

FACULTAD DE MEDICINA DE MADRID

TESIS DEL DOCTORADO

LEÍDA EL 10 DE DICIEMBRE DE 1906

Contribución al estudio

de la anatomía patológica de la rabia

POR

NICOLÁS ACHÚCARRO

MADRID

IMPRENTA DE HIJOS DE NICOLÁS MOYA
Garcilaso, 6, y Carretas, 8.

1914

CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO
DE LA
ANATOMÍA PATOLÓGICA DE LA RABIA

FACULTAD DE MEDICINA DE MADRID

TESIS DEL DOCTORADO

LEÍDA EL 10 DE DICIEMBRE DE 1906

Contribución al estudio

de la anatomía patológica de la rabia

POR

NICOLÁS ACHÚCARRO

MADRID

IMPRESA DE HIJOS DE NICOLÁS MOYA
Garcilaso, 6, y Carretas, 8.

1914

Ilustre Tribunal:

El estudio de la anatomía patológica de la rabia tiene un interés muy especial para el conocimiento de la patología del sistema nervioso, pues entre los agentes patógenos capaces de ser manejados fácil y experimentalmente quizá ninguno provoca unas modificaciones tan profundas y tan generalizadas en el cerebro y en la médula como el virus rábico. Todos los segmentos del sistema nervioso central participan de estas modificaciones, y el hecho de que la corteza cerebral manifieste hondas lesiones distribuidas difusamente y atacando á todos los elementos constitutivos del tejido, y muy especialmente á las células nerviosas, adquiere en los momentos actuales una gran importancia.

En los últimos años, los constantes trabajos sobre la anatomía patológica de la corteza cerebral han hecho dar un gran paso al estudio de las psicosis, consideradas desde hace tiempo como enfermedades difusas de esa corteza, y ya parece razonable el esperar que la psiquiatría llegue, gracias á la anatomía pato-psicológica, á tomar la misma posición en el estudio de su material que tomaron las demás ramas de la Medicina hace mucho tiempo.

Sería naturalmente excesivo el esperar de esta dirección de estudio la resolución de los problemas esenciales de la psiquiatría clínica, y hasta el esperar hacer una clasificación muy consistente de las psicosis. Sin pretender negar esta posibilidad, parece que los resultados de la ciencia de la anatomía patológica no permiten pensar en la resolución, por este camino, de los problemas esenciales del conocimiento de la psicosis, como los de la anatomía normal

* Este trabajo ha sido publicado posteriormente en mayor extensión, con las figuras que el texto explica y con los datos de bibliografía á que este estudio hace referencia. Véase N. Achúcarro: Zur Kenntnis der pathologischen Histologie des Zentralnervensystems bei Tollwut. *Histologie u. histopat. Arbeiten*. Bd. 3, H. 1. Fischer.

de la corteza cerebral no permiten pensar en la resolución de la vida psíquica en fórmulas anatómicas; por lo menos no se ve por ahora camino abierto en este sentido, y las construcciones psicológicas hechas sobre los datos anatómicos no pueden ser por ahora, ni lo son probablemente por sus mismos autores, consideradas sino como soluciones prematuras, hechas solamente para contentar las exigencias del espíritu, que necesita inmediatamente á la concepción de todo problema, su resolución.

En cuanto á pensar en establecer por medio de la anatomía patológica una clasificación muy duradera de las enfermedades mentales, tampoco sería razonable esperarla, y la suerte seguida por las clasificaciones anatomopatológicas de las otras ramas de la Medicina, que pudieran hacerlas con sus enfermedades antes que la medicina mental, nos instruye suficientemente. Pero la anatomía patológica, que al fin y al cabo no es sino un estudio sintomatológico en nada esencial diferente al estudio clínico y sólo prácticamente por el hecho de haberse muerto el enfermo, ha dado innumerables beneficios al diagnóstico clínico, señalando diferentes enfermedades, donde los cuadros clínicos se confundían, y llamando la atención para que los investigadores clínicos buscaran síntomas explorables en vida, capaces de llevar el diagnóstico clínico á la finura del anatomopatológico. Estos beneficios empieza á prestarlos ya la anatomía patológica á la clínica de las enfermedades mentales, y el estudio detenido de la parálisis general, hecho por la anatomía patológica, ha sacado del grupo clínico en que se confundía ésta con otras enfermedades, como la sífilis cerebral, la arterio-esclerosis cerebral, la demencia senil, el alcoholismo, un cuadro más depurado y más preciso de la parálisis general. Este refinamiento del diagnóstico anatomopatológico ha provocado un refinamiento mayor en el diagnóstico clínico, y á este perfeccionamiento ha contribuido no poco el hecho de que caracteres antes únicamente perceptibles por la anatomía patológica, es decir, después de muerto el enfermo, hayan podido pasar del lado de la exploración clínica, y un ejemplo hacen los síntomas suministrados por la punción lumbar. En fin, es inútil extenderse en demostrar la influencia de la anatomía patológica en los conocimientos clínicos,

influencia que todo clínico tiene que sentir, pues, como hemos dicho, los caracteres anatomopatológicos en nada difieren de los clínicos.

De todo ello se deduce que el estudio de la anatomía patológica de las enfermedades ha condicionado en gran parte los progresos clínicos, y que es lícito esperar que la medicina mental retrasada en este respecto se beneficie mucho de los progresos de la anatomía patológica en sus enfermedades, y que por lo tanto los conocimientos de la anatomía patológica de la corteza cerebral pueden tener un interés especial.

Por las razones expuestas, por ser el virus rábico de fácil manejo y por provocar lesiones profundas de la corteza cerebral en todos sus elementos en las células nerviosas, en la neuroglia, en los elementos vasculares, es por lo que hemos escogido estas modificaciones como objeto de estudio, dado que el cuadro de la anatomía patológica de la corteza cerebral rábica es, en cierto modo, comparable al de una parálisis general agudísima.

Los primeros descubrimientos histológicos referentes á anatomía patológica de la rabia se basaron sobre las alteraciones vasculares. Balgez, en 1875 encontró los acúmulos leucocitarios alrededor de los vasos sanguíneos pequeños; igualmente encontraba «proliferación de núcleos inflamatorios» en las paredes de los vasos y en las prolongaciones de la pia-madre dentro del tejido.

Benedikt describía alrededor de la zona en que se encontraba el exudado de los núcleos una infiltración del tejido por una masa hialina compuesta de granos finísimos y que él comparaba al proceso de desintegración granular de Lockhart-Clarke. De este cuadro deducía que el proceso rábico consistía en una inflamación exudativa con degeneración hialoidea. Por aquella misma época Meynert un cuadro patológico de la rabia muy semejante, y consistente en hiperemia con proliferación nuclear local en la túnica adventicia y producción de una serie de huecos en el tejido rellenos de masas coloides. Otros investigadores, Gowers, Nocard, Gamaleia, estudiaron estas lesiones, confirmandolas, pero sin contribuir con nuevos descubrimientos.

Más tarde, Schaffer confirma el hecho de la emigración

de células sanguíneas en las astas anteriores de la médula y descubre las degeneraciones celulares en el mismo sitio. Unas veces revistiendo la forma de atrofia pigmentaria con formación de vacuolas, otras la de una degeneración especial del núcleo.

Babes describe muy bien las degeneraciones de las células nerviosas en el bulbo y en la médula, su atrofia y el rodearse por células embrionarias que forman un nódulo como una especie de tubérculo, que Babes estimaba como lesión patognomónica, y los autores modernos llaman lesión de Babes.

Los estudios de Nelis y van Gehuchten contribuyeron con datos histo-patológicos de gran valor. Para estos autores los ganglios sensitivos, y en especial el de Gasserio y los plexiformes del vago sufren muy preferentemente en la enfermedad rábica y al examen histológico se encuentran grandes infiltraciones de células pequeñas y epitelioides alrededor de las células nerviosas que se atrofian y hasta desaparecen en grados avanzados, siendo rellenado su sitio por la proliferación de células de la cápsula. En el perro serían estas alteraciones mucho más pronunciadas que en el conejo. De los exámenes histológicos de Cajal, resulta que esta lesión es muy constante en los ganglios plexiformes del vago. En los ganglios espinales del conejo, y según nuestras investigaciones, no ofrece esta lesión tal constancia que permita hacer de ella un signo diagnóstico exclusivo.

Franca, más tarde, ha descrito alteraciones de la Mastzellen de Ehrlich, y Courmont y Lesieur han encontrado modificaciones en la proporción de los glóbulos blancos polinucleares; pero parece que este medio de diagnóstico no es sino muy secundario.

