

SOCIEDAD MEXICANA DE ANATOMIA  
ARCHIVOS MEXICANOS DE  
ANATOMIA



MEXICO

# ARCHIVOS MEXICANOS DE ANATOMIA

PUBLICACION OFICIAL DE LA SOCIEDAD  
MEXICANA DE ANATOMIA. Año 5, Núm. 1.  
Tomo V. Enero-Febrero-Marzo-Abril de 1964.  
México, D. F.

MEXICO, D. F.

# ARCHIVOS MEXICANOS

DE

# ANATOMIA

Organo Oficial de la Sociedad Mexicana de Anatomía

TRES PUBLICACIONES POR AÑO

---

TOMO V — No. 1

Enero - Febrero - Marzo - Abril de 1964

---

MEXICO, D. F.

# CONTENIDO

TOMO V — No. 1

Enero - Febrero - Marzo - Abril 1964

EDITORIAL .....	9
ULTERIORES OBSERVACIONES SOBRE LAS VENAS POST-CAPILARES EN LA TONSILA PALATINA HUMANA DR. ANTONIO FCO. PIRRO. UNIVERSIDAD DE PANAMÁ .....	11
MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA. DR. VICTOR FERRANS. New Orleans .....	21
CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO ANATÓMICO Y FUNCIONAL DE LOS NÚCLEOS SUPRAÓPTICO Y PARAVENTRICULAR DRES. ALFONSO ESCOBAR Y CARLOS GUZMAN FLORES. U. N. A. M. ....	27
ESTUDIO HISTOQUÍMICO DE ALGUNAS ENZIMAS QUE INTERVIENEN EN EL METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS DEL CORAZÓN DE CONEJO. DR. CAMILO APES. U. S. L. P. ....	35
ESTRUCTURA DEL CUERPO CAROTÍDEO EN EL HOMBRE Y EN ALGUNOS ANIMALES SUPERIORES DRES. ISAC COSTRERO Y ROSARIO BARROSO NOGUEL. I. N. DE C. MEX. ....	51
CONEXIONES DE LA CORTEZA VISUAL CON EL TRONCO CEREBRAL. ESTUDIO ANATÓMICO EN EL GATO. DRES: ALFONSO ESCOBEDO Y CARLOS GUZMAN FLORES. U. N. A. M. ....	57
ABSTRACTOS DE INVESTIGACIONES ANATÓMICAS, ANTROPOLÓGICAS, EMBRIOLÓGICAS E HISTOLÓGICAS. DIRECTORIO. ....	63
DIRECTIVA DE LA SOCIEDAD 1963-1966. ....	71

# Archivos Mexicanos de Anatomía

TRES PUBLICACIONES POR AÑO

Fundada en marzo de 1960.

Registro en Trámite.

DIRECTOR:

Dr. SALVADOR GOMEZ ALVAREZ

CONSEJO EDITORIAL:

Dr. MARIO GARCIA RAMOS

Dr. FERNANDO QUIROZ PAVIA

Dr. ENRIQUE ACOSTA VIDRIO

Dr. SALVADOR DE LARA GALINDO

Dr. ANTONIO VILLASANA ESCOBAR

Dr. LUIS LOPEZ ANTUNEZ

DIRECCIÓN:

Apartado Postal No. 25279. Admón. de Correos 70

México 20, D. F.

Todo asunto relacionado con esta publicación diríjase a nombre del  
Director.

## EDITORIAL

*La Mesa Directiva de la Sociedad Mexicana de Anatomía (1963-1966) se complace en presentar a cada uno de sus socios, este primer número de nuestros "Archivos Mexicanos de Anatomía" correspondiente al primer período de 1964.*

*Este número constituye un ferviente mensaje de amistad para todos los compañeros que cultivan alguna de las ramas de la morfología, igualmente para los profesores, médicos y cirujanos tanto nacionales como extranjeros, que han colaborado en nuestra labor.*

*La Mesa Directiva considera que este medio publicitario cumple con los preceptos que marca nuestro estatuto:*

*PRIMERO: Divulgar e impulsar la docencia y la investigación de las ciencias morfológicas.*

*SEGUNDO: Hacer del conocimiento de todos y cada uno de los miembros de nuestra sociedad, estas importantes aportaciones para que sea valorado debidamente el esfuerzo.*

*Por acuerdo expreso de la Directiva, debidamente aprobado en Reunión Ordinaria, nuestra revista continuará publicándose cada cuatro meses para aumentar el contenido y lograr su mejor financiamiento.*

*Solicitamos la cooperación de todos los señores profesores de estas materias, para que mediante su aportación y esfuerzo, cada número sea más completo y marquemos con ello una nueva etapa de superación.*

*El presente número contiene trabajos presentados en nuestro "II Congreso Nacional de Anatomía", que por considerarlos de gran valor e interés forman este Primer Volumen.*

*Esperamos que de esta manera y mediante la colaboración que siempre recibimos de todos los miembros de nuestra sociedad, podamos realizar nuestro programa, para contribuir debidamente al incremento de la docencia y de la investigación en las diferentes ramas de la morfología humana.*

# Ulteriores observaciones sobre las venas post-capilares en la tonsila palatina humana

ANTONIO FCO. PIRRO, FR., M.D., L.D.  
PANAMÁ.

Mi actividad de investigador mucho se ha concentrado en el estudio de la tonsila palatina. Este estudio que lleva ya una década, abarca casi todos los aspectos histo-funcionales del "problema tonsilar", y ha alcanzado resultados positivos, que se encuentran referidos en la literatura mundial (ver los trabajos de James 1956, Fioretti 1957, Henschel 1957, Galli 1958, Cauna 1959, Kassay y Sandor 1962).

La circulación sanguínea, como la linfática, tiene gran importancia en la tonsila palatina, siendo este un órgano linfoepitelial íntimamente relacionado con el sistema sanguíneo y linfático.

En la tonsila palatina existe una forma especial de presentarse las venas post-capilares.

Se trata de los primeros segmentos de la vía sanguínea refluja, es decir, de las venas que siguen a los capilares, como el mismo nombre dice.

En 1899, Schumacher, estudiando linfonódulos del hombre y de algunos monos se dió cuenta de que las venas post-capilares en estos órganos presentan algo singular, es decir, un endotelio tan espeso que parece un epitelio cilíndrico de un conducto glandular.

En la literatura se encuentran pocas noticias de estas venas; solamente Hayek en 1942 se ocupó detenidamente de las venas post-capilares y de las anastomosis artero-venosas en la tonsila palatina humana.

Rieder (1951), estudiando tonsilas con alteraciones de naturaleza focal, dio énfasis a las venas post-capilares, llegando a considerarlas así dichas "crisis vasales" que se producen en estas venas, como una condición favorable al establecerse la infección focal.

Así pues, dándome cuenta de lo mucho que puede brindar el estudio de estas venas y de lo poco que se había investigado, elegí este tema, al cual dediqué mis buenos esfuerzos para captar sus secretos valiosos para aclarar algunos tópicos del "problema tonsilar".

## MATERIAL Y METODO

A lo largo del tiempo he logrado juntar una rica colección de preparaciones histológicas, que comprende 122 tonsilas palatinas, de todas las edades, de ambos sexos.

Las preparaciones, muchas en serie completa, han sido confeccionadas según numerosos métodos histológicos, de los más comunes a los más específicos para la tonsila.

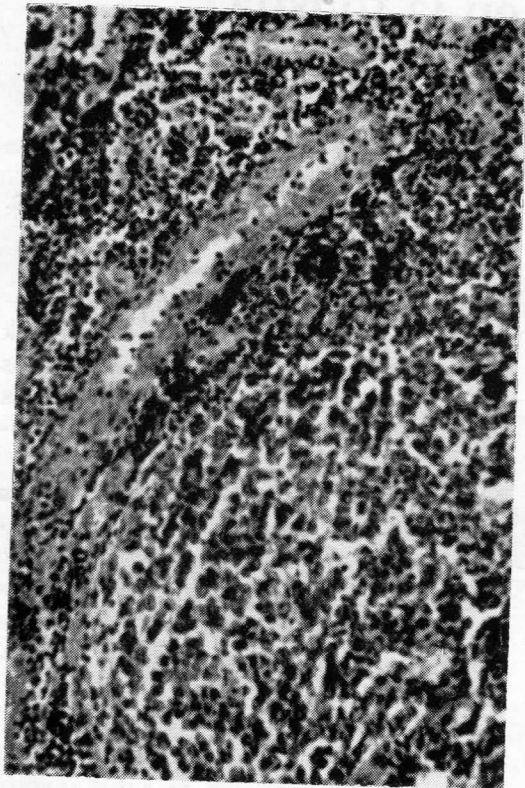


Fig. 1. ♂ años 11. Una vena post-capilar larga y grande y una chica. En las dos evidentes signos de inmigración.

### OBSERVACIONES Y CONSIDERACIONES

Los resultados de mis investigaciones sobre las venas post-capilares en la tonsila palatina pueden ser puntualizados en cuatro tópicos principales:

- A. Presencia, distribución y relaciones.
- B. Estructura.

C. Significado del endotelio espeso de las venas de Schumacher.

D. Venas post-capilares y vasos linfáticos.

A. *Presencia, distribución y relaciones de las venas post-capilares.*

Antes de referirme sobre este tópicoo deseo hacer algunas aclaraciones de orden general.

Es para mí un gran honor dar a ustedes la primera noticia de las ideas que he madurado acerca de la interpretación morfofuncional de los órganos linfáticos.

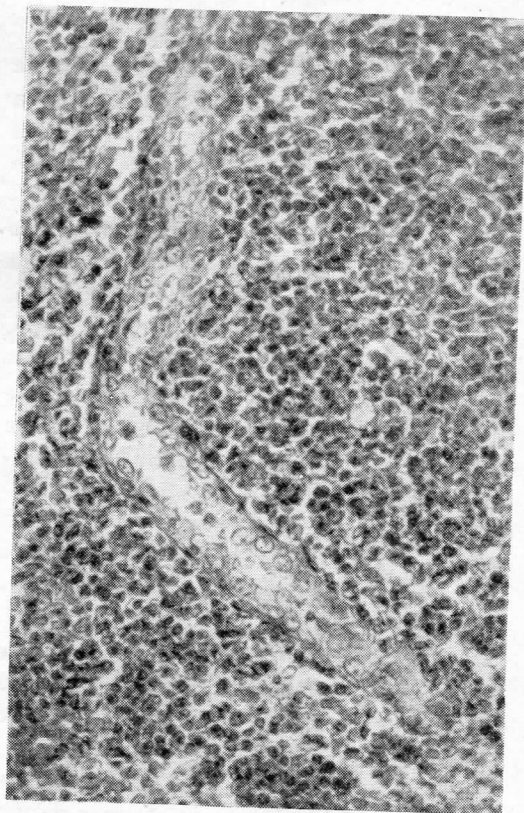


Fig. 2. ♂ años 18. Larga vena post-capilar con endotelio poco espeso.

Estos conceptos fundamentales sencillos y exactos sobre el significado del tejido linfático fundamental, ponen tam-



bién la diferencia entre los ganglios linfáticos y la tonsila palatina, valorizando lo más característico de ésta. Los órganos linfáticos resultan constituídos por un tejido linfático fundamental matriz, en el cual continuamente se neoforman y desaparecen folículos linfáticos.

En relación a las variables exigencias funcionales, los folículos linfáticos se desarrollan, según uno u otro proceso, tomando caracteres morfológicos diferentes y particulares; en fin, cuando han acabado con su actividad y con sus capacidades biológicas vitales, desaparecen.

Mientras en los ganglios linfáticos los estímulos funcionales llegan solamente por vía linfática o hemática, en las tonsilas los estímulos llegan por vía hemática y también del exterior. La vía linfática aferente tonsilar no es cierta.

En la tonsila las formaciones linfáticas entran en relación con el epitelio para formar adenones. En la tonsila palatina el epitelio criptico colabora activamente con los folículos linfáticos; entre uno y otro se establece una íntima y recíproca relación morfo-funcional, que caracteriza las unidades fundamentales del órgano. Unidad que, a través del estudio de la proliferación del epitelio criptico, en armonía con el estudio del desarrollo de los folículos linfáticos, he logrado delinear y que he llamado "adenone".

Y ahora unas palabras sobre el problema aún no solucionado de la función de los folículos linfáticos y su evolución cíclica.

Hoy en día prevalece la idea que los folículos linfáticos realizan una función reactiva y que tienen un desenvolvimiento cíclico evolutivo.

Un proceso se dice cíclico cuando se repite presentando en el mismo orden fases iguales y subsecuentes.

Un proceso se dice evolutivo cuando se desenvuelve continuo y progresivo hacia un perfeccionamiento cada vez más completo y complejo.

Sencillamente creo que cada "adenone", como cualquier formación, desarrolla su actividad normal desenvolviéndose según

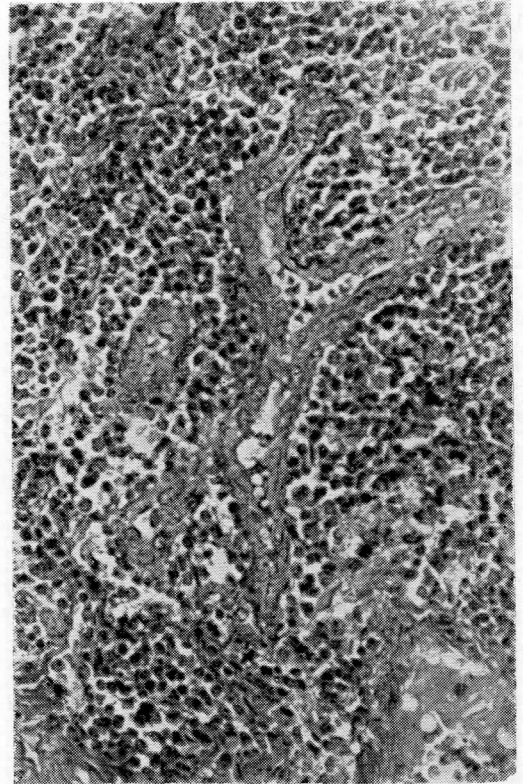


Fig. 3. ♂ años 10. Venas post-capilares confluentes.

uno u otro proceso, sea éste antiinfeccioso, reactivo, inmunitario, etc., y cuando acaba con su actividad acaba también con su existencia; por lo tanto no se repite. El proceso mismo puede repetirse pero será otro adenone neoformado el que lo realizará.

Pues un adenone no es cíclico y tampoco es evolutivo, por que no desarrolla ningún proceso cíclico evolutivo.

Concluyendo, se puede afirmar que el parénquima de los órganos linfáticos posee una potencialidad morfo-funcional polivalente, de la cual en la tonsila palatina los diferentes procesos morfo-funcionales de los adenones son la expresión.

Y ahora hecho este paréntesis significativo voy a decir de la presencia, distribución y relaciones de las venas post-capilares en la tonsila palatina.

Las venas post-capilares están presentes en todas las tonsilas de todas las edades. Faltan en el feto y en el recién nacido; aparecen después del nacimiento du-

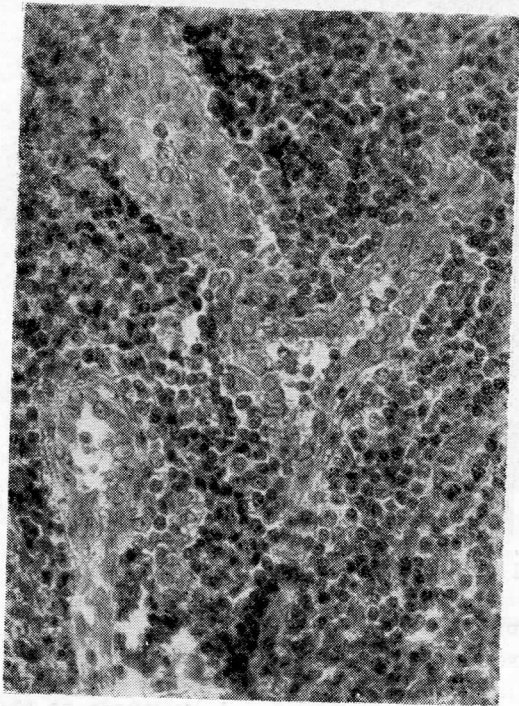


Fig. 4. ♀ años 4. Venas post-capilares con pocas células en vía de inmigrar.

rante el segundo mes de vida cuando van organizándose los "adenones".

En las tonsilas de los primeros años, como en las de la pubertad, se observan

venas de Schumacher numerosas y bien evidentes. Con la involución fisiológica de la tonsila van desapareciendo también estas particulares venas.

En conclusión, las venas post-capilares son más evidentes cuando la tonsila trabaja más activamente.

También, considerando las venas post-capilares en relación al estado funcional de los adenones, se llega a la conclusión que los adenones más activos poseen más numerosas y más evidentes venas de Schumacher, mientras en correspondencia de adenones poco activos o en fase de descanso funcional se observan pocas venas post-capilares y con caracteres poco evidentes.

En todas partes del parénquima tonsilar se notan venas post-capilares, hasta fuera de los centros claros de los folículos linfáticos.

Pequeñitas se observan en el conectivo subepitelial, y tal vez en la parte más periférica del capucho linfático.

Prevalcen en el tejido linfático fundamental, especialmente cuando éste es muy rico de células.

Numerosas se observan cerca de adenones que se van deshaciendo. Se trata de venas variables en cantidad y en calidad y no en su naturaleza; son pues venas normales de la tonsila palatina.

Para lo que se refiere al recorrido podemos decir que las venas post-capilares generalmente corren rectilíneas o arqueadas; tal vez son tortuosas y sí numerosas, aparecen enredadas constituyendo como un pequeño plexo, sin formaciones lacunares.

Frecuentemente se pueden observar más venas post-capilares que se dirigen hacia una de calibre mayor, lo que recuerda los "penicilios arteriales" del bazo o los vasos "a chorro de fuente" descri-

tos por Calvert (1897) en las linfoglándulas.

Hayek afirmó que las venas post-capilares pueden originarse de los capilares comunes, de los "capilares arteriosos" de Weidenreich (1905); directamente de una arteria como anastomosis artero-venosa.

Muchas veces he podido ver un capilar con endotelio plano transformarse en vena post-capilar con endotelio alto. Más raro es ver una vena post-capilar originarse de un "capilar arterioso".

Después de larga y cuidadosa observación puedo concluir que nunca he visto venas post-capilares originarse directamente de una arteria.

Por lo tanto confirmo en parte los resultados de Hayek, diciendo que generalmente las venas post-capilares originan de los comunes capilares, que tal vez pueden nacer de los así dichos "capilares arteriosos" y que nunca representan anastomosis artero-venosas, como una rama venosa de una arteria.

Las venas post-capilares confluyen en venas mayores, que solamente cuando abandonan el parénquima tonsilar para meterse en las trabéculas conectivales pierden el carácter específico, es decir, el endotelio alto para presentar los comunes caracteres estructurales de una vena.

Es bien cierto que en todo órgano las condiciones de las estructuras vasculares son directamente relacionadas al estado funcional del parénquima.

Por lo tanto es preciso ahora dar énfasis al hecho que en la tonsila palatina las venas post-capilares con su presencia, con sus relaciones, con sus variables caracteres estructurales resultan muy reveladoras del estado funcional del adenoide al cual pertenecen.

## B) Estructura.

Las particularidades estructurales que caracterizan estas venas son tres: 1º, lámina endotelial espesa; 2º, manguito reticular; 3º, numerosas células nucleadas en la luz y en la pared. Inmigración.

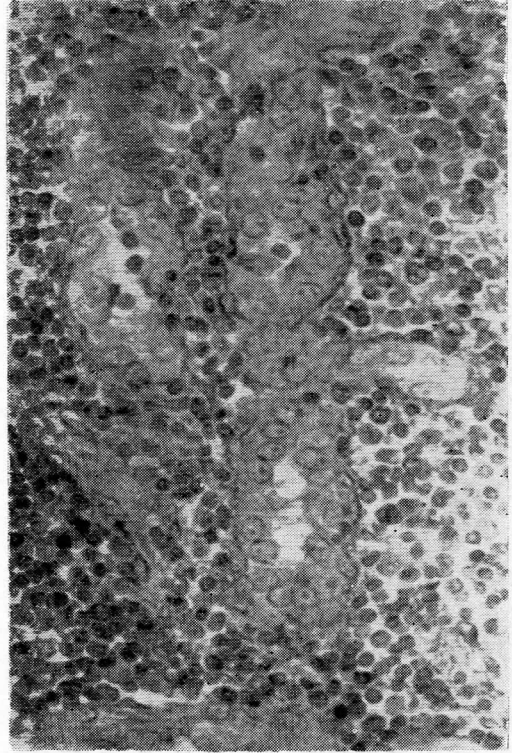


Fig. 5. ♂ años 3. Venas post-capilares con linfocitos inmigrantes.

1º *Lámina endotelial.* En primer término tengo que dar énfasis al hecho que este endotelio aparece alto y rico de citoplasma. Además en él no se notan límites celulares, ni tonofibrillas, ni él posee propiedades granulopésicas, por lo tanto he llegado a la conclusión que se trata de una lámina endotelial continua.

Mientras no se observan límites celulares en esta lámina endotelial hay por lo contrario núcleos numerosos y globulosos, con membrana nuclear bien evidente. Los núcleos están regularmente dispuestos con eje mayor paralelo a la dirección del vaso. Tal vez aparecen cilíndricos y dispuestos verticalmente como los de un conducto glandular.

