *Brain Research*, 17, 25-45.
- MARIN PADILLA, M. (1970 a): «Prenatal and early postnatal ontogenesis of the human motor cortex: a Golgi study. I. The sequential development of cortical layers», *Brain Research*, 23, 167-183.
- MARIN PADILLA, M. (1970 b): «Prenatal and early postnatal ontogenesis of the human motor cortex: a Golgi study. II. The basket-pyramidal system», *Brain Research*, 23, 185-191.

- MARTIN, A. R., y C. L. BRANCH (1958): «Spontaneous activity of Betz cells in cats with midbrain lesions», *J. Neurophysiol.*, 21, 368-379.
- MARTY, R. (1962): «Développement post-natal des réponses sensorielles du cortex cérébral chez le chat et le lapin», *Arch. Anat. Micr. Morph. Exp.*, 51, 129-264.
- MAYNARD, E. A. (1957): «Electron microscopy of the vascular bed of the rat cerebral cortex», *Am. J. Anat.*, 100, 409-433.
- MAXWELL, D. S., y L. KRUGER (1965): «Small blood vessels and the origin of phagocytes in the rat cerebral cortex following heavy particle irradiation», *Exptl. Neurol.*, 12, 33-54.
- MELLER, K., W. BREIPOHL, y P. GLEES (1968 a): «The cytology of the developing molecular layer of mouse motor cortex. An electron microscopical and a Golgi impregnation study», *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, 86, 171-183.
- MELLER, K., W. BREIPOHL y P. GLEES (1968 b): «Synaptic organization of the molecular and the outer granular layer in the motor cortex in the white mouse during postnatal development. A Golgi and electron microscopical study». *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, 92, 217-231.
- MEYNERT, T. (1874): Citado por Cajal, 1904-1911.
- MITARAI, G., G. SVAETICHIN, E. VALLECALLE, R. FATEHCHAND, J. VILLEGAS y M. LAUFER (1961): «Glia-neuron interactions and adaptational mechanisms of the retina». En: *The Visual System: Neurophysiology and Psychophysics*. Eds. R. Jung y H. Kornhuber. Springer, Berlín (p. 463).
- MORI, S. y C. P. LEBLOND (1969): «Identification of microglia in light and electron microscopy», *J. Comp. Neurol.*, 135, 57-79.
- MOUNTCASTLE, V. B. (1957): «Modality and topographic properties of single neurons of cat's somatic sensory cortex», *J. Neurophysiol.*, 20, 408-434.
- MOUNTCASTLE, V. B. y G. F. POGGIO (1968): «Structural organization and general physiology of thalamotelencephalic systems». En: *Medical Physiology*, vol. II. Ed. V. B. Mountcastle. Mosby, Saint Louis.
- MOYA Y RODRIGUEZ, J. (1970): «Beitrag zur Kenntnis einer besonderen Endformation der perivascularären Glia», *Z. Mikr.-Anat. Forsch.*, 82, 341-348.
- MUGNAINI, E. y F. WALBERG (1964): «Ultrastructure of neuroglia», *Ergebn. Anat. Entwickl. Gesch.*, 37, 194-236.
- NAKA, K. I. y W. A. H. RUSHTON (1967): «The generation and spread of S-potentials in fish (Cypiriniidae)», *J. Physiol. (London)*, 192, 437-461.
- NEGISHI, K. y V. SUTIJA (1969): «Lateral spread of light induced potential along different cell layers in the teleost retina», *Vision Research*, 9, 881-893.
- NOBACK, C. R. y D. P. PURPURA (1961): «Postnatal ontogenesis of cat neocortex», *J. Comp. Neurol.*, 117, 291-308.
- O'LEARY, J. L. (1941): «Structure of the area striata of the cat», *J. Comp. Neurol.*, 75, 131-164.
- PAPPAS, G. D. y D. P. PURPURA (1961): «Fine structure of dendrites in the superficial neocortical neuropil», *Exptl. Neurol.*, 4, 507-530.
- PAPPAS, G. D. y D. P. PURPURA (1964): «Electron microscopy of immature hu-

- man and feline neocortex». En: *Progress in Brain Research*, vol. 4. Eds. D. P. Purpura y J. P. Shadé. Elsevier, Amsterdam (p. 176).
- PEASE, D. C. (1964): En: *Histological Techniques for Electron Microscopy*. Academic Press, New York and London.
- PETERS, A., C. C. PROSKAUER y I. R. KAISERMAN-ABRAMOF (1968): «The small pyramidal neuron of the rat cerebral cortex. The axon hillock and initial segment». *J. Cell Biol.*, 39, 604-619.
- PHILLIPS, C. G. (1956): «Intracellular records from Betz cells in cat», *Quart. J. Exptl. Physiol.*, 41, 58-59.
- POLYAKOV, G. I. (1961): «Some results of research into the development of the cortical ends of the analysers in man», *J. Comp. Neurol.*, 117, 197-212.
- POWELL, T. P. S., y V. B. MOUNTCASTLE (1959): «Some aspects of the functional organization of the cortex of the postcentral gyrus of the monkey: a correlation of findings obtained in a single unit analysis with cytoarchitecture», *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 105, 133-162.
- PRICE, J. L. (1968): «The synaptic vesicles of the reciprocal synapse of the olfactory bulb», *Brain Research*, 11, 697-700.
- PURPURA, D. P. y H. GRUNDFEST (1956): «The nature of dendritic potentials and synaptic mechanisms of cat cerebral cortex», *J. Neurophysiol.*, 19, 573-595.
- PURPURA, D. P. (1960): «Pharmacological actions of amino-acid drugs on different cortical synaptic organizations». En: *Inhibition of the Nervous System and Gamma-Aminobutyric Acid*, Ed. E. Roberts, New York, Pergamon Press, (p. 424).
- PURPURA, D. P., M. W. CARMICHEL y E. M. HOUSEPIAN (1960): «Physiological and anatomical studies of development of superficial axodendritic synaptic pathways in neocortex», *Exptl. Neurol.*, 2, 324-347.
- PURPURA, D. P., R. J. SHOFER, E. M. HOUSEPIAN y C. R. NOBACK (1964): «Comparative ontogenesis of structure-function relations in cerebral and cerebellar cortex». En: *Progress in Brain Research*, vol. 4. Eds. D. P. Purpura y J. P. Shadé. Elsevier, Amsterdam (p. 187).
- RABINOWICZ, TH. (1964): «The cerebral cortex of the premature infant of the 8th month». En: *Progress in Brain Research*, vol. 4. Eds. D. P. Purpura y J. P. Shadé. Elsevier, Amsterdam (p. 29).
- RAMON Y CAJAL, S. (1890): «Sobre la existencia de células nerviosas especiales en la primera capa de las circunvoluciones cerebrales», *Gaceta Médica Catalana*, 15 de diciembre, 225-228.
- RAMON Y CAJAL, S. (1891): «Structure de l'écorce cérébrale de quelques mammifères», *La Cellule*, 7, 125-176.
- RAMON Y CAJAL, S. (1892): «La rétine des vertébrés», *La Cellule*, 9, 119-225.
- RAMON Y CAJAL, S. (1895): En: *Les nouvelles idées sur la Structure du Système Nerveux chez l'Homme et les Vertébrés*. Reinwald, Paris.
- RAMON Y CAJAL, S. (1896): «Le bleu de Méthylène dans les centres nerveux», *Rev. Trim. Microgr.*, 1, 21-82.
- RAMON Y CAJAL, S. (1897): «Las células de cilindro-eje corto de la capa molecular del cerebro», *Rev. Trim. Microgr.*, 2, 104-127.

- RAMON Y CAJAL, S. (1899): «Estudios sobre la corteza cerebral humana», *Rev. Trim. Microgr.*, 4, 117-200.
- RAMON Y CAJAL, S. (1899-1904): En: *Textura del Sistema Nervioso del Hombre y de los Vertebrados*. Tomo I y Tomo II (1.ª y 2.ª parte). Moya, Madrid.
- RAMON Y CAJAL, S. (1900): «Estudios sobre la corteza cerebral humana», *Rev. Trim. Microgr.*, 5, 1-11 y 129-198.
- RAMON Y CAJAL, S. (1901): «Estudios sobre la corteza cerebral humana», *Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid*, 1, 1-150.
- RAMON Y CAJAL, S. (1909-1911): En: *Histologie du Système Nerveux de l'Homme et des Vertébrés*. Vols. I y II. Maloine, París.
- RAMON Y CAJAL, S. (1913): «Contribución al conocimiento de la neuroglia del cerebro humano», *Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid*, 11, 255-315.
- RAMON Y CAJAL, S. (1920): «Algunas consideraciones sobre la mesoglia de Robertson y Río Hortega», *Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid*, 18, 109-127.
- RAMON Y CAJAL, S. (1922): «La corteza cerebral de los roedores», *Trab. Lab. Invest. Biol. Univ.*, Madrid, 20, 1-30.
- RAMON Y CAJAL, S. y F. DE CASTRO (1933): En: *Elementos de Técnica Micrográfica del Sistema Nervioso*. Tipografía Artística, Madrid, p. 135.
- RETZIUS, G. (1893): «Die Cajal'schen Zellen der Grosshirnrinde beim Menschen und beim Säugetieren», *Biol. Untersuch.*, 5, 1-9.
- REYNOLDS, E. S. (1963): «The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy», *J. Cell. Biol.*, 17, 208-212.
- RIO HORTEGA, P. del (1917): «Noticia de un nuevo y fácil método para la coloración de la neuroglia y del tejido conectivo», *Trab. Lab. Invest. Biol.*, Univ. Madrid, 15, 367-368.
- RIO HORTEGA, P. del (1919): «El tercer elemento de los centros nerviosos. I. La microglía en estado normal. II. Intervención de la microglía en los procesos patológicos. III. Naturaleza probable de la microglía», *Bol. Soc. Esp. Biol.*, 9, 69-120.
- RIO HORTEGA, P. del (1920): «La microglía y su transformación en células en bastoncito y en cuerpos granulo adiposos», *Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid*, 18, 37-82.
- RIO HORTEGA, P. del (1921 a): «Estudios sobre la neuroglía. La glía de escasas radiaciones (oligodendroglía)», *Bol. Real Soc. Esp. Hist. Nat.*, 21, 64-92.
- RIO HORTEGA, P. del (1921 b): «El tercer elemento de los centros nerviosos: histogénesis y evolución normal; éxodo y distribución regional de la microglía», *Mem. Real Soc. Esp. Hist. Nat.*, 9, 213-268.
- RIO HORTEGA, P. del (1924): «Lo que debe entenderse por tercer elemento de los centros nerviosos», *Bol. Soc. Esp. Biol.*, 11, 33-35.
- RIO HORTEGA, P. del y N. PENFIELD (1927): «Cerebral cicatrix. The reaction of neuroglia and microglia to brain wounds», *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 41, 278-303.
- ROBAIN, O. (1970): «Gliogenèse postnatale chez le lapin», *J. Neurol. Sci.*, 11, 445-461.

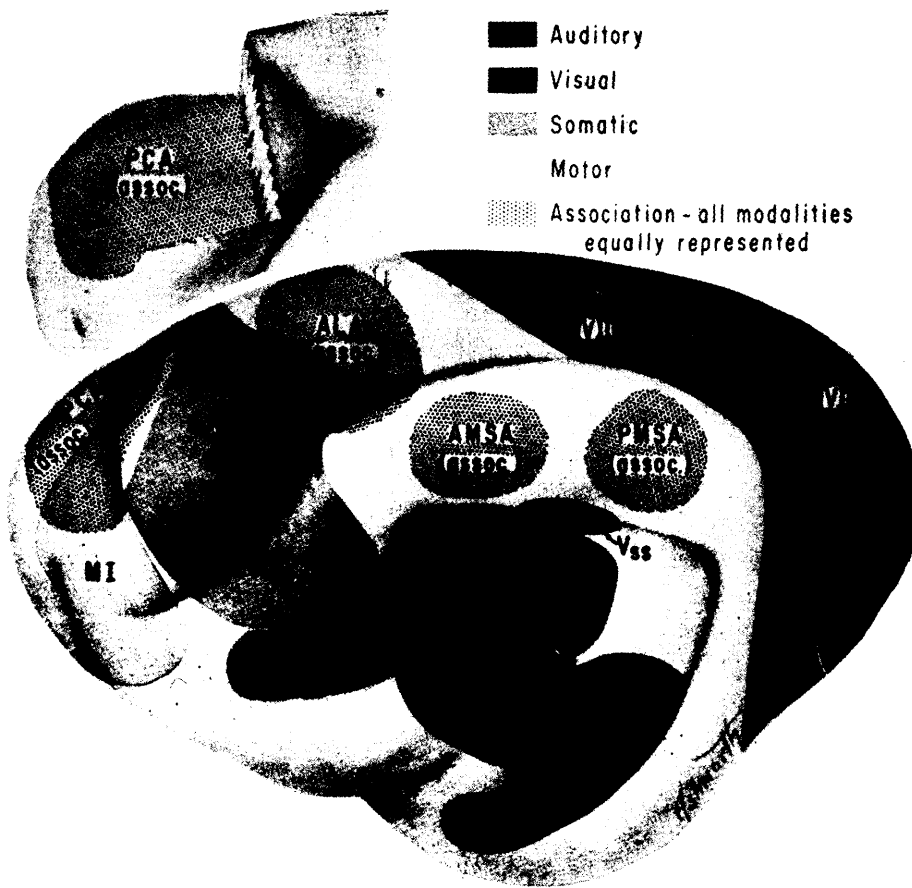
- ROBERTSON (1900): «A microscopic demonstration of the normal and pathological histology of mesoglia-cells», *The J. of Mental Science*. (Citado por Ramón y Cajal, 1920.)
- RUIZ MARCOS, A., y F. VALVERDE (1970): «Dynamic architecture of the visual cortex», *Brain Research*, 19, 25-39.
- RUSSEL, G. V. (1962): «The compound granular corpuscle or gitter cell», *Texas Rep. Biol. Med.*, 20, 338-351.
- SCHERRER, J. P., y OECONOMOS, D. (1955): «Réponses évoqués corticales somesthétiques des mammifères adulte et nouveau-né». En: *Les grandes activités du Lobe Temporal*. Masson, París.
- SHOLL, D. A. (1953): «Dendritic organization in the neurons of the visual and motor cortices of the cat», *J. Anat.* (London), 87, 387-406.
- SCHULTZ, R. L., y D. C. PEASE (1959): «Cicatrix formation in rat cerebral cortex as revealed by electron microscopy», *Am. J. Pathol.*, 35, 1017-1041.
- SOBRINO, J. A. (1970): «Nuevos datos sobre la arquitectura funcional de los núcleos cocleares bulbares». Tesis Doctoral, Universidad Complutense de Madrid.
- SUGAYA, E., S. GOLDRING y J. L. O'LEARY (1964): «Intracellular potentials associated with direct corticcal response and seizure discharge in cat», *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 17, 661-669.
- STENSAAS, L. J. y S. S. STENSAAS (1968): «Astrocytic neuroglial cells, oligodendrocytes and microgliaocytes in the spinal cord of the toad. II. Electron microscopy», *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, 86, 184-213.
- SVAETICHIN, G. (1953): «The cone action potential», *Acta Physiol. Scand.*, 29 (Suppl. 106), 565-600.
- SVAETICHIN, G. y E. F. MACNICHOL (1958): «Retinal mechanisms for chromatic and achromatic vision», *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 74, 385-404.
- SVAETICHIN, G., M. LAUFER, G. MITARAI, R. FATEHCHAND, E. VALLECALLE y J. VILLEGAS (1961): «Glial control of neuronal networks and receptors». En: *The Visual System: Neurophysiology and Psychophysics*. Eds. R. Jung y H. Kornhuber. Springer, Berlín (p. 445).
- SVAETICHIN, G. y C. MURIEL (1970): «Función retiniana y control automático», *Rev. Oftal. Ven.*, 24/1, 41-70.
- THOMPSON, R. F., R. H. JOHNSON y J. J. HOOPES (1963): «Organization of auditory, somatic sensory, and visual projection to association fields of cerebral cortex in the cat», *J. Neurophysiol.*, 26, 333-378.
- UCHIZONO, K. (1965): «Characteristics of excitatory and inhibitory synapses in the central nervous system of the cat», *Nature* (London), 207, 642-643.
- UCHIZONO, K. (1968): En: *Structure and Function of Inhibitory Neuronal Mechanisms*. Ed. V. Euler, Pergamon Press, Oxford.
- UCHIZONO, K. (1969): «Synaptic organization of the mammalian cerebellum». En: *Neurobiology of Cerebellar Evolution and Development*. Ed. R. Llinás. Am. Med. Assn. Educ. Res. Fdn., Chicago.
- VALENZUELA, J. (1970): «Néuroglie Mésodermique. Etude histologique et histochemique de la néuroglie du cerveau», *Acta Histochem.*, 36, 129-144.

- VALLECALLE, E. y G. SVAETICHIN (1961): «The retina as a model for the functional organization of the nervous system». En: *The Visual System: Neurophysiology and Psychophysics*. Eds. R. Jung y H. Kornhuber, Springer, Berlín (p. 489).
- VAN DER LOOS, H. (1963): «Fine structure of synapses in the cerebral cortex», *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, 60, 815-825.
- VAN DER LOOS, H. (1964): «Similarities and dissimilarities in submicroscopical morphology of interneuronal contact sites of presumably different functional character». En: *Progress in Brain Research*. Vol. 6. Eds. W. Bargmann y J. P. Shadé. Elsevier, Amsterdam (p. 43).
- VAN DER LOOS, H. (1965): «Pyramidal cell synapses in neocortex», *Neurosci. Res. Progr. Bull.*, 3, 22-24.
- VAN HARREVELD, A. y J. STEINER (1970): «Extracellular space in frozen and ethanol substituted central nervous tissue», *Anat. Rec.*, 166, 117-129.
- VOELLER, K., G. D. PAPPAS y D. P. PURPURA (1963): «Electron microscopic study of development of cat superficial neocortex», *Exptl. Neurol.*, 7, 107-130.
- VON BONIN, G. y W. R. MEHLER (1971): «On columnar arrangement of nerve cells in cerebral cortex», *Brain Research*, 27, 1-9.
- VAUGHN, J. E. y A. PETERS (1968): «A third neuroglial cell type: an electron microscopic study», *J. Comp. Neurol.*, 133, 269-288.
- VERATTI, E. (1897): «Ueber einige Structureigentümlichkeiten der Hirnrinde bei den Säugetieren», *Anat. Anz.*, 13, 377-389.
- WERBLIN, F. S. y J. E. DOWLING (1969): «Organization of the retina of the mudduppy *Necturus Maculosus*. II. Intracellular recording», *J. Neurophysiol.*, 32, 339-355.
- WESTRUM, L. E. (1969): «Synaptic contacts in axons of the cerebral cortex», *Nature*, 210, 1289-1966.
- ZIMMERMAN, K. W. (1923): «Der feiner Bau der Blutkapillaren», *Z. Anat. Entwicklungsgeschichte*, 68, 29-109.

LAMINAS

LAMINA I

*Figura 1.*—Representación esquemática de las diferentes áreas funcionales en la corteza cerebral del gato. Según *Thompson* y cols. (1963, p. 357).

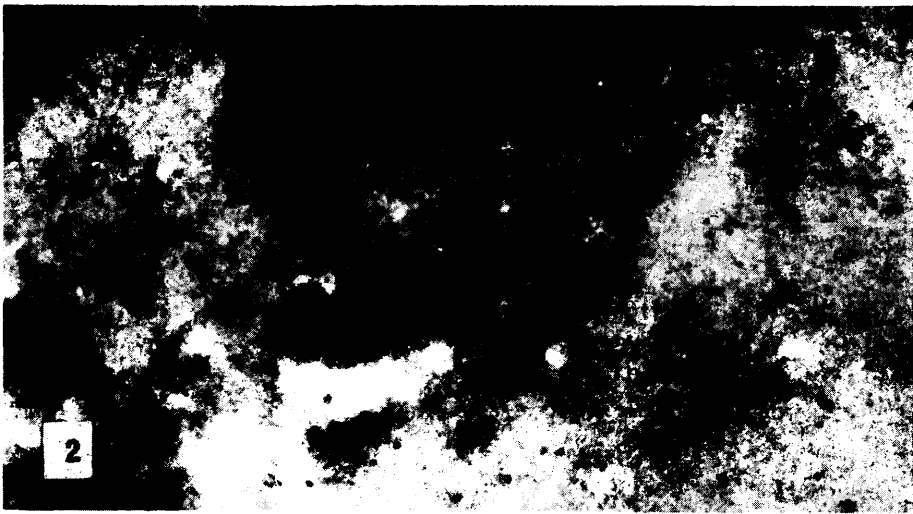


## LAMINA II

Capa molecular de la corteza visual del gato adulto teñida con el azul de metileno.

*Figura 2.*—Visualización de la capa molecular en todo su espesor, fotografiada con el cerebro «in situ». 50X.

*Figura 3.*—Area de la capa I observada en plano horizontal, mostrando varias células de *Cajal*. 250X.