Un descubrimiento muy interesante y en que todavía el valor diagnóstico patognomónico que el descubridor le atribuye no ha sido invalidado por ninguna observación concluyente, es el de los cuerpos de Negri. El autor descubrió en las células nerviosas y fuera de ellas, libres en el tejido nervioso de los animales rábicos, unos corpúsculos especiales de aspecto hialino que se colorean intensamente con los colores ácidos, y que ofrecen en sus formas más pequeñas absoluta sencillez estructural y que en sus for-

mas grandes muestran una relativa complicación interior. El descubridor los interpretó en el sentido de ser los parásitos provocadores de la rabia y su demostración en las piezas anatomopatológicas es para él decisiva en el diagnóstico. Los corpúsculos de Negri no se encuentran siempre en los animales rábicos; se necesitan condiciones especiales por parte del virus que ha provocado la enfermedad y por parte de la especie animal afecta; así, por ejemplo, se encuentran más fácilmente en el perro que en el conejo rabioso, y para el buen éxito diagnóstico, es decir, para encontrar parásitos endocelulares grandes, se necesita una determinada duración del proceso por encima de catorce ó quince días. Esta duración no se obtiene trabajando en el conejo inoculado con virus fijo. Estos cuerpos de Negri tienen en el sistema nervioso de los animales rábicos una cierta preferencia de distribución; así se encuentran en el asta de Ammon, y especialmente en la zona de las pirámides. Esta localización no es exclusiva, y depende en gran parte del punto de inoculación, que aquí es intradural después de trepanación, y cuando ésta se hace en el ciático son las células de los ganglios espinales las que son afectas con preferencia.

Al perfeccionamiento técnico de demostración de las neurofibrillas en el sistema nervioso central conseguido especialmente por los métodos de impregnación de la plata, iniciados con el de Simarro y llevados á su mayor eficacia por Cajal y Bielschowsky, ha seguido su empleo como demostración de modificaciones patológicas, y en esta dirección han sido las investigaciones recaídas en la rabia, las que han aportado los primeros y los más manifiestos datos.

En 1904 publicó Cajal, y como nota preventiva á un extenso trabajo sobre la materia, su descubrimiento de la hipertrofia de las neurofibrillas en las células de la médula y cerebro de conejo y perros muertos de rabia. Al lado de esta hipertrofia pronunciadísima de las neurofibrillas se observa una simplificación progresiva del retículo hasta quedar reducido á unos pocos filamentos primarios enormemente hipertrofiados. En el mismo año publicó Cajal, en colaboración con Dalmacio García, su gran trabajo sobre el asunto, describiendo con su habitual maestría las

dichas alteraciones. Las observaciones de Cajal y García recaen sobre ganglios sensitivos, médula, cerebro, cerebelo, asta de Ammon, bulbo olfatorio, retina de perro y conejo rábicos. Resumiremos aquí muy brevemente estas investigaciones de la mayor importancia, pero que no tocan á la parte fundamental de nuestro actual trabajo.

Inoculando intracranealmente á un conejo virus rábico fijo se notan al séptimo ú octavo día la aparición de los primeros síntomas de la enfermedad, consistentes en parésias motoras que al octavo día se acentúan, convirtiéndose en parálisis completa y muriendo el conejo al noveno ó décimo día. Hasta el día séptimo no se encuentran lesiones en las piezas anatómicas correspondientes, analizadas con el método del nitrato de plata de Cajal, y en esta época empiezan las alteraciones por un engrosamiento de las neurofibrillas celulares periféricas, en que la red neurofibrillar va siendo menos aparente por individualización siempre más manifiesta de las neurofibrillas hipertrofiadas y por la desaparición cada vez mayor de las neurofibrillas secundarias. Esta disposición gana todo el espesor de la célula y termina por quedar el protoplasma surcado por unas cintas gruesas, intensamente impregnadas de negro por la plata. En los animales muertos de rabia no todas las células se encuentran con esta disposición estructural. Hay muchas que no la presentan y otras muestran fibrillas finas y en algunas no se ven neurofibrillas ni gruesas ni delgadas y sólo un protoplasma pálidamente teñido de amarillo y en el cual se pueden percibir las lesiones descritas por otros autores, tales como vacuolización del protoplasma, lateralización del núcleo, etc. Igualmente se observan con el método de la plata, según Cajal, los acúmulos pericelulares de células redondas, y un hecho interesante es la presencia en las fibrillas periféricas engrosadas de las células, rodeadas de los pretendidos elementos neurófagos, de espinas y brotes que Cajal considera de nueva formación y como reacción del retículo neurofibrillar contra la agresión de los corpúsculos pericelulares. Describe también Cajal modificación en los aparatos terminales, botones de Auerbach, cestas de Purkinje, pero la descripción detallada, así como la comparación con los resultados obtenidos por nosotros estudiando las neurofi-

brillas rábicas por diversos procedimientos de teñido, quedarán para otro trabajo en que resumiremos nuestras investigaciones. Aquí únicamente señalaremos la interpretación que Cajal asigna á este engrosamiento de las neurofibrillas. Ya en su nota preventiva comparó este fenómeno con el señalado por Tello en el interesante trabajo sobre las modificaciones del retículo fibrilar en los animales invernantes. Para Cajal, el retículo fibrilar endoprotoplasmático no constituye un sistema fijo de filamentos, sino un aparato contráctil y susceptible de cambiar de arquitectura, como los cordones protoplasmáticos de los pelos estaminales de la *tradescantia virginica*. Esos cambios en el grosor y en la intensidad de electividad para la plata en las neuronas patológicas de los animales rábicos, serían un modo especial de reacción de ese retículo, capaz de movimientos amiboideos, y empezaría esa reacción por la condensación en determinados filamentos de la substancia argentófila, repartida en todo el retículo. Sería un proceso fisiopatológico, análogo al observado por Cajal mismo en las neurofibrillas del hirudo sometido á la inanición.

Observaciones aisladas de Babes, de Schäffer, de Nelis y de Golgi, acerca de alteraciones de la estructura de los núcleos de la médula, de los de las células de los ganglios espinales, pero sin haberlas estudiado de una manera sistemática y sin darlas una gran importancia, existían en trabajos anteriores; pero Siciliano ha llamado recientemente la atención sobre una forma particular de degeneración nuclear que se encuentra en el asta de Ammon y en la fascia dentata de los conejos muertos de rabia. Entre las células nerviosas de la fascia dentata y en preparados teñidos con tionina, encontró aquí y allá cuerpos coloreados intensamente que tenían el aspecto de núcleos retraídos. Estos corpúsculos estaban rodeados de una vesícula clara y circundada de una envoltura. Fuera de esta membrana se veía un poco de protoplasma algunas veces, pero siempre con el aspecto del de una célula recogida y esclerosada. Estos cuerpos centrales son, las más de las veces, redondeados y formados de una masa única; otras veces son múltiples, y entonces alrededor de una masa central existen corpúsculos más pequeños. Al lado de tales elementos, manifiestamente alterados, se encuentran otros de aspecto

normal. Figuras análogas obtuvo Siciliano con la hematoxilina férrica. Otra forma de alteración está constituida por núcleos retraídos que se tiñen uniformemente y dentro de los cuales se observan granos más intensamente teñidos; entre ellos no puede reconocerse el nucleolo. Estudiando estas alteraciones con la mezcla colorante de Biondi obtuvo Siciliano nuevos datos. Los corpúsculos que se tiñen intensamente con la tionina toman aquí fuertemente el verde de metilo y alrededor de ellos se encuentra una masa poco diferenciada y de contornos indeterminados coloreada en rojo. En los núcleos retraídos aparecen en su substancia fundamental homogéneamente teñidos de rojo y en su centro se encuentran grumos fuertemente teñidos de verde. «Se trata — dice Siciliano — de un proceso regresivo del núcleo, que se inicia con una contracción del cuerpo de éste y un aumento de la nucleína, la cual se presenta ó esparcida en forma de gránulos en medio de la masa nuclear ó recogida en una gruesa gota en medio de ella». Sin establecer un juicio definitivo acerca de las relaciones entre una y otra forma, el autor señala que la segunda disposición es bien manifiesta en conejos muertos al sexto día y que en tales animales pueden darse formas de paso entre una y otra figura descrita. Utilizando la mezcla de Biondi se tiene la ventaja de poner en evidencia los cuerpos de Negri al lado de las alteraciones nucleares. El autor no establece relación alguna entre los dos productos; espera asimismo de investigaciones ulteriores el saber si las alteraciones descritas son características de la rabia ó si corresponden á un modo particular de reacción patológica del asta de Ammon.

Como se ve, han sido estudiadas sucesivamente en la anatomía patológica de la rabia las lesiones de los vasos con las infiltraciones perivasculares, las de las células nerviosas en su protoplasma, la formación de acúmulos celulares periganglionares, más tarde los cuerpos de Negri interpretados como parásitos, luego las neurofibrillas y sus modificaciones y, finalmente, estas alteraciones regresivas de los núcleos de una determinada porción del sistema nervioso del conejo, por Siciliano.