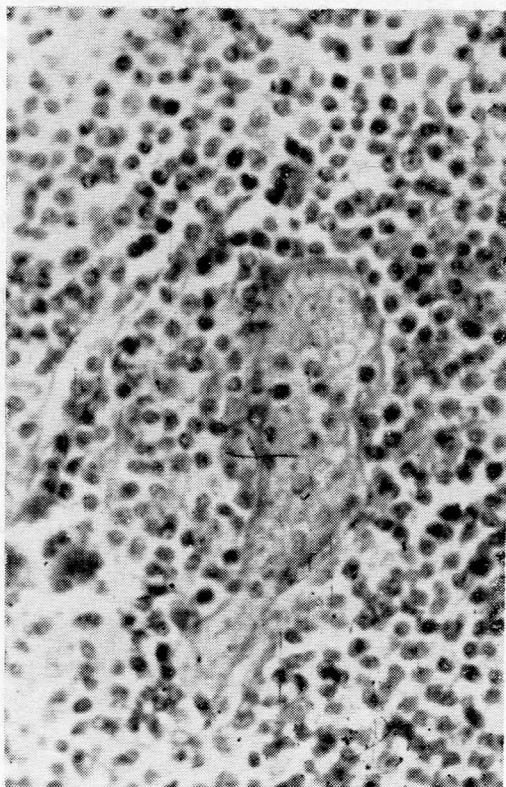


Fig. 6. ♀ años 12. Venas post-capilares con linfocitos en la pared circundados de un área clara.

Estos núcleos, pobres en cromatina, presentan constantemente un nucléolo bien tinto y céntrico.

El citoplasma de la lámina endotelial aparece claro, homogéneo, sin ninguna

característica tintoreal ni signos de actividad granulopésica o de actividad secretora.

En este endotelio no he notado signos de degeneraciones ni otros de naturaleza patológica, cuando se trataba de tonsila cuya organización quedaba en los límites de lo normal.

Hasta la fecha, sinceramente hablando, no he podido confeccionar suficientes preparaciones con métodos histoquímicos apropiados, por lo tanto no puedo considerar los resultados de las investigaciones histoquímicas que las muy distinguidas y sagaces investigadoras Christianna Smith y Bárbara Kellan Hénon (1959) han conquistado estudiando las venas post-capilares de linfonódulos mesentéricos de ratones (mice).

El particular, digno de singular atención es la presencia de elementos nucleados en postura inmigratoria en el espesor de la lámina endotelial, de eso hablaremos más adelante, siendo este un tópico de un interés verdaderamente grande.

2º *Manguito reticular*. Alrededor de la lámina endotelial no se nota conectivo subendotelial.

El involucro de sostén y de contención de esta lámina endotelial está representado de un magnífico manguito de fibras reticulares, que aparece bien evidente en las microfotografías que presento, tomadas de preparaciones hechas con el método de la reducción argéntica según Gomori.

Las fibras que organizan los manguitos originan del conectivo reticular estromal de la tonsila.

La organización de este manguito reticular es variable y conforme a las variaciones de las venas post-capilares y del circundante tejido linfático, fundamental de la tonsila.

Así pues, es más grueso alrededor de venas post-capilares con lámina endotelial espesa, y hacia él convergen más numerosas fibras reticulares si el tejido linfático fundamental es más denso de linfocitos.

El manguito de fibras argentófilas resulta como una delicada red estrechamente tejida, en cuyas mallas no se observan células especiales, así como no se notan formaciones parecidas a aquellas demostradas por Alagna (1908) alrededor de vasos intraepiteliales de la tonsila, y por Loreti y Sabbia (1942) alrededor de los capilares de la pulpa roja en el bazo.

En relación con estos manguitos se encuentran plasmacélulas (Naumann (1957 y Mastzellen) (Misholezy-Fodor 1950). El estudio de estas células será objeto de ulteriores investigaciones.

3º *Numerosas células nucleadas en la luz y en la pared de las venas post-capilares. Inmigración.*

Todos los investigadores que se han ocupado de las venas post-capilares refieren de haber visto en ellas numerosas células nucleadas, es decir, linfocitos y leucocitos. Las descripciones vierten sobre el origen y la manera de cómo estos elementos llegan en las venas post-capilares.

Autorizados investigadores como Hayek, Naumann (1954), Ehrich (1955), opinan que los linfocitos del tejido linfático donde originan, inmigran en las venas post-capilares, pasando a través de "stomatas" o aberturas de la pared venosa.

La observación de Hummel (1935) de que linfocitos se forman de las células de revestimiento "linning cells" ha sido rechazada de Smith & Hénon (1959).

Froehlich y Zack (1922) en la rana, Tannenberg y Fischer-Wassels (1927) en el conejo, han visto que en particulares circunstancias a nivel de la bifurcación de un vaso los leucocitos se separan de los eritrocitos y toman vías distintas.

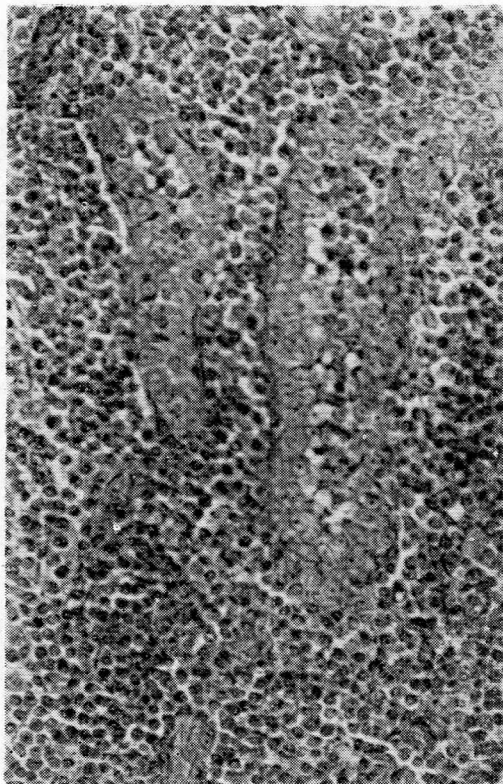


Fig. 7. ♀ años 3. Venas post-capilares con endotelio rico de núcleos globosos con nucléolo.

Hayek, basándose en las observaciones de estos autores, emitió la hipótesis que los leucocitos se separan de los eritrocitos a nivel de las anastomosis artero-venosas. Según Hayek el segmento de conexión de estas anastomosis, es decir, el tracto que une una arteria a una vena, tiene una luz tan chiquita que deja pasar solamente los eritrocitos y no los leuco-

citos, que por lo tanto se encuentran numerosos en las venas post-capilares.

Ninguna célula es rígida en su forma y menos los leucocitos que son células móviles y por lo tanto, modifican continuamente su forma adaptándola al me-

- 2º Los elementos celulares que se encuentran en el espesor de la lámina endotelial presentan siempre a su alrededor un área clara como un vacío.
- 3º La particular constitución del manguito reticular que envuelve el endotelio.

De otra parte, considerando que los leucocitos gozan de una actividad motora y que tiene una grande actividad enzimática, es fácil y lógico pensar que los del tejido linfático caminan acti-

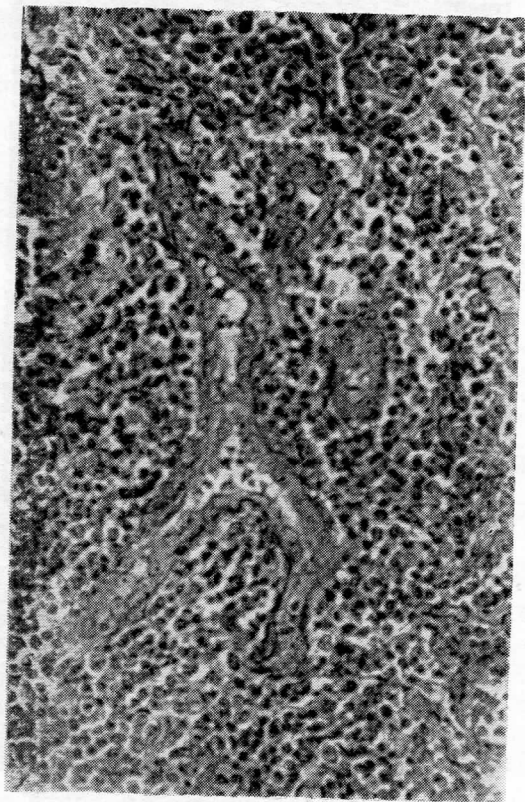


Fig. 8. ♂ años 4. Venas post-capilares con endotelio poco espeso y luz amplia.

dio en el cual caminan. Basta esta consideración para hacer caer la hipótesis de Hayek.

En contra de las conjetura de los autores citados tenemos tres hechos observables en cualquiera preparación:

- 1º Estas venas tienen un endotelio alto sin límites celulares.

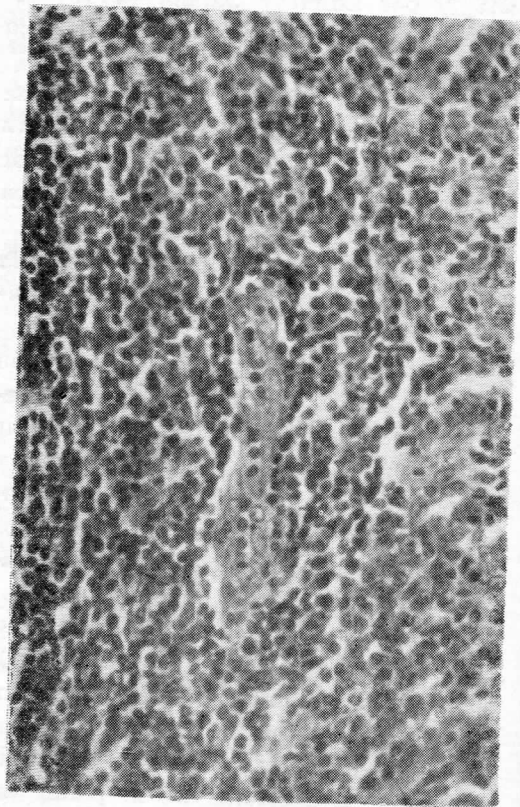


Fig. 9. ♀ años 2. Vena post-capilar pequeña con linfocitos en la pared y en la luz.

vamente sobre las fibrillas reticulares y que produciendo una substancia, que coagula o hace retraer el citoplasma endo-

telial, se abren el paso a través de la lámina endotelial hacia la luz de las venas post-capilares para lograr la corriente sanguínea.

Por lo tanto se puede concluir que los leucocitos inmigran activamente en las venas de Schumacher.

### C) Significado del endotelio espeso de las venas de Schumacher.

Las íntimas relaciones entre el endotelio y el tejido linfático fundamental, el pasaje de elementos nucleados a través del endotelio, el contenido particularmente rico de linfocitos y leucocitos han sido invocados para explicar el espesor del endotelio de las venas post-capilares.

Estas hipótesis no me parecen valiosas para aclarar el valor morfo-funcional de tan característica lámina endotelial porque: 1) es fácil observar venas con endotelio alto sin tener en su inmediato alrededor tejido linfático; 2) en otros órganos donde también se observa una inmigración de linfocitos, las venas post-capilares no tienen endotelio alto, en la misma tonsila no se nota una relación directa entre la inmigración y el espesor del endotelio, pudiéndose encontrar venas a endotelio relativamente poco espeso, con numerosos linfocitos en posición inmigratoria; 3) tampoco es posible establecer una relación entre el contenido más o menos rico de células nucleadas y el espesor del endotelio.

Al contrario, para explicar el por qué del endotelio alto basta pensar que la tonsila produce anticuerpos y otros factores no celulares aún no bien conocidos, que entran en la corriente sanguínea, que se pueden demostrar en el suero y que

están a la base de los diferentes test tonsilares.

Y bien pues, estos factores para poder pasar del parénquima tonsilar en la sangre, tienen que atravesar la lámina

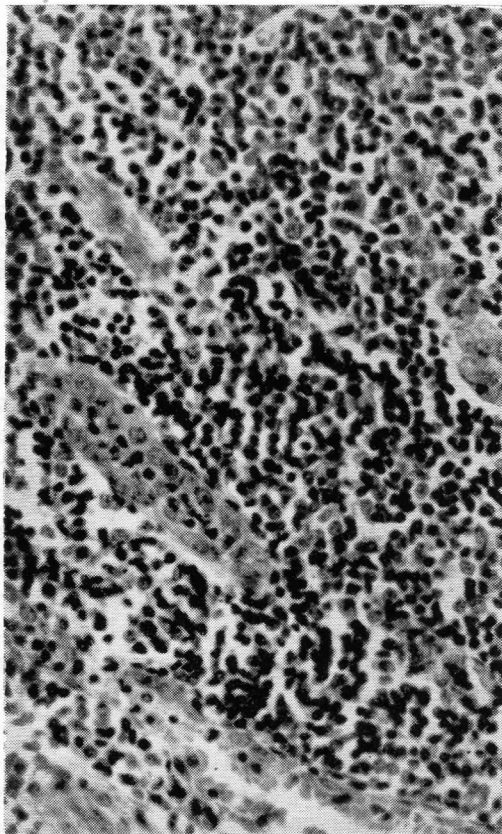


Fig. 10. ♂ años  $2\frac{1}{2}$ . Vena post-capilar con numerosas células nucleadas en la luz.

endotelial, la cual seguramente contribuye activamente a este pasaje, así como el epitelio de los túbulos renales activamente filtra, concentra y secreta la orina.

Concluyendo, se puede decir que el endotelio de las venas post-capilares es rico de citoplasma porque este citoplasma tiene que hacer el específico papel de

recoger, arreglar y verter en la sangre los diferentes factores producidos por el parénquima tonsilar.

#### D) Venas post-capilares y vasos linfáticos.

El estudio comparativo de las venas post-capilares y de los vasos linfáticos de la tonsila demuestra que respecto al desarrollo y presencia entre ellos no hay paralelismo. En correspondencia de adenones en estado de marcada actividad prevalecen en las venas post-capilares; al contrario son más evidentes los vasos linfáticos en correspondencia de adenones quiescentes.

La alterna frecuencia de las venas de Schumacher y de los vasos linfáticos concuerdan y acredita más las modernas nociones, que atribuyen a la tonsila alterna y variadas funciones biológicas.

Los vasos linfáticos parecen ser las normales y comunes vías del drenaje catabólico, mientras las venas post-capilares con su espesa lámina endotelial representan las venas específicas de la tonsila palatina.

#### CONCLUSION:

Las presentes investigaciones llenan un vacío, aquel de la estructura de los vasos más específicos de la tonsila palatina: las venas de Schumacher.

El carácter sobresaliente de las venas post-capilares está representado de la lámina endotelial espesa y rica de núcleos globulosos con evidente nucléolo.

Nuestras observaciones demuestran que las venas post-capilares tienen una particular estructura, cuyas variaciones están íntimamente relacionadas con el momento funcional del adenone.

El espesor de la lámina endotelial es debido a que estas venas necesitan citoplasma para la inmigración de células y de sustancias del parénquima tonsilar en la corriente sanguínea.

#### BIBLIOGRAFIA

- ALAGNA, G.: Anat. Anz. 32/6-7, 178, 1908.  
CALVERT, W. J.: Anat. Anz. 13, 174, 1897.  
CAUNA, N.: J. Comp. Neur., 113, 2, 1959.  
EHRICH, W. E.: Klin. Wschr. 33, 1955.  
FIORETTI, A.: La tonsila palatina nei suoi lineamenti biologici e fisio-patologici. Edizioni Deca, Milano, 1957.  
FRÖHLICH, E.-ZACH.: Klin. Wschr. I, 1055, 1922.  
GALLI, G.: Quad. Anat. Prat., 14/1-2, 173, 1958.  
HAYEK, VON H.: Zschr. Anat. Entw. 111, 533, 1942.  
HENSCHEL, CH.: Acta O.R.L., Bélgica, 11, 2, 1957.  
HUMMEL, K. P.: Am. J. Anat. 57, 351, 1935.  
JAMES, Y.: Acta Anat., 27, 3, 1956.  
KASSAY, D.-SANDOR, A.: Arch. Otorinolaryng. 75, 144, 1962.  
LORETI, F.-SABBIÀ, L.: Haematologica, 24, 371, 1942.  
MISKLOZY-FODOR, F.: Pract. O.R.L. 12/1, 44, 1950.  
NAUMANN VON H., H.: Zschr. Laryng. 33/6, 359, 1954.  
NAUMANN VON H., H.: Zschr. Laryng. 36/4, 195, 1957.  
PIRRO A. F.: Arch. Ital. Laryng. Suppl. 62, 157, 1954.  
Quad. Anat. Prat. 10/1-2, 86, 1954-'55.  
C. R. Ass. Anat. XLII. Réun. Paris, 1955.  
Boll. Soc. tall. Biol. Sper. 32/12, 1956.  
RIEDER, W.: Zschr. Laryng., 30/6, 286, 1951.  
SCHUMACHER, S.: Archiv. mikr. Anat. 54, 311, 1899.  
SMITH, CH.-HENON, B.: Anat. Rec., 135/3, 207, 1959.  
WEIDENREICH, F.: Arch. mikr. Anat. 65, 1, 1905.



# Microscopía de fluorescencia

TRABAJO DE INVITACIÓN PRESENTADO POR  
VICTOR J. FERRANS, M.D., PH.D., ESCUELA  
DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE TULANE,  
NEW ORLEANS, U.S.A.

## *Introducción.*

Compuestos fluorescentes son los que emiten radiación en forma de luz visible al ser activados por medio de la absorción de energía radiante. La microscopía de fluorescencia hace uso de esta propiedad excitando la fluorescencia de materiales biológicos por medio de luz ultravioleta de 2 800 a 4 000 A.<sup>o</sup> Algunos tejidos poseen suficiente fluorescencia intrínseca, es decir, autofluorescencia, para ser examinados directamente bajo el microscopio sin ninguna preparación previa, mientras que otros deben ser impregnados con colorantes fluorescentes llamados fluorocromos.

El equipo necesario para la microscopía de fluorescencia se compone de la lámpara de luz ultravioleta, dos series de filtros para aislar la longitud de onda deseada y las ópticas de un microscopio de campo brillante (adaptables a campo oscuro). Por lo tanto un microscopio ordinario puede ser usado para la microscopía de fluorescencia. Es conveniente tener una cámara adaptada al microscopio ya que la gran mayoría de las preparaciones fluorescentes no son permanentes.

Por lo general, la fuente más usada de luz ultravioleta es la lámpara de vapor

de mercurio, que emite radiación visible e infrarroja además de ultravioleta.

La primera serie de filtros, situada entre la fuente de luz y el condensador del microscopio, excluye la luz visible y la radiación infrarroja, dejando pasar solamente la luz ultravioleta que activa la fluorescencia del tejido, previamente montado en un portaobjetos y cubreobjetos ordinarios. La luz fluorescente emitida por el tejido pasa por un segundo filtro y es observada por el microscopio. Este filtro excluye completamente la luz ultravioleta que penetra en el sistema óptico del microscopio, pero permite el paso de la luz fluorescente.

Para estudios con luz de poca intensidad es preferible usar un microscopio monocular, pero por lo general la gran mayoría de microscopios binoculares son perfectamente adecuados.

En nuestro laboratorio la fotografía se lleva a cabo con película de 35 mm. tipo Ektachrome de alta velocidad; los tiempos de exposición varían de cinco segundos a dos o tres minutos. Todas las observaciones microscópicas y fotográficas se hacen en un cuarto oscuro. Es necesario proteger tanto los ojos como la película fotográfica de los efectos de la radiación ultravioleta por medio del uso de filtros adecuados.

## ASPECTOS PRACTICOS DE LA MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA.

Las aplicaciones de la microscopia de fluorescencia son demasiado numerosas para detallarlas en esta presentación; es sin embargo necesario ilustrar brevemente algunos de los métodos empleados con mayor frecuencia.

### AUTOFLUORESCENCIA.

La fluorescencia natural de la mayoría de los tejidos no es suficientemente intensa para ser utilizada en la microscopia de fluorescencia, pero muchas substancias de importancia biológica pueden ser estudiadas por medio de su fluorescencia. La vitamina A y la riboflavina poseen una autofluorescencia característica que, bajo condiciones favorables, permite su localización microscópica.

Las porfirinas emiten una fluorescencia roja muy típica; recientemente hemos tenido oportunidad de estudiar cuatro casos documentados de porfiria cutánea tarda y en las biopsias hepáticas hemos podido demostrar la fluorescencia de las porfirinas.

Las fibras elásticas demuestran una fluorescencia azul muy brillante, que hemos encontrado muy útil en el estudio de paredes vasculares. En diferentes órganos pero especialmente en el sistema nervioso y en tejidos musculares, la lipofucsina o ceroide, el pigmento que se acumula en la región perinuclear, posee una autofluorescencia de color amarillo dorado; este pigmento aumenta en el miocardio con el transcurso del tiempo y existe en gran abundancia en los corazones de personas de edad avanzada.

En tejidos vegetales, la clorofila posee una fluorescencia roja brillante; varios pigmentos carotenoides muestran una fluorescencia que varía de verde a anaranjado, y la celulosa posee una fluorescencia azul muy brillante

Algunas drogas pueden ser estudiadas por su autofluorescencia, entre ellas la atabrina, la hidroxistilbamidina, las tetraciclinas y varias de las fenotiazinas. Las tetraciclinas son de interés particular puesto que se han empleado para el estudio de células cancerosas en estómago y piel. La administración de tetraciclinas a animales experimentales resulta en depósitos fluorescentes en los huesos y en los dientes pero también es posible demostrar la presencia del antibiótico en diferentes tejidos como, por ejemplo, en el estómago, en donde se concentra en las células parietales, en el hígado y en los riñones.