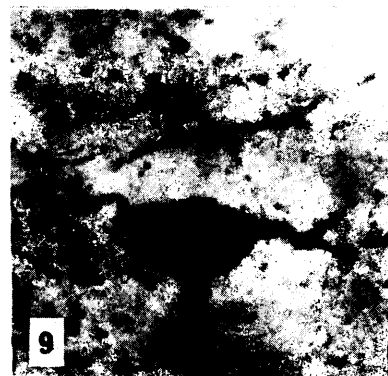
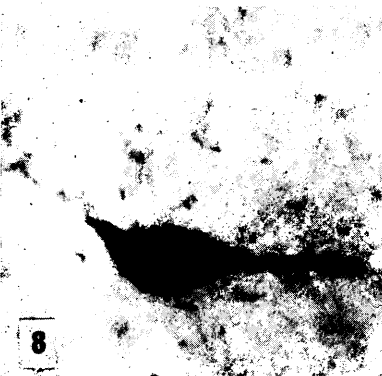
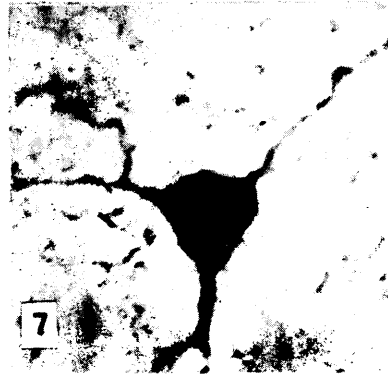
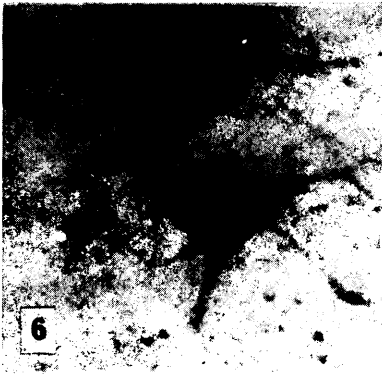
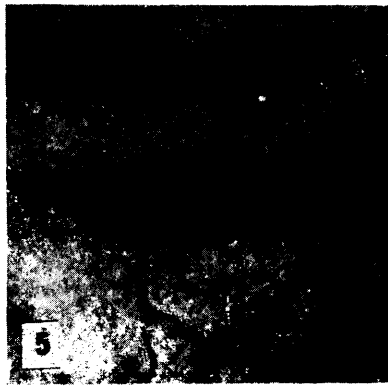
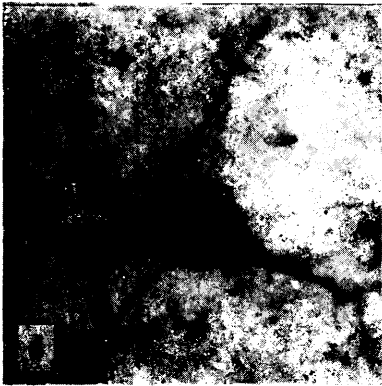


### LAMINA III

Capa molecular de la corteza cerebral del gato adulto visualizada en planos paralelos a la superficie cortical. Tinción con azul de metileno.

*Figuras 4, 5, 6, 7 y 9.*—Células de *Cajal* de tipo triangular o poligonal. Los procesos celulares aparecen claramente teñidos, así como algunas de las ramas a que dan origen. 900X.

*Figura 8.*—Célula de *Cajal* de aspecto bipolar. 900X.



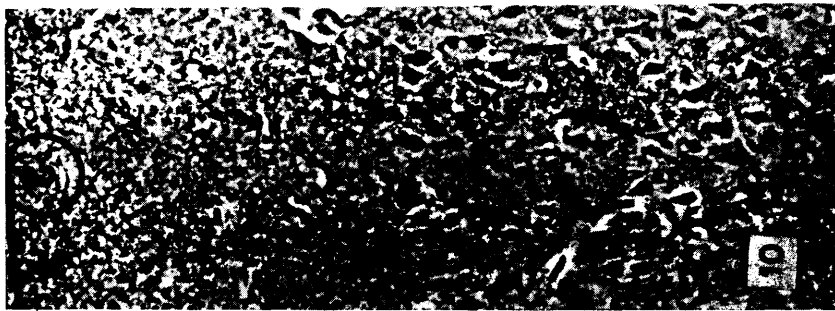
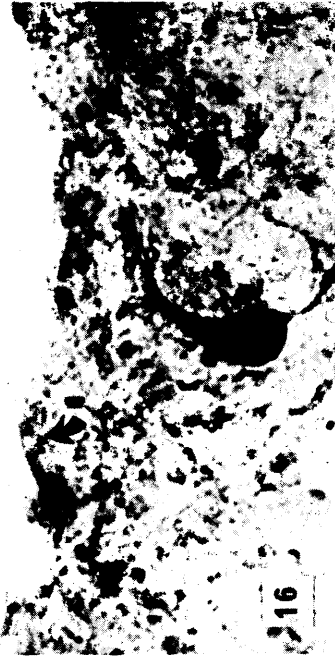
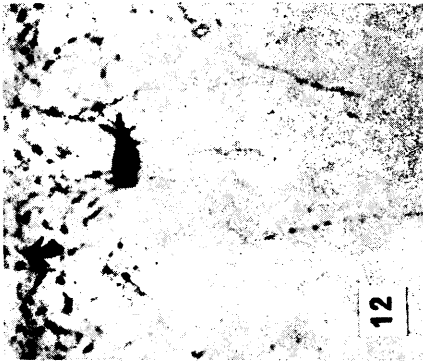
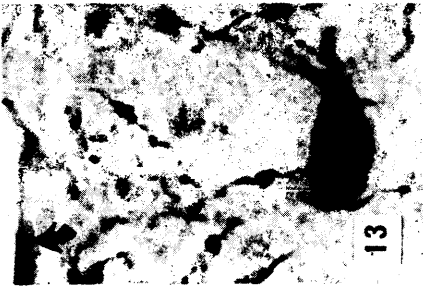
#### LAMINA IV

Corteza cerebral del gato adulto, seccionada en el plano perpendicular a la superficie cerebral y teñida con la técnica del azul de metileno. Las flechas señalan la superficie cortical y el comienzo de la capa II.

*Figura 10.*—Microfotografía con contraste de fases del mismo campo que el de la figura 11. Célula de *Cajal* (C, círculo) de tipo bipolar orientada horizontalmente a la superficie cortical. Pueden observarse los somas de las piramidales, situados los primeros a 200 micras en profundidad. 300X.

*Figuras 11, 12 y 13.*—La misma célula a igual y a mayores aumentos. En todas ellas se observa cómo sólo aparece teñida la parte más superficial de la capa molecular. En la figura 1, los cuerpos de las piramidales que se hacen visibles con microscopía de contraste de fases, no aparecen teñidos con el azul, 300, 500 y 1.000 aumentos, respectivamente.

*Figura 16.*—Célula de *Cajal* piriforme y subpial, con el tallo polar dirigido hacia la superficie cortical. 1.000X.

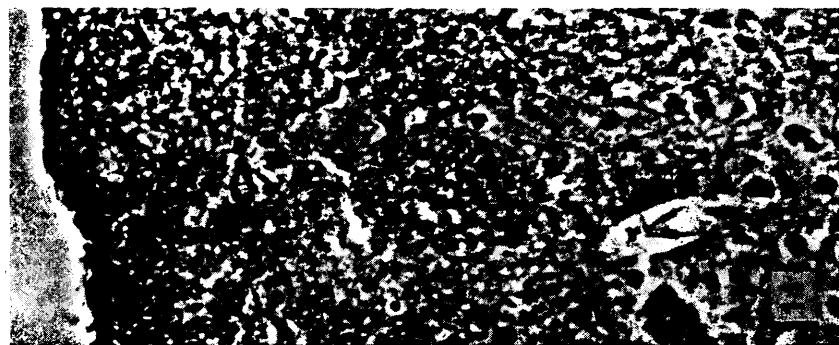
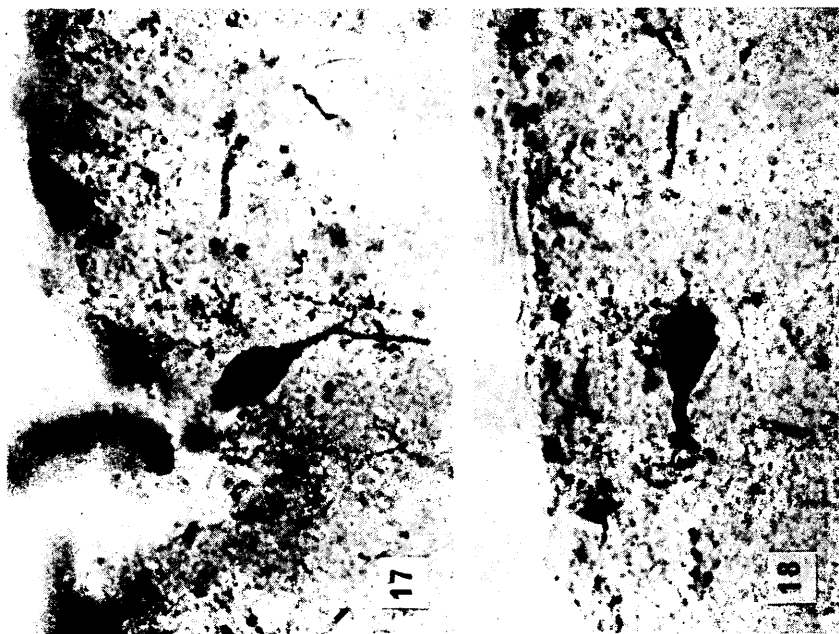


#### LAMINA IV BIS

*Figuras 14 y 15.*—Lo mismo que en figuras 10 y 11 con respecto de una célula de *Cajal* poligonal en el tercio externo de la capa I. 300X.

*Figura 17.*—Célula de *Cajal* piriforme subpial con el tallo polar dirigido en sentido opuesto a la de la figura 16. 1.000X.

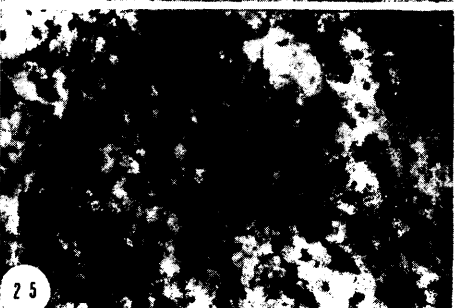
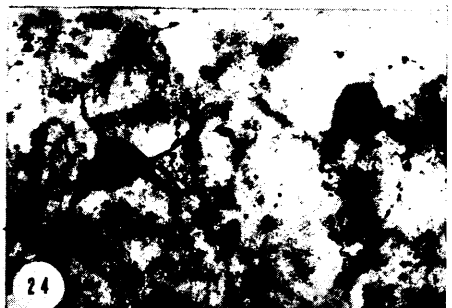
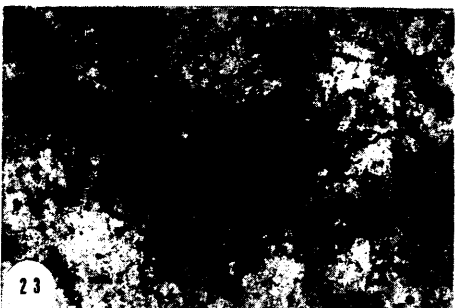
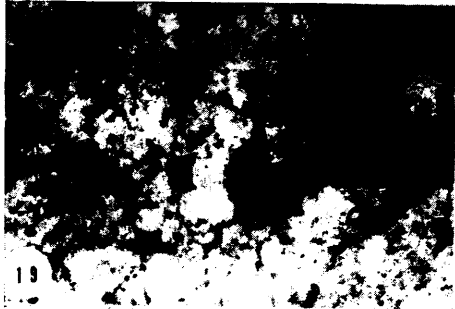
*Figura 18.*—Célula de *Cajal* bipolar netamente paralela a la superficie cortical y situada a 20 micras de la misma. 1.000X.



#### LAMINA V

*Figuras 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 y 26.*—Gato de 30 días. Células de *Cajal* observadas en cortes paralelos a la superficie de la corteza cerebral. Tinción vital con azul de metileno. Obsérvese la morfología característica del soma (poligonal, triangular o bipolar), dando lugar a gruesos procesos con escasa ramificación secundaria. Todas las microfotografías, 567X.

Comparar estas células con las que aparecen en la lámina III (gato adulto) para comprobar su similitud.



#### LAMINA VI

*Figura 27.*—Célula de *Cajal* bipolar situada en la zona más externa de la capa molecular. Gato de 5 días. Corte perpendicular a la superficie del cerebro.

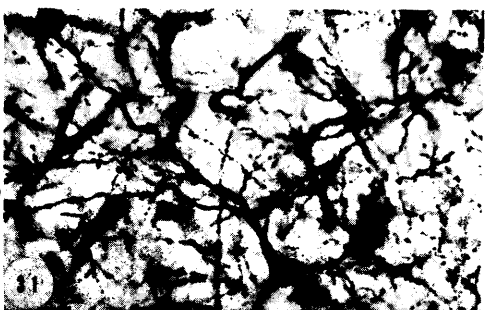
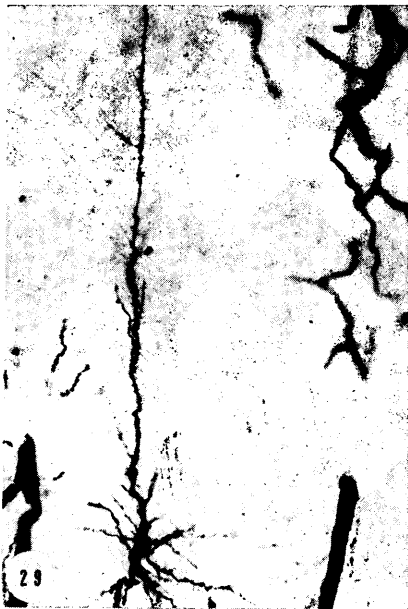
*Figura 28.*—Célula de *Cajal*, tipo triangular, del gato de 5 días en corte tangencial. 366X.

*Figura 29.*—Célula piramidal de la capa II. Gato de 5 días. Corte perpendicular. 240X.

*Figura 30.*—Célula de *Cajal* piriforme subpial del gato de 10 días en corte perpendicular. La flecha señala la superficie pial. 666X.

*Figura 31.*—Célula de *Cajal* triangular en corte tangencial del gato de 10 días. 246X.

*Figura 32.*—Célula piramidal externa del gato de 10 días observada en un corte perpendicular a la superficie de la corteza. Obsérvese la escasez de espinas dendríticas y el axon (cabeza de flecha) Método de *Golgi*. 180X.



#### LAMINA VII

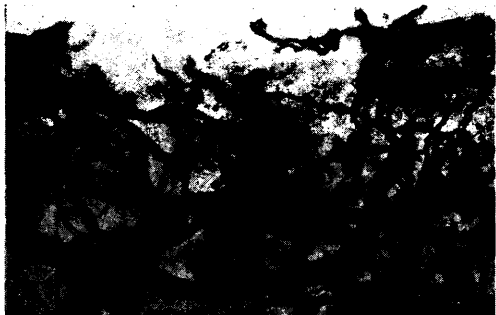
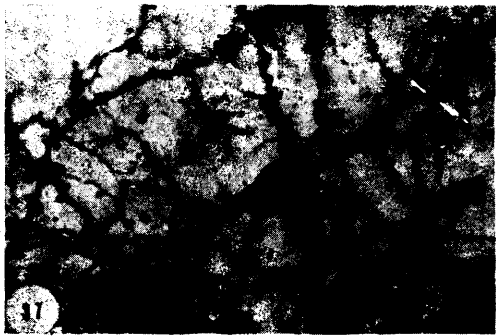
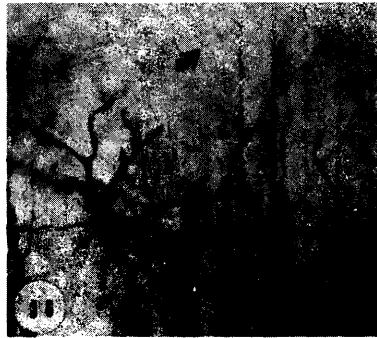
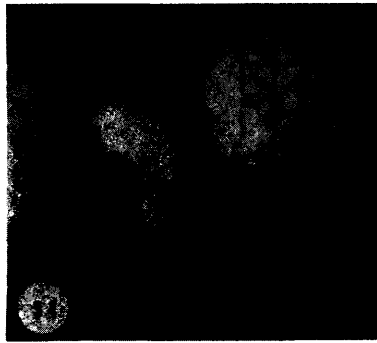
Células de Cajal en la capa I de la corteza cerebral del gato de 9 días. Cortes perpendiculares a la superficie del cerebro. Método de *Golgi*. Las flechas señalan la superficie cortical.

*Figuras 33, 35, 37 y 39.*—Células de *Cajal* del tipo bipolar.

*Figuras 34 y 36.*—Células de *Cajal* del tipo piriforme. En la figura 36 se muestran dos células piriformes cuyos tallos polares se dirigen en sentidos opuestos.

*Figura 38.*—Célula de *Cajal* de tipo triangular en la porción más externa de la capa molecular. En las expansiones pueden observarse excrecencias finas a manera de espículas poco numerosas.

*Figura 40.*—Dibujo de la célula anterior realizado con cámara clara. Las prolongaciones que no han podido ser seguidas hasta sus terminaciones aparecen cortadas por barras.



#### LAMINA VIII

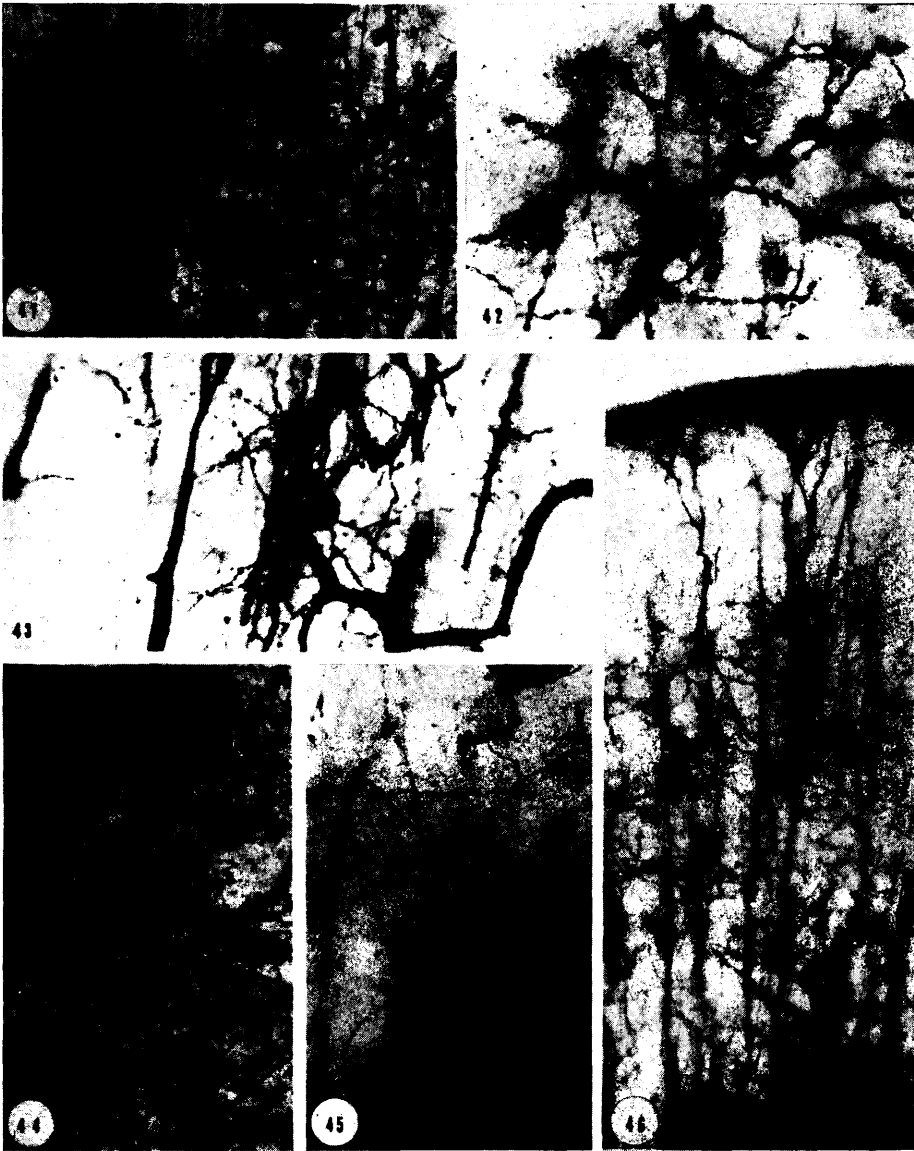
Gato de 9 días. Cortes perpendiculares a la superficie cerebral. Método de *Golgi*. Las flechas señalan la superficie de la corteza.

*Figuras 41 y 45.*—Células de axon corto del tipo bipenachado orientándose según el eje vertical de la sustancia gris. En la figura 41 aparece una célula piramidal externa en segundo plano.

*Figura 42.*—Célula de *Martinotti* con el axon dirigiéndose hacia la superficie de la sustancia gris.

*Figuras 43 y 44.*—Típicas células de axon corto.