En todos los trabajos que presentan un nuevo dato importante anatómopatológico, y más ó menos manifiesta-

mente, se advierte el natural deseo del autor de dar con el nuevo signo la característica patológica del proceso. Sin embargo, la anatomía patológica, como la clínica, rara vez cuenta, entre los datos de que se sirve para un diagnóstico, con signos de los llamados patognomónicos. Los diagnósticos, generalmente, se hacen no por la presentación de un carácter determinado, sino por el cuadro que forma la relación recíproca de los diferentes signos. Únicamente cuando entre los elementos sintomáticos de una enfermedad va la demostración de su agente causal suficiente y exclusivo, es cuando esta demostración podrá funcionar como signo patognomónico; por lo demás, en la rabia, como en las demás enfermedades, los tipos de reacción celular, regresivos ó progresivos, no suelen ser específicos. Véase, como un ejemplo, lo sucedido con la parálisis general. Al encontrar Alzheimer en la corteza de los paralíticos las células que, por su semejanza con las de Unna y Marschalko, llamó células plasmáticas, pensó, y como él Nissl, que estas células eran específicas del proceso paralítico. Lo mismo sucedió con las células en bastoncito Stabchenzellen, de Nissl; pero ulteriores investigaciones han mostrado que ambas formas celulares se presentan en otros procesos patológicos de la corteza. La historia de la evolución de las opiniones acerca del valor diagnóstico de los signos encontrados en la anatomía patológica de la rabia, confirma igualmente el mismo modo de ver. Hasta ahora, parece únicamente la demostración de los cuerpos de Negri hacer el oficio de signo patognomónico. Sin embargo, no tiene este signo una validez general, pues ya hemos visto que necesitan estos corpúsculos, para ser demostrados, que las observaciones recaigan en animales en los que el proceso haya tenido una cierta duración.

Nosotros, en este trabajo, tendremos preferentemente en cuenta las degeneraciones nucleares señaladas por Siciliano, formas degenerativas que ya habíamos visto y estudiado antes de la lectura de la nota de este autor. No pretendemos ver en esta nueva alteración rábica un signo único y suficiente para el diagnóstico anatomopatológico de la enfermedad y sí sólo un síntoma más. En un trabajo ulterior daremos cuenta de nuestras investigaciones sobre las lesiones de los demás elementos del sistema nervioso

en el proceso rábico. Sólo señalaremos aquí, además de las figuras degenerativas nucleares, la distribución de los cuerpos grasos resultantes del proceso de desintegración y demostrados en nuestro caso por el rojo escarlata, y algunas particularidades patológicas de las células de neuroglia, sobre todo al nivel del asta de Ammon y del cerebelo, dejando para otra vez el referir los resultados de nuestros estudios acerca de las modificaciones patológicas en las células nerviosas (especialmente de las neurofibrillas), en los vasos, en la neuroglia en general y en los tubos medulados.

Nuestras investigaciones recaen hasta ahora, principalmente, en el conejo inoculado intraduralmente después de trepanación, y el virus empleado ha sido el virus fijo. Hemos cortado, hasta ahora, solamente piezas de un perro rábico, y únicamente con el fin de demostrar los cuerpos de Negri, demostración obtenida con todo éxito. También hemos tenido ocasión de examinar piezas de un hombre muerto de rabia; estas piezas eran sólo de cerebelo y fijadas en formol, por lo cual no constituyen un material muy utilizable.

Entre los conejos que nos han servido de animales de experiencia, unos han muerto á los nueve, diez y once días de la inoculación, y otros fueron sacrificados fecha más temprana, á los tres, á los seis y á los ocho días. En los conejos de nueve, diez y once días, se presenta muy manifiesta la alteración que estudiamos. Hemos examinado regularmente trozos de corteza cerebral, del asta de Ammon, del cerebelo, del bulbo, de la médula y de los ganglios raquídeos, y respecto á la distribución de la lesión que estudiamos, podremos decir que su sitio de mayor concentración y frecuencia es, en realidad, el asta de Ammon. No es, sin embargo, esta localización exclusiva; las células de Purkinje en el cerebelo presentan las mismas alteraciones y con gran intensidad, y se encuentran también, aunque con mucho menos frecuencia, en la corteza cerebral. En el bulbo y en la médula son mucho más raras y no las hemos visto nunca en los ganglios raquídeos.

Como nuestras investigaciones han recaído sobre los diversos elementos del tejido nervioso rábico, hemos seguido en ellas el mayor número de métodos técnicos de coloración.

ción posible; pero el que mejores resultados nos ha dado en la demostración de las alteraciones nucleares es el de la mezcla colorante panóptica de Pappenheim.

Empezaremos por estudiar aquí las alteraciones en las células del asta de Ammon, sitio de preferencia, como ya fué indicado por Siciliano; pero de esta preferencia hemos de decir, sin embargo, que, considerando el tanto por ciento de las células atacadas sobre el de las células componentes del tejido estudiado, quizá la capa de las células de Purkinje, en el cerebelo no muestran menos afinidad por la lesión que el asta de Ammon. Dentro de esta formación, que, á pesar de representar una corteza cerebral simplificada, es de mucha complicación, el sitio de máxima concentración de la lesión descrita se repite en los distintos casos con una cierta regularidad. Conviene, pues, para estudiar este punto de distribución interesante, el dar un esquema descriptivo de la estructura amónica.

En la figura 1 damos un dibujo esquemático de un corte del asta de Ammon de un conejo rábico, en la que están señaladas con puntos rojos las alteraciones de la lesión que estudiamos. La corteza amónica forma una capa, que ofrece una superficie curva convexa, haciendo relieve en el ventrículo, y tomando éste como punto de partida divide Cajal la formación que estudiamos en las capas siguientes: 1.ª, capa epitelial; 2.ª, alveus, ó substancia blanca; 3.ª, stratum oriens; 4.ª, capa de las pirámides; 5.ª, stratum radiatum; 6.ª, stratum lacunosum; 7.ª, stratum moleculare, ó capa plexiforme externa. El sistema estructural, compuesto de todas estas capas, forma una banda fuertemente acanalada con la concavidad hacia abajo y hacia afuera, y dentro de ésta, y abrazando al extremo del cuerpo de Ammon por una concavidad opuesta, se encuentra la formación de la fascia dentata, nueva estructura cortical simplificada y que consta de las capas siguientes, según la descripción de Cajal: 1.ª, zona molecular; 2.ª, capa de los granos; 3.ª, zona de las células polimorfos. De todas estas capas celulares citadas, la que corresponde á las pirámides del cuerno de Ammon es la que particularmente se afecta en el proceso rábico, y la porción de esta capa celular, que con regularidad ofrece los mayores trastornos, es siempre la misma. El asta de Ammon remata hacia uno y otro lado

en dos grandes espesamientos fasciculares, la fimbria ó pilar posterior del trigono cerebral por la parte interna, y la gran vía eseno-amónica por la parte externa; por este lado se resuelve la formación ammónica en el subiculum. Cajal divide, para su descripción, el asta de Ammon en una región superior ó intraventricular, y llama así á la semiscaña superior de la formación abarquillada del asta de Ammon, cuyas fibras se prolongan hacia afuera, hacia la vía eseno-amónica, y una región inferior, cuyas fibras se acumulan en fimbria. Nosotros, y especialmente por razones de distribución patológica y por facilitar la descripción, dividiremos la formación ammónica en tres partes: 1.ª, subicular ó externa; 2.ª, ventricular ó media, y 3.ª, fímbrica ó interna.

Antes de la descripción detallada de la degeneración de que nos ocupamos será preciso dar una breve descripción de los núcleos de las células nerviosas y de las de esta región especial, dando aquí alguna idea sobre el problema de la interpretación química dada á las coloraciones; pues creemos nosotros que, aunque, como Pappenheim en su libro de química de la técnica de coloración dice, esta técnica debe ser encaminada actualmente, más que á la demostración de estructuras anatómicas, á poner en evidencia reacciones fisiológicas químicas de los tejidos, se encuentra por ahora la ciencia de la técnica histológica tan lejana de poder realizar en muchos casos estas aspiraciones, que la mayor parte de las interpretaciones químicas que los autores dan á los resultados técnicos resultan prematuras. El proceso de la coloración es de una complicación muy grande, y alternativamente han ido gozando de mayor ó menor favor las teorías físicas, las químicas y las fisico-químicas, como explicativa de estos fenómenos, y probablemente son ellos tan complicados, que entran factores de todos órdenes en su proceso. Si á éstos se añaden las modificaciones producidas por las fijaciones, se observará lo aventurado de estimar la coloración de un elemento, cualquiera que sea, de un tejido por un medio colorante como un hecho de afinidad química del tejido por el colorante de que se trata. Nosotros, en nuestra descripción, aunque empleemos el lenguaje técnico corriente, que parece suponer conocimientos exactos acerca de la química

de los elementos del tejido, y aunque procuraremos dar el mayor número de detalles de coloración posibles, trataremos de poner el valor de la descripción anatomopatológica en el describir imágenes comparables con las normales obtenidas con trozos análogos y con los mismos métodos. El punto de vista de utilidad práctica que de esto se sigue es el establecido por Nissl con sus imágenes equivalentes (Equivalentbilder). En efecto, para el diagnóstico anatomopatológico poco importa que las imágenes obtenidas por procedimientos más ó menos complicados de técnica puedan ser ó no interpretadas como estructuras preexistentes ó como reacciones fisiológicas-químicas del tejido. La necesidad de interpretaciones de este orden se impone al tratar de obtener de los datos anatómicos una idea de las funciones de los órganos examinados; pero no es así, cuando el sólo objeto es el de obtener imágenes más ó menos falsas con relación á la estructura preexistente, pero constante, para los mismos métodos y que sirven como muestra para ser comparadas con imágenes patológicas.