### MÉTODOS DE COLORACION PARA LA MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA

De nuevo, es imposible describir estos métodos en detalle; los más importantes son los de tinción de ácidos nucleicos por medio de compuestos de la serie de las diaminoacridinas. De estos colorantes, el más conocido es el anaranjado de acridina, que es relativamente específico para los ácidos nucleicos, impartiendo una fluorescencia de color rojo brillante al ácido ribonucleico, tanto en el citoplasma como en el nucléolo, y una fluorescencia verde al ácido desoxiribonucleico. La especificidad de esta coloración no es absoluta, ya que los gránulos de los mastocitos fluorescen rojo brillante y bajo ciertas circunstancias la mucina de algu-

nas glándulas adquiere una fluorescencia verde. Por estas razones es necesario usar controles con ribonucleasa y con desoxiribonucleasa. Las aplicaciones de esta técnica son muy variadas; su principal uso es para el hallazgo de células cancerosas en diferentes clases de materiales, ya sean tomados por biopsias o por frotis de exudados. Las células cancerosas muestran una fluorescencia muy intensa debido a su alto contenido de ácido ribonucleico. Esta técnica es útil en estudios virológicos, ya que en algunos casos es posible demostrar señales inequívocas de infección viral, especialmente en cultivos de tejidos. También pueden ser utilizados estos colorantes para identificar parásitos; en nuestro laboratorio hemos usado la técnica del anaranjado de acridina para localizar el organismo en infecciones de *Tripanosoma Cruzi* (enfermedad de Chagas), en animales de laboratorio. Las formas de tipo *Leishmania* también han sido identificadas por este método en cultivo de tejidos; los tripanosomas han sido encontrados en la sangre periférica sin la menor dificultad.

Existen varios métodos para el estudio histoquímico de enzimas por medio de la microscopia de fluorescencia, usando substratos que producen precipitados fluorescentes, pero hasta la fecha ninguno de estos métodos ha ganado gran popularidad.

Para el estudio de las proteínas, uno de los avances técnicos más notables de los últimos veinte años ha sido el desarrollo de la técnica de la inmunofluorescencia, popularmente conocida bajo el nombre de anticuerpo fluorescente. Esta técnica que naturalmente es demasiado complicada para detallarla aquí, consiste en marcar moléculas de anticuerpos con

un colorante fluorescente, sea con fluoresceína o con rodamina, de manera que al reaccionar estas moléculas marcadas con un antígeno, queda la fluorescencia del anticuerpo como indicador de su presencia en el tejido que contiene el componente antigénico. Por medio de esta técnica ha sido posible localizar numerosas proteínas y estudiar muchos fenómenos inmunoquímicos tales como la localización de proteínas en músculo, hormonas en la pituitaria, y en bacteriología, el serotipo rápido de diferentes microorganismos. Solamente mostraremos un ejemplo de localización, del virus GAL-93 en cultivo de tejido de células de riñón de pollo, usando globulina de animales previamente infectados con el virus para obtener una tasa alta de anticuerpos. Estas globulinas fueron aisladas del suero y conjugadas con isotiocianato de fluoresceína, purificadas y luego incubadas con las células infectadas en cultivo de tejido; el anticuerpo se deposita en la región de la célula en donde se encuentra el virus, en la forma de partículas que representan agregaciones paracristalinas del virus.

Con esta breve vista panorámica de la microscopia de fluorescencia pasamos al tema principal de esta presentación, que es el estudio de la histoquímica de lípidos por medio de la microscopia de fluorescencia.

## MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA DE LOS LÍPIDOS

La microscopia de fluorescencia ha sido aplicada por largo tiempo al estudio de los lípidos. Los siguientes colorantes han sido recomendados como fluorocromos para lípidos: la tioflavina, la fosfina, el rojo neutro, el rojo Magdala, el rojo de

tiazina, la corifosfina O, la clorofila, la rodamina B, la pironina, el antraceno, el criseno y el benzopireno. Estos métodos se introdujeron en una época en que el uso de la microscopía de fluorescencia presentaba serias dificultades de orden técnico, principalmente debidas al hecho de que las fuentes de luz ultravioleta eran inadecuadas. Además, era muy difícil obtener secciones de congelación suficientemente delgadas para estudio histológico. Por estas razones, y porque estos métodos nunca fueron evaluados de una manera adecuada en términos de su especificidad química, el uso de colorantes fluorescentes para grasas fué prácticamente abandonado.

Con la manufactura comercial de lámparas ultravioletas de gran potencia, la microscopía de fluorescencia se ha convertido en una técnica mucho más accesible; al mismo tiempo, con la introducción del crióstato, las dificultades para obtener secciones de congelación delgadas han quedado resueltas. Por estas razones decidimos estudiar este problema de nuevo, y un estudio preliminar de métodos de tinción de grasas demostró que las técnicas de fijación usadas para la histoquímica de las grasas ejercen una influencia muy importante sobre los resultados obtenidos con los diversos colorantes. Este estudio también demostró la superioridad de los métodos de fluorescencia sobre los métodos de microscopía ordinaria, en particular para la detección de cantidades muy pequeñas de grasas. Nos pareció pertinente por lo tanto revisar tanto los procedimientos de fijación como las técnicas de fluorescencia de grasas, para determinar el puesto que ocupan en la histoquímica moderna de lípidos.

Todos los compuestos que han sido sugeridos como colorantes fluorescentes para grasas fueron estudiados; muchos otros compuestos de posible uso fueron también investigados. Los resultados obtenidos fueron comparados con los de los métodos ordinarios de coloración de grasas y con métodos de análisis de lípidos por medio de cromatografía en papel.

## METODOLOGIA

El estudio de la fluorescencia de los lípidos fué llevado a cabo en los siguientes tejidos: músculo estriado y cardíaco, hígado, estómago, intestino delgado, riñón, suprarrenal y cerebelo de diferentes animales de laboratorio, células del tumor de ascitis de Ehrlich y corazones humanos.

Los siguientes fijadores fueron probados al frío y a la temperatura ambiente: formaldehído en diferentes combinaciones, con y sin neutralizar con tampón de fosfato, con y sin sucrosa, con y sin cloruro de calcio al 1%; vapor de formaldehído y vapor de tetróxido de osmio, cloruro de mercurio, solución de Zenker y formol-Zenker. Finalmente, algunos tejidos fueron preparados por el método de congelación-deseccación de Gersh e impregnados con carbowax. Las secciones fueron cortadas en un crióstato a un grosor de 2 a 8 micras. Se investigaron los siguientes colorantes: 1) hidrocarburos: antraceno y benzopireno; 2) xantenos: rodamina B, rodamina 6G, rodamina S, sulforodamina, rojo de xileno B y pironina; 3) tiazoles: amarillo de Titán, amarillo de primulina, tioflavina S, tioflavina T, clorofosfina y rojo de tiazina; 4) antraquinonas: rojo de violantreno; 5) oxazinas: sulfato de azul de Nilo, nuevo

azul de metileno, nuevo azul R, azul de Meldola y azul de Capri; 6) acridinas: corifosfina O, acriflavina, anaranjado de acridina, amarillo de acridina, eucrisina, fosfina y fosfina patente; 7) misceláneos: rojo neutro, rojo de Bengala, rojo de Magdala, azul de iris, clorofila y protoporfirina IX.

El criterio para la especificidad de las coloraciones fluorescentes de lípidos consistió en la pérdida de la fluorescencia atribuida a lípidos en secciones extraídas con solventes de lípidos antes de la tinción. Dos clases de coloraciones de grasas fueron evidentes: 1) coloración de lípidos neutros, principalmente en forma de gotas solubles en acetona, 2) coloración de lípidos complejos, es decir, fosfolípidos, cerebrósidos y compuestos relacionados, que son solubles en cloroformo-metanol y que ordinariamente no se encuentran en los tejidos en forma de gotas.

## RESULTADOS

El estudio de las técnicas de fijación para la microscopía de fluorescencia de los lípidos demostró que la calidad de fijación de los lípidos en secciones prefijadas es superior a la obtenida con secciones postfijadas, es decir, cortes fijados individualmente. Fué necesario usar secciones post-fijadas para poder alternar secciones seriadas para coloración de lípidos, para histoquímica de enzimas y para cromatografía de lípidos. Fijación al frío dió mejores resultados que a la temperatura ambiente. Sales de mercurio y de osmio disminuyeron considerablemente la intensidad de la fluorescencia. Para la fijación de las grasas las diferentes combinaciones de formaldehído fueron igualmente adecuadas.

Los resultados reportados previamente sobre el uso del rojo neutro, el rojo de Magdala, el rojo de Bengala y el azul de iris para coloraciones fluorescentes de lípidos no pudieron ser confirmados. La protoporfirina IX, la pironina y los compuestos del grupo de las rodaminas tiñeron lípidos complejos, probablemente por medio de la formación de sales, pero estas tinciones no fueron de ningún valor histoquímico ya que una fluorescencia de notable intensidad persistió en las secciones de tejidos extraídas con los solventes de grasas antes de la tinción. Ninguno de estos colorantes tiñó las gotas de lípidos neutros.

De todos los colorantes probados los siguientes han sido considerados como útiles para la tinción de grasas: benzopireno, tioflavina S, tioflavina T, las oxazonas de compuestos de la serie de feno-naftoxazinas (sulfato de azul de Nilo, azul de Capri, nuevo azul R, azul de Meldola y nuevo azul de metileno), fosfina y fosfina patente. La eucrisina tiñó muy ligeramente las gotas de lípidos neutros. La clorofila tiñó los lípidos con una fluorescencia de un rojo brillante, pero solamente pudo ser usada en soluciones alcohólicas, que extraen muchas de las gotas pequeñas de grasas.

El benzopireno tiñó tanto los lípidos neutros como los complejos. Fué el mejor fluorocromo para lípidos con respecto a sensibilidad y especificidad. Su uso es recomendado como la técnica más delicada para la detección de cantidades muy pequeñas de lípidos.

La tioflavina S y la tioflavina T dieron resultados idénticos; tiñeron ambas clases de lípidos, pero los resultados fueron inferiores a los obtenidos con el método del benzopireno.

Los compuestos de la serie de la fenonaftoxazina produjeron coloraciones solamente con los lípidos neutros. Todos estos compuestos tiñeron otros componentes celulares, entre ellos lípidos complejos, con coloraciones no fluorescentes visibles con el microscopio ordinario. Esto resulta en una coloración de fondo para el estudio de los detalles microscópicos, sin interferir en manera alguna con la fluorescencia de los lípidos neutros. El sulfato de azul de Nilo fué el colorante más satisfactorio de este grupo. Recomendamos su uso para la identificación de lípidos neutros.

La fosfina y la fosfina patente tiñeron lípidos neutros de una manera muy delicada. La coloración de lípidos complejos fué menos cierta porque con frecuencia las secciones controles fueron difíciles de interpretar.

En conclusión, la sensibilidad de los colorantes fluorescentes para lípidos es

muy superior a la de los métodos ordinarios para tinción de lípidos especialmente en lo que se refiere a la identificación de gotas de grasa muy pequeñas. Todos los colorantes fluorescentes se usan en soluciones acuosas lo que minimiza el riesgo de disolver parte de los lípidos contenidos en la sección como ocurre a menudo con las coloraciones ordinarias de lípidos. Para la tinción de lípidos neutros, usamos en nuestro laboratorio el azul de Nilo; el uso de la fluorescencia anaranjada de la oxazona de este colorante tradicional aumenta considerablemente su utilidad. Para la tinción de todos los lípidos, es decir, lípidos neutros más lípidos complejos, usamos el benzopireno. Este hidrocarburo policíclico no es polar y colorea los tejidos puramente por su afinidad física con respecto a las regiones lipoides de las células; dada la extraordinaria brillantez de su fluorescencia constituye un método de sensibilidad exquisita.

# Contribución al conocimiento anatómico y funcional de los núcleos supraóptico y paraventricular

DR. ALFONSO ESCOBAR, DR. CARLOS GUZMAN FLORES. DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA. INSTITUTO DE ESTUDIOS MÉDICOS Y BIOLÓGICOS. U.N.A.M.

De los núcleos hipotalámicos, dos de los mejor diferenciados y más antiguos en la escala filogenética son los núcleos supraóptico (SO) y paraventricular (PV) (5); las fibras que provienen de estos núcleos junto con algunas del núcleo tuberal forman el tracto hipotálamoneurohipófisis. La función de este sistema clásicamente se relaciona con la síntesis y la liberación de oxitocina y vasopresina u hormona antidiurética. En la actualidad, de acuerdo con las experiencias de Sharrer y Sharrer (10), se piensa que las células neurosecretoras de este sistema elaboran las hormonas que son transportadas a lo largo de los axones hasta sus terminaciones en la neurohipófisis. La hipótesis enunciada por Bucy (2) de que la neurosecreción es elaborada por los pituiticos tiene pocos adeptos en la actualidad. La observación tanto clínica como experimental de que el embarazo y el parto normales son posibles en sujetos con diabetes insípida (3) y el hecho de que puede no existir actividad oxitócica (después de la destrucción del

PV) sin alteraciones en la regulación de la secreción de vasopresina (9), dan apoyo a la hipótesis de la independencia en la neurosecreción de estos núcleos, ya que aparentemente la vasopresina parece originarse en el sistema supraóptico-neurohipófisis, y la oxitocina en el paraventricular-neurohipófisis.

El presente trabajo se planeó con el fin de precisar las características funcionales de diversos núcleos diencefálicos y de regiones del tronco cerebral, ante varios agentes hormonales y de establecer las posibles vías anatómicas subyacentes, mediante el registro de la actividad eléctrica de estas estructuras.

## MATERIAL Y METODOS

Se emplearon 18 gatos íntegros, y 9 con encéfalo aislado, cuyo peso osciló entre 2.5 y 3.5 Kg. En todos los casos se practicó intubación traqueal. Tanto ésta como la colocación de los electrodos

se efectuó bajo anestesia de éter. A todos los animales se les mantuvo con respiración artificial mediante una bomba neumática. La temperatura se mantuvo controlada a lo largo del experimento. Para la preparación "encéfalo-aislado" se practicó la sección entre la primera y la segunda vértebras cervicales. Las estructuras estudiadas fueron las siguientes: áreas motora (CM) visual (CV) y auditiva (CT) de la corteza cerebral; núcleos medialis doralis (MD), habenular (HB) supraóptico (SO), paraventricular

(PV), periventricular (PeriV) y Formación Reticular Mesencefálica (FRM) e hipocampo.

En algunos casos se registró la actividad cardíaca. Una hora después de terminada la operación se tomaron trazos prolongados de EG, periódicamente, durante otra hora cuando menos hasta comprobar que los efectos del éter se habían disipado, y que los registros correspondían a una actividad eléctrica estable la cual se tomó como control.

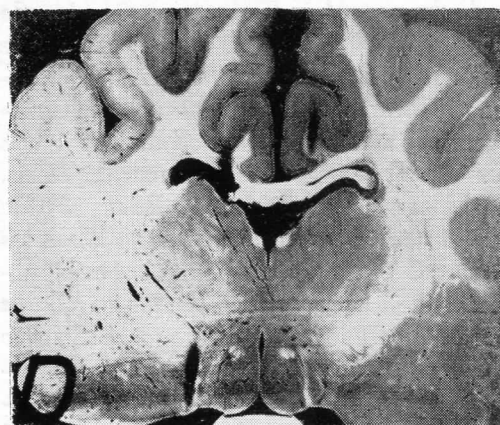
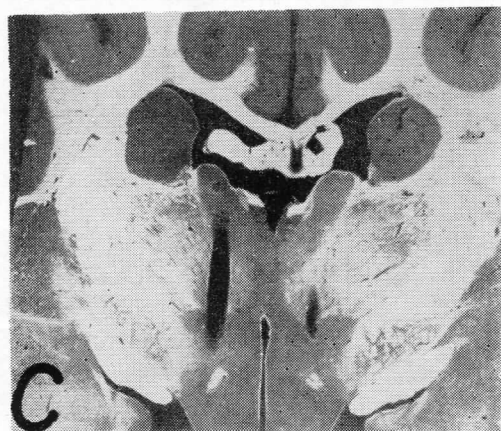
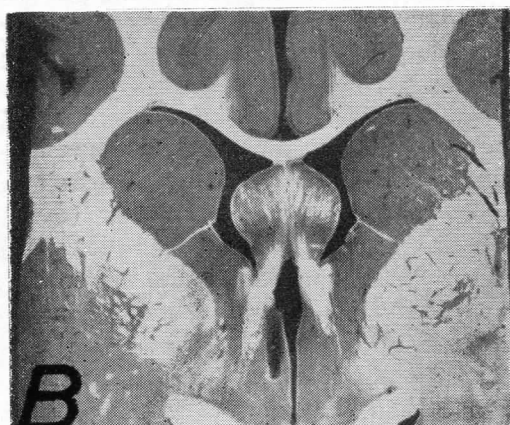
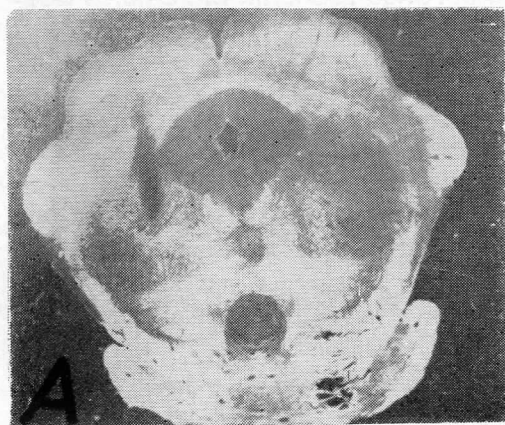


Fig. 1. Cortes histológicas que muestran la localización de algunos electrodos: a, formación reticular mesencefálica; b, núcleo periventricular; c, núcleo paraventricular (izquierdo) d, núcleo supraóptico.



En ambas preparaciones se inyectó por vía intravenosa una solución al 0.04% de Flaxedil; el volumen de cada dosis fue siempre de 2.5 ml. Las sustancias estudiadas fueron: extracto de Corteza Cerebral (5 Mg) Oxitocina (5 UI) extracto de glándula Pineal (EP) (5 mg), solución salina isotónica, y Vasopresina (5 UI), los cuales se administraron por vía intravenosa.

Los extractos epifisario y de corteza cerebral se obtuvieron a partir de tejido fresco de buey y se elaboraron con el método habitual de nuestro laboratorio (1).

Para el registro de la actividad eléctrica de las estructuras señaladas, se emplearon electrodos bipolares de acero inoxidable, aislados en toda su longitud, menos la punta, dirigidos estereotáxicamente. El registro cortical se obtuvo mediante electrodos de planta colocados directamente sobre la corteza previniendo la disecación con petroloto líquido a la temperatura corporal y se empleó un encefalógrafo Grass de 8 canales modelo

III-D. En todos los casos al finalizar el experimento se practicaron lesiones electrolíticas para identificar mediante la tinción histológica de klüver la localización de los electrodos profundos. (Fig. 1) En cada experimento se empleó solamente una de las sustancias arriba mencionadas.

## RESULTADOS

La acción de las sustancias administradas sobre la actividad eléctrica de las diferentes áreas cerebrales presentó características comunes en ambos tipos de preparación. Los cambios para una sustancia dada demostraron ser constantes en las diferentes pruebas. A continuación se describe una síntesis de los hallazgos observados.

### EXTRACTO DE CORTEZA CEREBRAL DE BUEY

La administración de este extracto determinó la aparición inmediata de des-

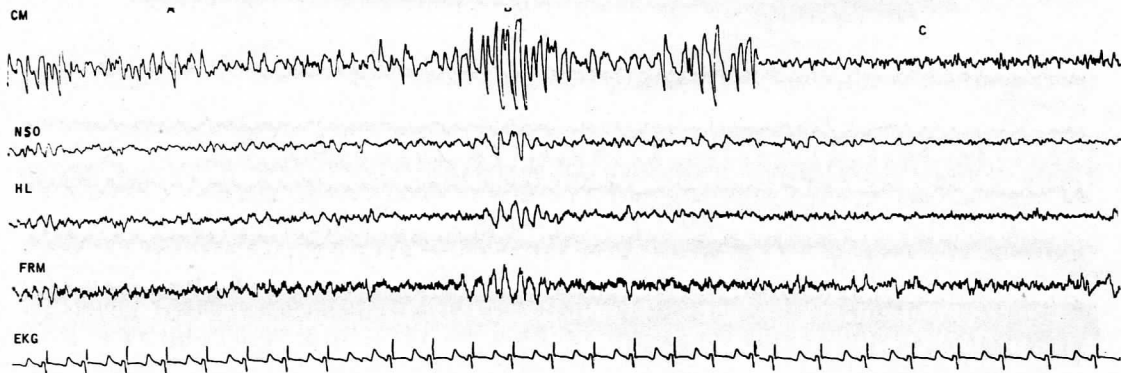


Fig. 2. Administración de extracto de corteza cerebral: a, trazo electroencefalográfico testigo; b, 200 seg. después de la inyección de 3 ml de Ext. de corteza cerebral aparecen descargas de ondas lentas en todas las derivaciones sin cambio en la actividad de fondo; c, 30 minutos después el efecto ha desaparecido. Preparación animal íntegro. Abreviaturas igual que en el texto.

cargos de ondas lentas de alto voltaje paroxísticas de 1 seg. de duración con periodicidad de 6 seg. en promedio, en las derivaciones corticales sin cambio en la actividad de fondo. No hubo modificaciones de la actividad electroencefalográfica en las demás derivaciones. Posterior-

mente se produjo lentificación del EEG cortical y las descargas se generalizan al resto de las derivaciones, principalmente a la FRM. El máximo efecto se observó entre las 2 y 3 min, iniciales para desaparecer primero de las estructuras subcorticales. (Fig. 2.)