*Figura 46.*—Pirámides externas mostrando sus dendritas apicales y basilares. A nivel de la capa II y en segundo plano, una célula de axon corto del tipo bipenachado. A 750 micras de profundidad, una gran célula piramidal.

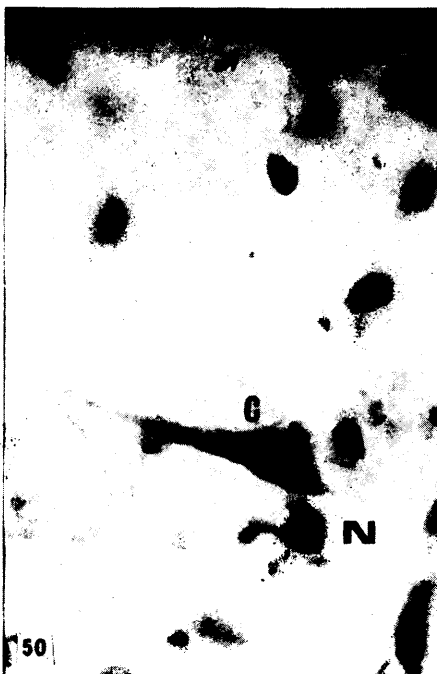
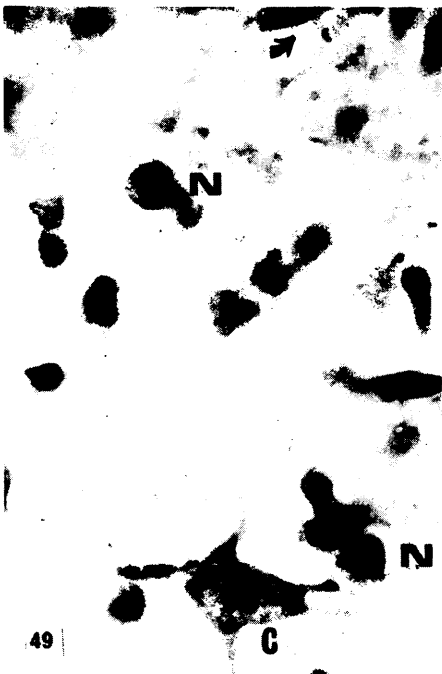


#### LAMINA IX

Corteza cerebral del gato de 11 días teñida con la técnica de *Nissl* en corte perpendicular a la superficie. Las flechas señalan la superficie cortical y el comienzo de la capa II. Núcleos de neuroglía N. Células de *Cajal*, C.

*Figuras 47 y 48.*—Capa molecular delimitada por la pía y las pirámides externas. En la 47 se observa una célula de *Cajal* bipolar orientada en un plano paralelo a la superficie cortical. En la figura 48 aparece hasta la IV lámina cortical.

*Figuras 49 y 50.*—Células de *Cajal* de los tipos poligonal y triangular a 100 y 60 micras de profundidad, respectivamente. La disposición con respecto de la superficie es claramente paralela a la misma.



#### LAMINA X

Gato de 60 días. Método de *Golgi*. El precipitado argéntico señala la superficie cortical. Sección según el plano perpendicular a la misma.

*Figura 51.*—Célula de *Cajal* del tipo poligonal orientada en paralelo con la superficie cerebral y situada en su tercio externo. Comparar con la célula del gato de 9 días en la figura 38. 334X.

*Figura 52.*—Piriforme subpial 334X.

*Figuras 53 y 54.*—Células del tipo bipolar en el tercio externo y oblicuas a la superficie cortical. Comparar con las células de las figuras 37 y 39 en la corteza del gato de 9 días. 240 y 267X, respectivamente.

*Figura 55.*—Célula piriforme subpial. Piramidal externa, P. 240X.

*Figura 56.*—Célula del tipo triangular a 30 micras de la superficie pial. 467X.



#### LAMINA XI

Gato de 60 días. Método de *Golgi*. Corte perpendicular a la superficie cerebral. El precipitado argéntico señala la misma. 733X.

*Figuras 57 y 58.*—Dos planos de la célula que aparece en la figura 53, situada a 30 micras de la superficie. La morfología de sus prolongaciones es típica, así como la aparición a dos niveles de uno de los procesos polares (cabezas de flecha).

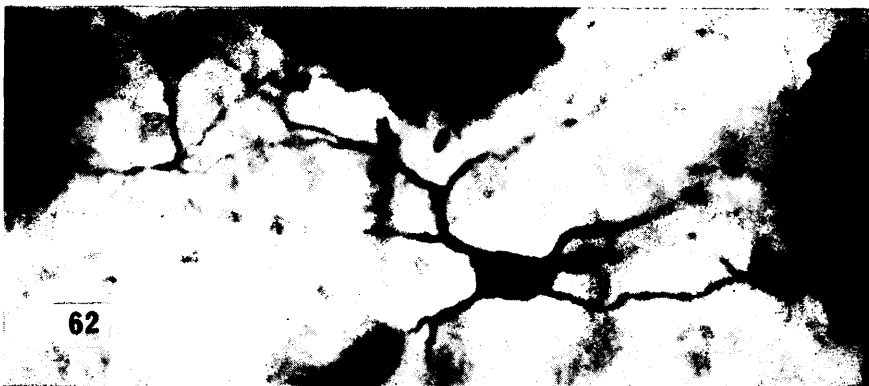
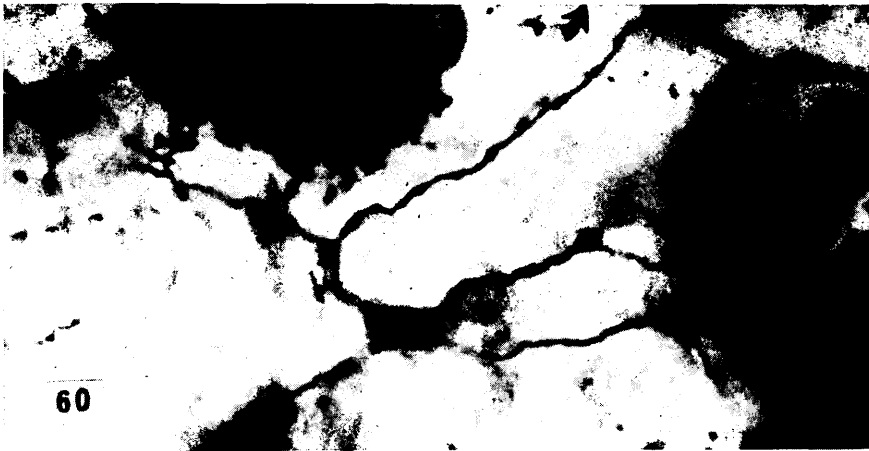
*Figura 59.*—Célula de *Cajal* del tipo triangular dando origen a tres gruesos procesos celulares.



## LAMINA XII

Gato adulto. Corte perpendicular a la superficie cerebral.  
Método de Golgi.

*Figuras 60, 61 y 62.*—Célula de *Cajal* en el tercio medio profundo de la capa molecular en tres planos focales. Del tipo poligonal, da origen a cuatro gruesos procesos celulares que originan escasas ramas secundarias y se extienden durante largos recorridos. Flechas gruesas señalando hacia la superficie cortical.



### LAMINA XIII

Gato adulto. Corte perpendicular a la superficie cerebral. Método de *Nissl*. Las flechas señalan la pia o margen cortical y el comienzo de la capa II. Núcleos de células neuróglícas, N; núcleos de oligodendrocitos, O; células de *Cajal*, C; vaso, V.

*Figura 63.*—Capa molecular limitada por pia y comienzo de la capa II. En el tercio externo aparece una célula de *Cajal* del tipo triangular y dos bipolares en el tercio medio profundo.

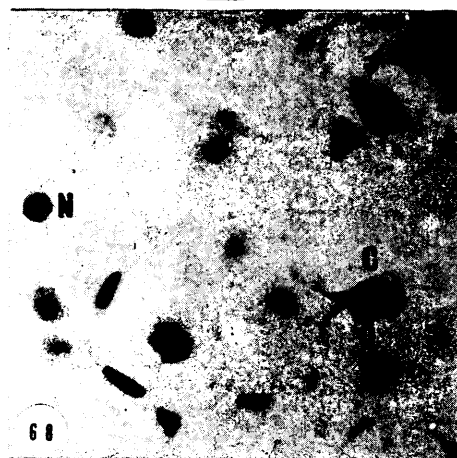
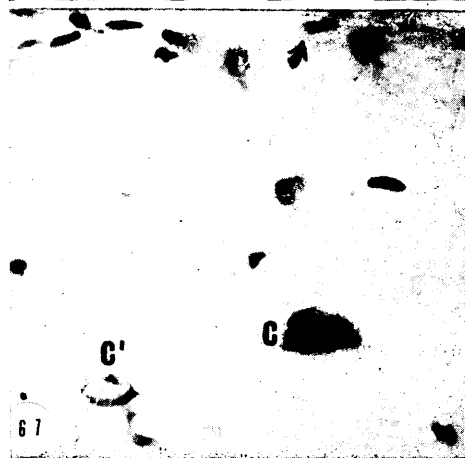
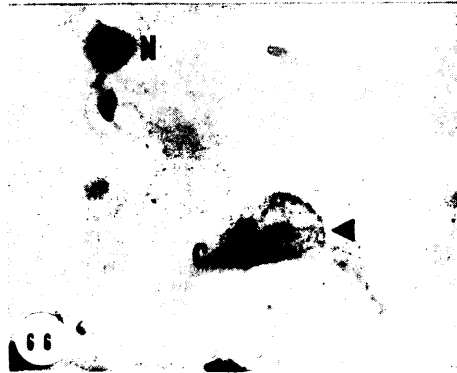
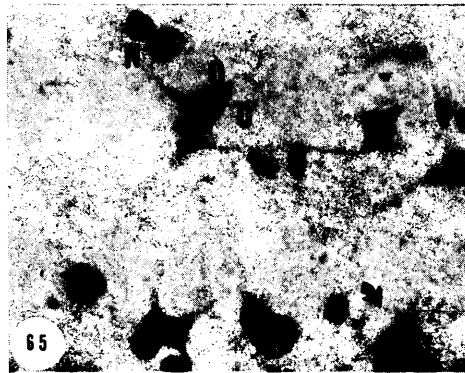
*Figura 64.*—Célula de *Cajal* del tipo piriforme a 60 micras del margen cortical.

*Figura 65.*—Célula de *Cajal* poligonal cercana a la capa II. 800X.

*Figura 66.*—La célula bipolar (en círculo) en figura 63 a mayor aumento. Se adivina la indentación nuclear señalada por una cabeza de flecha.

*Figura 67.*—Célula de *Cajal* bipolar y célula probable de axon corto C, en el tercio externo de la molecular.

*Figura 68.*—Célula de *Cajal* piriforme cercana a la superficie pial y con un núcleo de oligo sobre su soma.



#### LAMINA XIV

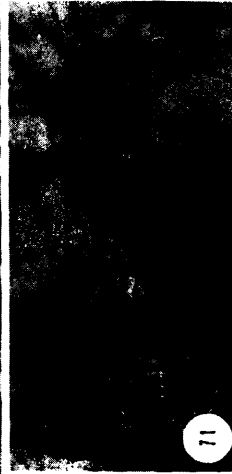
Estudio comparativo de las células de *Cajal*, con las grandes amacrinas de la plexiforme interna de la retina (espongioblastos), según ambos planos de sección.

*Figura 69.*—Montaje de una célula de *Cajal* del gato de 12 días. De forma bipolar observada en un corte tangencial a la superficie, sus gruesas ramas protoplasmáticas presentan poca tendencia a la ramificación y pueden ser seguidas durante largos trayectos e incluso hasta su terminación (cabeza de flecha). Método de *Golgi*.

*Figura 70.*—Montaje de una amacrina de la plexiforme interna de la retina (espongioblasto). Método de *Gallego* para la retina entera. La analogía de su soma (tamaño y forma), así como de las prolongaciones en su aspecto morfológico, distribución, longitud y situación en un plano horizontal a la retina es evidente.

*Figura 71.*—Célula de *Cajal* piriforme del gato de 9 días. Método de *Golgi*. Sección perpendicular a la superficie.

*Figura 72.*—Amacrina de la plexiforme interna (espongioblasto) teñida con el método de *Golgi*, en sección paralela a las vías de conducción, mediante la técnica del «enroulement» de *Cajal*. Compárese con la célula de *Cajal* de la figura 71 del gato de 9 días, y con la célula de *Cajal* subpial del gato de 60 días que aparece en la figura 52.



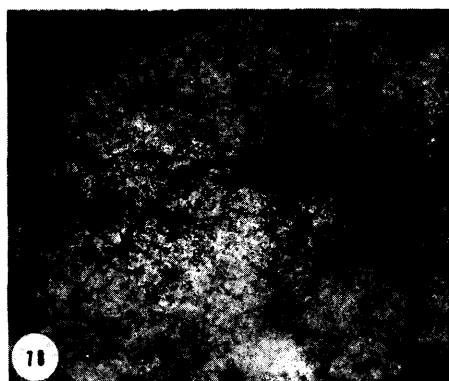
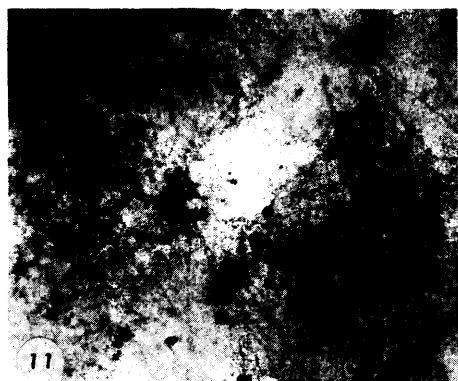
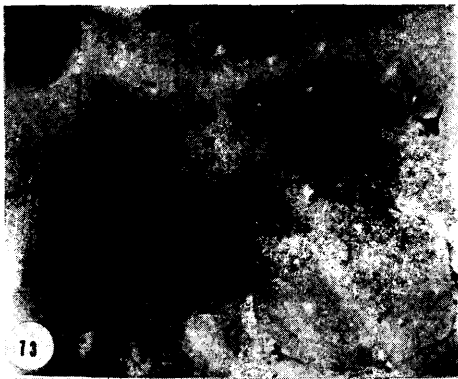
#### LAMINA XV

Gato adulto. Coloración vital con azul de metileno. Capa I en plano paralelo a la superficie y en todo su espesor.

*Figuras 73 y 74.*—Microfotografías a pequeño aumento mostrando las células de *Cajal* teñidas en las áreas anterolateral de asociación (ALA) y somática sensorial primaria (SI), respectivamente.

*Figuras 75 y 77.*—Células de *Cajal* presentes en el área visual primaria (V I).

*Figuras 76 y 78.*—Células de *Cajal* presentes en el área visual primaria (V II).



#### LAMINA XVI

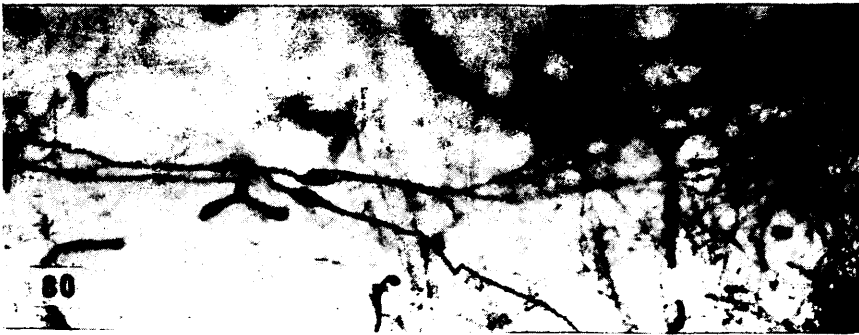
Conejo de 12 días. Las flechas señalan la superficie cortical. Método de *Golgi*.

*Figura 79.*—Tres células de *Cajal* del tipo triangular impregnadas en un corte tangencial. Las prolongaciones de igual morfología recorren trayectos de hasta 250 micras de longitud. 360X.

*Figura 80.*—Dos células de *Cajal* del tipo bipolar, dando lugar a larguísimas prolongaciones polares (350 micras) visualizadas en un mismo plano focal. Corte tangencial a la superficie. 230X.

*Figuras 81 y 82.*—Detalle de las prolongaciones de estas células mostrando el modo de dividirse dando una colateral que asciende hacia la superficie (cabeza de flecha) perdiéndose en el precipitado argéntico.

*Figura 83.*—Célula de *Cajal* de aspecto bipolar, situada en el tercio externo de la capa I, cuya única prolongación polar observable en este corte (perpendicular a la superficie) se divide en dos que recorren trayectorias paralelas a la superficie cortical. 360X.



#### LAMINA XVII

Microfotografías comparativas de las células de *Cajal* de la corteza cerebral del conejo, con las amacrinas o espongioblastos de la plexiforme interna de la retina del mismo animal. Planos horizontales en ambos casos.

*Figura 84.*—Célula de *Cajal* del conejo de 12 días. Método de *Golgi*. Tipo triangular. 350X.

*Figura 85.*—Célula amacrina de la plexiforme interna (espongioblastos) de la retina del conejo adulto. Método de *Gallego* para la retina entera. 350X.  
El tipo triangular de la figura 85 es en todo comparable al de la célula de *Cajal* en la 84.

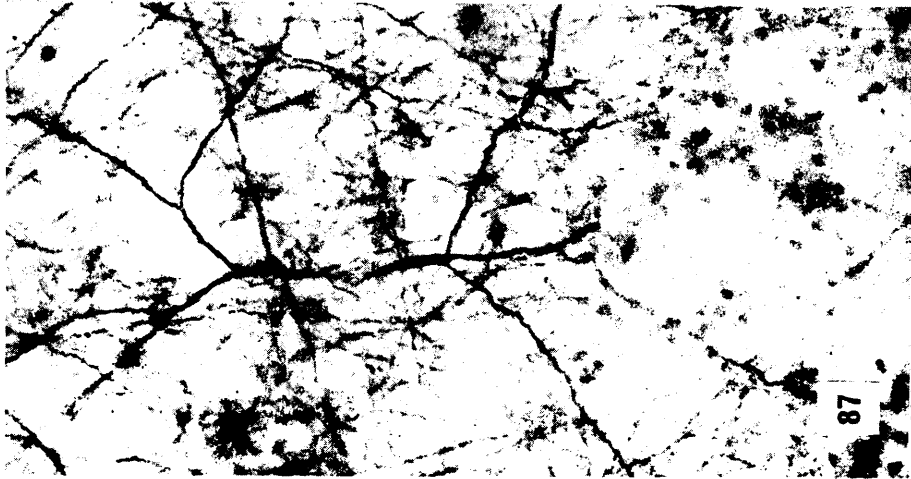


LAMINA XVII BIS

Estudio comparativo igual que en la lámina XVII.

*Figura 86.*—Célula de *Cajal* del conejo de 12 días. Método de *Golgi*. Tipo bipolar. 350X.

*Figura 87.*—Célula amacrina de la plexiforme interna (espongioblasto) de la retina del conejo adulto. Método de *Gallego* para la retina entera. 350X.  
Ambos tipos celulares son en todo semejantes.



#### LAMINA XVIII

Estudio comparativo en el conejo de las células de *Cajal* de la corteza cerebral y de las grandes células amacrinas de la plexiforme interna de la retina (véase la lámina XVIII bis), vistas en los mismos planos que en la lámina anterior y teñidas con los mismos métodos.

*Figura 88.*—Célula de *Cajal* del conejo de 12 días en corte tangencial de la corteza. Método de *Golgi*. Tipo triangular. 500X.



LAMINA XVIII BIS

*Figura 89.*—Célula amacrina (espongioblasto) de la plexiforme interna de la retina del conejo adulto. Método de *Gallego* para la retina entera. 500X.



#### LAMINA XIX

Comparación de las células de *Cajal* del conejo y los espongioblastos de la retina del mismo animal en el plano de sección perpendicular a la superficie cortical y a la retina.

*Figura 90.*—Amacrina de la plexiforme interna de la retina del conejo adulto. Tinción con el método de *Golgi* y sección perpendicular a la retina. 820X.

*Figura 91.*—Célula de *Cajal* del conejo de 14 días del tipo piriforme con el tallo polar dirigido hacia la superficie cortical (flecha). Método de *Golgi*. 820X.