Describiremos aquí la estructura de los núcleos de las células nerviosas, y en especial de las pirámides del asta de Ammon.

La descripción clásica presenta á los núcleos de las células en general como cuerpos limitados por una membrana bien definida, rellenos de un jugo nuclear transparente, incoloro y poco colorable, á través del que están tendidos retículos de una substancia oxicromática, la lantanina, que se encuentran como incrustados con granos basiófilos constituidos de nucleoproteína, substancia que muestra afinidad preferente por los colores vásicos y granos oxiófilos, que se tiñen por los colorantes ácidos. Además, sostenido en esa malla se encuentra el nucleolo. Este esquema de núcleo es el resultado de las observaciones hechas sobre células fijadas, y, por tanto, es muy probable que no correspondan con la estructura real preexistente de la célula. En las células coloreadas con el verde de metilo en fresco y sin previa fijación se puede ver que el colorante se fija preferentemente en el núcleo, y á grandes aumentos se ve que la retención del color la hacen ciertos cuerpos caryosomas existentes en el jugo nuclear. Se observa también la membrana.

De las investigaciones de Albrecht (citado por Gurwitsch) se deduce que el núcleo está formado por una substancia semi-líquida, y que la membrana no existe en realidad, sino que es un producto de condensación de substancia nuclear en la periferia, al modo como el ectoplasma de las amibas. Dentro del núcleo se encontrarían inclusiones como los cariosomos y el nucleolo. Probablemente, serán, pues, las redes de pirenina productos artificiales debidos á la coagulación por los reactivos. Los datos que el examen de las células sin previa fijación nos dan, son de que el núcleo constituye una individualidad anatómica dentro de la célula, y que contiene una substancia capaz de atraer electivamente el verde de metilo y los colorantes vásicos; esta substancia es la nucleína. Este cuerpo fué aislado por Miescher en 1871, sometiendo las células á la digestión gástrica artificial, y de su análisis resultó ser un compuesto de un ácido orgánico, el ácido nucleínico, y de una forma de albúmina. El ácido nucleínico se desdobra por la acción de los ácidos minerales, en caliente, en ácido fosfórico y en las bases nucleínicas (xantina, adenina, etc.). Ahora bien; aparte de esta nucleína de Miescher, la que se colorea intensamente de verde, hay en el núcleo y en el protoplasma de las células una serie de compuestos nucleo-protéicos en los que el ácido nucleínico y la albúmina varían en sus proporciones respectivas, desde la nucleína de la cabezá del espermatozoide que, según Altmann, estaría formada de ácido nucleínico puro, hasta las nucleo-albúminas del núcleo y del protoplasma, en que el ácido nucleínico está reducido á un minimum. Como el ácido nucleínico es un compuesto fosforado, resulta que el fósforo se encuentra en las nucleo-proteínas en proporciones muy diferentes. Hay una relación estrecha entre la cantidad de fósforo que contienen las nucleínas y sus aptitudes colorantes. Así la nucleína del espermatozoide (3 á 4 por 100 de Ph.) se tiñe muy intensamente con el verde de metilo, algo menos las cromatinas ordinarias de los núcleos. De éstas se pasa á las nucleínas nucleares, muy ricas en albúmina (pyrenina y plastina) que se colorean con los colorantes ácidos y las nucleo-albúminas del protoplasma, que se tiñen también del mismo modo, y que contienen un 0·5 por 100 de Ph. Estas reacciones colorantes son demos-

trables *in vitro*. Lillienfeld encontró que la albúmina se tiñe, especialmente por los colorantes ácidos y el ácido nucleínico por los básicos, y que nucleínas artificiales preparadas, combinando albúmina de huevo con ácido nucleínico, en distintas proporciones, muestran una afinidad variable para los colorantes ácidos y básicos, según que las afinidades del ácido nucleínico estén más ó menos saturadas por la albúmina. Un compuesto protéico llamado nucleohistón es el principal proteído del núcleo. Si se trata albúmina, nucleohistón, nucleína y ácido nucleínico con una mezcla de fuchina ácida y verde de metilo, la albúmina se tiñe de rojo; el nucleohistón, de verde azulado; la nucleína, de verde brillante, y el ácido nucleínico, de verde muy intenso. A pesar de estos datos, y como las condiciones en que se verifica la coloración de los tejidos son complicadísimas é influyen en ellas una serie de condiciones físicas que no entra en juego de los compuestos *in vitro*, cree Gurwitsch que los datos obtenidos por los procedimientos de coloración son insuficientes para la identificación de la nucleína. El mismo autor cree que son más expresivos los resultados de la demostración del hierro, elemento que también forma parte de la nucleína. Este hierro se encuentra aquí en una forma que Mac Allum llama enmascarada. Del mismo modo, la digestión péptica daría más indicios y más ciertos sobre la existencia de la nucleína. Fácilmente se comprende qué importancia tendrá la demostración de una manera evidente de la cromatina nuclear, dadas las modernas teorías acerca del papel, importancia funcional que desempeña el núcleo, y especialmente su nucleína en la vida celular (formación de prozomógenos, según Mac Allum, formación de fermentos oxidocatalíticos, según Loeb, para el que el núcleo sería el centro de oxidación de la célula, y que hasta ha sido considerada la nucleína por Mathoos, apoyado en los trabajos de Kossel, como el centro químico formativo de las células y jugando el principal papel en el proceso por el que los materiales nutritivos son transformados en substancia celular).

Además, la nucleína, según parece, por sus variaciones de colorabilidad, no es un compuesto químico de composición constante, sino que varía con las distintas fases de

actividad celular. Así tiene su máximo de colorabilidad en los períodos inmediatamente anteriores á los de división celular. Parece que mientras la célula está en funciones vegetativas la nucleína aumenta en la proporción de sus componentes albuminoideos, mientras que disminuyen éstos en los períodos de actividad reproductiva. No hace falta más para ver la gran importancia de los estudios de las variaciones patológicas de este producto. Estamos, como luego se ha de ver, lejos todavía de poder poner el problema de lleno sobre una base química patológica y nuestros resultados en esta investigación especial no podrán interpretarse sino como conjeturas desde este punto de vista, y habrán de limitarse en realidad al simplemente morfológico. Los nucleolos de las células están constituidos de una sustancia llamada pyrenina, que es acidófila y se tiñen de rojo con la fuchina ácida, pero no todos los corpúsculos intranucleares presentan esta afinidad de coloración. Estos son llamados nucleolos verdaderos, nucleolos plasmáticos, pero hay otros que se colorean preferentemente con los colorantes básicos, y éstos se llaman nucleolos cromáticos y son verdaderos caryosomos, solamente comparables á los nucleolos verdaderos por su forma esférica. Además, hay otros que tienen apetencia mixta, y Auerbach, estudiando los nucleolos con distintas mezclas colorantes, supuso en todos los nucleolos la presencia de dos sustancias, una cianófila y otra editrófila. Fuera de estos casos de complicación química, dentro de una sencillez morfológica, el nucleolo presenta á veces una estructura complicada, por ejemplo, en las células de Sertoli, en el testículo, y también en las manchas germinativas que representan el nucleolo del huevo. Se podría, dice Prenant, en estos casos hablar de un verdadero aparato nucleolar, compuesto de dos partes diferentes, la una el nucleolo principal, y la otra, el cuerpo yuxtannucleolar. El jugo nuclear que rellena el hueco dejado libre por las redes de linina es probablemente en el estado fresco de la célula de composición más complicada, porque es muy posible que esas redes de linina sean productos diferenciados del seno del jugo nuclear por coagulación por los reactivos. Ahora veremos cómo están dispuestas en las células del asta de Ammon los diferentes componentes nucleares.