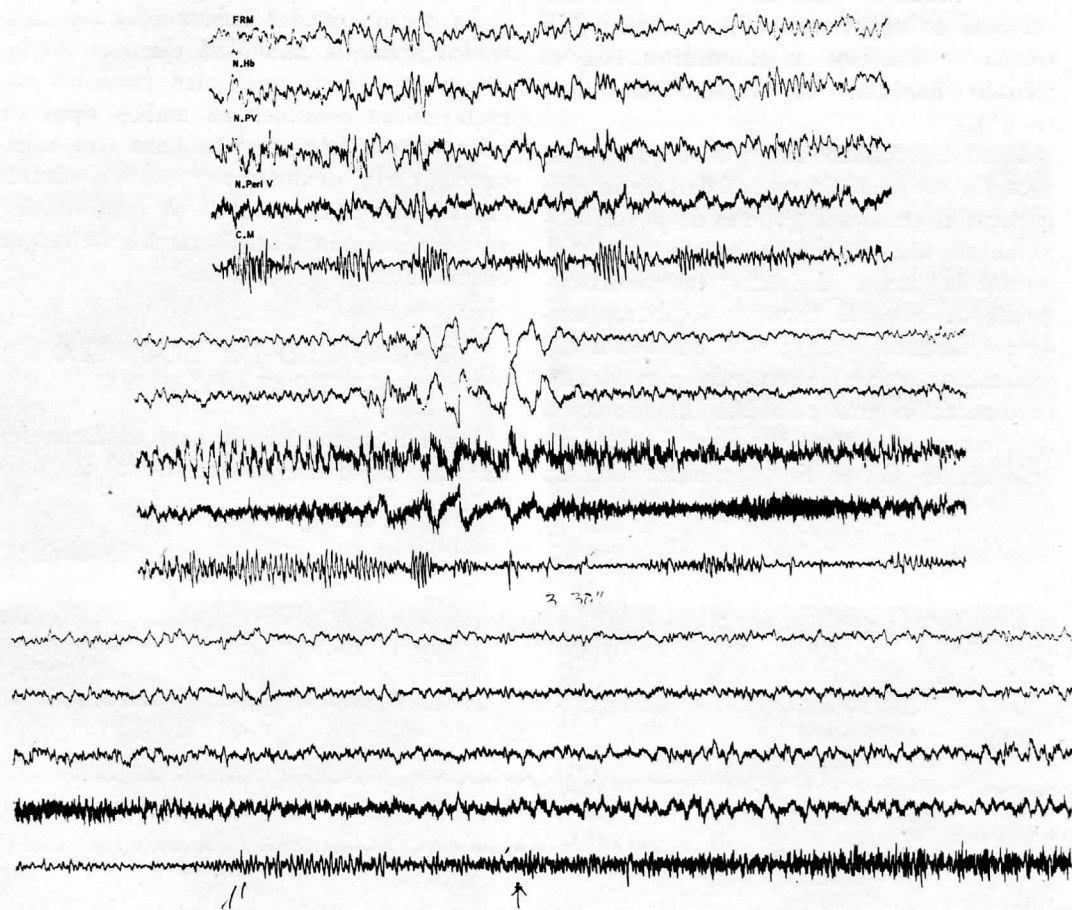


Fig. 3. Administración de extracto pineal en la parte superior se ilustra el trazo EEG tomado como testigo. En la parte intermedia, se ilustra el efecto de 5 mg. de E.P. 30 seg. después de administrados. Nótese la desincronización de la F.R.M. y del núcleo Hb., con activación simultánea de los núcleos PV y PeriV. y depresión de la actividad eléctrica cortical a los 60 seg. Parte inferior de la figura ilustra como desaparece el efecto en estos núcleos, activándose entonces la corteza cerebral. Preparación. Animal íntegro. Abreviaturas igual que en el texto.

## SUERO FISIOLÓGICO. SOLUCIÓN ACUOSA DE FLAXEDIL OXITOCINA

Estas sustancias no provocaron ningún cambio notable en el registro eléctrico de las áreas estudiadas, en todo caso, cuando la dosis de flaxedil fué superior a 40 mg/kg/p., la actividad electroencefalográfica se lentificó ligeramente, recuperándose a medida que el efecto de la droga se disipó.

## EXTRACTO DE GLÁNDULA PINEAL

Las modificaciones en la actividad eléctrica cerebral causadas por el extracto pineal se caracterizaron por la súbita aparición de un ritmo rápido, regular y de gran amplitud, en PV y Hb unos veinte segundos después de la administración del extracto. Este cambio se sostiene por un tiempo que oscila entre los 50 y 90 segundos siguientes, transcurri-

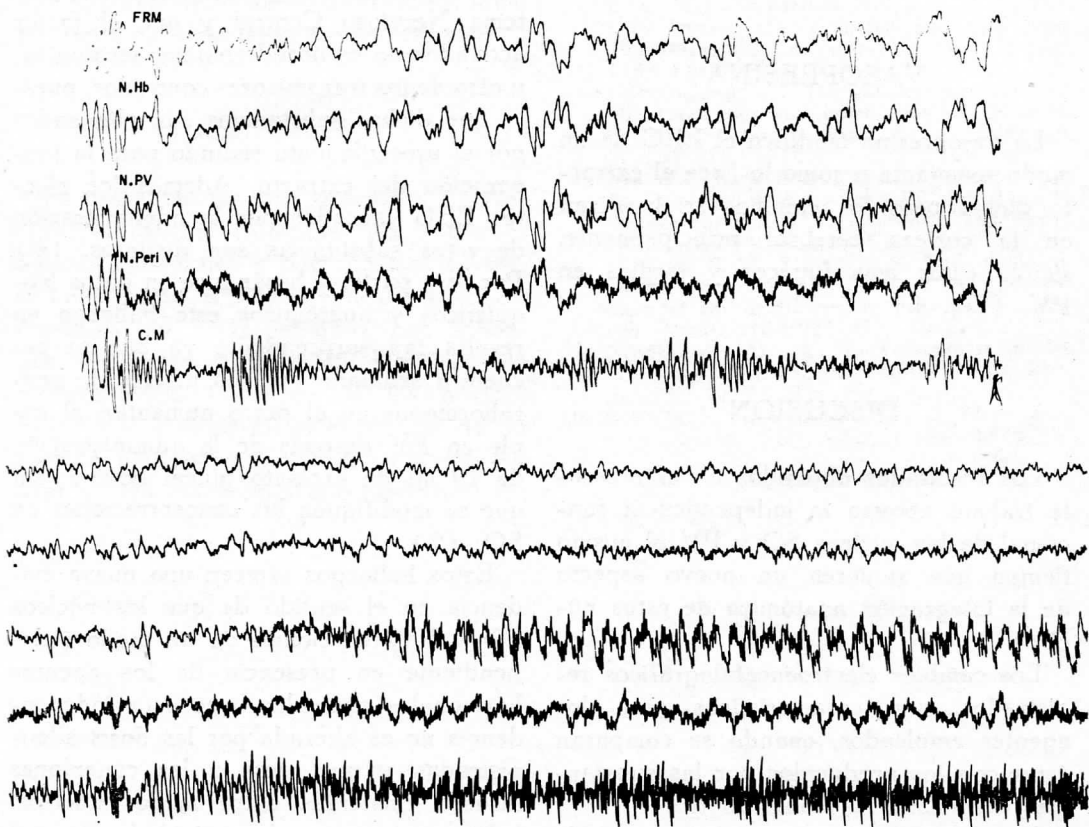


Fig. 4. Administración de vasopresina. En la parte superior de la figura se ilustra el trazo EEG tomado como testigo. En la parte inferior se muestra la activación selectiva de la corteza motora y del núcleo paraventricular. 90 seg. después de la administración de 10 UI de vasopresina. Nótese que el núcleo paraventricular se activa algún tiempo después de la corteza cerebral y la desincronización de las demás derivaciones. Abreviaturas igual que en el texto. Preparación encéfalo aislado.

dos los cuales, es reemplazado por la actividad previa de control. En este instante esta actividad rápida, regular de alto voltaje, aparece en la corteza motora y el hipocampo, pasando en ocasiones por un breve lapso de activación de la formación reticular. El cambio en estas derivaciones es más persistente que el anterior pues se mantiene por varios minutos, en ocasiones con intermitencias. En general, todos estos efectos no duran más de 5 minutos, a partir del momento de la inyección del extracto pineal. (Fig. 3.)

## VASOPRESINA

La vasopresina modifica el EEG de un modo semejante a como lo hace el extracto pineal pero los cambios se localizan en la corteza cerebral principalmente, siendo éstos más fugaces y tardíos en PV. (Fig. 4.)

## DISCUSION

Los resultados obtenidos en el presente trabajo apoyan la independencia funcional de los núcleos SO y PV al mismo tiempo que sugieren un nuevo aspecto de la integración anatómica de estos núcleos.

Los cambios electroencefalográficos registrados, son característicos para los agentes empleados, cuando se comparan éstos con los producidos por las sustancias administradas como control.

En todos los casos, excepto en el de extracto de corteza cerebral, dichos cambios fueron en el sentido de activación selectiva de algunas de las estructuras registradas, lo cual indica que tales subs-

tancias actúan aumentando la descarga neuronal espontánea en aquéllas.

De las sustancias empleadas, dos muestran un especial interés, la hormona antidiurética, y el extracto pineal. Los cambios producidos por la hormona antidiurética, localizados fundamentalmente a nivel de PV, y sin producir modificaciones en SO, la hacen aparecer como una parte integrante del sistema paraventricular-neurohipófisis.

Los efectos provocados por la administración de extracto pineal indican que éste actúa de manera importante sobre el Sistema Nervioso Central y que el factor activador no es noradrenalina, serotonina, u otro de los transmisores conocidos, puesto que dichas sustancias son eliminadas por el procedimiento seguido para la preparación del extracto. Además los efectos EEG causados por la administración de estas sustancias son distintos. (4.) Por otra parte, y basándose en datos bioquímicos y anatómicos este hallazgo no resulta tan sorprendente ya que se encuentra señalado que los niveles de neurohormonas en el perro aumentan al triple en PV después de la administración de 10 ml de extracto pineal bovino, sin que se modifiquen las concentraciones en SO. (8.)

Estos hallazgos ofrecen una nueva evidencia en el sentido de que los núcleos SO y PV reaccionan de un modo independiente en presencia de los agentes hormonales probados, que esta independencia no es alterada por las dosis administradas y que, pese a las conexiones difusas existentes entre ambos núcleos, las variaciones en la actividad neuronal de uno de ellos no son inducidas en el otro en condiciones fisiológicas.

En vista de las latencias con las que cada una de las estructuras registradas

se activa es posible discutir la existencia de un circuito funcional involucrado en la actividad hormonal de la glándula pineal.

La secuencia seguida en los cambios eléctricos cuando se administra EP confirman funcionalmente la vía anatómica difusa ya sugerida entre PV y Hb. Kappers (6), por otro lado, ha demostrado la existencia de conexiones entre este núcleo y los pinealocitos, cerrándose de esta manera un circuito de retroalimentación en parte nervioso y en parte humoral, que aparentemente se encarga de los ajustes finos en el sistema neuroendocrino.

## RESUMEN

Se presentan las modificaciones electroencefalográficas causadas por diversos agentes humorales o por sustancias empleadas como controles, en diversas estructuras del SNC del gato. Los hallazgos señalados apoyan la hipótesis de independencia funcional de los núcleos SO y PV y sugieren la existencia de un sistema neurohormonal entre PV-Hb-Pineal y Sistema hipotálamo-hipófisis.

## REFERENCIAS

1. ANTON-TAY, F., ESCOBAR, A., y ANTON, S. Estudios sobre la glándula pineal I. Efecto del extracto pineal sobre las estructuras histológicas de la corteza suprarrenal. Bol. Inst. Est. Méd. Biol., Méx. 20:275-279, 1962.
2. BUCY, P. C.: En Cytology and cellular pathology of the nervous system. W. Penfield. New York: P.B. Hoeber Inc. Pág. 705, 1932.
3. ENGSTRAND, O. J. e IZQUIERDO, E. R. The coexistence of diabetes mellitus and diabetes insipidus: report of case with two successful pregnancies. J. Lancet 70:228-231, 1950.
4. FAURE, J. Etudes expérimentales de l'influence des facteurs Hormonaux et métaboliques sur l'activité électrique du cerveau. Rev. Neurol. 100:255-269, 1959.
5. KAPPERS, A. C. U., HUBER, G. C. Y CROSBY, E. C. The comparative Anatomy of the Nervous System of Vertebrates Including Man. The MacMillan Co. New York. Vol. II págs. 1183-1185, 1963.
6. KAPPERS, A. J., The development topographical relations and innervation of the epiphysis cerebri in the albino rat. Z. Zellforsch. 52:163-215, 1950.
7. KLUVER, H. Y BARRERA, E. A method for the combined staining of cells and fibres in the nervous system. J. Neuropath and Exper. Neurol. 12:400-403, 1953.
8. MILCOU, S. M. Y PAVEL, S. Antigonodotropic function of the pineal gland and the oxytocin of the neurosecretory hypothalamic system. Nature. 187:950-951, 1960.
9. NIBBELINK, D. W. Paraventricular nuclei, neurohypophysis and parturition. Am. J. Physiol 200:1229-1232, 1961.
10. SCHARRER, E. Y SCHARRER, B. Neurosecretion. Physiol. Revs. 25:171-181, 1945.

# Estudio histoquímico de algunas enzimas que intervienen en el metabolismo de los carbohidratos del corazón de conejo

TRABAJO DEL SR. DR. CAMILO APESS, JEFE DEL DPTO. DE ANATOMÍA, ESCUELA DE MEDICINA. U.S.L.P.

## INTRODUCCION

La gran actividad metabólica del músculo cardíaco refleja la función que el corazón desarrolla. Debido a que el papel fisiológico del corazón es completamente el desarrollo de trabajo mecánico, los eventos metabólicos que son de la mayor importancia, son aquellos relacionados con la producción de energía en una forma que sea fácilmente aprovechable para usarla en su actividad mecánica. El corazón requiere una cantidad extraordinaria de energía, por eso, la organización y función del metabolismo del miocardio están encaminados a la producción de energía en gran escala. Los procesos sintéticos que ocurren en el músculo cardíaco están restringidos a aquellos requeridos para sostener la integridad fisiológica del corazón por sí mismo. El entendimiento del metabolismo cardíaco puede seguirse solamente mediante una concepción clara de la producción de energía en las células miocárdicas. La energía utilizada por el miocardio para su contracción es produ-

cida mediante el aprovechamiento de una parte de la energía liberada por la degradación enzimática de los elementos, a bióxido de carbono y agua. Mediante el proceso de la fosforilación oxidativa, esta energía es capturada en la cadena de fosfato de alta energía del adenosin-trifosfato (ATP), en una forma en la cual puede ser fácilmente utilizada en el complejo sistema de enzimas y cofactores necesarios para el proceso de fosforilación oxidativa. Se ha encontrado que todas estas enzimas operan exclusivamente dentro de una organela subcelular, la mitocondria. Esta observación refleja en un nivel bioquímico y fisiológico el hallazgo morfológico de que la célula miocárdica contiene un gran número, poco usual, de mitocondrias. El hecho de que todo el mecanismo para la producción de energía esté dentro de las mitocondrias nos lleva a considerar la posición clave de esta estructura subcelular en el metabolismo del miocardio.

Antes de entrar en una discusión detallada de la producción de energía en la mitocondria, sería útil considerar bre-

vemente el metabolismo intermediario de los carbohidratos aplicado a la función del miocardio. De esta manera los mecanismos por los cuales actúan los substratos para la producción de energía derivada de los carbohidratos podría ser formulada.

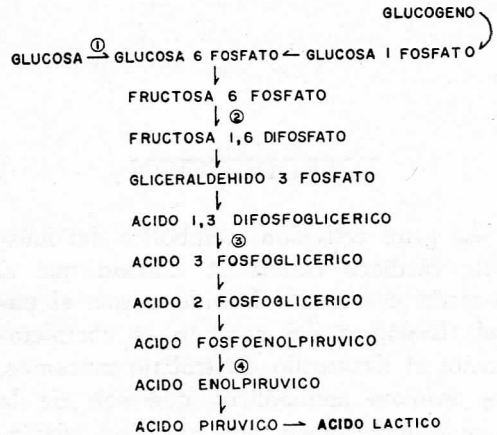
## "METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS Y DEL ACIDO CITRICO"

La degradación de los carbohidratos a bióxido de carbono y agua es realizada en 2 estadios: anaeróbico y aeróbico. El primer estadio tiene lugar en el citoplasma celular y en el segundo, la glucosa o el glucógeno, son degradados anaeróticamente a piruvato por la serie de reacciones enzimáticas señaladas en la figura 1. En el curso de estas reacciones, 2 moléculas de ATP son producidas por cada molécula de glucosa degradada (figura 1, reacciones 3 y 4). Esta fosforilación es llevada a cabo por una acción combinada del substrato y el aceptor de fosfato mediante un proceso por el cual un fosfato de alta energía se transforma directamente del substrato en adenosinodifosfato (ADP).

Puesto que 2 moléculas de ATP son usadas en la glucólisis (figura 1, reacciones 1 y 2) la obtención en ella de ATP es sólo de 2 moléculas por cada molécula consumida de glucosa. El piruvato que es formado puede ser hidrogenado para formar lactato, esta reacción es catalizada por la deshidrogenasa láctica en la cual el donador de hidrógeno es el difosfopiridín-nucleótido (DPNH). Sin embargo, el piruvato tiene un destino alterno, puede igualmente entrar al sistema mitocondrial para su metabolismo aeróbico

en el cual puede ser completamente degradado a bióxido de carbono y agua.

Parte del piruvato utilizado por la célula miocárdica no se produce dentro de esta célula sino que se origina en otras partes del organismo y es llevada al miocardio por la sangre circulante. En esta misma forma es suplida la mayor parte del lactato, es decir, llega preformado al miocardio.



**GLUCOLISIS:** Fase anaeróbica del catabolismo de los carbohidratos.

Fig. No. 1

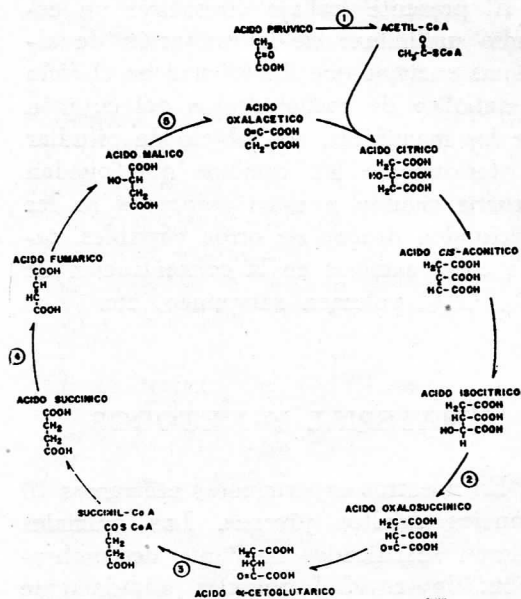
La fase aeróbica del catabolismo de los carbohidratos consiste de una serie de reacciones enzimáticas conocidas como el ciclo del ácido cítrico o ciclo de Krebs, el cual tiene lugar enteramente dentro de las mitocondrias. El ciclo del ácido cítrico también debe ser considerado como la segunda fase o fase aeróbica del catabolismo de los ácidos grasos y de los aminoácidos. Es conveniente hacer notar que la glucólisis no es la única vía para la degradación de los carbohidratos: recientemente Axerlod (2) publicó una serie de reacciones que dilucidan la interven-

ción de los ácidos grasos y los aminoácidos en el ciclo de Krebs, referimos al lector a este excelente trabajo.

En el ciclo del ácido cítrico, 5 de las reacciones químicas son acompañadas por la intervención de moléculas de ATP, las cuales se forman a partir de ADP y fosfato inorgánico, todas estas reacciones son oxidaciones, de aquí el término de *fosforilación oxidativa* con el cual se les conoce. En estas 5 oxidaciones, de fosforilación o reducción, los electrones que son liberados, pasan a través de una serie de enzimas y coenzimas que colectivamente se conocen como el *Sistema Mitocondrial de Transporte de Electrones*. Es el intercambio de electrones a través de este sistema donde se realiza la esterificación de los fosfatos inorgánicos. Las 5 oxidaciones del ciclo del ácido cítrico que pueden ser acopladas a la fosforilación son: Primera, la oxidación de piruvato a acetil coenzima A y bióxido de carbono. Segunda, la oxidación de isocitrato a alfa-ceto-glutarato y bióxido de carbono. Tercera, la oxidación de alfa-ceto-glutarato en coenzima A (CoA) y bióxido de carbono. Cuarta, la oxidación de succinato a fumarato. Quinta, la oxidación de malato a oxaloacetato. La figura 2 muestra estas reacciones numeradas del 1 al 5 respectivamente. Cuatro de las cinco reacciones anteriores, requieren la participación de un piridín-nucleótido para pasar al sistema de transporte de electrones, aquellos electrones que son liberados. La excepción la constituye la oxidación del succinato a fumarato en la cual los electrones liberados del succinato pueden entrar al sistema de transporte electrónico a través de una ruta directa.

La degradación de una molécula de piruvato a través del ciclo del ácido cí-

trico produce 15 moléculas de ATP. Por cada molécula de piridín nucleótido reducida, se forman 3 moléculas de ATP por la entrada de electrones del piridín-nucleótido reducido dentro del sistema de transporte electrónico mitocondrial.



CICLO DEL ACIDO CITRICO  
Fig. No. 2

Puestos que la reducción del piridín-nucleótido ocurre en 4 de las 5 oxidaciones mencionadas, la producción de ATP durante estas 4 oxidaciones es un total de 12 moléculas; además, se producen 2 moléculas de ATP durante la oxidación del succinato y una molécula más de ATP se forma por la fosforilación directa que ocurre cuando el alfa-ceto-glutarato es convertido a succinil-coenzima A. De aquí que la producción total de ATP viene a ser de 15 moléculas por cada molécula de piruvato y de 30 por cada molécula de glucosa. Comparando las cifras



anteriores con las 2 moléculas de ATP que se producen durante la degradación anaeróbica de la glucosa, podemos ver ostensiblemente el contraste de la importancia relativa de las 2 fases del catabolismo de los carbohidratos para la producción de energía que es utilizada en el trabajo celular.

El presente trabajo constituye un estudio preliminar de investigación de algunas enzimas que intervienen en el ciclo metabólico de carbohidratos del corazón de los mamíferos, con objeto de estudiar posteriormente los cambios que puedan ocurrir cuando a estos corazones se les perfunden drogas de otros variables, tales como cambios en la concentración de  $O_2$ ,  $CO_2$ , volumen sanguíneo, etc.