## LAMINA XX

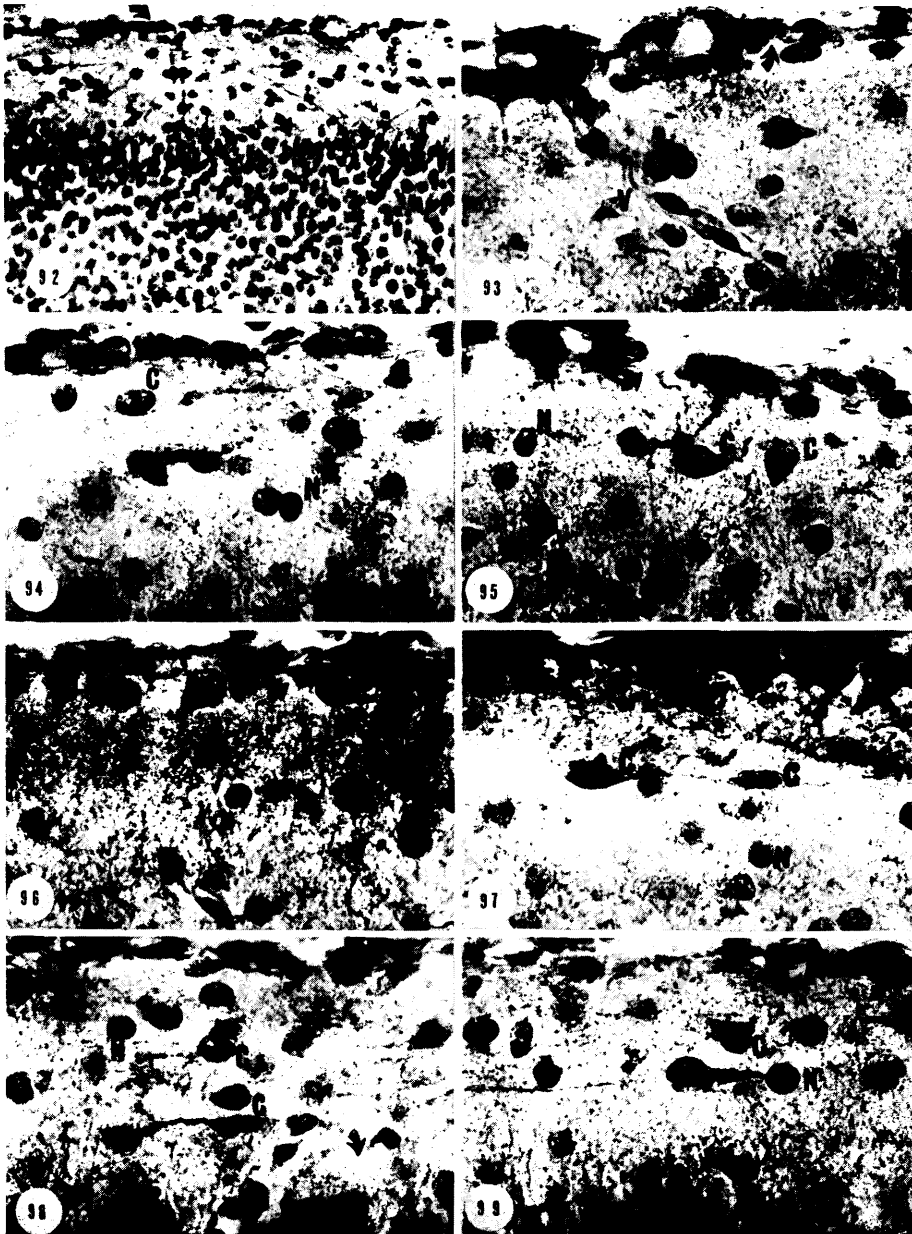
Ratón de 5 días. Corteza cerebral seccionada según el plano perpendicular a la superficie cerebral. Tinción con el método de *Cajal* modificado por *De Castro*. Las flechas curvas señalan la superficie cortical y el comienzo de la capa II. Núcleos de neuroglía, N. Células de *Cajal*, C. Vasos, V.

*Figura 92.*—Capa molecular a pequeño aumento con una célula de *Cajal* en el tercio medio dispuesta en paralelo con la superficie pial.

*Figuras 93, 94, 97, 98 y 99.*—Células de *Cajal* situadas en los tercios externo, medio y profundo de la capa molecular y orientadas horizontalmente a la superficie.

*Figura 95.*—Células piriforme y bipolar a 15 micras de la pia.

*Figura 96.*—Célula piriforme y célula bipolar inmediatamente subpial.



## LAMINA XXI

Gato de 12 días, microscopía de contraste de fases. Cortes control (0,5-1 micra). Vasos (V), Neuroglia (N), Piramidales externas (P), Superficie cortical (flecha).

*Figura 100.*—Sección perpendicular a la superficie cortical. Células de *Cajal* en el tercio medio de la capa I (C), orientadas paralelamente a la superficie. 333X.

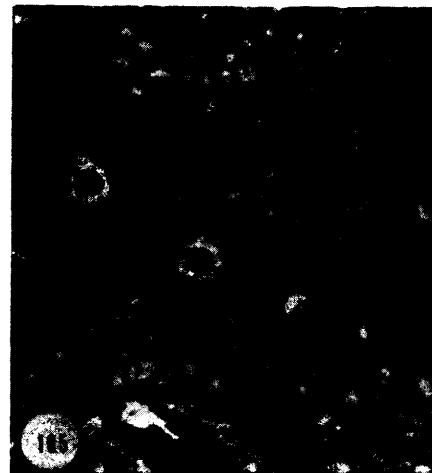
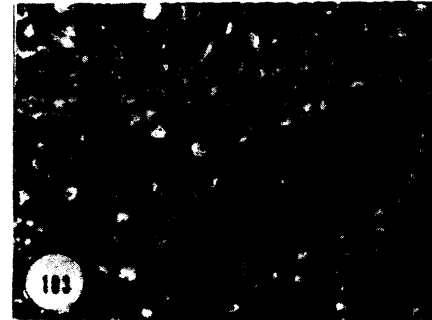
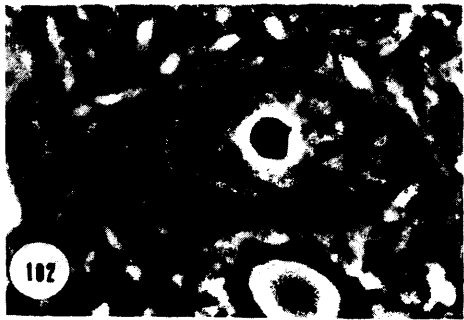
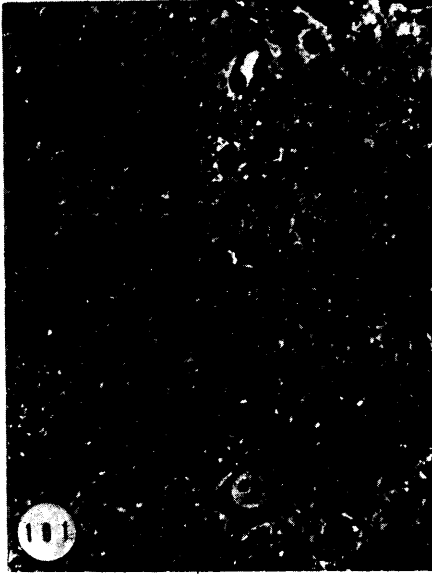
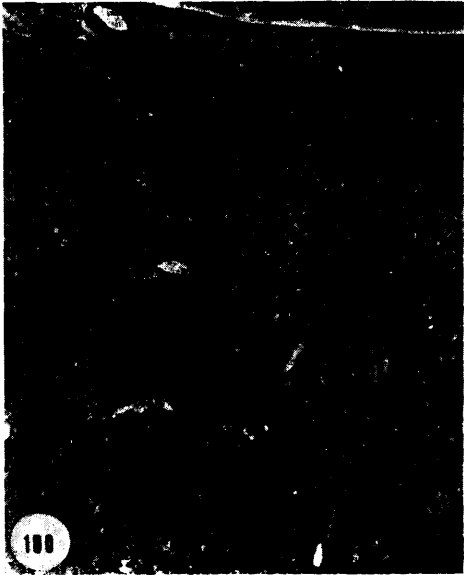
*Figura 101.*—Corte tangencial a la superficie. La superficie se halla limitada por procesos fibrosos. Dos células de *Cajal* piriformes (Cp) se hallan en el tercio más externo de la capa I. Más profundamente observamos una de tipo triangular (Ct). 400X.

*Figura 102.*—Detalle de una célula de *Cajal*, orientada paralelamente a la superficie en un corte perpendicular a la misma. Obsérvense la indentación del núcleo (cabeza de flecha) y el nucleolo. 1.650X.

*Figura 103.*—Idem de una célula de *Cajal* hallada en un corte tangencial a la superficie de la corteza. 1.200X.

*Figura 104.*—Célula de *Cajal* piriforme muy próxima a la superficie cortical (flecha). 1.000X.

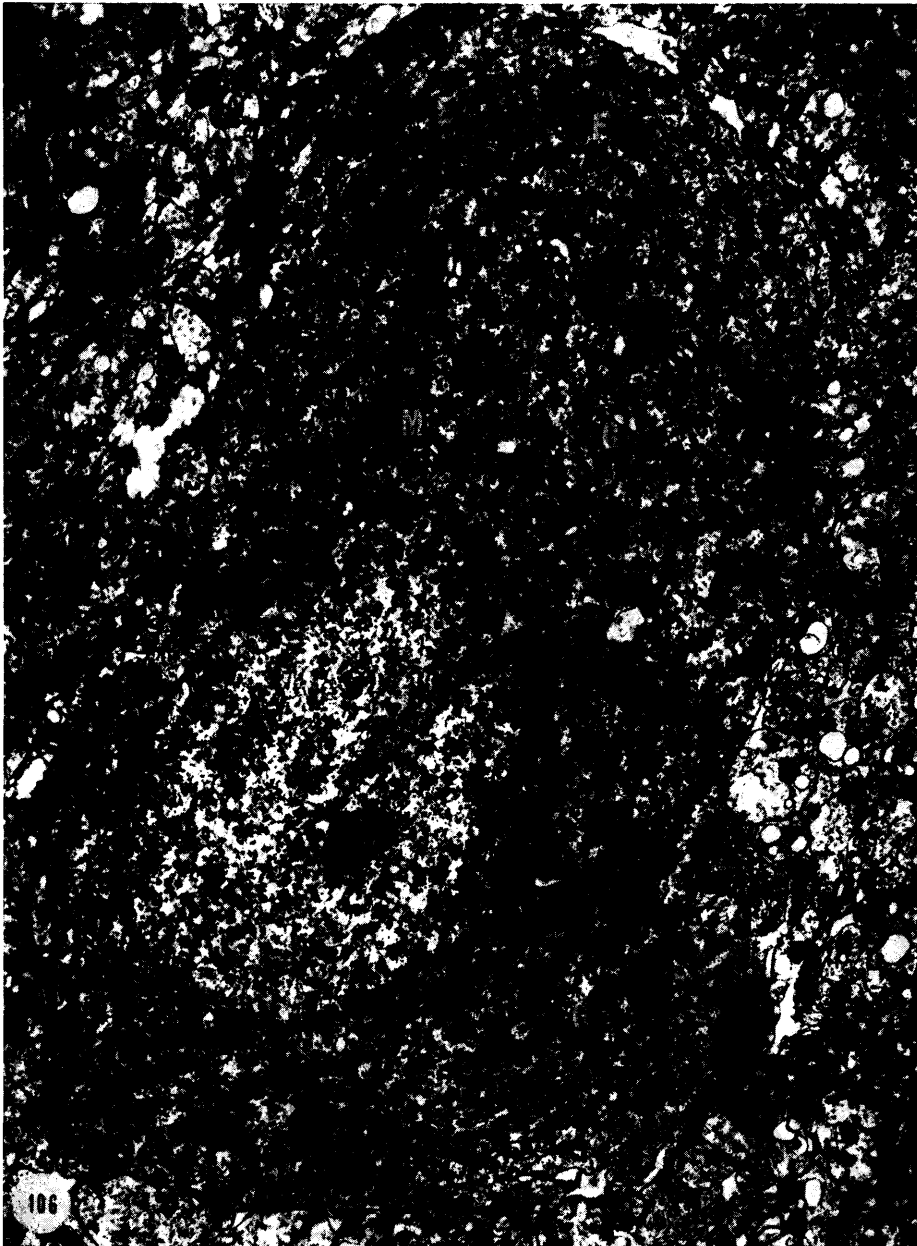
*Figura 105.*—Piramidales externas (P), en un corte profundo de orientación tangencial a la superficie. Obsérvense los núcleos redondeados con nucleolos y la cercanía de los somas celulares entre sí. 1.000X.



## LAMINA XXII

Gato de 12 días. Corte paralelo a la superficie de la corteza.  
Fijación con glutaraldehído.

*Figura 106.*—Célula de *Cajal*, tipo A, bipolar hallada en el tercio medio de la capa I. El núcleo muestra una indentación profunda (cabeza de flecha) e indicios de nucleolo (n). Aparecen varios complejos de *Golgi* diseminados por el citoplasma (G). Se puede apreciar la abundancia de orgánulos citoplasmáticos: retículo endoplásmico rugoso (E), mitocondrias (M), cuerpos densos (D) y vesículas de núcleo denso. En la membrana citoplasmática, el inicio de una espícula (e).

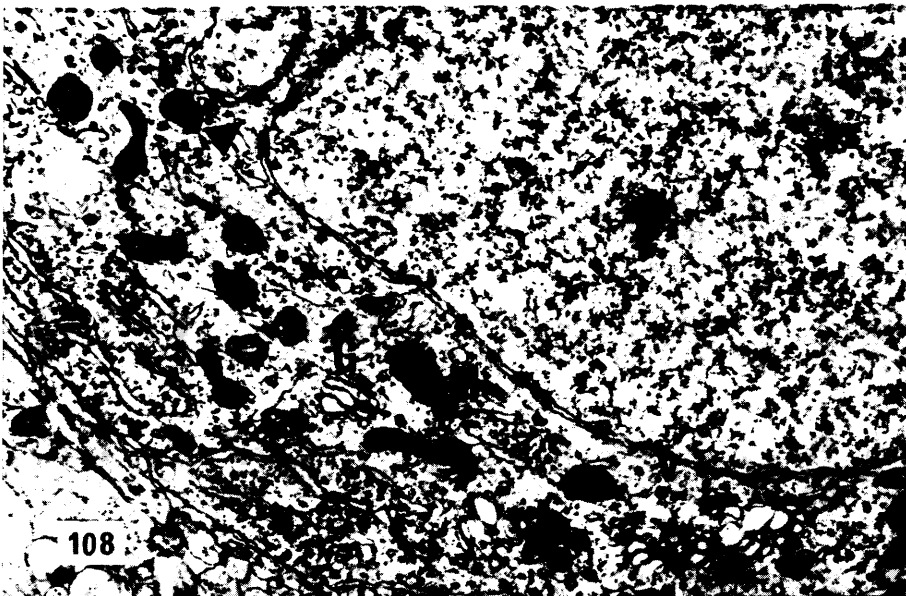
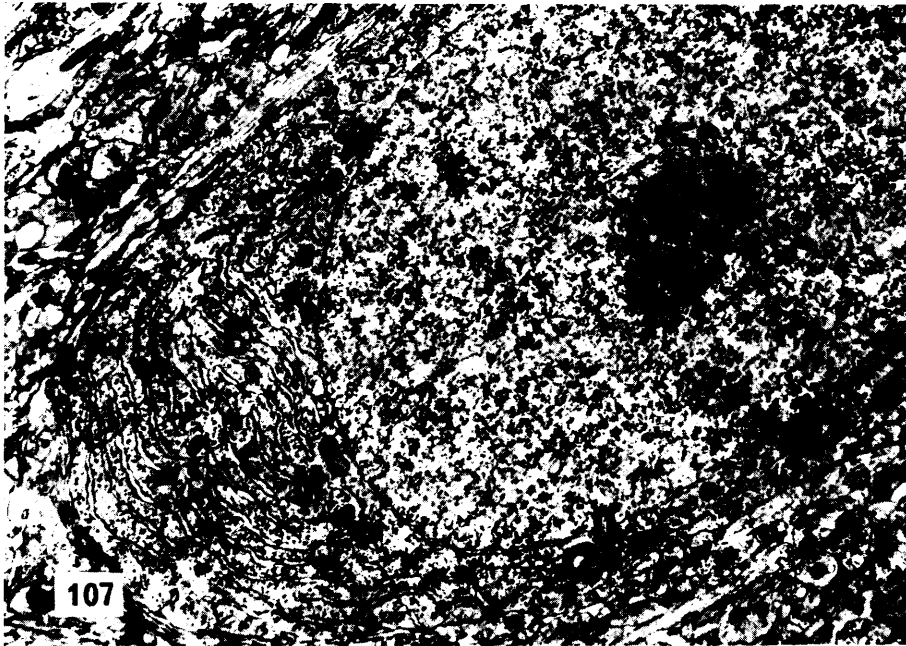


#### LAMINA XXIII

Gato de 12 días. Células de *Cajal* del tipo B. Fijación con glutaraldehído.

*Figura 107.*—Célula de *Cajal* del tipo B intersticial, hallada en un corte tangencial a la superficie de la corteza. El núcleo es ovalado y regular, conteniendo un nucleolo (n). La distribución del citoplasma alrededor de él no es asimétrica en los polos celulares. En ellos se acumulan las cisternas de retículo endoplásmico rugoso (E), de disposición paralela a la membrana citoplasmática y paralelas entre sí. Mitocondrias (M), cuerpos densos (D). Complejo de *Golgi* (G). 8.000X.

*Figura 108.*—Célula de *Cajal* del tipo B intersticial, hallada en la zona más externa de la capa I, en un corte perpendicular a la superficie cortical. La indentación del núcleo es típica (cabeza de flecha). Mitocondrias (M), aparato de *Golgi* (G), cuerpos densos (D), vesículas de núcleo denso (v). Una sinapsis axosomática indicada por la flecha. 15.000X.

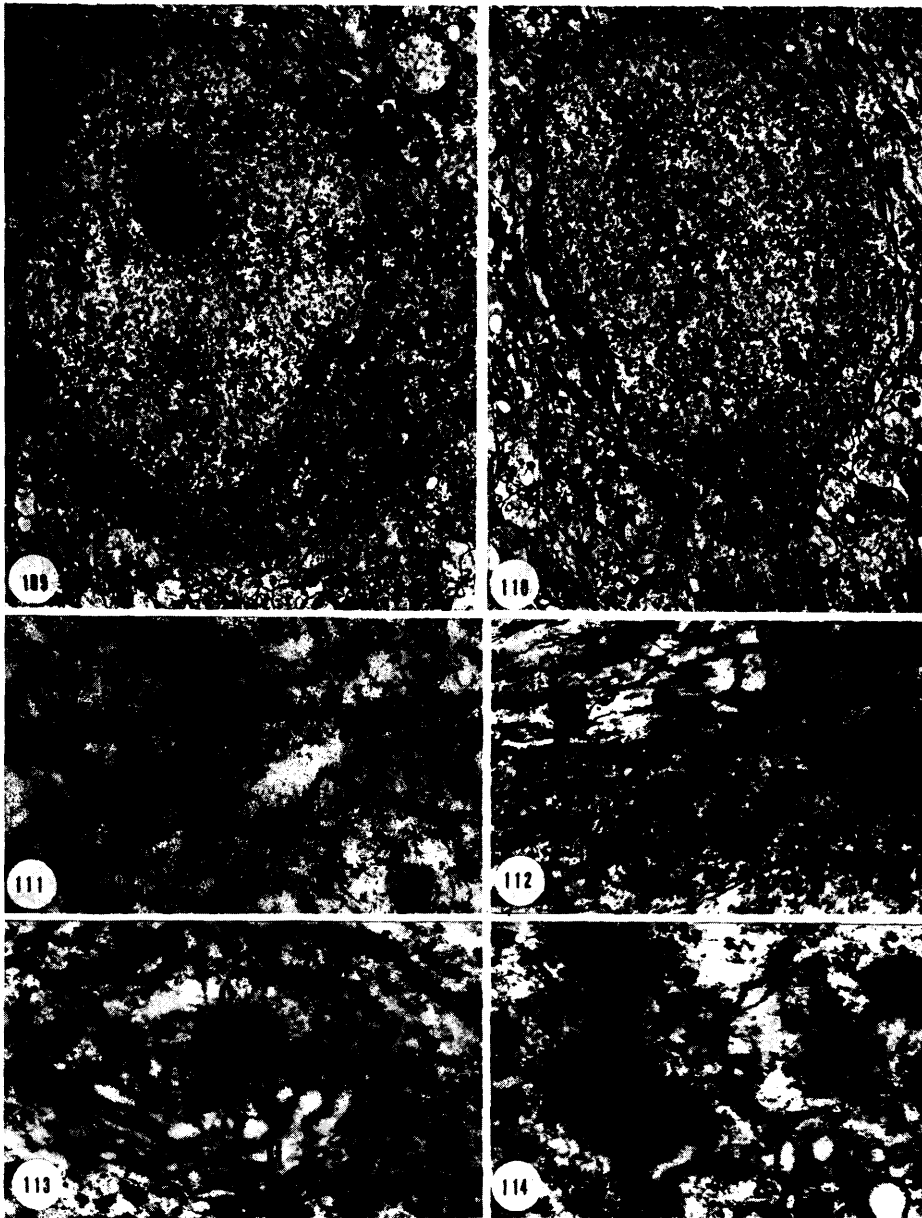


#### LAMINA XXIV

Gato de 12 días. Plano de sección paralelo a la superficie de la corteza. Fijación con glutaraldehído.

*Figuras 109 y 110.*—Células de axon corto, encontradas a diversos niveles intralaminares, en la capa I. Obsérvese las menores dimensiones somáticas, núcleo más regular, aspecto general de ellas más «luciente», repartición del citoplasma alrededor del núcleo en forma más o menos simétrica, menor densidad de sus mitocondrias (M), retículo endoplásmico (E) menos abundante y compuesto por cisternas más cortas (todo ello con relación a las células A y B). Nucleolos (n), *Golgi* (G), ondulaciones de la membrana nuclear (cabeza de flecha). Sinapsis señaladas por flechas. A, origen del axon. 6.600X y 7.000X, respectivamente.