Si se tiñen los núcleos previa fijación en alcohol con el azul de metileno ó con la tionina ó algún otro color básico, aparecen limitados del protoplasma por una línea bien marcada, que es la membrana. A veces presentan muchos, como en general, los núcleos nerviosos, una ó dos rayas intensamente teñidas de azul, y que corresponden probablemente á pliegues de la membrana nuclear. Dentro del núcleo se encuentran uno ó dos nucleolos intensamente teñidos por el colorante y situados las más de las veces en medio de un acúmulo de substancia teñida ligeramente por el colorante, granugienta, y que se extiende hacia la periferia, formando una red no muy bien definida. ¿Cuáles son en esta imagen las partes que corresponden á la nucleína verdadera, y á la pyrenina ó á los otros componentes nucleares arriba citados? Hasta las investigaciones de Levi, quizás las más importantes en el estudio del núcleo de las células nerviosas, habían sido estimados los nucleolos de las células nerviosas como falsos nucleolos, es decir, como cariosomos ó condensaciones esféricas de nucleína.

Levi aplicó al estudio de los núcleos nerviosos las mezclas colorantes y, especialmente la de Biondi-Heidenhain y llevada á una gran dilución. Estudió los núcleos nerviosos de las distintas clases de elementos, y encontró en los animales superiores y en las células que poseen un nucleolo que con todos los métodos dobles y con la mezcla de Biondi, la parte central del nucleolo toma el color ácido y que únicamente unos grumos pequeños colocados en la periferia del nucleolo toman el color básico. En las observaciones con un sólo color, por ejemplo, el método de Nissl, los grumos perinucleares se tiñen intensamente y menos ó nada la parte central, si se decolora dentro de un cierto límite. De las dos substancias constitutivas del nucleolo, cada una se conduce con los reactivos de distinta manera. La nucleína se disuelve en los ácidos diluídos, mientras que la parte central persiste, y como esta reacción coincide con la de la pyrenina que forma los nucleolos de las otras células, Levi se inclina á pensar que de esta substancia está constituida la parte central de los nucleolos nerviosos. Se puede excluir la idea de que sea la nucleína de Miescher; todo lo más se podría pensar que estaba consti-

tuída por una substancia nucleo-protéica con cantidad mínima de ácido nucleínico y con una cantidad fuerte de histón. Según este modo de ver, corresponde el nucleolo nervioso á la clase de nucleolos mixtos descritos por Auerbach en muchas células perinucleares, en las cuales la distribución de las dos substancias de afinidades colorantes opuestas están bien definidas. Lenhossék, que en un principio puso en tela de juicio los resultados de Levi y su interpretación terminó por opinar de un modo parecido en el sentido de que estará el nucleolo de las células nerviosas compuesto de dos substancias, es decir, que sería anfófilo para las mezclas colorantes, dependiendo su coloración de la predominante ácida ó básica de la mezcla. No encontró, sin embargo, los grumos perinucleares de Levi en las células de los ganglios espinales humanos de un decapitado. En sus preparados, la cromatina de las células conjuntivas vecina estaba teñida de verde, pero el nucleolo y la red de linina de las células nerviosas habían tomado el color rojo. En una nota asegura, sin embargo, después de haber examinado los preparados de Levi, la exactitud de las descripciones de este autor.

Cajal, por su parte, después de conocidos y criticados los trabajos de Levi y de Lenhossék, estima los nucleolos de las células nerviosas como constituidos de cromatina ordinaria, pero algo modificada, dice él, por el largo descanso mitótico á que se hallan sometidas las neuronas. La variación de la colorabilidad sería para Cajal correlativa á la centralización de la cromatina nuclear, hecho que no es exclusivo del sistema nervioso, pues se encuentra en otros tejidos, como, por ejemplo, el cuerpo mucoso de Malpigio. La explicación dada por Cajal parece ser, después de leídos los argumentos en que se funda, eminentemente probable. Ya que las diferencias de teñido señaladas por Levi, aunque se obtienen en tejidos fijados según sus indicaciones, no igualmente en piezas fijadas en alcohol ó, por lo menos, con la misma limpieza y muchas veces aparecen los nucleolos teñidos completamente de verde. Nosotros hemos empleado la mezcla panóptica de Pappenheim sobre cortes de piezas fijadas en alcohol é incluídas en celoidina. La mezcla de Pappenheim es una mezcla triácida análoga á la de Ehrlich, en la que únicamente ha sido sustituido el

color básico que en ésta representa el verde de metilo por el azul de metileno, color más enérgico. Nosotros, para abreviar el teñido y antes de conocer el detalle de los procedimientos empleados por Levi con la mezcla de Biondi, teníamos los cortes en la mezcla no diluida de Pappenheim durante medio á un minuto; después, rápido lavado en agua destilada, donde perdía el corte el color superficial, un lavado rápido también en agua con unas gotas de ácido acético; nuevo lavado en agua y coloración en alcohol hasta que el corte tomaba un color rojo; luego alcohol absoluto, xilol, bálsamo. En las células de Purkinje y en las células del asta de Ammon y en las pirámides corticales, el nucleolo aparecía intensamente teñido de azul, la red de linina en rojo y la membrana de rojo también. Las células de neuroglia y las conjuntivas presentan la cromatina claramente teñida de azul. Estos resultados permiten, por lo menos, afirmar que la acidofilia de la parte central del nucleolo es muy relativa y que se demuestra en casos muy especiales, pues aun cuando, como en nuestro caso, la red de linina, la membrana nuclear y el protoplasma celular muestran sus apetencias ácidas, el nucleolo se muestra teñido con gran limpieza de azul.

Debemos, sin embargo, decir que esta reacción tampoco es constante, pues hemos encontrado células en los ganglios espinales, que, tratadas por el mismo método, ofrecían la zona acidófila central de Levi y, aunque no los grumos del mismo autor, sí una corteza nucleolar teñida decididamente en azul. En las células en que el nucleolo se tiñe en azul no se perciben en su periferia los grumos basiófilos, sino que el contorno es perfectamente limpio, y alrededor del nucleolo se observa un cúmulo de substancia eritrófila de la que hacia afuera se organiza la llamada red de linina. Todos estos hechos demuestran la incertidumbre de interpretación que se obtiene de la consideración de imágenes nucleares obtenidas por diversos procedimientos. Esto, de un lado, y el saber, del otro, que la cromatina en las células de los tejidos ordinarios cambian probablemente de composición con los distintos estados de actividad celular, coloreándose más intensamente en los periodos de segmentación y con menos decisión basiófila en los periodos de vegetación, hacen muy plausible la opinión de

Cajal de que el nucleolo de las células nerviosas, aunque modificado, representa la cromatina de las otras células del organismo.

En un reciente artículo, Marinesco, empleando la mezcla de Biondi, obtuvo resultados análogos á los de Levi, y dibuja con gran evidencia los nucleolos con sus grumos perinucleares. Nosotros, usando el procedimiento de coloración de Mann en cortes á la paracina y á la celoidina, hemos encontrado imágenes que no concuerdan exactamente con la descripción clásica de Levi. Los nucleolos aparecen aquí teñidos intensamente de rojo, pero la red nuclear y la membrana teñidas de azul. Hemos de notar también en esta ocasión que, empleando el método de Mann (mezcla de azul de metilo y de eosina), hemos obtenido en las células del asta de Ammon del perro rábico unas figuras nucleares en las que se observa un elemento de difícil interpretación. El nucleolo aparece intensamente teñido de rojo; la membrana nuclear y la red de linina, como hemos dicho, están teñidas de azul; pero, además, se encuentran unas veces adheridos al nucleolo; otras, sobre el retículo nuclear, y las más, en un punto de la membrana nuclear uno, dos, y en los casos más raros, tres corpúsculos pequeñísimos coloreados tan intensamente por el color básico, que parecen negros; su forma es generalmente alargada, y muchas veces aparecen como un bacilo encorvado y pequeño. Estos corpúsculos, no sólo se perciben en las células de aspecto normal, sino también en aquellas que han sufrido una modificación esclerósica, en las que el protoplasma está reducido de volumen y se tiñen de un modo homogéneo, y en las que el núcleo ha perdido las más de las veces su forma redonda y ovoidea y presentan una modificación correlativa á la del protoplasma. Se encuentra estrecho y alargado, y coloreado uniforme é intensamente de azul; la línea de la membrana no se manifiesta, y la separación entre cuerpo nuclear y protoplásmico sólo se hacen á beneficio de la desigualdad de teñido. El nucleolo no se distingue en nada de los de las células normales, y en medio de la masa homogénea del núcleo, ó en un punto de su periferia, se ven uno ó varios corpúsculos como los descritos. ¿Trátase en este caso de los grumos cromáticos de Levi? El tamaño de estos corpúsculos, que es pequeñísimo y á veces

está en el límite de la visibilidad con los objetivos de inmersión y su posición en el núcleo, son datos que no coinciden con las descripciones de Levi. Según Perrin y Maurice Dide, citados por Marinisco en el trabajo antes mencionado, se encontrarían en el núcleo del conejo de Indias, y cerca de la membrana nuclear, unos cuerpos lenticulares, puntiformes, de naturaleza basiófila y de valor morfológico, por ahora desconocido. En la vecindad de este cuerpo el retículo nuclear estaría ramificado y ofreciendo á veces en este nivel una aureola clara. A veces, la membrana aparece deprimida en este sitio, de modo que los autores se preguntan si quizá el cuerpo mencionado será menor y alojado en una depresión de la membrana. Los autores emiten la conjetura de interpretación de estos cuerpos como centrosoma. La posición que respecto á la membrana nuclear tienen muchos de los cuerpos que nosotros describimos nos hace pensar en si podrán ó no tener relación con los corpúsculos de Perrin y Dide. El hecho de encontrarse en nuestro caso varios corpúsculos en muchos núcleos no coincide con las descripciones de estos autores. Claro que como las piezas que nosotros hemos examinado son patológicas, este hecho no tiene una significación contradictoria, pues podría suceder con tales corpúsculos lo que con los nucleolos en casos patológicos. Marinisco, en el trabajo citado, se confirma en la opinión de que los nucleolos se multiplican en los procesos patológicos, como, por ejemplo, después de la inyección de tóxicos como la morfina y la estriknina en perros recién nacidos. El autor estima que estos tóxicos producen un estímulo enérgico nutritivo en el nucleolo, estímulo que determina su división por gemación.