### MATERIAL Y METODOS

En nuestros experimentos utilizamos 10 conejos adultos jóvenes. Los animales fueron sacrificados mediante descerebración, la cavidad torácica rápidamente abierta y los corazones removidos inmediatamente fueron sumergidos en una mezcla de acetona y hielo seco a  $-30^{\circ}C$  para su congelación inmediata; fueron colocados en un disco del microtomo, adheridos a él mediante la congelación de solución fisiológica en el estativo congelador del Crióstato (Lipshaw Manufacturing Co.). Fueron hechas secciones de 8 micras en el mismo crióstato, montadas en portaobjetos de  $7.5 \times 2.5$  cm e incubadas en los substratos adecuados para la localización histoquímica, en el tejido de conducción y en el miocardio común, de las siguientes enzimas: a) de la fase anaeróbica del metabolismo de los carbohidratos: fosforilasas, deshidrogenasa,

glucosa-6-fosfato y deshidrogenasa láctica; b) de la fase aeróbica: deshidrogenasa succínica, deshidrogenasa isocítrica y deshidrogenasa málica (figura 3).

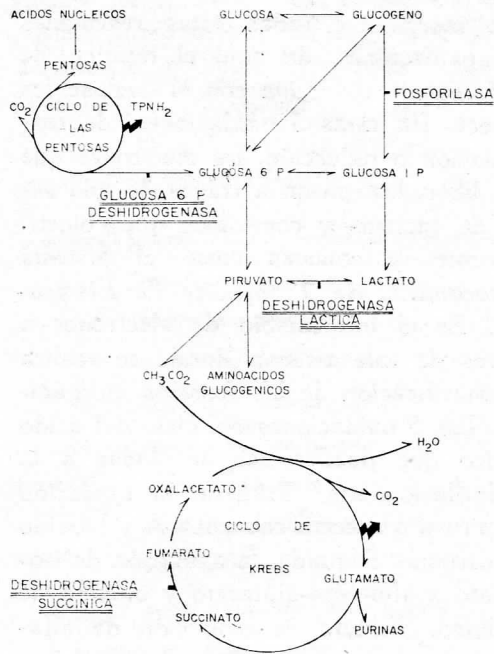


FIG No 3 - SITIOS DE ACCION DE LAS ENZIMAS FOSFORILASA, 6 P DESHIDROGENASA, DESHIDROGENASA LACTICA, DESHIDROGENASA SUCCINICA, EN EL CICLO METABOLICO DE LOS CARBOHIDRATOS.

Los substratos empleados fueron los siguientes: para las fosforilasas el propuesto por Eränko (15) que es una modificación del medio original propuesto por Takeuchi y Kuriaki (42), Grillo (24) y Guha y Wegmann (25), cuya fórmula es la siguiente:

Glucosa-1-fosfato	100 mg
Adenosin-5-fosfato	10 mg
Glucógeno	2 mg
Cloruro de sodio	180 mg
Polivinilpirrolidona	900 mg

Insulina 40 u/mm .....	1 gota
Alcohol absoluto .....	2 ml
Amortiguador de acetato 0.1N, pH 5.9 .....	10 ml

La mezcla fué hecha fresca y filtrada. Secciones control tratadas idénticamente fueron incubadas en una mezcla sin glucosa-1-fosfato.

El procedimiento empleado fué el siguiente: 1. Las secciones de Crióstato montadas se dejaron secar 15 minutos. 2. Incubadas durante 2 horas en el substrato. 3. Se dejaron secar. 4. Sumergidas en alcohol al 40% durante 2 minutos. 5. Se dejaron secar. 6. Sumergidas en sacarosa 0.32 M durante 5 minutos. 7. Teñidas en solución iodada de Gram, hecha en sacarosa 0.32 M, durante 5 minutos. 8. Montadas en yodo glicerol.

Las principales diferencias entre el procedimiento anterior y el original de Takeuchi-Kuriaki son la presencia en el medio propuesto por Eränko de polivinilpirrolidona y la alta concentración de la glucosa-1-fosfato en el substrato. Estos 2 cambios mejoran significativamente la sensibilidad y el poder de localización de la reacción. Los efectos ventajosos de la polivinilpirrolidona habían sido observados anteriormente en técnicas para deshidrogenasas y fué usada como protección osmótica (Scarpelli y Pearse) (37). En vista del alto peso molecular de la polivinilpirrolidona (P.V.P.), cerca de 24 500, parece ser que el efecto osmótico de una solución al 75% es pequeño. El aumento en la viscosidad de la mezcla de incubación puede ser un factor importante en la difusión limitada de los productos de reacción.

Los métodos para la demostración de deshidrogenasas encadenadas al difosfo-

piridín-nucleótido (DPN) y al trifosfopiridín-nucleótido (TPN) fueron los propuestos por Hess, Scarpelli y Pearse, 1958 (37).

Estos varios métodos de incubación están basados en la técnica original de cobalto-formazán propuesta por Pearse en 1957 y sobre las técnicas de Nachlas, Walker y Seligman en 1958 (37).

El medio de incubación usado tiene la composición estandar siguiente:

Substrato (1M) .....	0.1 ml
DPN o TPN, 1 a 0.1 M ....	0.1 ml
Inhibidor respiratorio (Amital, azide o cianuro 0.1 M) ...	0.1 ml
Cloruro de magnesio 0.05 M..	0.1 ml
Amortiguador de fosfato 0.06 M o de "Tris" 0.2 M, pH 6.8-7 .....	0.25 ml
Sal de tetrazolium (MTT o Nitro-B-T) (1 mg × ml)..	0.25 ml
Agua destilada, para hacer ..	1 ml
Polivinilpirrolidona .....	75 mg

Para la demostración de los diferentes sistemas de deshidrogenasas, los componentes de los medios estandar de arriba varían como sigue:

1. Deshidrogenasa glucosa-6-fosfato. Substrato, glucopiranososa-6-fosfato (sal disódica o de calcio); TPN; azide de sodio o amitil; amortiguador de Tris; cloruro de cobalto 0.5 M, 0.05 ml; fluoruro de sodio (0.01 M) 0.05 ml.

2. Deshidrogenasa málica. Substrato, malato-L de sodio o L-ácido málico ajustado a un pH de 7 con Tris; DPN o TPN; cianuro de sodio; amortiguador de fosfato.

3. Deshidrogenasa láctica. Substrato, DL-lactato de sodio; DPN, cianuro de sodio; amortiguador de fosfato.

El método general fué el siguiente:

1. Cubrimos las secciones con el medio de incubación durante 5 a 30 minutos a 37°C en condiciones aeróbicas.

2. Cuando se usó cobalto y se apreció precipitado, se lavaron las secciones brevemente (30") en HCl al 1%.

3. Fijamos en formol-salino al 10% o formol-calcio durante 10 minutos.

4. Montamos en glicerina-gelatina.

Los núcleos pueden ser contrateñidos si se desea.

## RESULTADOS

La estructura y distribución anatómica del tejido especializado del corazón del



Fig. 4. Actividad de fosforilasa en corazón incubado en el medio propuesto por Eränko. Se demuestra mayor actividad en el sistema de conducción que en el miocardio común. 600 X.

conejo, así como sus características histológicas, ya fueron estudiados en nuestro laboratorio y reportados por Sandoval



FIG. 5. Control. Sección vecina a la anterior. 600. X.

(38); en la tesis de esta autora concluye que las fosforilasas cardíacas, estudiadas con el método histoquímico de Takeuchi-Kuriaki, se localizan tanto en el sistema de conducción como en el miocardio, pero con mayor intensidad de actividad en las células de Purkinje. También observó que había difusión ostensible del glucógeno neoformado intracelularmente.

En la presente tesis hemos empleado el medio de incubación propuesto por Eränko (15) que tiene una concentración más alta del sustrato, glucosa-1-fosfato y P.V.P. para hacer al medio isoosmótico. Con este sustrato hemos observado una reacción más rápida e intensa en la neoformación del glucógeno, por acción de las fosforilasas, y además mayor precisión en su localización histoquímica pero aún se observa escasa difusión del mismo. La figura 4 demuestra lo anterior y confirma el hallazgo previo reportado por Sandoval. Nótese la diferencia con la figura 5 que corresponde a la sección veci-

na a la anterior, incubada en la solución control.

Las deshidrogenasas láctica y glucosa-6-fosfato se localizan exclusivamente en las mitocondrias, las figuras 6, 7, 8, y 9

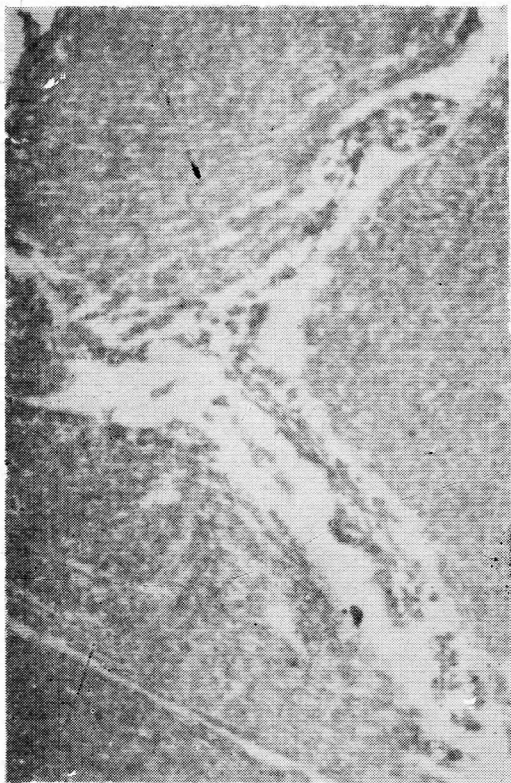


Fig. 6. Demuestra la actividad de la deshidrogenasa láctica la cual es mayor en el haz de His que en el miocardio común. El haz de His se demuestra en su bifurcación a nivel del tabique interventricular. 120 X.

demuestran, con sus respectivos controles, este hecho y además que estas enzimas son más abundantes en el sistema de conducción que en el miocardio común.

Las enzimas estudiadas del ciclo aeróbico del metabolismo de los carbohidratos: deshidrogenasa isocítrica, málica y succínica; también se localizan exclusivamente

en las mitocondrias. Las deshidrogenasas isocítrica y málica dan una reacción muy débil, en contraste con las deshidrogenasas succínicas en donde la reacción es intensa. La actividad de estas enzimas del ciclo aeróbico está presente en ambos tipos de tejido cardíaco estudiados, ostensiblemente más intensa en el miocardio común que en el sistema de conducción. (Figuras 10, 11, 12, 13 y 14.)

## DISCUSION

Pocos estudios se han hecho en relación con la localización histoquímica de enzimas en el sistema de conducción del corazón. Carbonell, en 1956, estudió las esterasas (6). Sandoval, en 1962, reporta lo ya mencionado, que la actividad de las fosforilasas es mayor, a juzgar por la

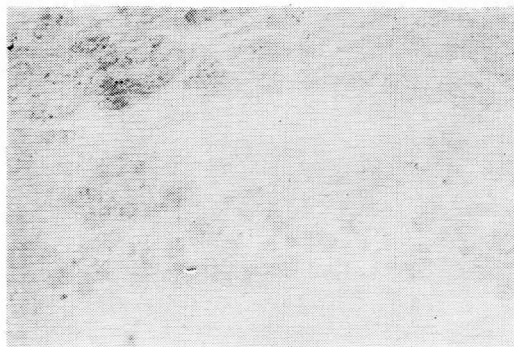


Fig. 7. Deshidrogenasa glucosa-6-fosfato. No se demuestra actividad en esta enzima. 650 X.

cantidad de glucógeno neoformado, en el sistema de conducción que en el miocardio común. Hemos confirmado lo anterior y parece ser que la actividad de las fosforilasas está fuera del sistema mitocondrial, aunque aún se requiere buscar un medio de incubación que evite la difusión

del glucógeno neoformado o mejor aún un medio que permita la detección directa de estas enzimas para precisar su localización intracelular.

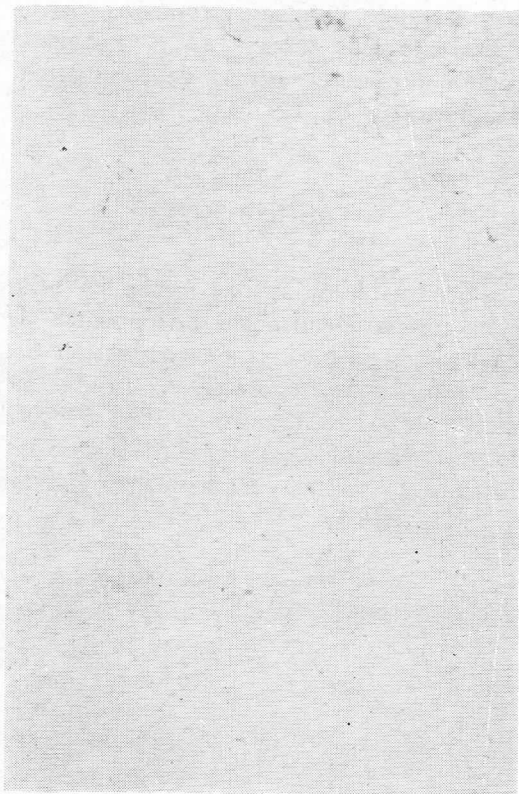


Fig. 8. Sección control. 750 X.

En nuestros experimentos hemos empleado sales de tetrazolium para la localización histoquímica de las diferentes deshidrogenasas. Las sales hidrosolubles de tetrazolium.

No son colorantes por sí mismas, pero al reducirse forman pigmentos intensamente coloreados, insolubles en agua, conocidos como formazanes.

Las características de las sales de tetrazolium que más frecuentemente se usan

varían con respecto a las siguientes propiedades: sensibilidad de la luz, tamaño de los cristales de formazan, solubilidad en grasas y velocidad de reducción.

Las sales de ditetrazolium satisfacen en alto grado las características deseadas para trabajos histoquímicos.

Estas sales invariablemente están contaminadas con sales de monotetrazolium que se forman durante el proceso sintético.

Debido a sus propiedades de actuar como aceptores de electrones y colorear muchos sistemas enzimáticos ligados a los piridín-nucleótidos son los colorantes de elección para demostrar la localización histoquímica de las enzimas oxidativas tales como cisteína desulfurasa, deshidrogenasa succínica, monoamino-oxidasa, sistemas de DPN y TPN diaforasas.

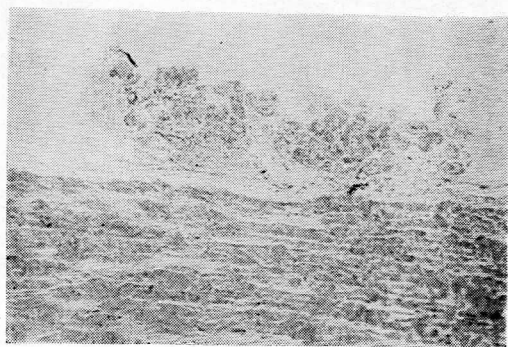


Fig. 9. Deshidrogenasa isocitrica. Demuestra mayor actividad en el miocardio común que en las fibras de Purkinje del sistema de conducción 450 X.

En nuestro trabajo hemos usado dos sales de tetrazolium: bromuro 3-(4,5-dimetil tiazolil-2)-2,5difetil tetrazolium, o MTT, o quelato tetrazolium MTT, y el cloruro 3,3'(4,4'di-o-ansidene)2,2'-di(p-nitrofenil)bis(5-fenil) ditetrazolium

o nitroblue tetrazolium o nitro BT o NBT.

El primero, o MTT, fué introducido por Pearse en 1957 para la demostración de sistemas oxidativos, por la pro-

se para todos los sistemas de enzimas oxidativas histoquímicamente demostrables. Usando este compuesto muchos investigadores han descrito la localización



Fig. 10. Sección control. 450 X.

piedad que tienen estas sales de formar un quelato insoluble de Co-formazán al reducirse. Este compuesto es el de elección para la localización histoquímica de deshidrogenasa glucosa-6-fosfato.

El segundo, o NBT, fué introducido en 1957 por Nachlas y colaboradores y desde entonces es el compuesto más ampliamente usado de las sales de tetrazolium. Se ha encontrado que puede usar-

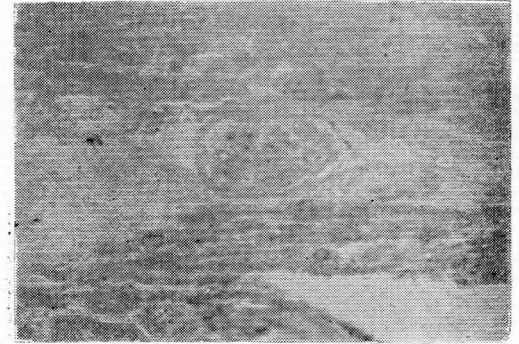


Fig. 11. Deshidrogenasa málica. También se observa mayor actividad en las fibras del miocardio común que en las del sistema de conducción. 450 X.

mitocondrial de estos sistemas enzimáticos. El tetrazolium es rápidamente reducido y forma un precipitado de formazán amorfo, fino, azul oscuro, el cual es insoluble en grasa y no exhibe sensibilidad a la luz. Una característica de este di-

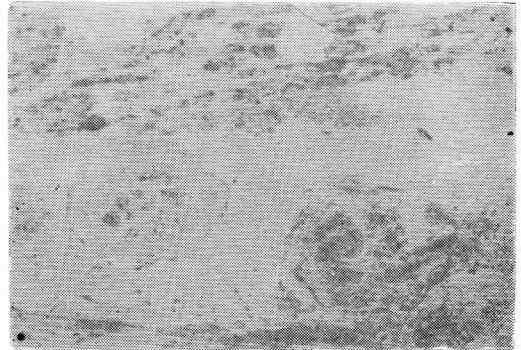


Fig. 12. Sección control 450 X.

formazán que no se encuentra en otras sales de tetrazolium es su intenso grado de substantividad que permite la deshi-

dratación y el montado de secciones de tejido en medios no acuosos.

Como ya hemos dicho, las sales de tetrazolium son reducidas por enzimas mitocondriales en presencia de los substratos específicos, pero también son reducidos en menor proporción cuando no se encuentran presentes éstos, disminuyendo por lo tanto la velocidad de reacción e intensidad de coloración (16).

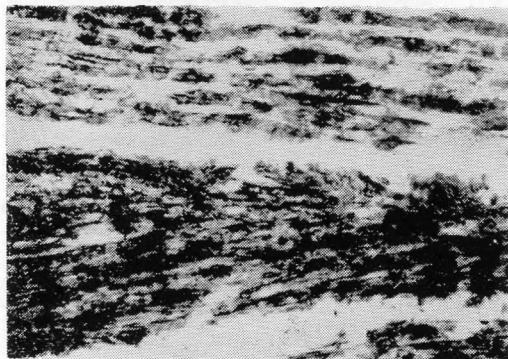


Fig. 13. Deshidrogenasa succínica. Nuevamente describe mayor actividad en las fibras miocárdicas que en las fibras de Purkinje. Nótese la localización.

En este tipo de trabajos es conveniente que se hagan controles de secciones vecinas incubando éstas en solución sin substrato específico y por la diferencia entre éstos y el problema, se deducen los sitios de localización o intensidad de reacción.

Se observó que la deshidrogenasa láctica tiene una actividad mayor en el sistema de conducción que en el miocardio común, no así la deshidrogenasa succínica cuya actividad es notablemente mayor en el miocardio común. Estos hallazgos sugieren que, en lo que se refiere a la utilización de los carbohidratos del corazón como fuente de energía, el sistema de conducción lo hace predominan-

temente en condiciones anaeróbicas, particularmente en la conversión del glucógeno a glucosa-1-fosfato, por acción de las fosforilasas en cuya reacción sabemos que se produce una molécula de ATP por cada molécula de glucosa-1-fosfato formada. Otro dato en apoyo de esta teoría es el hecho de que la deshidrogenasa láctica también tiene una gran actividad en las mitocondrias de las células de Purkinje que forman el tejido de conducción, lo que es altamente sugestivo que la reacción reversible láctico  $\rightleftharpoons$  pirúvico, que produce también una molécula de ATP, por molécula transformada, es una fuente importante de energía para el funcionamiento del sistema de conducción. También en este estudio hemos confirmado que las mitocondrias son mucho más abundantes en las células del miocardio común que en las fibras de Purkinje. Esto tal vez explique, en parte, que la actividad de las enzimas del ciclo aeróbico, cuya locali-



Fig. 14. Sección control. 450 X.

zación es estrictamente mitocondrial, sea menor en las células de Purkinje. Por la distribución de la circulación intrínseca del corazón y por la situación del tejido de conducción, es posible que su abas-

tecimiento de  $O_2$  no sea tan profuso como el de las fibras del miocardio común, de ahí que se nos ocurre la explicación hipotética de que las fibras de Purkinje: 1º, requieren poca energía para su buen funcionamiento; 2º, por tener un pobre abastecimiento de  $O_2$  y escasas mitocondrias, sus requerimientos energéticos se obtienen predominantemente en condiciones anaeróbicas. Estas evidencias de la utilización en forma importante de glucógeno y ácido láctico en condiciones anaeróbicas reviste un hallazgo peculiar, que no hemos encontrado reportado en la literatura, debido posiblemente a la dificultad técnica de poder separar adecuadamente el sistema de conducción del miocardio común. Hay especies animales en que esto es posible en forma muy aceptable (perro, carnero, buey, hombre, etc.) y es indispensable la confirmación histoquímica y bioquímica tanto cualitativa como cuantitativa en estas especies, antes de entrar en más especulaciones hipotéticas o teóricas de estas observaciones preliminares.