*Figuras 111, 112, 113 y 114.*—Detalles ultraestructurales de las células de *Cajal* tipo A y B. Núcleo (N), cuerpo multivesicular (cmv), cisterna submembrana (m), *Golgi* (G), estructuras ciliares (C), vesículas de núcleo denso (v). 80.000, 26.000, 40.000 y 100.000X.



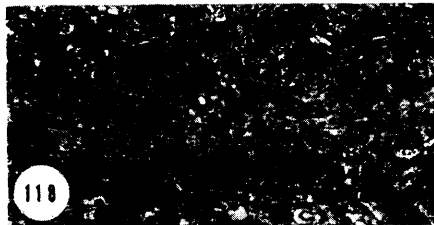
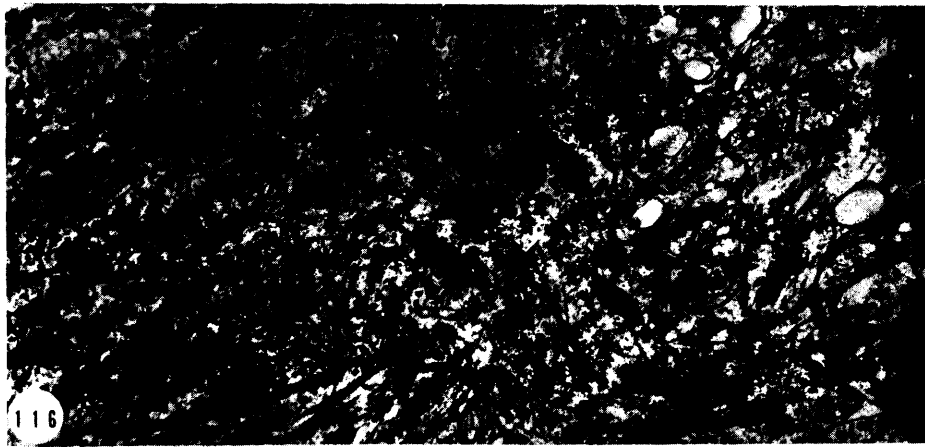
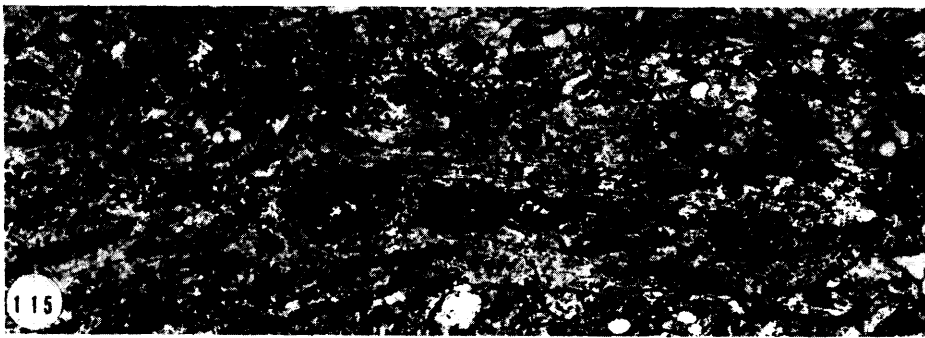
## LAMINA XXV

Gato de 12 días. Fijación con glutaraldehído.

*Figura 115.*—Prolongación de una célula de *Cajal* del tipo B, en sección paralela a la superficie de la corteza. Neurotúbulos (n), vesículas de núcleo denso (v) y espicula (e). Sinapsis señaladas por flechas. Las características son similares a las presentes en las prolongaciones de las células del tipo A.

*Figura 116.*—Otro ejemplo de inicios de prolongación de las células de *Cajal* del tipo B. Corte paralelo a la superficie cerebral. Neurotúbulos (n), vesículas de núcleo denso (v) y sinapsis señaladas por flechas.

*Figuras 117 y 118.*—Prolongaciones de las células de *Cajal* tipo A, halladas en cortes perpendiculares a la superficie de la corteza. Neurotúbulos (n), vesículas de núcleo denso (v) y sinapsis indicadas por flechas. La prolongación de la figura 118 se hallaba separada del soma celular por procesos del neuropilo.



#### LAMINA XXVI

Gato de 12 días. Sección en ambos planos. Fijación con glutaraldehído.

Sinapsis axosomáticas sobre las células de *Cajal* de los tipos A y B.

Vesículas de núcleo denso (v). Desmosomas (d).

*Figura 119.*—Sinapsis del tipo asimétrico (I de *Gray*), cuya población vesicular es regular y esférica. 50.000X.

*Figura 120.*—Lo mismo, pero con vesículas de núcleo denso en el botón sináptico. 50.000X.

*Figura 121.*—Sinapsis del mismo tipo asimétrico asociada con una unión del tipo desmosoma en la zona de contacto. Pueden observarse dos zonas funcionales. 70.000X.

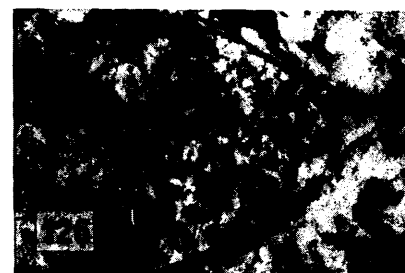
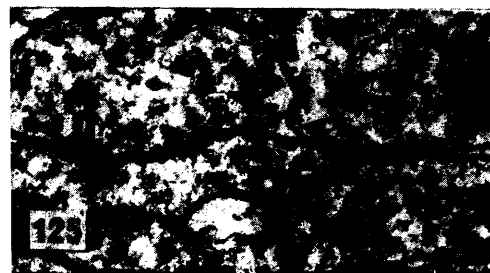
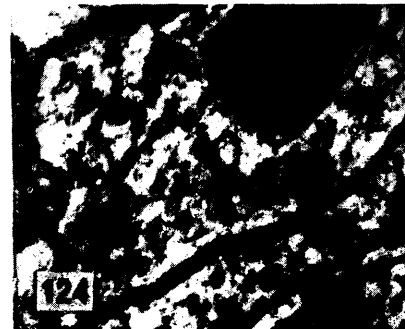
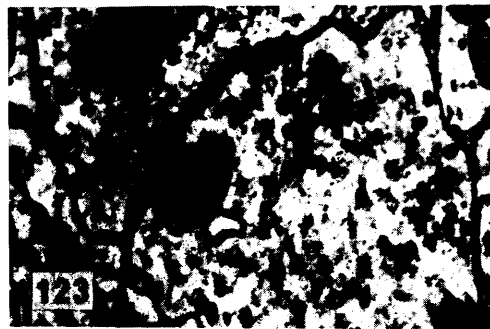
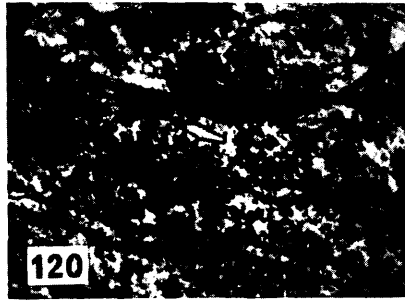
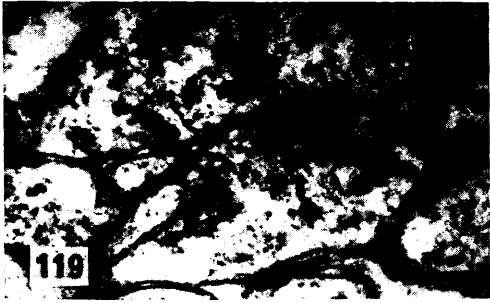
*Figura 122.*—Sinapsis de tipo simétrico. Vesículas claras de forma irregular. 50.000X.

*Figura 123.*—Del tipo simétrico (II de *Gray*), asociada con desmosoma. Población vesicular heterogénea. 40.000X.

*Figura 124.*—No hay contacto funcional típico, pero la vesícula de núcleo denso parece estar liberándose hacia el espacio extracelular por un proceso de exocitosis. 70.000X.

*Figura 125.*—Dos botones sobre el soma celular, uno de ellos establece un contacto desmosómico con la membrana celular. 50.000X.

*Figura 126.*—Sinapsis de tipo simétrico con vesícula de núcleo denso en el botón. Las vesículas son muy irregulares. 65.000X.

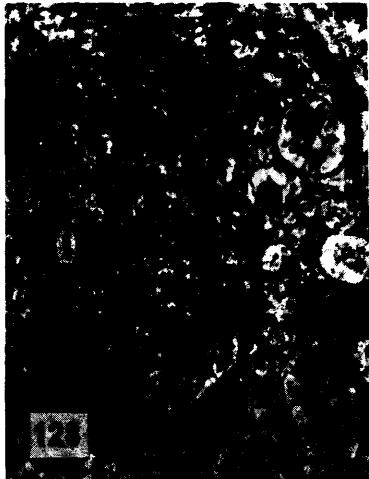


#### LAMINA XXVII

Gato de 12 días. Fijación con glutaraldehído.

*Figura 127.*—Superficie cortical en corte perpendicular a la misma. La célula glial (G) limita la superficie. Expansiones astrocíticas fibrosas (g). La célula señalada con interrogación (?) presenta todas las características de célula de microglía subpial. Por debajo de la limitante glial se observan sinapsis (S), terminando sobre finas prolongaciones. 15.000X.

*Figuras 128 y 129.*—Células de oligodendroglía, halladas en la capa I de la sustancia gris cortical. Muestran la inconfundible apariencia de su núcleo (O), poco citoplasma circundante de densidad considerable con ribosomas libres o agrupados en rosetas y pocas cisternas de retículo endoplásmico rugoso. 12.000 y 17.000X.



#### LAMINA XXVIII

Dibujos esquemáticos mostrando las características generales de las células de *Cajal* (tipos A y B) y de las células de axon corto, así como su distribución intralaminar en la capa I de la sustancia gris cortical.

*Figura 130.*—Células de *Cajal* y prolongaciones del tipo A.

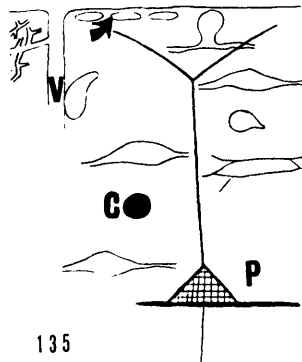
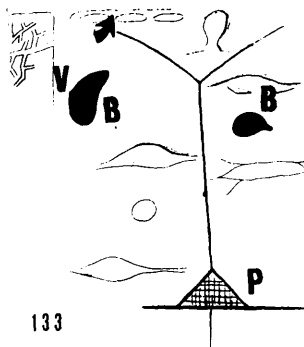
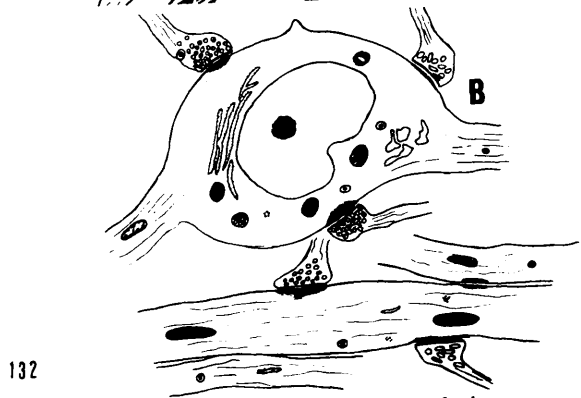
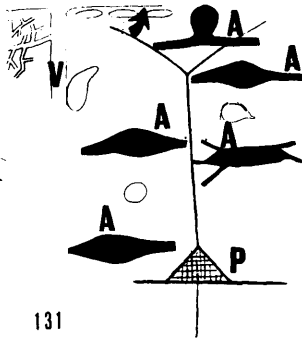
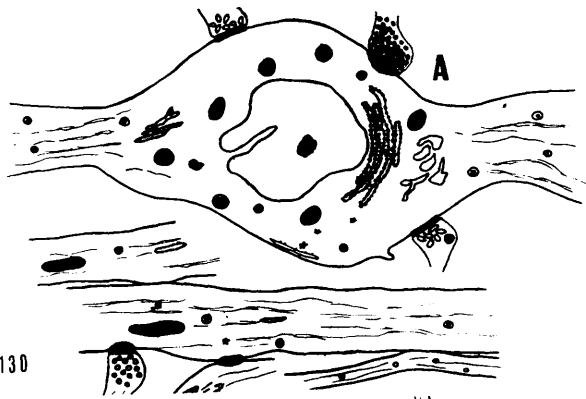
*Figura 131.*—Su distribución a diversos niveles de la capa I. Superficie cortical señalada por la flecha. Célula piramidal externa (P). Vaso (V). En negro, las células de *Cajal* (A), bipolares, piriformes y triangulares o poligonales.

*Figura 132.*—Células de *Cajal* y prolongaciones del tipo B.

*Figura 133.*—Su distribución intralaminar en sus dos aspectos: perivascular e intersticial, en negro y señaladas por la letra B.

*Figura 134.*—Célula de axon corto. El axon, señalado por la cabeza de flecha.

*Figura 135.*—En negro (C), su distribución intralaminar.

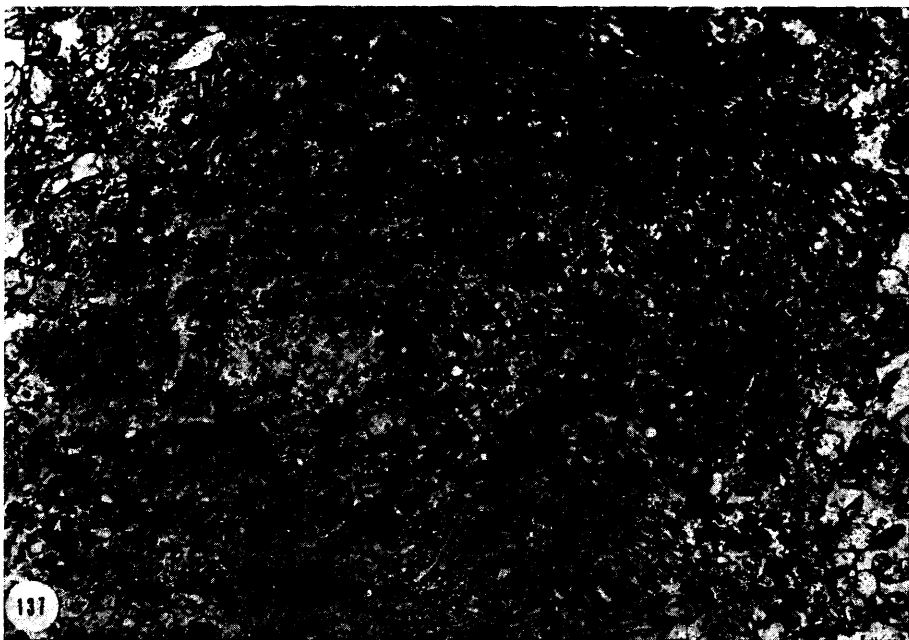


#### LAMINA XXIX

Capa I de la corteza cerebral del gato de 40 días. Sección en el plano tangencial a la superficie de la misma. Fijación por inmersión en tetróxido de osmio (2 por 100).

*Figura 136.*—Célula de *Cajal* del tipo A y forma triangular, hallada en inmediata vecindad a la superficie de la corteza y orientada paralelamente a ella. El núcleo presenta un nucleolo (n) y una indentación de su membrana muy acentuada (cabeza de flecha). Mitocondrias, M; aparato de *Golgi*, G; retículo endoplásmico, E. La flecha señala una sinapsis axo-somática. Se inicia una prolongación (p).

*Figura 137.*—Célula de *Cajal* tipo A en el tercio medio de la capa molecular. La masa citoplasmática es muy abundante. El núcleo presenta una ligera indentación de su membrana (flecha). Sinapsis (flechas).



### LAMINA XXX

Gato de 40 días. Sección tangencial a la superficie cortical.  
Fijación por inmersión en tetróxido de osmio.

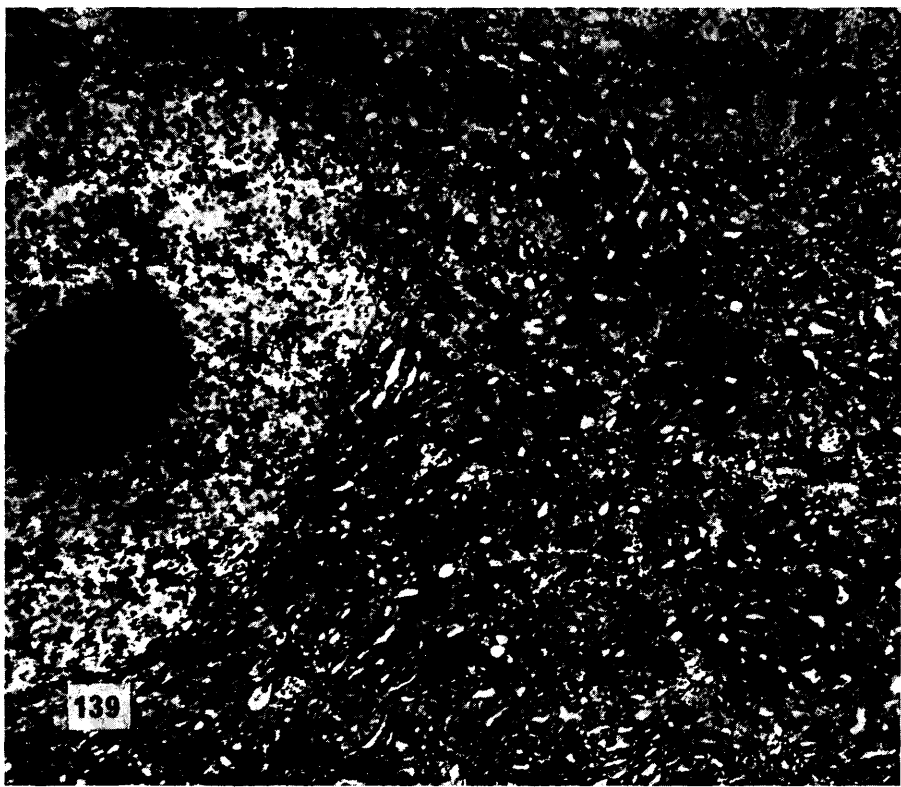
*Figura 138.*—Célula de *Cajal*, tipo B, en el tercio externo de la capa molecular. El núcleo es claro y su membrana presenta algunas indentaciones moderadas (cabezas de flecha). Mitocondrias (M), aparato de *Golgi* (G), lisosomas (L) y cuerpos densos (D), dispersos por todo el citoplasma. Vesículas de núcleo denso (v), sinapsis axosomáticas (flechas). 9.000X.



LAMINA XXX BIS

Lo mismo que la lámina XXX.

*Figura 139.*—Gran célula de *Cajal* del tipo B en el tercio profundo de la molecular, en todo comparables a las del mismo tipo halladas en el gato de 12 días. Nucleolo (n) muy organizado; citoplasma acumulado en uno de los polos celulares; en esta zona se observan numerosos orgánulos citoplásmicos: mitocondrias (M), lisosomas (L), vesículas de núcleo denso (v); el retículo endoplásmico rugoso se encuentra de preferencia en la periferia celular. La flecha señala a una sinapsis axosomática. 7.500X.



### LAMINA XXXI

Gato de 40 días. Sección según ambos planos angulares.  
Fijación por inmersión en tetróxido de osmio.

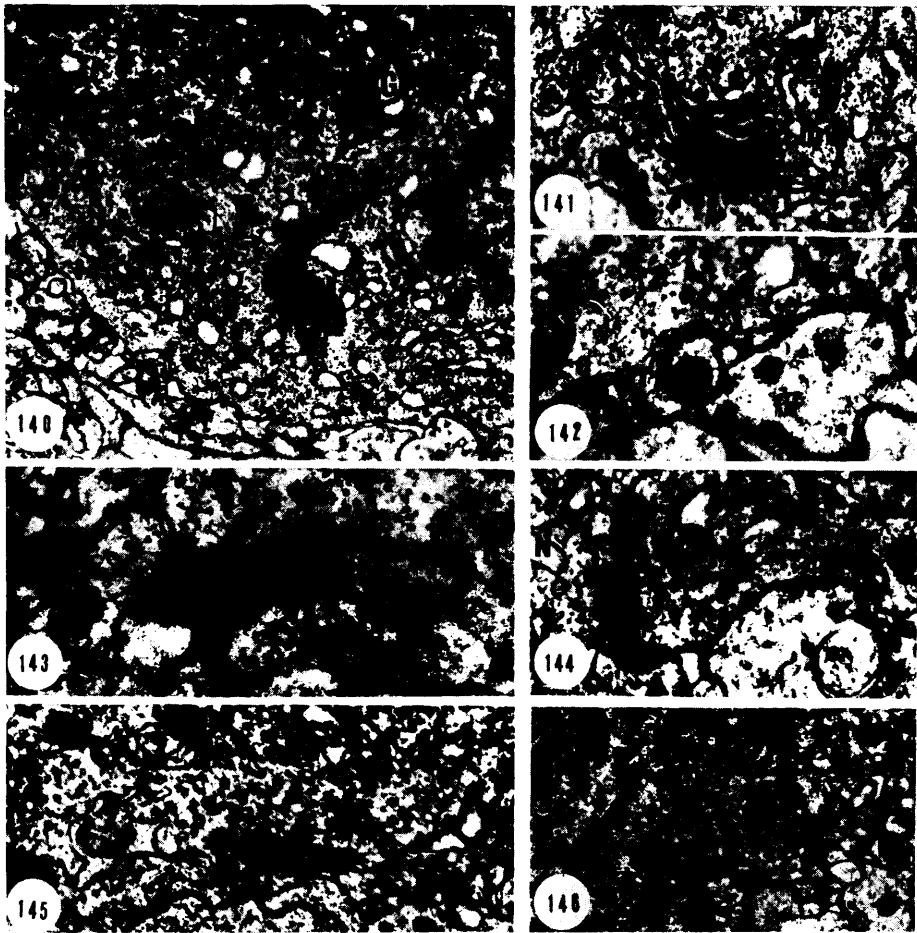
*Figura 140.*—Detalle de una célula de *Cajal* del tipo A (N) mostrando el complejo de *Golgi* (G), lisosomas (L), varias vesículas de núcleo denso (encuadradas) y gran abundancia ribosómica en forma libre o asociada con cisternas de retículo endoplásmico (E). Las flechas señalan dos sinapsis axo-somáticas de ambos tipos.