Además de los corpúsculos citados, describió Marinisco en 1903 unos, que él llamó corpúsculos acidófilos paranucleares en las células del locus niger y del locus coeruleus. El número de los corpúsculos paranucleares varía de 1 á 6, y su diámetro mayor alcanza el tamaño de 7 milésimas de milímetro. Según Marinisco, estos corpúsculos aparecerían en la edad adulta y en la vejez, y para él tendrían relación con la función de la formación del pigmento. Veamos ahora el aspecto de los núcleos coloreados con el método del nitrato de plata (proceder de Cajal). Los re-

sultados de este método, en cuanto tienen de especial, se refieren particularmente á los nucleolos. El nucleolo no aparece muchas veces como una masa homogénea, como con los colorantes ordinarios, sino que presenta una serie de esferas pequeñas, homogéneamente teñidas de rojo rubí ó de color pardo y hasta negro. Según Cajal, Ruzicka y Holgrem habian ya descubierto estas esferillas; pero por un método que no daba la claridad que el de Cajal. Los granos pasan, á veces, de 20, y son, próximamente, iguales de tamaño. Para Cajal constituyen estos granos la parte acidófila del núcleo y la parte de substancia amorfa intermedia á los granos sería la que atrae intensamente las anilinas básicas en los procedimientos ordinarios. Además del núcleo principal, se ven en los núcleos tratados con el nitrato de plata, ciertos cuerpos intranucleares accesorios, descritos por Cajal, de tamaño muy superior á los granitos intranucleolares, y que aparecen teñidos de distinto modo que éstos, en amarillo ó anaranjado. La presencia de estos cuerpos es muy frecuente. En los núcleos casi no se percibe nada de la red de linina; pero la línea de la membrana es bien manifiesta. Nosotros hemos empleado algunas veces, en cortes que han sufrido la impregnación argéntica, un viraje por medio del cloruro de platino, y las imágenes nucleares que hemos obtenido han sido bastante precisas, y nos han servido para nuestro estudio anatomo-patológico. Nos queda aún, antes de terminar la exposición de la estructura normal de los núcleos nerviosos, el dar cuenta del aspecto que éstos ofrecen, tratados por dos métodos muy usados en la técnica moderna de las neurofibrillas, el método de Bethe y el de Donnagio. En el primero aparece muchas veces el nucleolo incoloro, ó muy pálido, y en el núcleo se encuentra una gran cantidad de esferillas coloreadas en azul. La membrana se presenta manifiesta, y de la red de linina se ve poco ó nada. Por el método de Donnagio, en condiciones normales, aparece el núcleo como una vesícula incolora, y en la que no se percibe ningún detalle de estructura, y únicamente en ciertos estados patológicos, como los observados en animales expuestos á la acción combinada del ayuno y del frío, se presenta el nucleolo, y hasta se ven también alrededor de él los grumos perinucleolares de Levi. Si ahora echamos una

mirada de conjunto sobre las imágenes nucleares estudiadas hasta aquí, experimentamos una gran dificultad al tratar de hacer una imagen sintética esquemática del núcleo en que las distintas estructuras con su valor químico correspondiente, obtenidas por los diversos métodos de coloración, se superpongan y coincidan. Es evidente que en el núcleo de las células nerviosas, como en las de las demás células, debe de haber sustancias químicas de composición diferente, y esto expresan las diferencias de colorabilidad; pero nuestros conocimientos no nos autorizan, á mi modo de ver, y, por ahora, á colocar é interpretar, como disposición preexistente, determinadas sustancias químicas en determinado elemento de la estructura nuclear. Si suponemos, tomando como ejemplo el nucleolo este órgano como de consistencia semisólida y de estructura homogénea, flotando en el jugo nuclear, y hacemos actuar sobre él distintos agentes fijadores, es muy explicable que, siendo el jugo nuclear una mezcla compleja, sus distintos componentes coagulen y se organicen con diferentes reactivos en estructuras diferentes, las cuales tendrán un valor tan grande como se quiera, pero que no podrán, sin más demostración, estimarse como estructuras preexistentes. Con esto no quiere decir que quede excluído el que pudiera tener el núcleo una estructura complicada y coincidente, quizás con alguna de las imágenes histológicas conocidas.

Después de estas consideraciones pasaremos á la descripción de las figuras de degeneración nucleares, de que trata especialmente nuestro trabajo. Encuéntrase éstas, aunque no frecuentemente en la corteza cerebral, más á menudo en la capa de los granos de la fascia dentata. Aún son más frecuentes en la capa de las células de Purkinje; pero donde la lesión adquiere su máximo de concentración es en la capa de las pirámides del asta de Ammon.

En la región media ó ventricular forma esta capa una banda apretada y de límites precisos constituida por las células piramidales, compuestas en tres ó cuatro filas con poquísimo espacio intercelular. Sólo se encuentra entre las células nerviosas, algunas de neuroglia y el plexo nervioso que á este nivel se ramifica. Hacia un lado y hacia otro va perdiendo esta banda su precisión, que desaparece

completamente hacia la porción subicular y hacia la porción fimbriada. En estas porciones la capa se hace más ancha, la substancia intercelular es más abundante, y al mismo tiempo se observan modificaciones de forma en las células nerviosas, que ovoideas y fusiformes en la zona media, tienen aquí un aspecto más bien poligonal, y en las cuales se perciben el arranque de las prolongaciones de la base. De las tres regiones en que hemos dividido la capa de las pirámides del asta de Ammon á la media ó ventricular es á la que corresponde el máximo de lesión, y tanto, que en algún caso aparece esta zona casi sin núcleos nerviosos normales, y como un cultivo puro de los productos de la degeneración que tratamos. En su estudio histológico nos serviremos como base para nuestras descripciones de los resultados obtenidos con la mezcla de Pappenheim, que permite mayores diferencias de coloración, aunque no ofrezcan sus imágenes tanta finura estructural como las de otros métodos. Empleada la mezcla de Pappenheim según la técnica que hemos indicado, se obtienen las imágenes normales de los núcleos con los nucleolos intensamente teñidos de verde, en su interior se perciben una ó dos pequeñas vacuolas. Está situado el nucleolo en medio de una masa granulosa teñida de rojo y de la que parten radialmente hasta la membrana trabéculas más ó menos granulosas teñidas de rojo, y que se unen por otras intermedias formando red. Al lado de núcleos que presentan este aspecto encuéntranse otros de neuroglia fácilmente de reconocer por la disposición reticulada y uniforme de su cromatina, porque afectan más frecuentemente una forma redondeada, porque son más pequeños que los núcleos de las células nerviosas, y porque la línea de la membrana nuclear aparece teñida de azul. El protoplasma de las células nerviosas que corresponde á los núcleos descritos aparece coloreado débilmente en azul; se observa su forma normal y se puede seguir en más ó menos extensión el curso de la prolongación protoplasmática, gruesa, apical, en dirección de la fascia dentata, y que con las de las células vecinas forma el enrejado de barras paralelas del *stratum radiatum*. Además de esta fase que aceptamos como normal, encontramos otra que no es muy frecuente ni la que se caracteriza por la desaparición de

la red de linina y la reducción de todas las estructuras intranucleares á unas bolitas de afinidades de coloración diferentes y de diversos tamaños. Su número varía también, y en algunas células de Purkinje hemos encontrado de 20 á 30 de estas esferillas. Unas de ellas aparecen coloreadas por los colores ácidos de la mezcla, y éstas son las mayores. No todas ellas están teñidas de rojo con igual intensidad; unas son bastante transparentes, y otras están teñidas muy pálidamente en su centro y rodeadas por un cerco fuertemente coloreado en rojo. Las esferas rojas son las más, pero además de ellas hay otras más pequeñas y que están teñidas intensamente de azul y que representan, por lo tanto, los restos del aparato nucleínico nuclear, constituido en estas células por el nucleolo. El tamaño y el número de estas esferillas azules, como el de las rojas, varía mucho y no podríamos dar una descripción que coincidiera con todos los casos. Esta fase del proceso degenerativo que estudiamos, está, pues, caracterizada, porque con una anormalidad insignificante, en muchos casos de la imagen protoplásmica de la célula, y en otros casos, sin anormalidad perceptible, coinciden modificaciones nucleares bastante intensas y que se manifiestan por la disolución del retículo de linina y por la reducción de todos los elementos estructurales intranucleares á un número variable de bolas de apetencia de color opuestas. Todo ello con la persistencia de la membrana, manteniéndose el tamaño ordinario del núcleo y las relaciones aparentes entre núcleo y protoplasma.