El acoplamiento de la oxidación de los substratos del ciclo del ácido cítrico para la producción de ATP ocurre solamente dentro de las mitocondrias. Cuando se considera la enorme complejidad de este proceso, no debe sorprendernos que esto suceda en una estructura que es altamente organizada y compacta. También dentro de la mitocondria se localiza todo el sistema para la oxidación de los ácidos grasos, los cuales están ligados funcionalmente al ciclo del ácido cítrico. Además de las vías degradativas relacionadas con la producción de energía, la mitocondria contiene sistemas para la síntesis de fosfolípidos, proteínas (34) y otras sustancias. Sin embargo, los procesos sin-

téticos son de relativamente menor importancia en el caso de la mitocondria del músculo cardíaco, en donde la producción de energía parece tener predominancia sobre todas las demás funciones.

El mecanismo por el cual la oxidación mitocondrial conduce a la síntesis de ATP es complejo. Por definición, una oxidación química, siempre va acompañada por una reducción. El cambio que ocurre cuando toma lugar una óxido-reducción es fundamentalmente la transferencia de electrones de la sustancia que va a ser oxidada a la que va a ser reducida. Un ejemplo de este proceso es la oxidación del malato, en la cual, al ceder electrones, es convertido a óxaloacetato, mientras que el DPN, al aceptar electrones, se convierte en su forma reducida de DPNH. El DPNH es reversiblemente oxidado para convertirse nuevamente en DPN y los electrones que son removidos en la reacción son transferidos a otro compuesto y de ese compuesto aún a otro. De aquí que los electrones removidos originalmente del malato son manejados a través de un sistema complejo de enzimas y coenzimas y finalmente alcanzan el oxígeno para producir agua. Durante este intercambio de electrones a través de lo que es conocido como el sistema de transporte electrónico, las series de óxido-reducciones son acompañadas por la liberación de energía. La energía liberada durante algunas de las óxido-reducciones del sistema de transporte electrónico se pierde bajo la forma de calor. Pero en unas pocas óxido-reducciones específicas, esta energía es capturada por la esterificación del fosfato inorgánico y preservada como cadena de energía en el ATP.



El concepto de que la mitocondria es un sistema complejo en el cual el ciclo del ácido cítrico y el sistema de transporte electrónico funciona conjuntamente para la producción de ATP fué lentamente aceptado por el mundo científico, pero las evidencias que sostienen este punto de vista han ido aumentando y ahora es incuestionable esta función específica de estas organelas citoplásmicas (20); las mitocondrias intactas, aisladas, pueden llevar a cabo la fosforilación oxidativa en presencia de oxígeno y cuando se le suplementa solamente con un substrato apropiado, ADP y fosfato inorgánico. De aquí que la mitocondria sea una unidad bioquímica completa, la cual contiene todas las partes necesarias para realizar un gran número de funciones catalíticas (17, 29, 39).

## SISTEMA DE TRANSPORTE ELECTRONICO

Los componentes conocidos del transporte electrónico son dos flavoproteínas (12, 43), cuatro citocromos (4, 21, 28, 40), la coenzima Q (8, 26, 31), fierro no hemático y cobre (14, 18). Los electrones que derivan de la oxidación del succinato entran al sistema por medio de una de las flavoproteínas, llamada  $f_s$ . Los electrones derivados de las otras cuatro oxidaciones del ciclo del ácido cítrico no pueden entrar a la cadena directamente, pero son primeramente transferidas al DPN. El DPN reducido (DPNH) puede entonces donar sus electrones al sistema de transporte electrónico a través de otra de las dos flavoproteínas llamada  $f_D$ . De las flavoproteínas, los electrones pueden ser pasados al fierro no hemático y de aquí a la coenzima Q,

citocromo  $c_1$ , citocromo c, citocromo a, cobre y finalmente, al oxígeno. De aquí que la oxidación de un compuesto del ácido cítrico para formar el siguiente compuesto en el ciclo, es acompañada por la reducción de oxígeno para formar agua. Estudios realizados en preparaciones de músculos cardíaco sugieren que el citocromo b no es una cadena obligatoria en el sistema de transporte electrónico de succinato o DPNH a oxígeno (22). Trabajos recientes indican que pueden servir como un punto de entrada alternativo dentro del sistema de transporte electrónico para otros substratos que no sean el succinato y el DPNH. Por ejemplo, se ha demostrado que la mitocondria cardíaco contiene una enzima que cataliza la oxidación del malato en ausencia de DPN con la concomitante reducción del citocromo b. Sería interesante descubrir si el mismo fenómeno es verdadero para el lactato; tal observación puede ser la llave para dilucidar el problema de por qué el corazón es capaz de usar del lactato como su principal fuente energética. El fierro no hemático es el miembro más recientemente descubierto del sistema de transporte electrónico. Este componente de la óxido-reducción parece estar situado entre las flavoproteínas y la coenzima Q. Las evidencias de que disponemos en el presente indican que hay dos cadenas de transporte electrónico, una para el succinato y otra para el DPNH. Las dos cadenas pueden estar funcionalmente interconectadas puesto que tanto el succinato como el DPNH pueden reducir todos los componentes de ambas cadenas.

Varios componentes individuales del sistema de transporte electrónico han sido aislados en forma pura. Entre ellos, pueden ser enumerados el citocromo b

TABLA I

## PARTICULAS MITOCONDRIALES CON ACTIVIDADES ENZIMATICAS SOLO PARCIALES

Fragmento Mitochondrial	Nombre del completo Enzimático	Actividad Enzimática	
		Donador de Electrones (substrato oxidado)	Aceptor Final de Electrones (substancia reducida)
f <sub>S</sub> , Fe*	Deshidrogenasa succínica	Succinato	Diferentes aceptores artificiales (colorantes)
f <sub>D</sub> , Fe	DPNH-deshidrogenasa	DPNH	Diferentes aceptores artificiales (colorantes)
f <sub>S</sub> , Fe cit. b.	Succínico-coenzima Q reductasa	Succinato	Coenzima Q
f <sub>S</sub> , Fe, Q. cit. b. cit. c <sub>1</sub>	Succínico-citocromo c reductasa	Succinato	Citocromo c
f <sub>D</sub> , Fe, Q. cit. b. cit. c <sub>1</sub>	DPNH-citocromo c reductasa	DPNH	Citocromo c
cit. c <sub>1</sub> cit. c. cit. a. Cu	Coenzima Q oxidasa	Coenzima Q	Oxígeno
cit. a, Cu	Citocromo c oxidasa (citocromo oxidasa)	Citocromo c	Oxígeno

\* Las siguientes abreviaturas son usadas en esta tabla: Fe (fierro no hemático); Q (coenzima Q); cit. (citocromo); y Cu (cobre).

(4), coenzima Q (8), citocromo c<sub>1</sub> (5) y citocromo c. Sin embargo, debido al arreglo estructural altamente organizado que es necesario para el funcionamiento del sistema de transporte electrónico, estos procesos no pueden ser estudiados adecuadamente por la simple mezcla de componentes aislados en un tubo de ensayo. Los estudios más fructíferos sobre este problema han sido la fragmentación de las mitocondrias en partículas, las cuales representan sólo una parte del sis-

tema de transporte electrónico pero que aún retienen la configuración estructural necesaria para el funcionamiento de esta parte. Mediante el uso de varios reactivos, las mitocondrias han sido fragmentadas para aislar dichas partículas. Algunas de estas partículas, muestran su composición y actividades catalíticas y son presentadas en la tabla I. Mediante la cooperación de los componentes de cada una de estas partículas como un todo, es posible descubrir una gran par-

te de la secuencia y mecanismos de reacción de los sistemas de transporte electrónico.

Otra manera en la cual la secuencia de transporte electrónico puede ser deducida es del estudio de inhibidores específicos. El antimicín "a" es uno de estos compuestos, el cual inhibe la reducción de citocromo  $c_1$ , citocromo  $c$ , citocromo  $a$  y cobre, simultáneamente también inhibe la oxidación de otros miembros del sistema de transporte electrónico (14). Esta observación indica que el citocromo  $c_1$ , citocromo  $c$ , citocromo  $a$  y cobre están situados sobre el lado del oxígeno del sitio inhibido mientras que otros componentes del transporte electrónico están situados sobre el lado del sustrato.

Acompañando a los componentes del sistema de transporte electrónico que han sido mencionados, y a los cuales les hemos asignado funciones específicas, hay dos grandes masas de material que también son necesarias para el funcionamiento del sistema como un todo. Ellas son las proteínas y los lípidos. Las proteínas, las cuales forman parte de los componentes de óxido-reducción del sistema de transporte electrónico, proporcionan sólo cerca del 30% de la proteína total de este sistema y el 70% restante no entra a formar parte de él. Por mucho tiempo, esta gran cantidad de proteína permaneció ignorada. Estudios recientes indican que esta porción proteica tiene una función importante en la mitocondria. Las evidencias de que disponemos sugieren que una porción de esta proteína forma el puente estructural para el sistema de transporte electrónico. Parece ser que una superestructura organizada, construída de pequeñas unidades, imparte a la proteína estructural su insolubilidad, la

cual es necesaria si la mitocondria debe ser preservada de la disolución en el citoplasma de la célula. También, la polimerización debe proveer un medio para que el complejo de componentes de óxido-reducción del sistema de transporte eléctrico tenga una disposición que permita que sus funciones interconectadas tengan lugar. El sistema de transporte electrónico puede entonces ser visualizado como un mosaico tridimensional en donde los componentes de la óxido-reducción representan mosaicos colocados dentro de una matriz de proteína estructural.

Otras sustancias de gran importancia en la mitocondria son los lípidos. Más del 30% del peso de las mitocondrias es dado por estos compuestos (19), el significado de esta gran cantidad de lípidos no fue apreciado sino hasta recientemente. Las evidencias ahora nos indican que los lípidos juegan un papel clave en los procesos de transporte electrónico y fosforilación oxidativa (13). Se ha encontrado que los lípidos están asociados con el  $f_D$  (43),  $f_{sb}$  (44), citocromo  $c_1$  (21), citocromo  $c$  (1) y coenzima Q, esta última liposoluble. Además, varias de las actividades catalíticas del sistema de transporte electrónico de la mitocondria son inactivados por la extracción de los lípidos de estas partículas y se restablece cuando se añaden nuevamente los lípidos mitocondriales. Está claro, entonces, que los lípidos realizan una función esencial en el proceso de transporte de electrones, ellos pueden proveer el medio apropiado en el cual los componentes más pequeños del sistema de transporte electrónico (tales como la coenzima Q, hierro no hemático y citocromo  $c$ ), pueden intercambiar electrones entre un mayor número de miembros que pueden

estar fijados rígidamente a la proteína estructural. La importancia de los lípidos para el proceso de la fosforilación oxidativa puede radicar en los segmentos del medio no acuoso, en los cuales se forman los intermediarios de alta energía y permanecen estables antes de transferir su energía dentro de la cadena energética de ATP.

## FOSFORILACION OXIDATIVA

El proceso de fosforilación oxidativa fué descubierto en 1939 (27) pero no ha sido sino hasta los últimos 10 años en que se formuló un concepto integral para relacionar este proceso al ciclo del ácido cítrico y el transporte electrónico (17). La fosforilación oxidativa es el encadenamiento de la esterificación del fosfato a las óxido-reducciones, que ocurre como flujo de electrones a través del sistema de transporte electrónico mitocondrial. En la transferencia de electrones de una molécula de DPNH a oxígeno, se liberan aproximadamente 52,000 calorías; de succinato a oxígeno cerca de 37,000 calorías. Sin embargo, no toda esta energía es capturada en la cadena de energía de ATP. La formación de una molécula de ATP a partir de ADP y fosfato inorgánico necesita aproximadamente 7,700 calorías. Puesto que 3 moléculas de ATP son formadas por cada molécula de DPNH oxidada (2 moléculas de ATP por cada molécula oxidada de succinato), la energía convertida a la cadena energética de ATP por cada molécula de DPNH es aproximadamente de 23,000 calorías; por cada molécula de succinato, aproximadamente 15,500 calorías. El resto de la energía liberada en las óxido-

reducciones del sistema de transporte electrónico se pierde y es disipada en forma de calor. La eficiencia, en términos de conservación de energía del acoplamiento del transporte electrónico a la esterificación del fosfato, es aproximadamente el 44% cuando el DPNH es usado como sustrato y del 42% cuando se usa el succinato (23).

En sus términos más simples, la fosforilación oxidativa puede ser representada con una fórmula.

En dicha fórmula se indica que en cualquier sitio dado de la fosforilación, como que un miembro reducido de la cadena de transporte electrónico es oxidado por el miembro siguiente de la cadena, una parte de la energía liberada es capturada en un enlace químico (representado por el signo  $\pi$  por la esterificación de fosfato inorgánico (Pi)). No hay una prueba directa de que la cadena de alta energía primaria formada en este proceso sea un enlace de fosfato. La posibilidad de que otros intermediarios de alta energía tales como un compuesto de azufre, como captadores primarios de la energía liberada en la óxido-reducción debe ser considerada. En ningún caso el aceptor es sólo un intermediario en la formación de ATP. Evidencias recientes (33) puntualizan la probabilidad de una secuencia de reacciones a través de la cual las cadenas de alta energía son transferidas hasta que alcanzan el ADP, mientras que la formación de ATP es llevada finalmente a cabo.

Los sitios específicos en los cuales el paso de electrones de un miembro de la cadena de transporte electrónico al siguiente, que es acompañado por la esterificación del fosfato, aún no están claramente definidos. Evidencias experimentales obtenidas en los últimos 10 años (10, 32, 35, 36, 41) implican 3 elementos

generales de la cadena como sitios de fosforilación: 1. La oxidación de DPNH por flavoproteína; 2. La oxidación de flavoproteína por citocromo c; y la oxidación de citocromo c por oxígeno. Antes de que el mecanismo exacto de la fosforilación oxidativa pueda ser dilucidado, deben ser identificadas las óxido-reducciones específicas que están envueltas en la esterificación del fosfato. Ciertos miembros del sistema de transporte, electrónico fueron descubiertos recientemente, y estos nuevos componentes pueden jugar papeles claves en la fosforilación oxidativa. La coenzima Q fue encontrada en la mitocondria de corazón de buey por Crane y colaboradores (8). La coenzima Q es una molécula extremadamente pequeña comparada a los otros componentes de la cadena de transporte electrónico. La facilidad con la cual estas moléculas pequeñas pueden moverse en las áreas líquidas de la mitocondria ha conducido a muchas especulaciones de si también está directamente envuelta en la fosforilación oxidativa.

A través de la investigación de problemas tales como el transporte electrónico ha emergido un nuevo pensamiento bioquímico, el *sistema organizado de enzimas*. Un ejemplo excelente de este concepto se encuentra en la mitocondria, donde la consideración de actividades enzimáticas individuales tiene poco significado considerando el contexto de su organización. Aquí la función y la estructura tienen su más alta significancia en la relación de una y otra. El horizonte de la química de las enzimas tiene aspectos excitantes para el futuro: la posibilidad de establecer un puente amplio entre la bioquímica y la fi-

siología. Esto sólo en el cumplimiento de la posibilidad de que el metabolismo cardíaco pueda tener significado en términos de función cardíaca.

## RESUMEN Y CONCLUSIONES

1. Hemos estudiado las enzimas del ciclo metabólico de los carbohidratos en el corazón del conejo, tanto en el miocardio común, como en el sistema de conducción.

2. Nuestros resultados sugieren que el tejido especializado aprovecha como fuente energética primordial los fosfatos de alta energía (ATP) que se producen en la fase anaeróbica de los carbohidratos. Posiblemente este sea debido a que el sistema de conducción tiene: a) una vascularización menor que el miocardio común y en consecuencia, recibe menos  $O_2$ , b) el número de mitocondrias es mucho menor en el sistema de conducción cuando se le compara con el miocardio común, y c) que posiblemente el sistema de conducción no tiene propiedades contráctiles.

3. El miocardio común muestra gran actividad de las enzimas de la fase anaeróbica y una gran actividad de las enzimas de la fase aeróbica lo cual sugiere que la energía de contracción derivada del aprovechamiento de los carbohidratos se obtiene en la fase aeróbica.

4. Se confirma que la localización intracelular de las deshidrogenasas se encuentra exclusivamente en las mitocondrias.

# Estructura del cuerpo carotídeo en el hombre y en algunos animales superiores

DRES. ISAAC COSTERO Y ROSARIO BARROSO-MOGUEL. INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA, MÉXICO, D. F.

Los conocimientos actuales sobre la estructura y la función del cuerpo carotídeo pueden encontrarse resumidos en los buenos libros de Histología. Por ejemplo, Ham dice como sigue:

Hay unos pocos lugares del sistema vascular, donde los vasos contienen muy abundantes terminaciones nerviosas, especializadas en la recepción de los cambios en la presión arterial. En otros lugares, hay terminaciones nerviosas complejas, sensitivas a los cambios en la composición química de la sangre. El seno carotídeo y el cuerpo carotídeo sirven como excelentes ejemplos de tales estructuras. El cuerpo carotídeo es una pequeña condensación de tejido situada junto a la pared de la arteria carótida interna. Tiene una estructura semejante a la de una glándula endocrina, pues está formada por cúmulos de células epitelioides y abundantes capilares sinúales; las células epitelioides están ricamente invadas. Los cambios en la concentración de dióxido de carbono o de oxígeno en la sangre parecen estimular a las células epitelioides. Impulsos nerviosos originados en ellas son conducidas a los centros cerebrales que regulan el corazón y las arterias. Estructuras semejantes, de menor tamaño, se encuen-

tran también junto al arco aórtico, junto a la arteria pulmonar y en el origen de la arteria subclavia derecha. Delicados receptores a la presión arterial están también presentes en la pared de las grandes venas cercanas al corazón.

La descripción precedente puede servir de ejemplo a las que se encuentran con frecuencia en la bibliografía anatómica y anatomopatológica: están parcialmente anticuadas y contienen algunos errores. Tales defectos deben atribuirse a la dispersión con la que se han publicado los trabajos originales, ya que datos de morfología normal se encuentran en revistas de Anatomía Patológica, y la fisiología del cuerpo carotídeo ha aparecido parcialmente en libros y publicaciones de Morfología.

Preocupados por el grave problema de la hipertensión arterial en el hombre, y partiendo del estudio morfológico del tumor del cuerpo carotídeo, hemos contribuido durante los últimos años al conocimiento de la estructura de los quimiorreceptores en la forma que vamos a resumir a continuación.

Comenzaremos por disipar algunos errores de concepto, frecuentes en la literatura. A), el Cuerpo carotídeo no es un

ganglio nervioso, como creyó von Luschka; ni una glándula endocrina, como advirtieron los anatómicos clásicos (Testut); ni una anastomosis arteriovenosa glómica, como sostuvieron Arnold y Schumacher; ni un paraganglio cromafín (Kohn) o no cromafín (Watzka). Los verdaderos paraganglios son glándulas secretoras de catecolaminas y situadas, en relación directa con el sistema de ganglios nerviosos simpáticos, en la cavidad abdominal, por debajo del diafragma.

El cuerpo carotídeo es un quimiorreceptor, es decir, un aparato sensitivo algo así como el órgano del gusto de la sangre; es decir, un aparato sensitivo, como demostró De Castro desde 1829. De él parten impulsos cuando baja la tensión de oxígeno o sube la de anhídrido carbónico en la sangre, circulante por las arterias, y el efecto funcional consiste en aumentar la intensidad de los movimientos respiratorios, sin cambiar notablemente su frecuencia (Heymans). *B*). Las células del cuerpo carotídeo no son epitelioides, porque no constituyen un mosaico, sino piriformes y monopolares, las unas; redondeadas y con granulaciones argentafines, las otras. *C*). Por ningún concepto debe llamarse glomus al órgano, ni glómicas a sus células; los abundantes vasos son sinusoides y están profusamente anastomosados, pero no forman ningún ovillo; *D*). El cuerpo carotídeo es el quimiorreceptor más voluminoso; además hay otros muchos bien definidos 1) junto al ganglio timpánico, próximo a la vena yugular, dentro del peñasco; 2) junto al ganglio ciliar, dentro de la órbita; 3) junto al cayado aórtico (cuerpos de Penitzka); 4) junto a la arteria pulmonar; 5) muchos otros, peor definidos, a lo largo de la arteria carótida interna y 6) de las ramas delgadas de la arte-

ria pulmonar, también en los ganglios nerviosos cervicotorácicos, sobre todo en el nodoso del vago. *E*). El seno carotídeo es una dilatación de la arteria carótida interna, desarrollada en su iniciación y anatómicamente vecina al cuerpo carotídeo; tiene profusa inervación sensitiva que recoge los cambios en la presión arterial y los transmite a los centros, creando un reflejo cuyo efecto consiste en regular la propia presión arterial. Los nervios sensitivos presorreceptores del seno carotídeo atraviesan el cuerpo carotídeo y se suman a los nervios quimiorreceptores ahí originados, para formar el nervio de Hering o nervio senocarotídeo, que se une pronto al glosofaríngeo; sin embargo, las dos funciones, presorreceptora del seno y quimiorreceptora del cuerpo, son diferentes y tienen resultados diversos, de manera que seno y cuerpo, anatómicamente asociados, deben considerarse fisiológicamente como estructuras separadas e independientes.

El cuerpo carotídeo humano normal está situado junto a la bifurcación de la arteria carótida primitiva en sus dos ramas, interna y externa, por dentro de dichos vasos. Sus relaciones anatomofuncionales más importantes son: con el nervio glosofaríngeo a través del nervio de Hering o senocarotídeo, y con el ganglio cervical superior del sistema simpático vecino. En el perro pueden disecarse: 1, la arteria carótida primitiva; 2, la carótida interna; 3, el ganglio simpático cervical superior; 4, la arteria del cuerpo carotídeo; 5, el nervio de Hering; 6, ramos simpáticos de la pared carotídea; 7, la arteria maxilar interna; 8, la arteria lingual; y 9, la arteria carótida externa.