*Figura 141.*—Soma de una célula de *Cajal*, mostrando en detalle cisternas submembrana (m) inmediatamente por debajo de una sinapsis (flecha).

*Figura 142.*—Espícula (e) recibiendo sinapsis (flecha) en la membrana citoplásmica de una célula de *Cajal* (N).

*Figuras 143 y 144.*—Estructura ciliar (C) de una misma célula de *Cajal* (N) en diferentes cortes. Obsérvese cómo el cilio tiende a insinuarse en una evaginación de la membrana citoplásmica (cabeza de flecha), y cómo éste va acompañado por un complejo de *Golgi* (G).

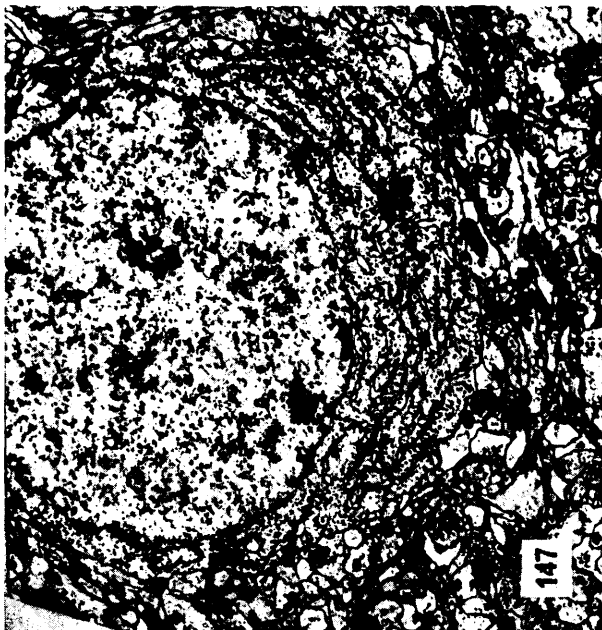
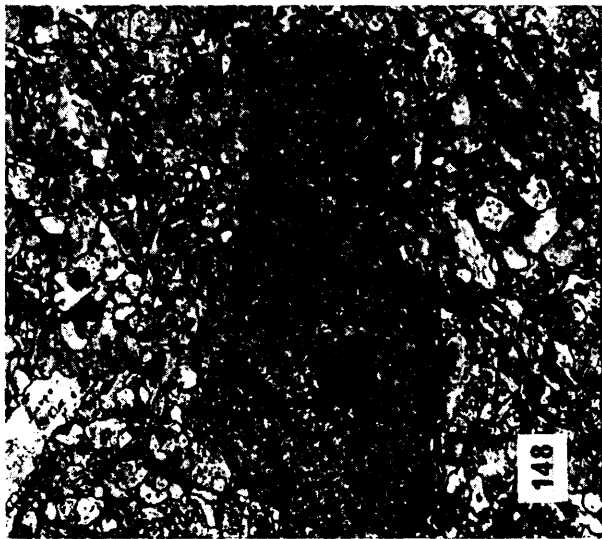
*Figuras 145 y 146.*—Estructuras ciliares (C) de diferentes células de *Cajal* (N) emergiendo una de ellas en forma muy definida por una espícula del citoplasma celular. En ambos casos el complejo de *Golgi* (G) acompaña dicha estructura. Vesícula de núcleo denso (v); sinapsis axo-somáticas (flechas).



#### LAMINA XXXII

*Figura 147.*—Gato de 40 días. Sección en el plano tangencial a la superficie de la misma. Fijación por inmersión en tetróxido de osmio (2 por 100). Célula de axon corto, en el tercio medio de la capa molecular. Retículo endoplásmico rugoso (E), cuerpos densos (D) y sinapsis axo-somáticas (flechas). 5.100X.

*Figura 148.*—Microglía (M), en el tercio medio de la capa I. La elongación del soma es característica, así como su pequeño tamaño y escasez de citoplasma perinuclear. El núcleo es denso, elongado e irregular. 10.000X.

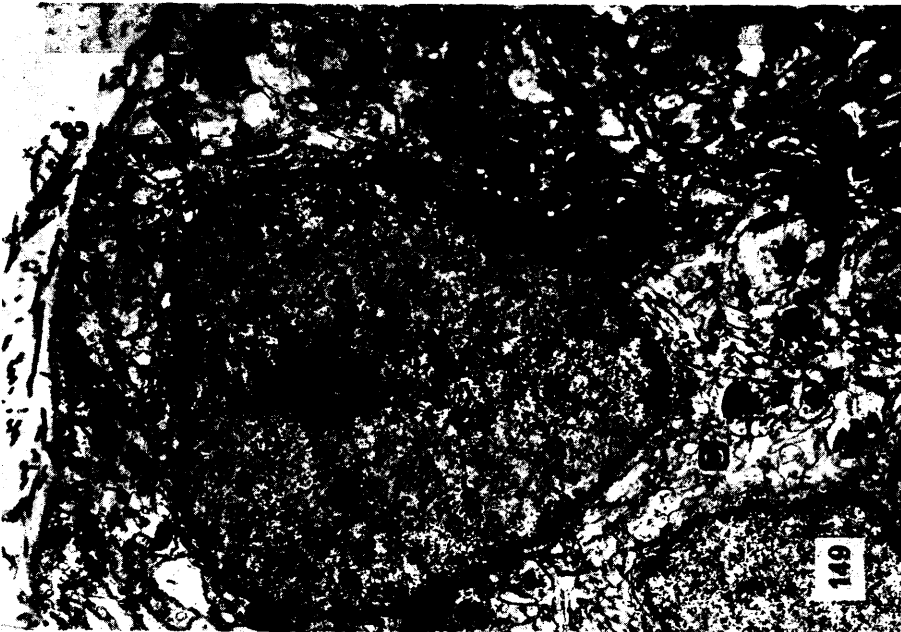
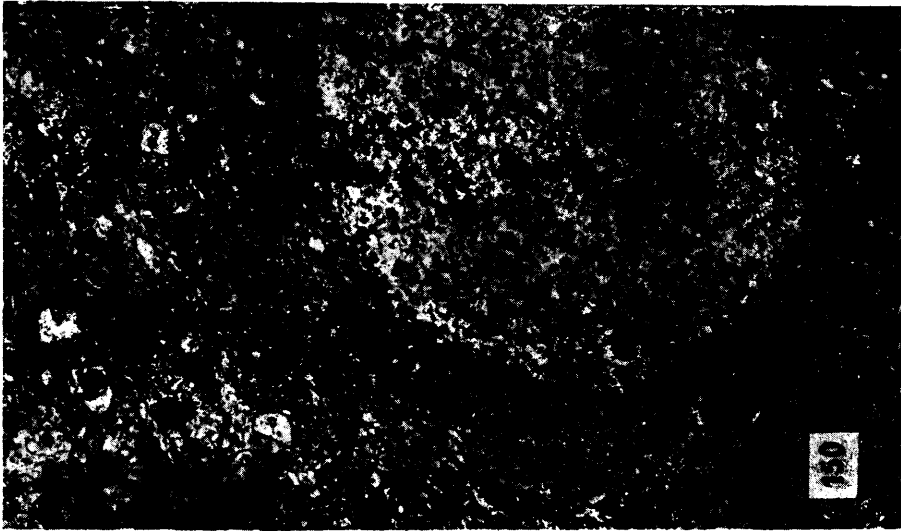


#### LAMINA XXXII BIS

Gato de 40 días. Fijación por tetróxido de osmio (2 por 100).

*Figura 149.*—Corte perpendicular a la superficie de la corteza. Glía fibrosa (G) limitando la superficie cortical (flecha curva). Los gliofilamentos (g) de esta célula y de las prolongaciones de otros astrocitos aparecen seccionados en todas direcciones. Mitocondrias (M). 10.300X.

*Figura 150.*—Célula piramidal externa de la capa II de la corteza cerebral en cortes profundos de piezas seccionadas, según el plano tangencial a la superficie de la corteza. El núcleo es claro. El citoplasma rodea al núcleo en forma simétrica, acumulándose sólo en los puntos de origen de las dendritas. Puede observarse el oligocito satélite (O). 5.100X.

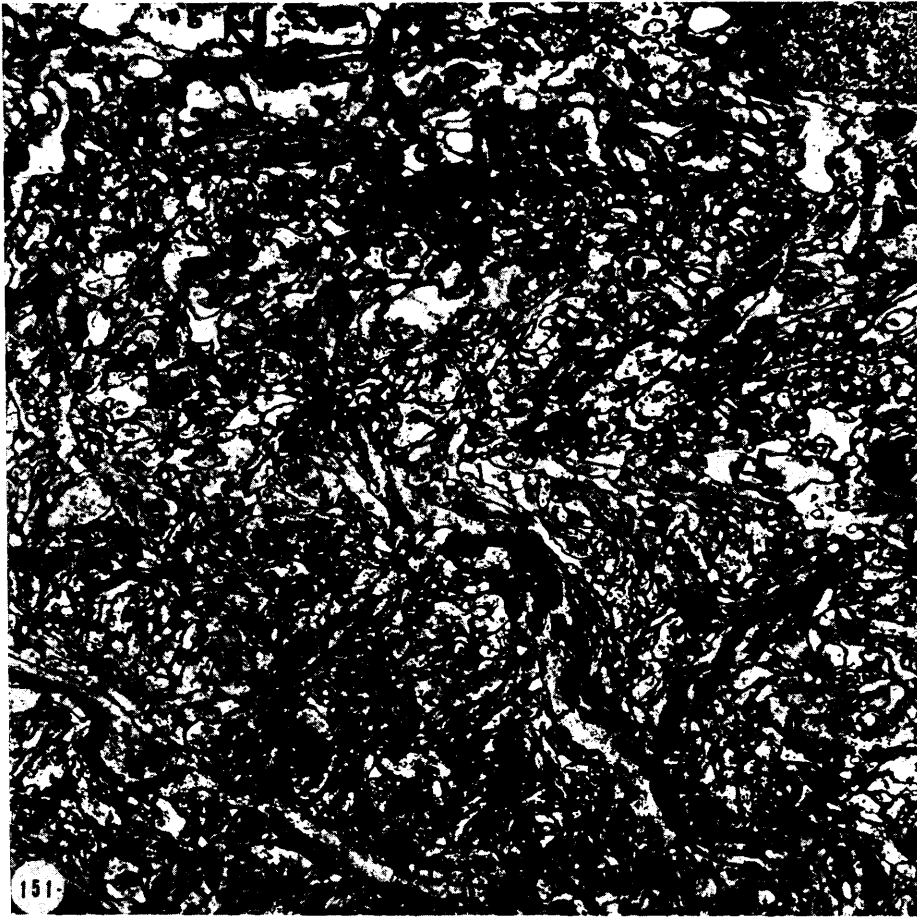


### LAMINA XXXIII

Gato de 40 días. Plano de sección tangencial a la corteza.  
Fijación por inmersión en tetróxido de osmio (2 por 100).

*Figura 151.*—Tercio externo de la capa molecular, observada en sección tangencial a la superficie cortical (señalada por flecha curva). La «limitans gliae» formada por procesos astrocíticos con gliofibrillas (g) y por células gliales (G). Obsérvense los procesos varicosos (D) con mitocondrias, cuerpos multivesiculares (x) y plasma vesiculoso dirigidos hacia la superficie. Reciben gran número de sinapsis fundamentalmente asimétricas (estrellas). 8.300X.

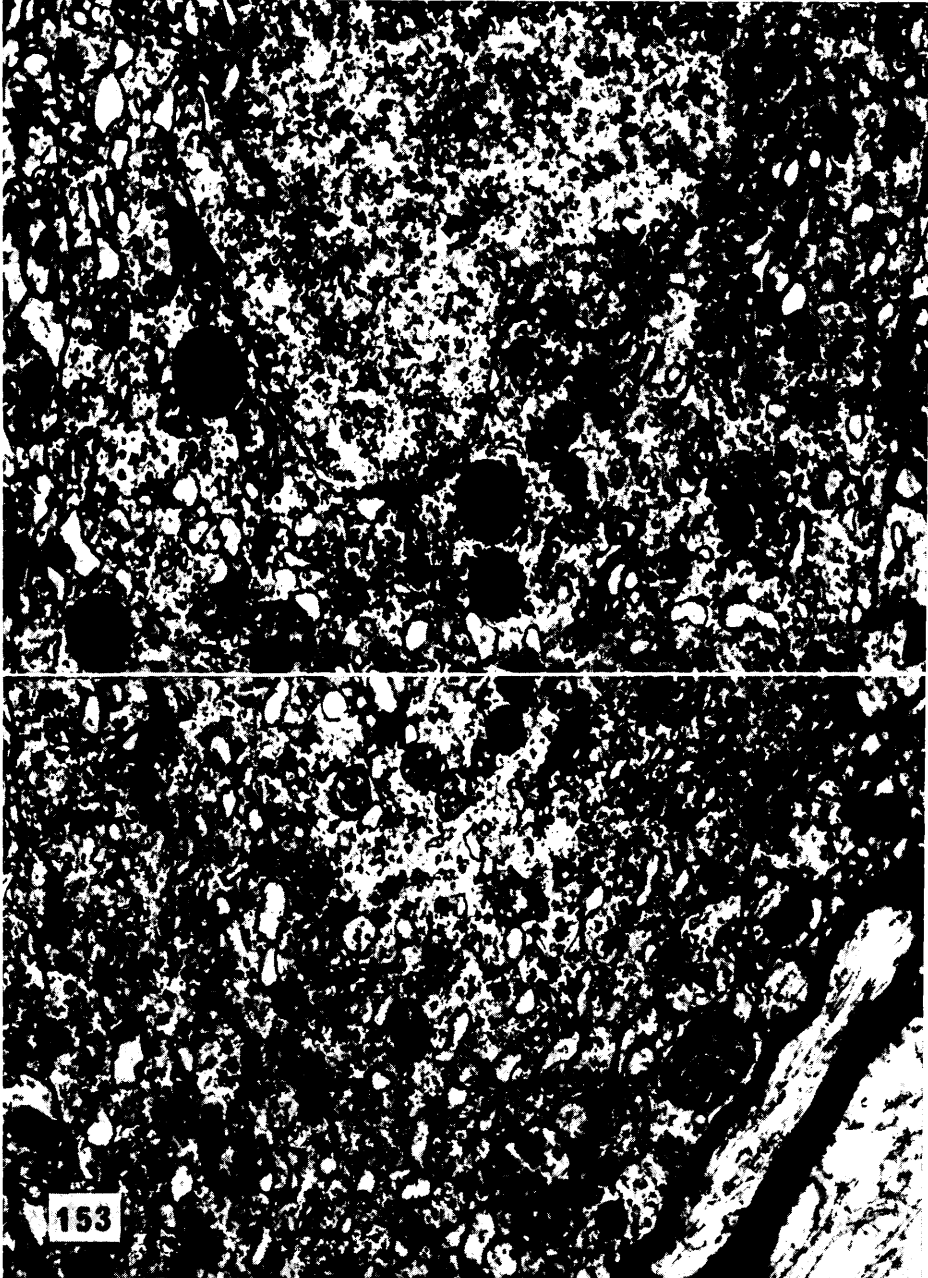
*Figura 152.*—Ejemplo de dendrita apical (P) ascendiendo hacia la superficie vista en un corte perpendicular. Las cabezas de flecha señalan hacia el origen espinoso. Espinas (s). Sinapsis axo-espinosas (estrellas). Neurotúbulos (n). 6.000X.



LAMINA XXXIV

Gato adulto. Plano de sección tangencial a la superficie de la corteza. Fijación por inmersión en tetróxido de osmio (2 por 100).

*Figura 153.*—Célula de *Cajal* del tipo A bipolar, en el tercio medio de la capa molecular. El núcleo presenta una discreta ondulación (cabeza de flecha) y el citoplasma se acumula alrededor de él en forma asimétrica. En la zona de mayor acúmulo citoplásmico se observan gran cantidad de orgánulos: mitocondrias (M), complejos de *Golgi* (G), neurotúbulos (nt), lisosomas (L), cuerpos densos (D), vesículas de núcleo denso (v), figura de mielina (m), cuerpos multivesiculares (X), cisternas de retículo endoplásmico rugoso (E). Las flechas curvas señalan sinapsis axosomáticas; las flechas gruesas indican desmosomas asociados o no con zonas de contacto funcional. Espícula citoplásmica (e). 12.600X.



#### LAMINA XXXV

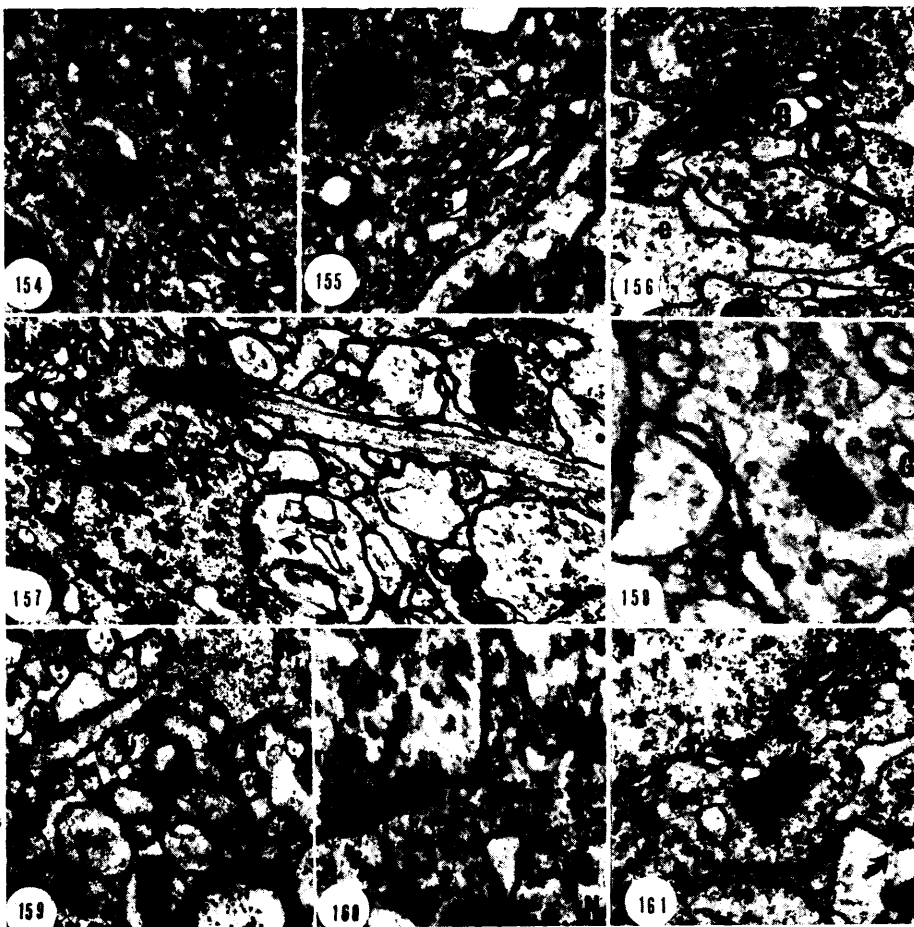
Gato adulto. Sección en ambos planos angulares. Fijación por inmersión en tetróxido de osmio (2 por 100).

*Figura 154.*—Detalle de una célula de *Cajal* (N), mostrando vesículas de núcleo denso (v), neurotúbulos (nt), complejo de *Golgi* (G), retículo endoplásmico rugoso (E) y sinapsis sobre el soma (flechas).