Con el procedimiento de la plata de Cajal y con un viraje ulterior al platino hemos encontrado figuras nucleares que estimamos coincidir con esta fase. Corresponden también aquí estos núcleos á células de aspecto normal, cuya prolongación protoplasmática se sigue en gran trayecto con el aspecto rígido que acepta de ordinario en la zona de las pirámides amnónicas del conejo. En estas prolongaciones se advierten algunas neurofibrillas, la membrana nuclear está teñida en negro y de un modo muy evidente y el fondo del núcleo se presenta claro y sin estructura y en el jugo nuclear se encuentran esferas análogas á las antes descritas. Unas, intensamente teñidas en negro; otras, en pardo, y finalmente, algunas que tienen un cerco negro muy ma-

nifiesto y cuyo espesor, proporcionalmente al del centro menos coloreado é incoloro, varfa bastante. Con la toluidina ó con la tionina se obtienen imágenes muy semejantes. Es de notar que, las figuras que en cierto modo se pueden comparar á éstas por corresponder á núcleos que conservan su membrana y su forma normal y que se encuentran en la zona de los granos de la fascia dentata, no coinciden enteramente con las descritas. En la fascia dentata, y como ya indicó Siciliano, se encuentran, y no muy frecuentemente, unas bolas fuertemente teñidas con la tionina y rodeadas de una membrana como flotantes en medio de ella y en mucho espacio vacío. En muchos casos sólo se encuentran una de estas bolas en cada núcleo que presenta la alteración de que se trata. Si se emplean mezclas colorantes, como las de Mann ó las de Unna-Pappenheim, para las células plasmáticas, con la pironina quedan teñidas intensamente de rojo. Las figuras que hemos descrito en la zona de las pirámides del asta de Ammon no se encuentran en la fascia dentata. En general, podemos decir que las figuras todas de degeneración nuclear que describimos adquieren un sello especial en cada región distinta y en armonía con las diferentes estructuras de los núcleos correspondientes. Así, aunque las figuras degenerativas del cerebelo y de la capa piramidal ammónica son muy parecidas, no llegan á ser completamente idénticas. Al lado de las formas descritas y muy especialmente en la zona indicada, se encuentran núcleos de aspecto totalmente diferente. Están muy retraídos, han perdido, por regla general, su forma ovoidea y presentan contornos más bien alargados en forma de salchicha algunas veces y redondos en otros casos, pero siempre con gran disminución de volumen. La separación anatómica entre núcleo y protoplasma ha desaparecido; no se ven restos de membrana, y esto, unido á las modificaciones de colorabilidad sufridas por la substancia fundamental nuclear, hacen el tránsito entre núcleo y protoplasma muy impreciso. El interior del núcleo, que en la fase anteriormente descrita y después de haber perdido la red de linina era incoloro y transparente, de tal modo que los núcleos aparecían como vesículas vacías, se encuentran aquí homogéneamente teñidos de rojo y dentro de él no se percibe ninguna estructura reticular y sólo

unos grumos de cromatina ó nucleína intensamente teñidos de azul. En cuanto á la forma y tamaño de estos grumos cromáticos, es muy variable; unas veces son diminutos y están repartidos en todo el núcleo con regularidad y profusión, y otras veces son pocos y más gruesos y entonces generalmente no suelen ser esféricos, antes bien, afectan formas irregulares. Muchas veces encuéntrase en el núcleo vacuolas claras á las que está adaptado un grumo cromático en un punto de su periferia. Estos grumos, adaptados á las vacuolas nucleares y que son muchas veces en forma de anillo, otras en forma de media luna, nos parecen ser residuos de vacuolas rodeadas completamente de una capa periférica cromática como se encuentran algunas veces.

Las bolas cromáticas de la fase anterior, redondas é intensamente teñidas de azul, comenzarían por ofrecer en su centro un espacio más claro, que se agrandaría más y más mermando otro tanto de la parte cromática hasta quedar ésta reducida: primero, á una delgada capa periférica, y finalmente, á los segmentos que, á modo de casquete ó de media luna, están adosados á las citadas vacuolas. Con esta fase regresiva de los núcleos corresponde una profunda modificación en toda la célula. Queda ésta retraída, su protoplasma se tiñe intensamente de rojo, tanto, que llega un momento en que la diferenciación con el núcleo es imposible. En cambio, con la mezcla de Pappenheim se diferencian las células sanas de las enfermas por la distinta colorabilidad de su protoplasma.

Las células sanas se colorean de azulado, mientras que las enfermas lo hacen decididamente de rojo. Además, la forma del cuerpo celular ha cambiado mucho, el protoplasma ha disminuído y la prolongación protoplásmica apical, que formaba con sus vecinas el regular enrejado de barras paralelas del *stratum radiatum*, forma un curso ondulado y aparece muy corta, tanto, que la célula entera tiene el aspecto de una coma, de la que el rabo sería el resto de la prolongación protoplásmica. Esto por lo que se refiere á las pirámides del asta de Ammon. En las células de Purkinje, del cerebelo, las cosas tienen otro aspecto. Lo mismo que en el asta de Ammon encontramos aquí las células retraídas, y habiendo perdido toda traza de grumos cromá-

ticos protoplasmáticos, el protoplasma se encuentra retraído, tiene un aspecto homogéneo y está teñido intensamente de rojo y la forma de la célula ha cambiado de piriforme á más ó menos triangular. El cuerpo presenta algunas vacuolas y el núcleo ha perdido también aquí la membrana. Su contenido está teñido de rojo, aunque no del mismo rojo que el protoplasma celular; se diría que hay aquí una diferencia de afinidad de coloración respecto á los dos colorantes ácidos de la mezcla triácida. Como en el asta de Ammon se encuentran aquí grumos cromáticos dentro del núcleo; son éstos desiguales, irregulares las más de las veces, y no se ven aquí las vacuolas intranucleares. La fase final del proceso que describimos lo constituyen las formas, en que toda distinción entre núcleo y protoplasma es imposible, la célula ha perdido completamente su aspecto, no hay ya prolongaciones protoplasmáticas, y todo ello queda reducido á una bola teñida intensamente de rojo y en cuyo interior se ven algunos grumos azules. Van más allá estas alteraciones celulares en su proceso degenerativo. Muchas veces se encuentran formas más escleróticas aún, y no es extraño encontrar granos de substancia desintegrada en el tejido; pero no tenemos datos para saber acerca de la suerte ulterior de estas células, únicamente hemos encontrado en el cerebelo bolas como las descritas, completamente abrazadas por células de neuroglia y como incluídas dentro de ellas. Como es sabido, las células de neuroglia tratan á los cuerpos extraños y á los distintos productos de desintegración, en el sistema nervioso, de ese modo: englobándolos. Nosotros hemos hecho notar en un trabajo anterior, con el Dr. Catola, este modo de proceder de las células neuróglícas con relación á los cuerpos amiláceos que, como en el mismo trabajo demostramos, son, por lo menos en parte, productos de desintegración de los cilindros ejes. Lo mismo respecto á los cuerpos amiláceos que á estas bolas de desintegración nuclear, englobadas por las células de neuroglia, es difícil averiguar su ulterior suerte. Quizá las células de neuroglia modifiquen más allá los productos degenerativos que estudiamos y los reduzcan á productos más simples. Serán, quizá, capaces esas células de emigración en el sistema nervioso, ó se limitarán á secuestrar y englobar á esos

cuerpos extraños, microscópicos, al modo como el tejido conjuntivo hace con los cuerpos extraños.

Esta reacción neuróglia, provocada por las células de Purkinje, nos da paso para hablar de otra importante reacción de los elementos neuróglia en el asta de Ammon en relación con los fenómenos degenerativos de las células nerviosas, pero no con respecto al soma celular, sino en relación con las prolongaciones protoplasmáticas que constituyen el enrejado del stratum radiatum. Las células de neuroglia, aunque además de esto tengan otro papel más activo como quieren investigaciones modernas (Alzheimer, Held), constituyen el principal sistema de sostén del sistema nervioso y se adaptan en su disposición á la de las células nerviosas, es decir, que la arquitectura mecánica de los órganos nerviosos se condiciona por la disposición de los elementos que desempeñan la función; por eso en esta estructura, en la que los penachos descendentes de las pirámides se encuentran paralelos y muy próximos, las células de neuroglia adoptan ya una figura alargada y como en forma de bastoncito.