El cuerpo carotídeo tiene estructura compleja, con el patrón histológico si-

guiente. Sus elementos específicos son las células principales, situadas en íntima vecindad con células argentafines; unas y otras se asocian íntimamente en pequeños lobulillos, envueltos en células periolobulillares de tipo histiocitario. Alguna vez las células periolobulillares pueden almacenar granulaciones argentafines. Los lobulillos quedan separados entre sí por escasa cantidad de tejido conectivo laxo, en el que siempre hay cantidad considerable de células cebadas y gran número de amplios vasos sanguíneos capilares sinusoides, también de vasos linfáticos intersticiales. Al cuerpo carotídeo penetran gran número de filetes nerviosos simpáticos procedentes del ganglio cervical superior, cuyas fibras acaban en forma de amplios meniscos y finas cestas terminales en torno a las células argentafines. Del cuerpo carotídeo sale el nervio de Hering, que recoge todas las fibras nerviosas presorreceptoras originadas en la pared del seno carotídeo, y todas las fibras nerviosas quimiorreceptoras nacidas en sinapsis con la células principales del cuerpo carotídeo.

El esquema funcional que, en el estado de nuestros conocimientos, podemos hacer del cuerpo carotídeo, es como sigue. Las células principales son sensibles a los cambios en la tensión de oxígeno y de anhídrido carbónico sufridos por la sangre que circula por los vasos sinusoides vecinos. Su excitación se trasmite a las fibras nerviosas que salen por el nervio de Hering, alcanzan el glossofaríngeo y tiene su cuerpo celular en el ganglio petroso. Por caminos aún no exactamente determinados, la excitación alcanza los centros motores de los músculos respiratorios, que resultan el órgano efector del arco reflejo, en la forma ya mencionada antes.

Las células argentafines deben segregar catecolaminas, concretamente noradrenalina (Glener y colaboradores). Es probable que la noradrenalina se gaste en gran parte durante la función específica del cuerpo carotídeo, de manera aún no determinada, quizá como neurohormona de la sinapsis sensitiva. Pero alguna cantidad debe pasar también a la sangre. Al menos, en el llamado tumor del cuerpo carotídeo, que en realidad se comporta como una hiperplasia del órgano normal, el masaje sobre el tumor puede provocar hipertensión con eliminación por la orina de catabolitos de la noradrenalina. Probablemente las células periolobulillares, actuando como macrófagos, contribuyen a la destrucción y eliminación de la noradrenalina sobrante.

El cuerpo carotídeo es un organito diminuto. Visto a pequeño aumento, puede caber bajo un solo campo microscópico. Las células principales se distribuyen con irregularidad en los lobulillos microscópicos y presentan configuraciones "epitelioide" cuando se tiñen con anilinas. Aun cuando polimorfos en el hombre adulto normal, predominan las piriformes monopolares. Junto al núcleo, ocupando la porción del citoplasma más abundante, en la base de su prolongación única o principal, hay una estructura densa a la que hemos llamado centro motor. Este nombre quiere significar que, a partir de tal estructura, se producen movimientos pulsátiles semejantes a los descritos por primera vez en la oligodendroglia por Canti, Bland y Russell. Se trata de contracciones rítmicas que se inician en el cuerpo celular y se transmiten por la prolongación; en el caso de las células principales del cuerpo carotídeo, fueron observados por Chévez y parecen inyectar granulaciones intra-



citoplásmicas en la prolongación. En los cultivos "in vitro", donde los movimientos son perceptibles, la prolongación de las células principales del cuerpo carotídeo creció hasta alcanzar milímetro y medio de longitud, lo que supone unas cien veces el diámetro mayor de la célula. Las prolongaciones de las células principales terminan en pequeños ensanchamientos bulbosos agrupados en inmediata vecindad con los vasos sanguíneos sinusoides.

Las células argentafines son también intralobulillares y presentan tamaño mucho mayor que las células principales. Se distribuyen con irregularidad y se tiene la impresión de que no todas encierran suficiente cantidad de substancia argenterreductora como para aparecer teñidas en los cortes histológicos. Su forma es variadísima y produce la impresión de que vacían sus granulaciones en los intersticios. Con mucha frecuencia una célula argentafín abraza o envuelve a una o varias células principales. Lo más importante de esta asociación entre las células argentafines y las principales es la constitución de complejos sinápticos, en cuya formación intervienen por lo menos una célula argentafín abrazadora, una célula principal, terminaciones nerviosas simpáticas para la célula argentafín e iniciaciones nerviosas sensitivas, en sinapsis con la célula principal; alguna célula perilobulillar cargada de granulaciones argentafines completa tan singular imagen histológica.

La riqueza en fibras nerviosas del cuerpo carotídeo es conocida desde von Lushcka. Se presentan tres aspectos de los filetes nerviosos más gruesos que recorren el cuerpo carotídeo humano normal. Y tienen otros tantos aspectos de las fibras nerviosas más finas. Para

distinguir si son simpáticas eferentes, o sensitivas aferentes, es necesario cortar las conexiones con el ganglio cervical o con el nervio de Hering, respectivamente. En el primer caso desaparecen las células argentafines, en el segundo se atrofian las células principales y quedan las argentafines sobrecargadas de granulaciones argenterreductoras.

El tejido conectivo, con su armazón alveolar de fibras precolágenas reticulares argentófilas, es bien conocido. Lo recordemos. También presentamos dos imágenes de células cebadas para recordar su existencia; puesto que segregan heparina e histamina, quizá también serotonina, deben ser importantes para regular la circulación sanguínea por los vasos sinusoides del cuerpo carotídeo, tan predominantes en el cuadro histológico.

Hemos señalado antes la conveniencia de separar la función presorreceptora encomendada al seno carotídeo, de la función quimiorreceptora, propia del cuerpo carotídeo y de los corpúsculos con idéntica estructura, repartidos desde la base del cráneo hasta el diafragma en el hombre. Sin embargo, resulta sorprendente que las relaciones anatómicas entre los presorreceptores y los quimiorreceptores humanos se mantengan, con modalidades muy diversas, en los animales inferiores. Para ilustrar un tan notable detalle anatómico me permito presentar a ustedes un estudio comparado de las estructuras correspondientes en anfibios y en peces elasmobranquios.

En los anfibios, la arteria carótida interna presenta una tumefacción redondeada, el laberinto carotídeo, innervado por el nervio glossofaríngeo, la rama laríngea del nervio vago y los ganglios simpáticos vecinos. La cavidad central del laberinto está perforada por una

multitud de pequeños orificios limitados por un plexo capilar muy denso, cuyos vasitos se reúnen para formar las raíces de la arteria carótida interna. La pared del laberinto carotídeo no tiene fibras musculares o están en muy pequeño número. En cambio, la masa de tejido central es muy rica en célula, la mayoría de las cuales pueden compararse a las principales del cuerpo carotídeo de los mamíferos (Boissezon, Chowdhary, Smith) mientras que la tumefacción vascular parece contener presorreceptores, como el seno carotídeo (Meyer, Neil *et al*). Si, además, el laberinto carotídeo de los anfibios regula el paso de la sangre hacia la cabeza, es un problema todavía no resuelto. En corte topográfico del laberinto se marca su estructura general; en otros cortes se presenta un detalle de la porción laberíntica presorrecptora, fotografica con dos aumentos diferentes; y corresponde al nódulo intraarterial que, en los anfibios, puede considerarse como cuerpo carotídeo.

También esquemáticamente podemos representar la posible función del cuerpo carotídeo de los anfibios. Los centros nerviosos simpáticos excitan a la médula suprarrenal, cuyas células cromafines segregan las catecolaminas que actúan directamente sobre las fibras musculares lisas de los vasos sanguíneos, provocando hipertensión arterial. Por otra parte, fibras nerviosas presorreceptoras, situadas en la pared de territorios arteriales especiales, singularmente en la del laberinto carotídeo, se excitan cuando baja la presión sanguínea y transmiten su excitación a los centros vasomotores, produciendo contracción de las fibras lisas en las arteriolas, recuperándose así la tensión perdida. Además, células ganglionares sensitivas se impresionan por

los cambios de tensión de oxígeno y de anhídrido carbónico que perciben las células del cuerpo carotídeo; éstas se encuentran situadas dentro de la sangre oxigenada a presión que circula por el laberinto carotídeo; el arco reflejo, así iniciado, termina en las fibras musculares estriadas que regulan los movimientos respiratorios.

En los elasmobranquios, el órgano presoroquimiorreceptor se llamó "corazón axilar" (Duvernoy), queda diseminado en no menos de siete pares de gruesos órganos en la vecindad inmediata de los ganglios simpáticos abdominados y por dentro de la pared del seno venoso cardinal posterior, en cada lado; en esta pared existen presorreceptores. Existe en el mismo campo microscópico, la porción ganglionar y la porción nerviosa; aquella está con mayor detalle, como puede verse en la estructura de un ganglio simpático ordinario con grandes neuromas, algunas binucleadas. La porción glandular es un órgano cromafin semejante a la médula suprarrenal (Leydig) que segrega catecolaminas (Oliver y Schäffer, Shepherd y West). Y los presorreceptores constituyen curiosas formaciones fibroneurales que, a modo de remolinos, se extienden por la pared del seno venoso.

Si quisiéramos ahora establecer el esquema correspondiente a la función del "corazón axilar" de los elasmobranquios, podríamos basarnos en las fibras nerviosas presorreceptoras que deben transmitir su excitación a las células simpáticas inmediatamente vecinas, que estimulan por una parte, a los elementos cromafines secretores de noradrenalina; y, por otra parte, a las células simpáticas que deben excitar directamente las fibras musculares lisas del seno venoso. De esta

manera, al bajar la presión sanguínea en el seno venoso (lo que sucederá tantas veces como el pez alcance, desde las grandes profundidades, la superficie del mar), deben contraerse las fibras musculares de su pared, excitadas por las neuronas simpáticas vecinas, y las fibras musculares de sitios alejados en los otros troncos vasculares, alcanzadas por la noradrenalina, quizá vertida directamente a la sangre venosa.

Como punto de comparación veamos finalmente un esquema similar de las funciones relacionadas con el cuerpo y el seno carotídeos de los mamíferos. Efectores simpáticos excitan dos clases de células nerviosas periféricas: a) unas provocan la secreción de catecolaminas en las células cromafines de la médula suprarrenal y de los paraganglios abdominales, catecolaminas que actúan sobre las fibras musculares lisas de los vasos sanguíneos, provocan hipertensión arterial; b) otras pro-

vocan la secreción de adrenalina en las células argentafines de los quimiorreceptores; ésta noradrenalina interviene en la sinapsis entre las células quimiorreceptoras que perciben los cambios de oxígeno y de anhídrico carbónico en la sangre, y la célula sensitiva de los ganglios centrales que transmite su excitación a los centros respiratorios; se regula así la hematosis. Además, fibras presorreceptoras de la pared arterial, en particular en el seno carotídeo, transmiten su excitación a los núcleos vasomotores que se conectan con las fibras musculares lisas de los vasos sanguíneos.

Pensamos que un análisis más detallado de las estructuras que acabamos de presentarles mejorará el conocimiento anatómico de los órganos presoquimiorreceptores y contribuirá a hacer progresar nuestra incompleta información actual sobre la complicada manera como se regula la presión arterial.

# Conexiones de la corteza visual con el tronco cerebral. Estudio anatómico en el gato

DR. ALFONSO ESCOBAR, DR. CARLOS GUZMAN-FLORES. DEPARTAMENTOS DE NEUROPATHOLOGÍA Y FISIOLÓGIA. INSTITUTO DE ESTUDIOS MÉDICOS Y BIOLÓGICOS. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

El concepto de que el sistema nervioso central posee mecanismos propios para regular la transmisión de los impulsos aferentes en las vías sensoriales se desarrolló simultáneamente con el descubrimiento anatómico de las fibras corticotalámicas por Ramón y Cajal en 1903 (15). Este expresó la posibilidad de que las fibras corticotalámicas constituyeran el motor de la atención sensorial, y fueran capaces de modificar la transición sináptica en las cadenas neuronales para facilitar la conducción en ciertas vías aferentes, o que quizás actuarían inhibiendo la conducción aferente para así dejar otras vías más expeditas; todavía con otra posibilidad, Ramón y Cajal (15) supuso que estas fibras aportarían la energía necesaria en los núcleos talámicos para intensificar las corrientes aferentes y, a ser posible, el fenómeno de la percepción.

En los últimos años, los estudios neurofisiológicos han contribuido notablemente al conocimiento de los mecanismos que

participan en la modulación de los impulsos en las vías aferentes, en los procesos de habituación y de distracción, y se ha comprobado que estos dos fenómenos obedecen a mecanismos de integración diferentes (9). El fenómeno de distracción en la vía auditiva parece estar ligado a la influencia corticofuga, de carácter inhibitorio, que originándose en la corteza visual primaria iría a proyectarse sobre los núcleos intercalados en la vía auditiva (1,10). La bibliografía anatómica no contiene información al respecto.

En este trabajo se describen las conexiones descendentes de la corteza visual específica hacia el tronco cerebral.

## MATERIAL Y METODOS.

El estudio se hizo en cuatro gatos adultos a los cuales se les extirpó el área visual del hemisferio izquierdo; los animales fueron sacrificados 11, 13, 15 y 16 días

después. Los cerebros se fijaron en formol al 10 por ciento. El estudio histológico se hizo en cortes transversales por congelación; se utilizaron el proceder de Nauta-Gygax (13) para impregnar los axones degenerados y el de Klüver y Barrera (11) para fibras mielínicas y células nerviosas.

Uno de cada 5 cortes se impregnó por el método de Nauta-Gygax.

No se empleó el método de Glees (8) por las dificultades que presenta el procedimiento y la interpretación de la degeneración de los botones sinápticos. En cambio en muchos aspectos el método de Nauta ofrece menos posibilidades de error, como ya lo han demostrado Bowsher, Boodal y Walberg (3). De acuerdo con estos autores, las conexiones que a continuación se describen comprenden aquellos núcleos neuronales en los que pudo observarse claramente la llamada "arborización pericelular" o "degeneración preferencial".

## RESULTADOS

Se pudo establecer que la corteza visual primaria del gato proyecta a los núcleos del tronco cerebral como sigue:

I. *Tubérculo cuadrigémino superior*, principalmente al *stratum griseum intermedium* y, en menor número, en el *stratum opticum*. La proyección es ipsilateral, aunque un número muy escaso de axones degenerados pudo ser detectada en las áreas homólogas del tubérculo cuadrigémino superior contralateral.

II. Núcleos reticulares del *tegmentum mesencefálico* en la región dorsal y lateral al núcleo rojo. La conexión es ipsilateral aunque existe un contingente muy pequeño a los núcleos contralaterales.

III. Núcleos reticulares del *tegmentum protuberancial*, ipsilateral a la lesión.

IV. *Núcleos del rafé y los núcleos reticulares pontis caudales* en la región del complejo olivar superior. Proyección ipsilateral.

V. *Núcleo rojo, porción magnocefalar*, proyección en escaso número, ipsilateral y contralateral.

VI. *Porción dorsal del núcleo del lemnisco lateral*, proyección bien definida, ipsilateral.

VII. *Núcleos del puente, dorso y ventromediales*, y lateral; proyección ipsilateral, muy abundante. Existe un pequeño contingente de axones degenerados a los núcleos del puente contralaterales, pero solamente a los núcleos laterales de la porción más rostral de la protuberancia.

Otras conexiones intrahemisféricas fueron las siguientes:

a) *A la corteza visual contralateral*, a través del cuerpo caloso.

b) *Cuerpo geniculado lateral, pars dorsalis A<sub>1</sub>*, y a la *porción posterior del núcleo perigeniculado*, proyección ipsilateral abundante. Algunas fibras degeneradas pudieron observarse en las células del hilio del cuerpo geniculado contralateral.

c) En el área de los *núcleos medialis dorsalis y centralis lateralis del tálamo*, proyección bien definida, ipsilateral. Un número muy escaso de axones degenerados se observó en los núcleos talámicos contralaterales, a través de la masa intermedia.

d) En la *Zona incerta*, ipsilateral, abundante arborización terminal.

## COMENTARIO

A. Conexiones al tubérculo cuadrigémino superior. Esta estructura constituye

uno de los componentes de la vía visual, cuya significación funcional está en relación con los mecanismos nerviosos que controlan el diámetro pupilar. Es muy posible que las fibras descendentes de la corteza visual que llegan a este núcleo, así como las que hacen conexión con el cuerpo geniculado lateral, *pars dorsalis A*, y la porción posterior del núcleo perigeniculado constituyan en conjunto un sistema de fibras destinado a modular la reactividad de las neuronas con que conecta.

B. Conexiones a los núcleos reticulares del tegmentum mesencefálico, del tegmentum protuberancial, reticularis pontis caudales y núcleos del rafé.

Los núcleos reticulares de tegmentum mesencefálico constituyen grupos neuronales mal definidos, cuyas conexiones eferentes son ascendentes hacia la corteza cerebral y descendentes a otros núcleos reticulares del tronco cerebral y a la médula espinal. Estos núcleos, que reciben conexiones colaterales de las vías aferentes específicas intervienen en la modulación de la transmisión de estímulos sensoriales (17, 4).

Los núcleos reticularis pontis caudalis de Meesen y Olszewski (12) constituyen el punto de origen principal de las fibras reticuloespinales, en su porción superior; mientras que su porción inferior, caudal, está constituida por fibras ascendentes que forman parte del pániculo tegmental central, que se dirigen a los núcleos centromediano, intralaminares y reticulares talámicos así como al área hipotalámica dorsal y a las regiones septales y preópticas, y algunas a los núcleos lenticular y caudal. Estos núcleos intervienen en la regulación motora y sensorial a nivel espinal ejerciendo un efecto facilitador o inhibidor.

Los núcleos reticularis tegmenti pontis de Bechterew conectan con el vermis y el hemisferio cerebeloso, y sus fibras intervienen en la regulación de los impulsos táctiles a través del cerebelo y en la regulación de la esfera motora a través de las neuronas Alfa y Gamma de la médula espinal. En un estudio reciente, Brodal y cols. (5,6) han podido precisar que los núcleos del rafé proyectan principalmente hacia estructuras hemisféricas (candado, putamen, pálido), al mesencéfalo y un escaso número de fibras descendentes al cordón lateral de los niveles superiores de la médula espinal. Los estudios realizados por estos autores sugieren que estos núcleos forman parte del substrato anatómico del sistema ascendente del tronco cerebral.

C. Conexiones a la porción del núcleo rojo. Está bien establecido que esta zona representa la filogenéticamente más antigua del núcleo y, en el caso del gato, constituye la mayor porción del núcleo. Sus funciones se relacionan con la esfera motora a través del tálamo hacia la corteza y a la médula espinal por medio de conexiones descendentes.

D. Conexiones a los núcleos del puente. Estas conexiones ya habían sido descritas por Cajal y desde entonces es bien conocido que estos núcleos proyectan al cerebelo e intervienen en la regulación motora.

Considerando en conjunto las conexiones de la corteza visual al tubérculo cuadrigémino superior, a los núcleos de la formación reticular, al núcleo rojo y a los núcleos del puente, se pueden plantear 2 posibilidades sobre la significación funcional de dichas conexiones. Una se refiere a la intervención que tienen todas estas estructuras en la integración del re-

flejo de orientación de Pavlov (14) que en este caso se desencadenaría como consecuencia de un estímulo sorpresivo capaz de estimular la corteza visual; y la otra es la que se refiere a la participación que estas estructuras tienen en la modulación de la transmisión aferente y en cuyos mecanismos las conexiones descendentes de la corteza visual formarían parte de circuitos de retroalimentación.

E. Conexiones con la porción dorsal del núcleo del lemnisco lateral. Este núcleo constituye parte de la vía auditiva. Era de interés aclarar qué papel juegan las conexiones descendentes de la corteza visual hacia este núcleo. Este problema ya ha sido aclarado por los estudios experimentales de Guzmán-Flores y Alcaraz (1, 9, 10). Estos autores han podido demostrar que cuando se produce el reflejo de orientación por la aplicación de un estímulo luminoso las respuestas evocadas por un estímulo acústico en la vía auditiva disminuyen de amplitud y que este fenómeno de distracción está mediado por un efecto inhibitorio que ejercen las vías descendentes corticofugas de la corteza visual sobre las estructuras anatómicas que componen la vía auditiva, ya que cuando se quita la corteza visual desaparece el efecto inhibitorio. Por otro lado Galambos (7) ha demostrado que la estimulación de la cintilla olivococlear, conectada con el núcleo del lemnisco lateral inhibe las respuestas del nervio auditivo. Igualmente la sección de la cintilla olivococlear impide la atenuación de las respuestas en el núcleo coclear cuando se aplica el estímulo luminoso. Por lo tanto, se puede concluir que las conexiones descendentes de la corteza visual al núcleo del lemnisco lateral ejercen un efecto inhibitorio que a su vez

se transmite al núcleo coclear para así modular la transmisión aferente en la vía auditiva.

Beresford (2), en un trabajo similar, describe las conexiones corticofugas de la corteza visual del gato al hemisferio cerebral y a los núcleos del techo, pero no hace mención de las conexiones al tronco cerebral.

En resumen, se puede concluir que las conexiones descendentes de la corteza visual específica del gato a los núcleos del tronco cerebral en este animal constituyen parte de sistemas de retroalimentación que intervienen en la integración del reflejo de orientación y en la modulación de la transmisión aferente tanto en la propia vía visual como sobre otras vías sensoriales específicas e inespecíficas.