*Figuras 155, 156, 157 y 158.*—Detalles de diversas células de *Cajal* (N), mostrando estructuras ciliares (C), con aparición o no en el plano de sección de su cuerpo basal (B), situadas en la periferia celular. Dos hechos característicos definen este hallazgo: el acompañamiento sistemático de un complejo de *Golgi* (G), y la insinuación o salida franca de la estructura ciliar por una espícula (e) del citoplasma celular, que en ocasiones aparece como finísima prolongación: figura 157, en este caso, los filamentos del cilio parecen conformar el esqueleto tubular de la misma.

*Figuras 159 y 160.*—Detalles de las espículas (e) de dos células de *Cajal* (N). Por regla general estas pequeñas evaginaciones de la membrana citoplásmica reciben sinapsis del tipo asimétrico principalmente (flechas). Vesícula de núcleo denso (v).

*Figura 161.*—Cisterna submembrana (m), que algunas veces se observan asociadas a una zona sináptica; cuerpo basal de una estructura ciliar probable seccionada longitudinalmente (C) y sinapsis axosomática asimétrica (flecha).



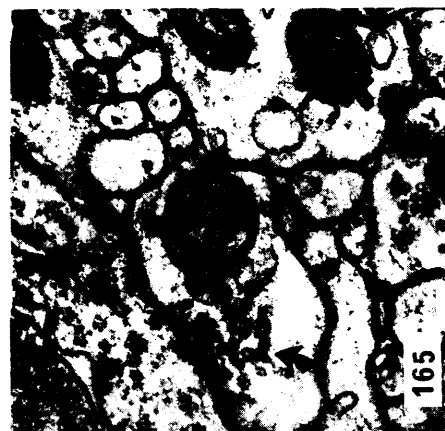
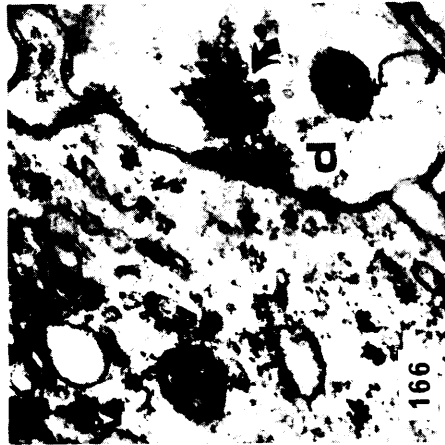
#### LAMINA XXXVI

Gato adulto. Sección en ambos planos angulares. Fijación por inmersión en tetróxido de osmio (2 por 100).

*Figura 162.*—Sinapsis axosomática (flecha) sobre una célula de *Cajal* del tipo A (N). Vesícula de núcleo denso (v). 35.000X.

*Figuras 163, 164 y 165.*—Sinapsis del tipo simétrico (flechas) sobre las células de *Cajal* del tipo A. Desmosomas (d). Espina dendrítica con aparato espinoso (s). 35.000X.

*Figuras 166 y 167.*—Sinapsis axosomáticas del tipo asimétrico (flechas) sobre células de *Cajal* (N), asociadas con desmosomas (d). También sinapsis axodendrítica asimétrica. Vesículas de núcleo denso (v). 35.000 y 40.000X, respectivamente.



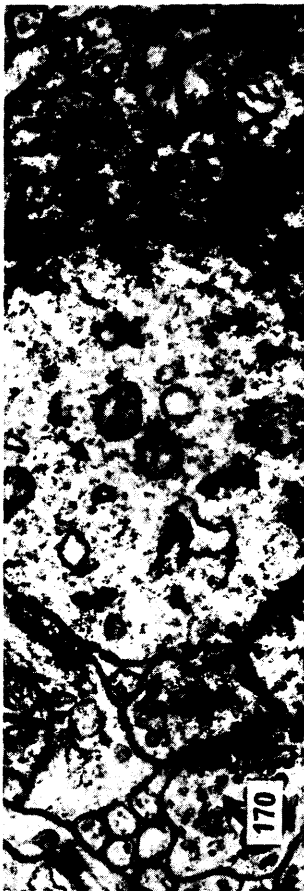
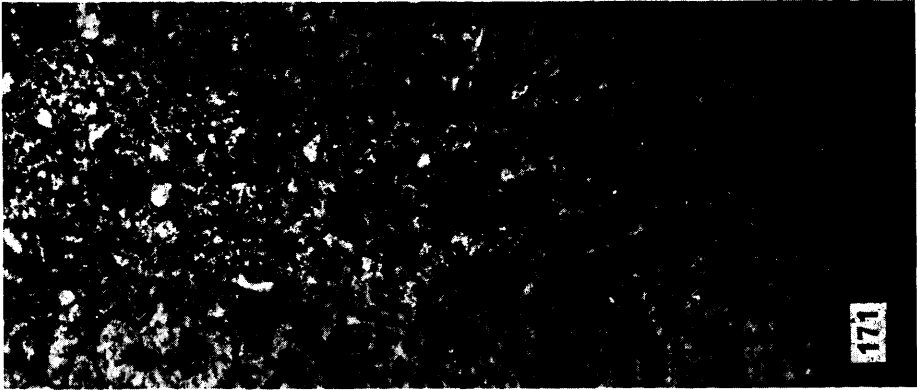
LAMINA XXXVI BIS

Gato adulto. Sección en ambos planos angulares. Fijación por inmersión en tetróxido de osmio (2 por 100).

*Figuras 168 y 169.*—Prolongaciones de células de *Cajal* del tipo B, halladas en continuidad con el soma celular. Neurotúbulos (n), vesículas de núcleo denso (v). 12.500X.

*Figura 170.*—Prolongación probable de una célula de *Cajal* seccionada transversalmente, en la que podemos apreciar una vesícula de núcleo denso (v), varias sinapsis sobre ella (flechas) del tipo asimétrico y simétrico, una de ellas con desmosoma asociado (d). A su lado, un botón sináptico contacta con una espina dendrítica (s). Obsérvese el contenido vesiculoso y cisternal de la prolongación. 27.500X.

*Figura 171.*—Prolongación de una célula de *Cajal*, tipo A. Neurotúbulos (n), cuerpos multivesiculares (X), cisternas submembrana (m), vesículas de núcleo denso (v), ribosomas (r), espícula de la membrana que limita la prolongación (e), sinapsis axodendríticas (flechas), desmosomas (d). 10.000X.



### LAMINA XXXVII

Gato adulto. Sección en ambos planos angulares. Fijación por inmersión en tetróxido de osmio (2 por 100).

*Figura 172.*—Pericito (P) apoyado sobre la pared de un capilar y separado de ella por la membrana basal. Endotelio capilar (E). Pies astrocíticos terminales (estrellas); prolongaciones pericíticas terminando sobre el endotelio (círculos). Flechas curvas señalando a la deflexión del conjunto membrana-basal pericito. 12.000X.

*Figura 173.*—Capilar, célula endotelial (E) y pericito (P); el conjunto queda totalmente rodeado por la membrana basal. La deflexión entre pericito y vaso determinada por la penetración de un pie astrocitario es pronunciada (flecha curva izquierda). Pies astrocíticos (estrellas), prolongaciones pericíticas embebidas en la membrana basal (p). 6.500X.

*Figura 174.*—Pericito (P) apoyado sobre la membrana basal de un capilar y separado de él por la misma. La glía astrocitaria se introduce en las deflexiones que separan pericito y pared vascular (flechas curvas). La membrana basal en contacto con los grandes pies astrocitarios en los polos del pericito aparece difusa. Endotelio (E); prolongación pericítica (p) y terminal de la misma sobre endotelio (círculo). 10.600X.

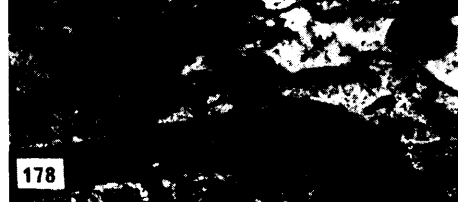
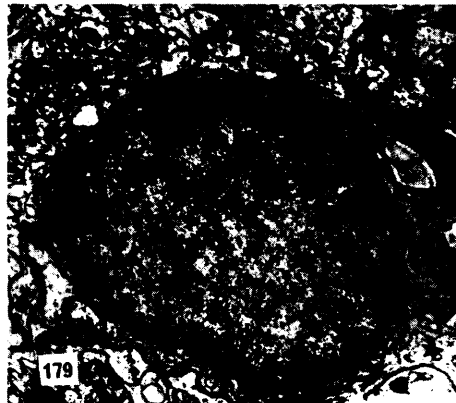
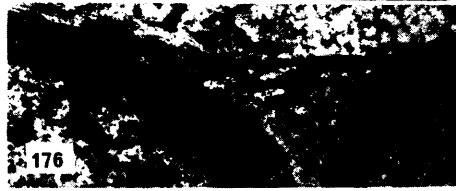
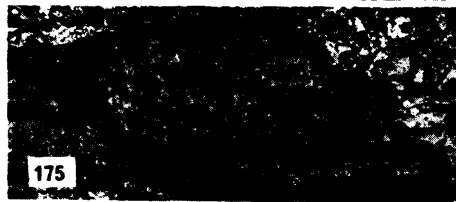
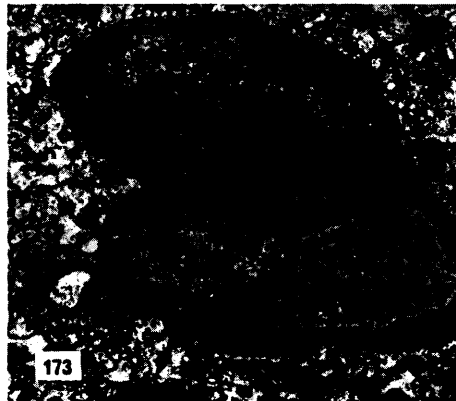
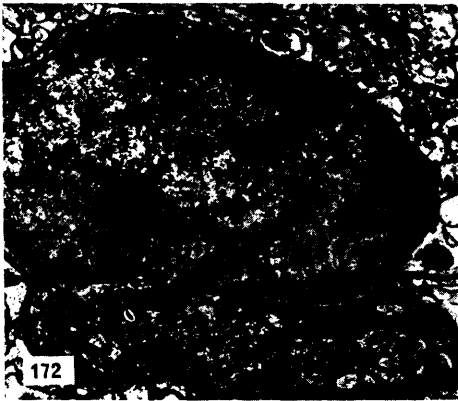
*Figura 175.*—Vaso con pericito (P) y endotelio (E). Una finísima lámina astrocítica penetra entre la pared del vaso y el pericito separándoles (flecha recta). Obsérvese cómo el ambiente astrocitario del pericito se limita a los polos del mismo (estrellas), en donde la membrana basal aparece difusa. 4.700X.

*Figura 176.*—Detalle figura 175 mostrando la unión pericítico-endotelial (P y E); glía (estrellas). 18.000X.

*Figura 177.*—Detalle de figura 175 en otro corte. La finísima lámina astrocítica (flecha recta) disgrega la membrana basal entre endotelio y pericito. 14.000X.

*Figura 178.*—Detalle de la figura 175 a mayor aumento. La lámina astrocítica (flecha recta) que se interpone entre endotelio vascular (E) y pericito (P) es de mayor calibre. La membrana basal sobre la pared vascular es normal; la que queda en el lado pericítico se presenta anómala y difusa, tendiendo a desaparecer en algunos puntos. 16.600X.

*Figura 179.*—Pericito (P) rodeado de una membrana basal normal. Ambiente astrocítico en la deflexión pericítico-capilar (flechas curvas a la derecha). En la zona inferior las prolongaciones gliales parecen disgregar la membrana basal. A la izquierda, una prolongación astrocitaria de mediano calibre separa la membrana basal de la superficie pericítica, presentando ésta signos de disrupción (flecha curva izquierda). 10.000X.



#### LAMINA XXXVIII

Gato adulto. Sección en ambos planos angulares. Fijación por inmersión en tetróxido de osmio (2 por 100).

*Figura 180.*—Capilar con núcleo endotelial (E) y eritrocito (e). La membrana basal que rodea el vaso es normal. Terminales periciticas finas contactando con el endotelio vascular (círculos). El ambiente astrocítico del capilar formado por los pies gliales (estrellas) es total. Gliofibrillas (g). 12.000X.

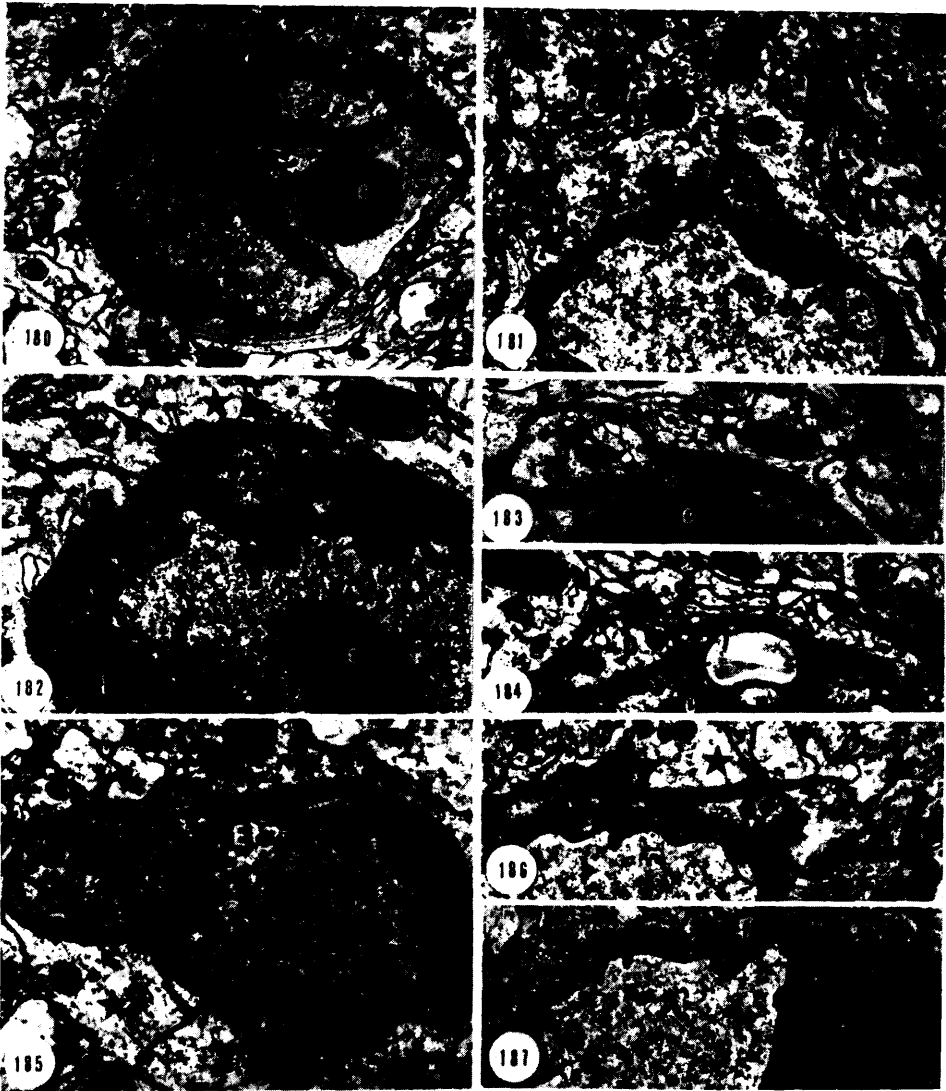
*Figura 181.*—Imagen de vaso con prolongación pericitica (p) embebida en la membrana basal. Terminales de las mismas (círculos) en contacto con el endotelio vascular (E). Pies astrogliales (estrellas) con gliofilamentos (g). 14.000X.

*Figura 182.*—Vaso con eritrocito (e) y prolongación pericitica (p) embebida en la membrana basal. Pies astrocíticos (estrellas). Endotelio (E). Contacto pericítico-endotelial (círculo). Gliofilamentos (g) y lisosoma endotelial (l). 16.600X.

*Figura 183.*—Prolongación pericitica (p) con contacto claro sobre endotelio (E) (círculo). Pies astrocíticos (estrellas). Gliofilamentos (g). 14.000X.

*Figura 184.*—Lo mismo que la anterior, mostrando «disrupción» de la membrana basal que cubre una prolongación pericitica (flecha curva). «Gap junction» en el ambiente glial perivascular (flecha doble). 13.300X.

*Figuras 185, 186 y 187.*—Lo mismo que las figuras anteriores, mostrando la disgregación de la membrana basal perivascular en algunos puntos (flechas curvas) con intervención de procesos astrocíticos (estrellas). Pericito (P); prolongaciones periciticas embebidas en la membrana basal (p); gliofilamentos (g); contactos pericítico-endoteliales (círculos). «Gap» y «Tight junctions» (flechas finas). 12.000, 13.300 y 8.000X.



#### LAMINA XXXIX

Gato adulto. Sección en ambos planos angulares. Fijación por inmersión en tetróxido de osmio (2 por 100).

*Figura 188.*—Vaso con núcleo endotelial (E) y pericito (P) adosado a su pared y rodeado el conjunto por una membrana basal de aspecto normal. El ambiente astrocítico circundante es total (estrellas). Una célula de microglía perivascular (M) descansa por una de sus superficies de elongación sobre la atmósfera glial del vaso, en el cual se pueden observar incluidos fragmentos de membrana basal vacuolada y muy desorganizada (flechas curvas). Luz vascular (L); prolongaciones pericíticas (p); uniones endoteliales del tipo estrecho (flechas finas); uniones del tipo «hendido» en la atmósfera glial (flechas dobles); cuerpo de inclusión (b). 12.500X.

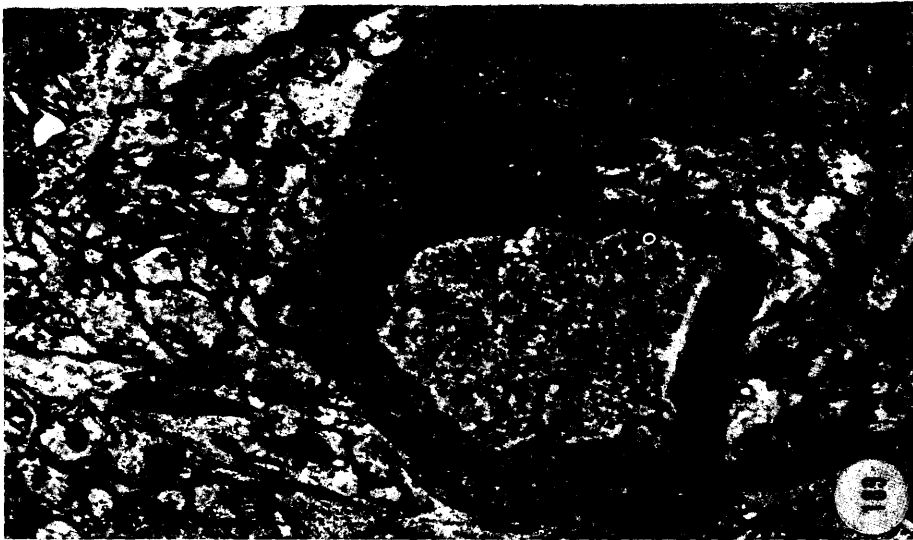
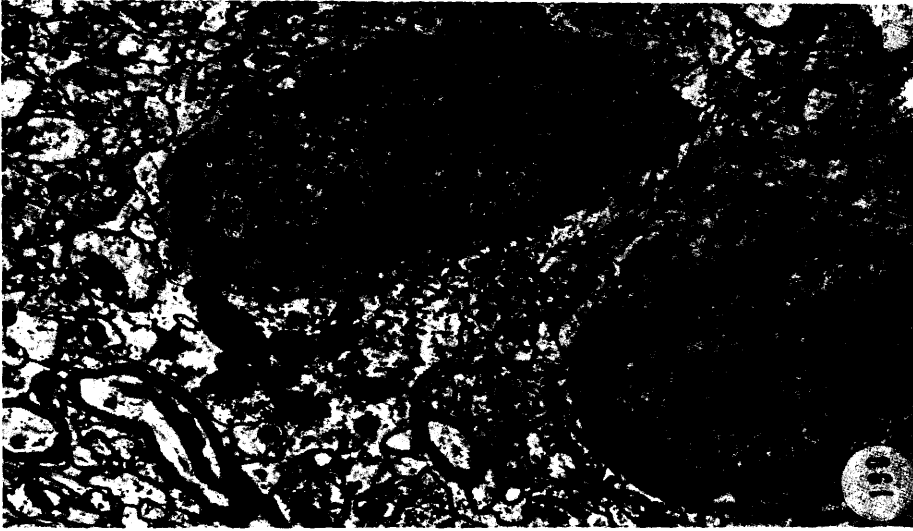


#### LAMINA XXXIX BIS

Gato adulto. Sección en ambos planos angulares. Fijación por inmersión en tetróxido de osmio (2 por 100).

*Figura 189.*—Vaso con prolongaciones periciticas en su pared (p) rodeado de ambiente glial formado por pies o láminas astrocíticas (estrellas y asteriscos). La célula de microglía (M) está separada del vaso por una cuña de pies astrocíticos (estrella) y una finísima lámina astrogliol (flechas gruesas que se interpone entre la membrana basal del capilar y la célula microglial). Uniones «hendidias» entre procesos astrocíticos (flechas dobles). 16.000X.