Algo semejante á las formas más gruesas y más pequeñas de las llamadas por Nissl así, células en bastoncito, «Stäbchenzellen», que se encuentran muy frecuentemente en la corteza cerebral de ciertas enfermedades mentales, y muy particularmente en la parálisis general. Se discute acerca de si estas células de la corteza cerebral humana son ó no elementos neuróglia. Nissl y Alzheimer se inclinan á creer, aunque con reserva, que tales elementos provienen de una proliferación y alargamiento de las células conjuntivas de la vaina adventicia de los vasos; pero recientes investigaciones, como la de Cerletti, parecen inclinarse á estimar estas formas celulares como modificaciones de las células de neuroglia adaptadas á determinadas formaciones patológicas. Las células de que se trata en nuestro caso, son muy semejantes á las «Stäbchenzellen»; su núcleo es también alargado, y el protoplasma se tiñe ligeramente con las anilinas básicas. Como en el conejo, se encuentran estas células en el asta de Ammon normal; no se puede pensar que en este caso procedan estos elementos de la adventicia vascular, y hay que estimarlas como elementos neuróglia. Estos proliferan en la

infección rábica de un modo asombroso. La parte del enrejado del *stratum radiatum* correspondiente á la zona ventricular ó media, que es la más afecta en esta enfermedad presenta estas reacciones neuróglícas en su máximum. Ofrecen muchas células figuras de mitosis, y no sólo proliferan por división indirecta, sino que se observan también figuras amitósicas. Las células alargadas adquieren dimensiones mucho mayores que las normales y se adaptan á las prolongaciones protoplasmáticas de las células piramidales enfermas. No sólo se extiende su protoplasma en la dirección longitudinal del enrejado del *stratum radiatum*, sino que envía prolongaciones laterales, á veces de una cierta complicación. Estas células, alargadas extraordinariamente, son las que ofrecen la división directa. El núcleo, situado en el centro, pierde toda estructura y queda reducido á un bloque de substancia fuertemente teñida por los colores básicos. Su contorno no es regular y ofrece muesca, que se hace más profunda y termina por determinar la segmentación nuclear. El protoplasma se divide á continuación del núcleo y quedan formadas dos células hijas, también alargadas. Esta forma anormal de segmentación celular tiene una significación patológica. Bastará recordar aquí que desde las investigaciones de Flemming la amitosis es considerada en las células de los animales superiores adultos como un proceso de degeneración. Von Rath, estudiando las amitosis en las células del testículo, observó que solamente las de sostén, que están destinadas á una corta vitalidad, se dividen directamente; en cambio, las células que dan origen á los espermatozoides y que llevan gran virtud de proliferación lo hacen indirectamente. Von Rath ha llegado á deducir de aquí que la amitosis significa para una célula, así como su sentencia de muerte. Los experimentos de Pfeiffer, en la *Spyrogira*, prueban que, por lo menos en los organismos inferiores, no tiene valor real esta afirmación de Von Rath. Colocando *Spyrogira* en agua que contenga 0'5 á 1 por 100 de éter, el crecimiento de la planta continúa, pero las divisiones celulares se hacen por amitosis. Si se pone de nuevo la planta en agua ordinaria, se dividen nuevamente las células indirectamente. Sea la que quiera la interpretación que se da al modo de dividirse las células en nuestros casos de rabia, es

muy interesante la intensidad de la proliferación en la zona en que las pirámides amónicas que sufren la mayor lesión, emiten sus robustas prolongaciones protoplásmicas.

Una proliferación neuróglia también muy notable se presenta en la capa molecular del cerebelo; allí también coincide la distribución del protoplasma de las células de Purkinje lesionadas con la proliferación neuróglia, pero no se observan las formas alargadas, porque allí los árboles protoplasmáticos de las células de Purkinje, por su distinta forma, no lo reclaman así. Esto sirve de ejemplo de la gran plasticidad y facultad de adaptación que tiene la neuroglia en los casos patológicos. Los productos de degeneración del protoplasma nervioso provocan probablemente la proliferación neuróglia, y por una especie de tropismo químico la adaptación de las células neuróglia a las estructuras degeneradas.

El estudio de los productos de degeneración es un camino de investigación anatomopatológica, que parece prometer algún resultado en el sistema nervioso. Desde hace tiempo es conocida la reacción de degeneración de Marchi. Al seccionar vías nerviosas cae su porción celulifuga en degeneración, es decir, que los cuerpos químicos complicados, á saber, cuerpos albuminoideos, lecitinas, mielina, protagón, etc., se reducen á cuerpos de constitución más sencilla, terminando en los de la serie grasa, que dan con el ácido ósmico la reacción de Marchi. Para el estudio histológico fino de estos productos grasos se muestra más apropiado que el método de Marchi, el de Herxheimer con el rojo escarlata. En todos los procesos en que hay una destrucción notable de los elementos del sistema nervioso, se encuentran gotas de grasa en la corteza cerebral. Un sitio de predilección para el depósito de esta grasa de desintegración son las células de la adventicia de los vasos. Además, cuando el proceso no es muy manifiesto, se encuentran gotas de grasa en las células de neuroglia y en el protoplasma de las células nerviosas. Hemos empleado este método con el rojo escarlata en los cortes de cerebro fijado en formol de conejos rábicos, y hemos encontrado que el máximum de depósito grasiento coincide, como se podía prever, con el de las mayores alteraciones celulares en nuestro caso, en la zona de las pirámides del asta de

Ammon. No hacemos aquí más que anotar este hecho, de que daremos cuenta más extensamente en el trabajo más general que proyectamos sobre la anatomía patológica de la rabia, y en el que daremos cuenta de las alteraciones de los distintos elementos normales, así como de nuestros estudios sobre los cuerpos de Negri.

Resumiremos este corto trabajo en las siguientes conclusiones :

1.^a Se han estudiado sucesivamente en la anatomía patológica de la rabia las lesiones vasculares, las infiltraciones perivasculares, la alteración del protoplasma de las células nerviosas, los cuerpos de Negri, las variaciones del retículo fibrillar endoplasmático y las modificaciones nucleares señaladas por Siciliano.

2.^a De nuestras investigaciones en el conejo rábico se desprende que estas degeneraciones nucleares son, como señaló Siciliano, muy abundantes en la formación armónica del conejo, aunque no exclusiva á esta formación, como creía el descubridor.

3.^a Que el cerebelo presenta en las células de Purkinje, las citadas modificaciones con gran intensidad. Mas rara vez se encuentran en otros segmentos del sistema nervioso.

4.^a En la formación amónica el sitio de preferencia para la degeneración nuclear es la zona de las pirámides y dentro de ella la región media ó ventricular.

5.^a En esta capa se ven células con la forma y colorabilidad ordinaria, y en las que el núcleo ofrece ya modificaciones manifiestas, consistentes en la desaparición de la red de linina con persistencia del volumen del núcleo, de su forma y de su membrana, y en las que todas las estructuras intranucleares han quedado reducidas á un cúmulo de esferillas de propiedades de teñido opuestas, ácidas y básicas. Por encontrarse estas modificaciones nucleares en células de aspecto normal, estimamos á ésta como la primera fase del proceso regresivo, que sería, por tanto, primario por parte del núcleo con respecto á la célula.

6.^a Fases ulteriores están constituidas por la desaparición de la membrana nuclear, la coloración intensamente y homogéneamente de rojo del núcleo (usando la mezcla de Pappenheim) y la presencia, dentro de él, de los gru-

mos cromáticos, teñidos de verde, y de formas distintas. Con esta fase coincide la retracción y esclerosamiento de la célula entera, que pierde, además, su colorabilidad basiófila.

7.^a Que con esta degeneración coincide una proliferación considerable de los elementos neuróglícos que, adaptándose á las estructuras nerviosas, en degeneración adoptan en el *stratum radiatum* formas muy alargadas.

8.^a En la zona de las pirámides del acta de Ammon, se observa también en los conejos rábicos acúmulos más grandes de productos degenerativos de la serie grasa, que nuestros preparados han sido preparados con el rojo es-carlata, según Herxheimer.

Verificó el ejercicio el día 10 de Diciembre de 1906, y fué calificado de *Sobresaliente*.

El Presidente,

A. SAN MARTÍN.

JOSÉ RIBERA Y SANS.

M. MÁRQUEZ.

El Vocal,

JOSÉ GÓMEZ OCAÑA.

El Secretario,

J. TRIGUEROS.

BIBLIOTECA NACIONAL DE ESPAÑA



1103213237