*Figura 190.*—Célula de microglía perivascular (M), separada del vaso por procesos astrocíticos (estrellas) y neuropilo. La superficie de la microglía está rodeada en su mayor parte por una gran prolongación astrocítica (estrella) similar a los pies vasculares. Lámina de glía recubriendo parte del vaso (asterisco). 15.000X.



#### LAMINA XL

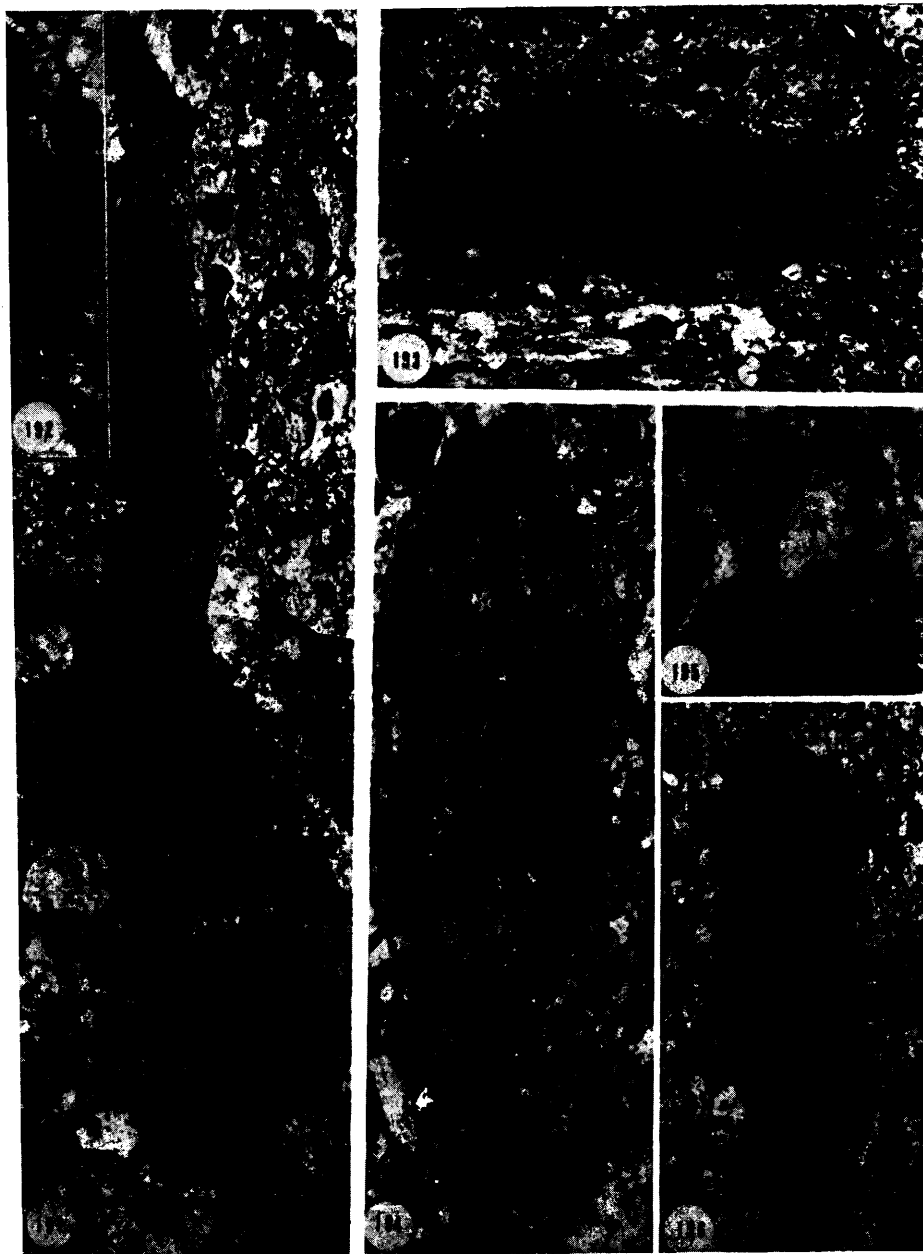
Gato adulto. Sección en ambos planos angulares. Fijación por inmersión en tetróxido de osmio (2 por 100).

*Figura 191.*—Célula de microglía muy elongada (M) con cuerpo de inclusión (b) y prolongación finísima que se insinúa en el parénquima nervioso (flecha recta). Una de las superficies de elongación está recubierta por una gran prolongación astroglial (estrella grande). Descansa sobre un pericito (P) separada por la membrana basal que recubre a éste por finas láminas astrocíticas (estrellas pequeñas). El pericito está rodeado por una membrana basal de aspecto heterogéneo, y unido a la pared vascular (V) por una lengüeta de membrana basal hipertrófica y desorganizada (flechas curvas). Prolongaciones astrocíticas abrazan al pericito por su base de separación vascular. 7.300X.

*Figura 192.*—Detalle de la figura anterior a mayor aumento. 16.600X.

*Figuras 193, 194 y 196.*—Células de microglía intersticial (M), con acompañamiento de grandes prolongaciones astrogliales (estrellas) y cuerpos de inclusión citoplasmáticos (b). Las finas prolongaciones insinuándose en los intersticios del tejido vienen indicadas por las flechas. 7.300, 13.300 y 8.000X, respectivamente.

*Figura 195.*—Detalle de la figura 193 para mostrar el englobamiento de un elemento por la célula de microglía (asterisco). Las flechas señalan la doble membrana en el proceso de atrapamiento. 24.000X.



#### LAMINA XLI

Esquema de la evolución pericitica desde célula adosada a la pared vascular a célula de microglía perivascular.

*Figura 197.*—Vaso de la corteza cerebral de la rata pocos días después de su nacimiento. Siguiendo los resultados de *Caley y Maxwell* (1970).

*Figura 198.*—Vaso en proceso de maduración más avanzada. Siguiendo los resultados de *Caley y Maxwell* (1970).

*Figura 199.*—Capilar totalmente desarrollado (nuestras imágenes en el resto de las figuras).

*Figura 200.*—Proceso de separación del pericito por la penetración de una lámina astrocítica. Comienzo de alteración de la membrana basal.

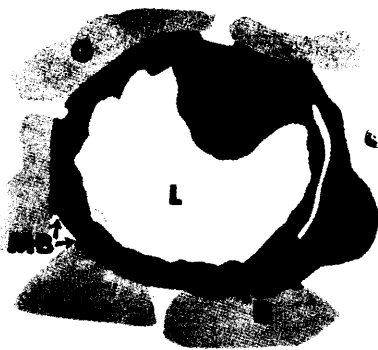
*Figura 201.*—Estadio más avanzado de dicha separación con alteración en la membrana basal más extendida. Momento que señala la conversión de célula pericitica a microglía.

*Figura 202.*—Microglía perivascular definitivamente separada de la pared vascular.

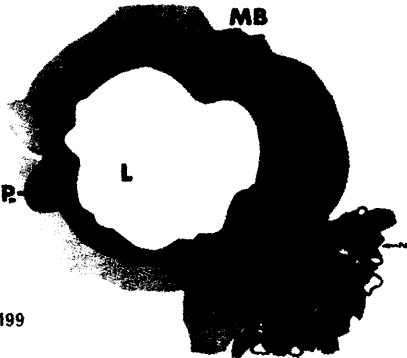
MB: membrana basal. G: prolongaciones de glía astrocítica. E: endotelio vascular. L: luz vascular. P: pericito. Pp: prolongación pericitica embebida en la pared vascular. M: célula de microglía. N: neuropilo. Asterisco: unión de la terminal pericitica con el endotelio vascular.



197



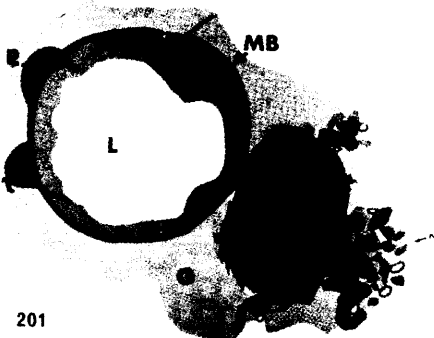
198



199



200



201



202

#### LAMINA XLII

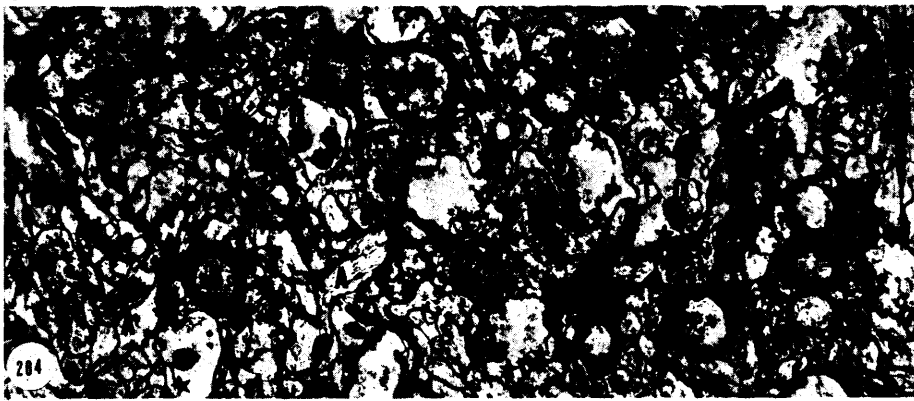
Gato adulto. Sección en plano perpendicular a la superficie de la corteza. Fijación por inmersión en tetróxido de osmio (2 por 100).

*Figura 203.*—Zona externa de la sustancia gris cortical (flecha curva). Membrana pial (pl) mostrando la membrana basal (mb) y la «limitans gliae» formada por células astrocíticas o por sus procesos (G). Gliofibrillas (g). Inmediatamente por debajo de la «limitans gliae», una terminal abultada (D) recibiendo una sinapsis claramente asimétrica. Axones mielínicos (m). Uniones de tipo «hendido» entre prolongaciones astrocíticas (h).

*Figura 204.*—Superficie cortical señalada por flecha curva. El tercio más externo de la molecular está compuesto por axones mielínicos pequeños (m), láminas astrocíticas, tallos axónicos prebulbares muy finos (A), botones axónicos generalmente densos dando sinapsis a espinas dendríticas, o a abultamientos terminales (D). Observamos una prolongación (D) orientada en paralelo con la superficie cortical, varicosa y recibiendo varias sinapsis (estrellas).

*Figura 205.*—Superficie cortical indicada por la flecha curva. Inmediatamente por debajo de la limitante glial, una prolongación (D) con vesícula de núcleo denso (v) y contenido vesiculoso recibiendo una sinapsis asimétrica con dos zonas funcionales (estrellas).

*Figura 206.*—Prolongación ascendente (D) hacia la zona externa (flecha curva), que parece resolverse en un abultamiento inmediatamente por debajo de las láminas gliales (G), el cual (D con punto negro) recibe dos sinapsis, una de ellas simétrica.



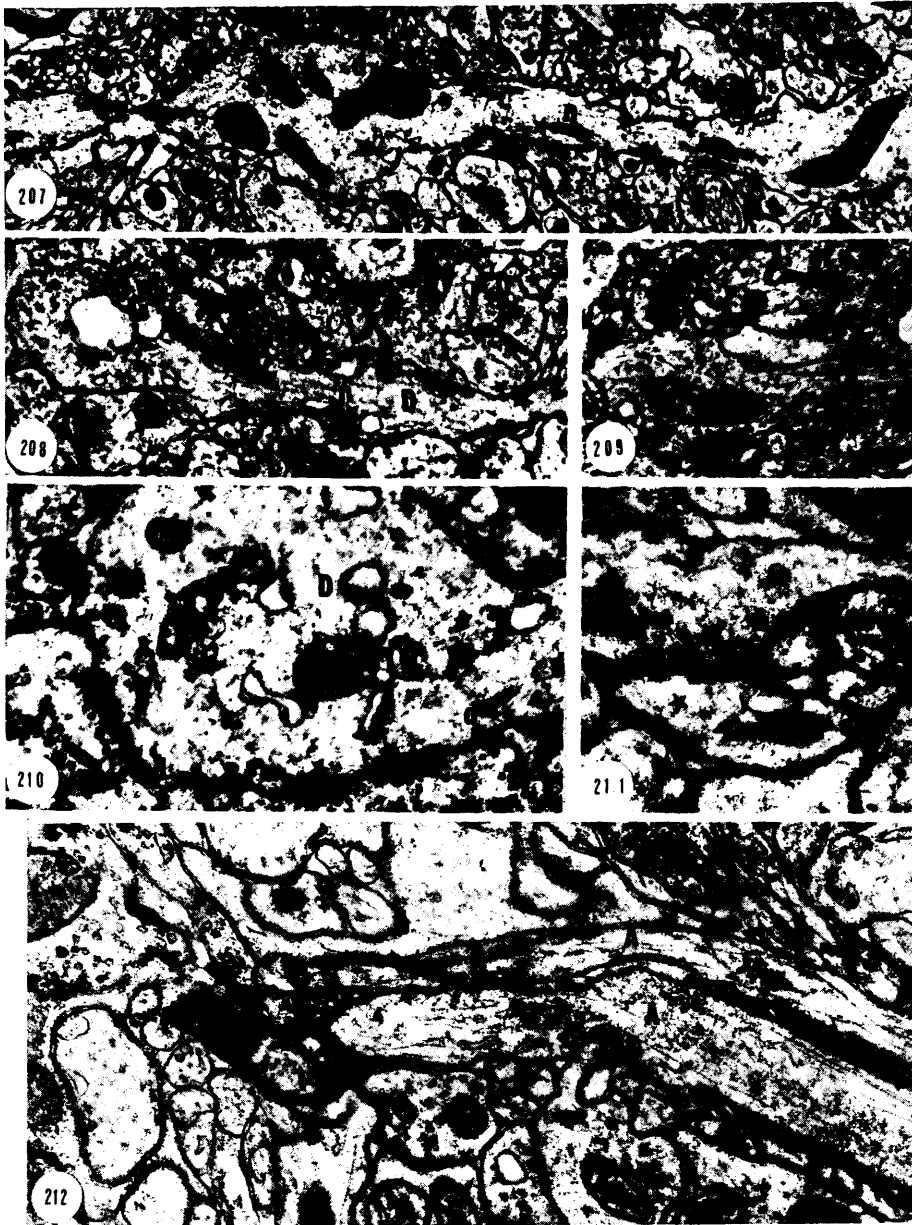
#### LAMINA XLIII

Gato adulto. Sección en ambos planos angulares. Fijación por inmersión en tetróxido de osmio (2 por 100).

*Figura 207.*—Gran prolongación varicosa (D), orientada paralelamente a la superficie de la corteza. Sinapsis del tipo asimétrico (estrellas); desmosoma (d); neurotúbulos (n). 6.900X.

*Figuras 208 y 210.*—Prolongaciones (D) halladas en el tercio profundo y medio de la capa molecular respectivamente. Reciben sinapsis (estrellas); ribosomas (r); vesícula de núcleo denso (v); neurotúbulos (n). 14.000 y 24.000X, respectivamente.

*Figuras 209, 211 y 212.*—Axones hallados en orientación paralela a la superficie de la corteza (A). Sinapsis de paso (estrellas); mielina (m); nodo de Ranvier (R) de una fibra mielínica. 6.900, 26.600 y 23.300X, respectivamente.



#### LAMINA XLIV

Gato adulto. Sección en ambos planos angulares. Fijación por inmersión en tetróxido de osmio (2 por 100).

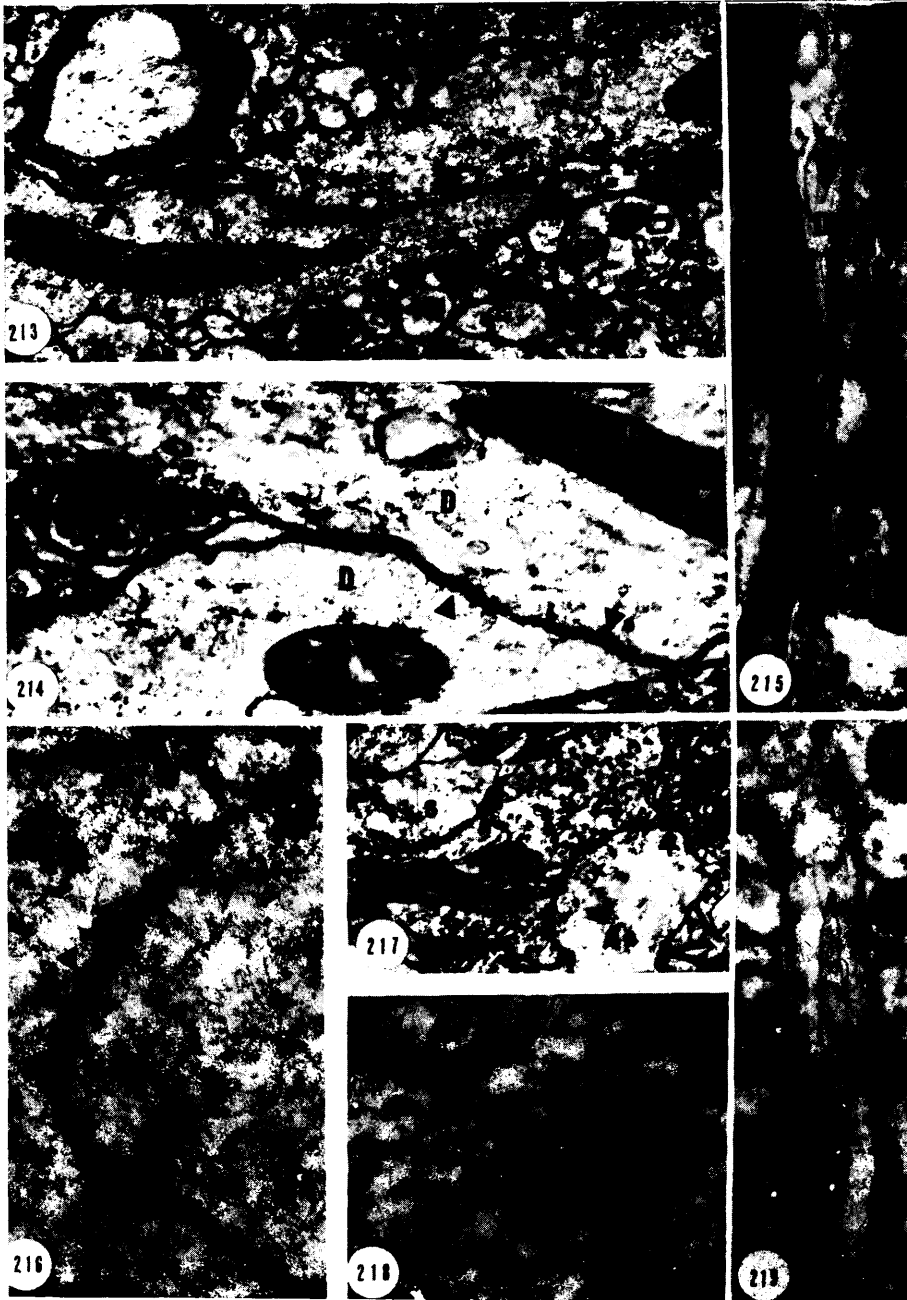
*Figuras 213 y 214.*—Imágenes de posibles uniones entre las membranas de dos prolongaciones de la misma naturaleza (D). Las cabezas de flecha señalan los límites de la unión. Sinapsis sobre una de ellas (estrellas). 18.000 y 26.600X, respectivamente.

*Figura 215.*—Sinapsis de ambos tipos sobre una prolongación (D) del mismo tipo que las de las figuras anteriores. 31.000X.

*Figura 216.*—Unión del tipo «hendido» (H) entre dos láminas astrogliales (g) limitando la superficie externa de la corteza (flecha curva). Las cabezas de flecha señalan una posible fusión intermembrana. 42.600X.

*Figura 217.*—Un botón axónico dando sinapsis asimétricas a una espina dendrítica (s) y una prolongación con varias zonas funcionales. 18.000X.

*Figuras 218 y 219.*—Botones axónicos sobre otras fibras nerviosas estableciendo posibles contactos funcionales (estrellas). Vesícula de núcleo denso (v). 26.600X.



#### LAMINA XLV

Corteza cerebral de gato adulto: capa I. Sección según ambos planos angulares. Fijación por inmersión en tetróxido de osmio (2 por 100).

*Figura 220.*—Imagen de sinapsis axon-axónica (flecha) sobre tallo prebulbar de un axon (A) que luego establece sinapsis con otra prolongación (flecha). 14.000X.

*Figuras 221, 222 y 223.*—Imágenes de posibles sinapsis axo-axónicas señaladas por flechas. Alguno de los botones a su vez establece contacto funcional con otra prolongación del plexo. 23.000 y 26.600X, respectivamente.

*Figuras 224, 225, 226, 227 y 228.*—Botones axónicos con sus membranas interdigitadas o no, presentando una polaridad vesicular claramente recíproca (flechas). La posible especialización de la membrana postsináptica queda reducida a veces a un «halo» más o menos acentuado (el «fuzz» de los anglosajones). Otras veces se observa una mayor densidad en esta membrana (flecha recta) o una fusión entre ambas membranas en aposición 40.000, 40.000, 26.600, 40.000 y 40.000X, respectivamente.