#### BIBLIOGRAFIA

1. ALCARAZ, M., PACHECO, P., Y GUZMÁN-FLORES, C.: Distracción a estímulos acústicos en gatos con sección de los músculos del oído medio. Bol. Inst. Estud. Méd. Biol., méx. 19:215-222, 1961.
2. BERESFORD, W. A.: Fibre degeneration following lesions of the visual cortex of the cat. En R. Jung y H. Kornhuber: *The Visual System: Neurophysiology and Psychophysics*. Symposium Freiburg. Springer Verlag, Berlin, 1961. Págs. 247-254.
3. BOWSER, D., BRODAL, A., Y WALBERG, F.: The relative values of the Marchi method and some silver impregnation techniques. *Brain*. 83:150-160, 1960.
4. BRODAL, A.: *The Reticular Formation of the Brain Stem. Anatomical Aspects and Functional Correlations*. Oliver and Boyd, Edinburgh, 1957. 87 págs.
5. BRODAL, A., TABER, F. Y WALBERG, F.: The raphe nuclei of the brain stem in the cat. II. Efferent connections. *J. comp. neurol.* 114: 239-259, 1960.
6. BRODAL, A., WALBERG, F., Y TABER, E.: The raphe nuclei of the brain stem in the cat. III. Afferent connections. *J. Comp. Neurol.* 114:261-281, 1960.
7. GALAMBOS, R.: Suppression of auditory nerve activity by stimulation of efferent fibers to cochlea. *J. Neurophysiol* 19:424-437, 1956.

8. GLESS, P.: Terminal degeneration within the control nerves septem as studied by a new silver method. *J. Neuropath. & Exper. Neurol.* 5:54-59, 1946.
9. GUZMÁN-FLORES, C. Y ALCÁRAZ, M.: Control central de la transmisión aferente. *Neurol. Neurocir. Psiquiat. (México)* 2:73-84, 1961.
10. GUZMÁN-FLORES, C. Y ALCÁRAZ, M.: Función de la cintilla olivo coclear en el fenómeno de distracción a estímulos acústicos. *Bol. Inst. Etsud. Méd. Biol. Méx.* 21: 1963 (en prensa).
11. KLÜVER, H. Y BARRERA, E.: A method for the combined staining of cells and fibres in the nervous system. *J. Neuropath. & Exper. Neurol.* 12:400-403, 1953.
12. MEESEN, H., Y OLSZEWSKI, J.: *A Cytoarchitectonic Atlas of the Rhombencephalon of the Rabbit*. S. Karger, Basel, New York, 1949.
13. NAUTA, W. H., Y GYGAX, P. A.: Silver impregnation of degenerating axon terminals in the central nervous system: 1) Technic; 2) chemical notes. *Stain Technol.* 26:5-11, 1951.
14. PAVLOV, I. P.: *Los reflejos condicionados*. Trad. 2ª Ed., México, 1942.
15. RAMÓN-CAJAL, S.: Las fibras nerviosas de origen cerebral del tubérculo cuadrigémino anterior y tálamo óptico. *Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid.* 2:5-21, 1903.
16. RAMÓN-CAJAL, S.: *Histologie du Systeme Nerveux de l'Homme et des Vertébrés*, Maloure, Paris, 1911, Vol. II, pág. 993.
17. ROSSI, G. F., Y ZANCHETTI, A.: The brain stem reticular formation. *Anatomy and physiology.* *Arch. Ital. Biol.* 95:199-435, 1957.



# Abstractos de investigaciones anatómicas, antropológicas, embriológicas e histológicas

Tomados de: EXCEPTA MEDICA. Vol 17. No. 11. Sec. I. Nov. de 1963. THE INTERNATIONAL MEDICAL ABSTRACTING SERVICE.

## 5003. LA MORFOLOGÍA DEL PLEXO SOLAR (Rusia).

El ganglio semilunar del plexo celiaco, fue investigado en 30 gatos por el método de la disección anatómica de V.P. Vorobev. El plexo celiaco está situado al nivel de la L-1-2 y consta de numerosos grupos de fibras, entre las cuales se localiza el par principal del ganglio semilunar y el impar mesentérico. La variedad mayor de formas del ganglio semilunar, se encuentra generalmente al nivel del comienzo de la arteria mesentérica superior. Muchos de sus filamentos están concentrados en sus polos, formando los plexos arteriales. Los nervios esplénicos mayores y los menores, unen independientemente el ganglio semilunar en sus lados respectivos.

## 5011. EL TIEMPO DETERMINA LA EVOLUCIÓN Y LAS VARIEDADES DE LAS ARTERIAS DE LA DURAMADRE DEL CEREBELO HUMANO (Rusia).

Se practicó una investigación en 222 lados de 111 cabezas de cadáveres en sujetos desde 3 meses de vida intrauteri-

na, a 70 años de edad. Se encontraron 25 dolicocefálicos, 29 mesocefálicos y 57 braquicefálicos. El sistema arterial de ambas cabezas, se inyectó por las arterias carotídeas, un medio de contraste de Rayos X (conducto rojo) y con material ordinario (hollín). Las arterias meníngeas anteriores, adquieren su mayor crecimiento al cuarto año de vida, y la arteria meníngea posterior y la mediana, a los tres meses del nacimiento. El canal de la rama anterior de la arteria meníngea mediana, puede tener de dos a 4 orificios de entrada. Este canal se encuentra en 50% de los casos: lo que si es muy raro, es encontrar un canal para la rama posterior de esta arteria. En los fetos y niños de 2 años, la rama anterior de la arteria meníngea media, se localiza en la profundidad de la dura a un lado de la futura sutura. Pares de arterias meníngeas anterior, media y posterior, están formadas ya en los fetos, las cuales constituyen una red anastomótica en el espesor de la duramadre. Las variantes notadas son: 1) origen de la arteria meníngea media, directamente de la arteria carotídea externa; 2) con origen en la rama anterior de esta arteria localizadas en la órbita; y 3) con varias dis-

posiciones de la rama posterior de la arteria meníngea media.

5012. VENAS DEL NERVIIO LINGUAL Y CUERDA DEL TÍMPANO EN EL FETO HUMANO Y EL RECIÉN NACIDO (Rusia).

El método de inyección fué usado para estudiar los vasos del nervio lingual y cuerda del tímpano en cadáveres de recién nacidos (10) y fetos en los últimos meses de su desarrollo. Se estableció que la sangre venosa de la lengua y la cuerda del tímpano, fluye dentro del sistema venoso común facial (el plexo pterygoideo y la vena lingual). Dentro de los troncos nerviosos del nervio lingual y de la cuerda del tímpano, hay una gran extensión de anastomosis de pequeños vasos venosos. Las venas endoneurales pasan dentro del neurilema y luego dentro de las venas del epineurilema. El número de venas que se encontró dentro de los troncos nerviosos, es mayor en los recién nacidos que en los fetos.

5013. ESTUDIO ANATÓMICO DEL NERVIIO ALVEOLAR INFERIOR Y EL NERVIIO LINGUAL (Japonés).

En 70% de los 33 cadáveres de japoneses que se estudiaron, el nervio alveolar inferior desciende hasta llegar casi paralelamente al margen posterior de las ramas maxilares, entrando al foramen maxilar. Se encontraron anastomosis con el nervio auriculotemporal en 15% y el mayor nivel de ramificación de la rama retromolar en 9.7%. En la mitad de los casos, el nervio lingual se divide cerca del atrium ganglionar, y a un nivel mu-

cho más bajo, en la otra mitad. La mitad superior de este nervio se encontró en relación con el nervio alveolar inferior en 50%. Anastomosis entre los dos en 32.3% En estos últimos casos, la fibra anastomosada se origina del nervio alveolar inferior siguiendo al nervio lingual en más de su mitad.

5014. RAMAS CUTÁNEAS DE LA RAMA DORSAL (PRIMARIA) DE LOS NERVIOS CERVICALES (Universidad de Oregon).

El concepto de que los nervios cervicales tienen solamente ramas cutáneas, desde su rama dorsal, como son las C<sub>2</sub>, 3, 4, y 5 (6) han sido recientemente investigadas por Keegan y Garrett ('48). Estos autores han demostrado que dermatomas situadas en C<sub>5</sub> y D<sub>1</sub> se extienden como una serie de bandas en la línea media dorsal interna de los miembros. Se encontraron ramas cutáneas independientes de la rama dorsal, en 10 conejos y 15 embriones humanos. Los nervios fueron estudiados bilateralmente en un total de 20 conejos y 30 humanos, observándose dichos nervios espinales al mismo nivel. En el caso de conejos, pudieron demostrarse ramas cutáneas de la rama dorsal de C<sub>2</sub>, 4, 5, 6, y 7. Cervical 8 ramas cutáneas en 17 casos y D<sub>1</sub> en 19.

En su mayoría las cervicales 1 y 3 tuvieron ramas cutáneas. En embriones humanos, C<sub>2</sub> y C<sub>3</sub> tuvieron ramas cutáneas en todos los casos y C<sub>4</sub> en todos menos en uno. Ramas cutáneas de C<sub>5</sub> se presentaron en 22 casos. Los cervicales 1 y 6 tuvieron ramas cutáneas en 2, C<sub>7</sub> en 5, C<sub>8</sub> en 6 y D<sub>1</sub> en 28 casos. Se observaron algunas ramas comunicantes. La

distribución de nervios cutáneos en el conejo, sostuvo lo sugerido por Keegan y Garrett ('48), sin embargo, en embriones humanos parece sostener las antiguas características de los dermatomas, demostrando un hundimiento en los niveles cervicales bajos.

5017. IMPORTANCIA DE LA ASIMETRÍA DEL NERVIOS HEPÁTICO EN SU FUNCIÓN (Rusia).

Se examinaron 140 casos (82 masculinos y 58 femeninos) desde embriones hasta adultos de 70 años de edad. El plexo hepático, se forma del nervio vago y de la mitad derecha del plexo celiaco, conectado con la vía de los nervios hipogástricos y las cadenas del simpático del lado correspondiente. La rama anterior del vago, corre hacia la curvatura más baja del estómago dando la rama hepática que se relaciona en el mediastino con la rama gástrica al nivel del hiatus. La rama hepática inerva principalmente el lóbulo izquierdo del hígado. En el 55.7% de los casos, esta rama del vago se comunica con la posterior. Esta última se divide a su vez, en dos ramas al nivel del origen de la arteria gástrica izquierda, con la cual se introduce en la mitad izquierda y derecha del plexo celiaco.

5018. LA DISTRIBUCIÓN TOPOGRÁFICA DE LAS ESTRUCTURAS DE LOS NERVIOS EN EL PERIOSTIO ESQUELÉTICO DE LA EXTREMIDAD SUPERIOR EN EL HOMBRE (Rusia).

El método de impregnación con plata, fué empleado para el examen de las estructuras de los nervios de las extremi-

dades superiores de 26 cadáveres humanos de varias edades. Se encontró que el periostio contiene varios tipos de terminaciones nerviosas. Se observó que las fibras libres del nervio terminal se extienden paralelamente a las fibras del tejido conectivo. Terminaciones libres glomerulares encapsuladas como estructuras, corpúsculos de Ruffini y Glomi, bulbos sensores y corpúsculos de Vater-Pacini también fueron encontrados. Los receptores periosteales fueron mucho más numerosos en la parte posterior del canal del nervio radial en el tercio medio del húmero, y en el tercio superior y mediano del cúbito.

5019. INERVACIÓN DEL ESTERNÓN (Rusia).

Se hizo un estudio el 15 esternones de cadáveres humanos de ambos sexos y varias edades, y 9 esternones de perros. La distribución de la inervación de las ramas del esternón fué de (1) 6-7 nervios intercostales; (2) nervios supraclaviculares del plexo cervical; (3) nervios torácicos anteriores del plexo branquial; (4) plexos perivasculares de los nervios torácicos internos y (5) por el nervio accesorio. El total de ramas para el esternón, fué 72-98; de estos, 20-30 van al manubrio, 47-66 al cuerpo y 5-6 al proceso ensiforme.

5024. ESTUDIO DE RESISTENCIA Y DUREZA DEL ESÓFAGO. (Japonés).

Se examinó el esófago en 53 cadáveres humanos de los 2 a los 77 años. El tercio superior, medio e inferior de cada uno, fueron examinados separadamente, comparándose con los de león, caballo, vaca, cerdo salvaje, venado, perro, gato,

conejo, guajolote y gallina. La delgadez de la pared y de resistencia de dureza a la máxima extensibilidad, fueron superiores en los correspondientes a la segunda década.

5025. LA CONEXIÓN DEL CONDUCTO CÍSTICO CON EL HEPÁTICO DERECHO. (Rusia).

Se practicó una investigación sobre 418 cadáveres humanos de varias edades. Se encontró un conducto cisticohepático en 8 casos y 4 tipos de formación de este conducto: (1) por unión del conducto cístico con el conducto hepático derecho (un caso), (2) unión del conducto hepático antero-superior derecho (un caso), (3) unión del conducto cístico y un conducto común incompleto (2 casos). en todos los casos el conducto cístico-hepático drenaba bilis del lóbulo derecho del hígado y en 2 casos del lóbulo izquierdo.

5026. CORAZONES DE INFANTES Y NIÑOS, SU PESO Y MEDIDA. (E.U.A.)

Se analizaron 1,847 corazones comprendiendo edades desde el 5º mes de gestación hasta los 12 años. Se estudió su peso, la delgadez de sus paredes tanto del ventrículo derecho como del izquierdo, y la circunferencia de los orificios valvulares.

Los datos presentados en forma tabular, expresaron valores para cada edad, junto con su desviación estandar y error estándar del caso. Los datos se registrados separadamente para los dos sexos, demostrando que el peso cardíaco en el masculino, es mucho mayor que en el fe-

menino, a pesar de que la diferencia no es estadísticamente significativa en la mayoría de las edades. El peso del corazón permanece constante durante el primer mes de vida, aumentando con el crecimiento. En los casos en que encontramos decrecimiento en el ventrículo derecho al nacimiento, no se recupera en ninguno de los del estudio. El aumento de espesor del ventrículo izquierdo, es mayor durante el primer mes de vida que en cualquier otro período.

5033. VASOS ARTERIALES EN EL TÁLAMO ÓPTICO DEL HOMBRE (Rusia).

Varios métodos de inyección se usaron para estudiar 100 cerebros (200 preparaciones de tálamos ópticos) en cadáveres de ambos sexos y diferentes edades. Las irrigaciones sanguíneas del tálamo óptico son: las arterias cerebrales media y posterior, la comunicata posterior y el ramo anterior del plexo carotideo.

Se encontraron tres grupos de arterias (anterior, media y posterior) en el tálamo óptico, dominando en el tubérculo anterior los pares mediano y pulvinar respectivamente. Cuatro o cinco arterias que pasan al tálamo anterior, y 3 ó 4 arterias que vienen de la arteria cerebral media. Estas ramas de vasos forman un tejido muy cerrado en el sistema arterial. La arteria cerebral media contiene de 13 a 14 ramas, y la cerebral posterior de 6 a 8 ramas, las cuales van a dar a la parte media del tálamo. La pulvinar superior dá 6-7 ramas de la cerebral media y 9-11 ramas de la cerebral posterior, y 3-4 ramas de la arteria anterior en el plexo vascular. Todos estos vasos se

anastomosan entre sí formando una densa madeja como la de un ovillo.

5034. VARIACIONES EN EL CURSO DE LA ARTERIA CEREBRAL EN EL HUMANO (Rusia).

El estudio de disecciones hechas en 50 cerebros masculinos y 50 femeninos, revelaron diferentes situaciones del tronco principal de la arteria cerebral anterior, sobre la parte media del hemisferio cerebral. En el tipo I, el vaso en la mayor parte de su extenso curso a través de la parte dorsal del cuerpo calloso se aproxima a él. En el tipo II la arteria corre a través del dorsal del cuerpo calloso, enviando 3 ramas a la parte media del hemisferio contralateral. En el tipo III el tronco principal corre a través del surco calloso marginalis o entre éste y el cuerpo calloso. Existen muchas variaciones en cada tipo. El tronco principal de la arteria cerebral anterior se subdivide usualmente en mayor número de ramas. Las ramas periféricas cuentan con numerosos tipos de ramificaciones. Las ramas de la arteria se presentan en la siguiente frecuencia: olfatoria, usualmente 1-2 en un tipo de sub-ramales mayores; frontal, usualmente 3; mediana o central de 1-5 ramas; posterior de 1-5 ramas. La arteria cerebral anterior frecuentemente forma anastomosis macroscópica con las arterias cerebrales media y posterior.

5037. VENAS INTERNAS DEL CEREBRO HUMANO.

Las venas de la superficie interna de los hemisferios, fueron estudiadas en 100 adultos sanos después de aplicar inyec-

ción de látex. Se determinaron las aferentes de la vena de Galeno, morfológica y topográficamente, notándose sus dimensiones y calibre. Parece innegable que no sólo las venas superficiales sino también las profundas, drenen la corteza cerebral y a la materia blanca vecina.

Sin embargo, estas venas aferentes de variable forma y topografía, para cada una tienen un lugar general de drenaje desde sus áreas superficiales cortical, materia gris y blanda, hasta las regiones ependimal y ventricular. Estos recientes descubrimientos ameritan una nueva denominación, basada en los hechos observados para sustituir los descritos en las literaturas anteriores.

5047. ESTUDIO ANATÓMICO DE LA ARTERIA HEPÁTICA (JAPONÉS).

En el 87.5 de los 40 cadáveres estudiados, la arteria hepática derecha es rama de la arteria hepática común, corriendo dorsal o ventralmente en los conductos colédocos. La distancia entre la bifurcación de la arteria hepática correspondiente y la porta, es aproximadamente de 1.8 cms., en tanto que la bifurcación entre la arteria hepática común y el cuello de la vesícula es de 2.9 cms. y de estos a los conductos císticos de 0.78 cms. El conducto cístico une al conducto hepático a un nivel mayor que la bifurcación de la arteria hepática común; pero al mismo nivel o un poco más bajo que la vena porta y la arteria hepática correspondiente. La parte superior del conducto hepático se encontró en relación con la vena portal y la arteria hepática correspondiente que generalmente va junto a la vena porta.

5048. RAMIFICACIÓN INTRAHEPÁTICA DE LA VENA PORTA (Rusia).

El examen de 30 especímenes de hígados revelaron que el parénquima hepático está dividido en territorios vasculares de derecha e izquierda, los cuales no conectan con ningún otro por anastomosis. Los territorios vasculares observados no se les encontró relación con la subdivisión anatómica del hígado dentro de sus lóbulos. Estos territorios vasculares fueron divididos por una línea que une la porción media de la parte interna de la vesícula con la vena cava inferior. El conducto derecho de la vena porta divide en su parte media las ramas lateral y caudal, y el conducto izquierdo, irriga el lóbulo hepático izquierdo, el caudado y el cuadrado. No se observaron anastomosis entre las ramas de la vena porta. Cada rama de la vena porta, se extiende dentro de una área estrictamente confinada o segmentos. Los segmentos fueron separados entre sí, por fisuras intersegmentarias conteniendo solamente largas venas hepáticas.

5058. COMUNICACIONES ENTRE EL SISTEMA LINFÁTICO DE LA FARINGE Y EL CORAZÓN (Rusia).

Inyección picrómica del sistema linfático de la faringe y el corazón se efectuó en cadáveres de infantes. Las regiones ganglionares linfáticas del corazón son los ganglios mediastinales anterior y posterior: bifurcación de los ganglios que pasan sobre la superficie anterior de la arteria pulmonar y arco de la aorta, ganglios sobre la superficie anterior del tronco braquiocefálico y sobre las superficies anterior y posterior de la vena cava supe-

rior, y los ganglios traqueobronquiales, comunican con los sistemas linfático de la faringe y el corazón. Se encontraron en la yugular inferior (más de 5) ganglios linfáticos paratraqueales. Es evidente que la circulación de la linfa en los ganglios del mediastino tomen su curso hacia arriba, para el ángulo venoso superior, así como hacia abajo, a la región del ángulo venoso inferior en el ganglio mesentérico.

5060. COMUNICACIONES ENTRE EL SISTEMA LINFÁTICO DEL ESTÓMAGO Y DE VARIAS PORCIONES DEL INTESTINO DELGADO EN LOS NIÑOS (Rusia).

En el examen de 15 cadáveres de niños por el método de inyecciones colorantes por el método de inyecciones colorantes encontramos comunicaciones entre los sistemas linfáticos del estómago, el apéndice, ciego y colon ascendente; y en ambos casos con los ganglios linfáticos parietales. Los ganglios viscerales comunes, se sitúan en cadena a través del curso de las arterias pancreático-duodenal superior e inferior, la arteria hepática común y sobre la porción inicial del tronco de la arteria esplénica. Los ganglios linfático-parietales se encuentran al rededor de la aorta y de la vena cava inferior, a diferentes niveles del espacio retroperitoneal, desde el nivel de las ramas de la arteria celiaca, hasta el punto donde emerge la arteria mesentérica inferior.

5062. EL RIEGO LINFÁTICO COLATERAL DEL RECTO (Rusia).

En el estudio de 328 cadáveres de fetos, niños y adultos por inyecciones colorante intersticial, se revelaron las principales co-

rrientes y accesorias de la circulación linfática del recto. Los linfáticos pasan de la porción cutánea del ano (ruta inguinal media) a través de la arteria púdenda externa, de la arteria circunfleja femoral lateral (ruta inguinal lateral) y a través de la arteria glútea inferior (ruta glútea inferior). Desde las mucosas del ano y la porción perineal del recto, los linfáticos pasan a través de las arterias sacra y rectal (rutas media y lateral) sacra, inferior, media y superior rectal, la arteria obturador y las ramas del pubis (ruta obturador-púbica). De la ámpla rectal, pasan a la circulación de las arterias media y superior rectal y solamente pasan algunos a la circulación de la arteria rectal superior (ruta rectal superior). Los vasos linfáticos eferentes de todas partes del intestino y los ganglios anorrectales, pasan luego a los ganglios mesentéricos y a los ganglios de la región central, que atraviesan la raíz de la arteria mesentérica inferior. En 41 especímenes, los linfáticos de los ganglios mesentéricos del recto, divergen de la ruta rectal superior, eludiendo la región central de los ganglios para alcanzar los ganglios derecho e izquierdo aórtico o preaórtico. Se observó que los linfáticos del ganglio mesentérico pasan a los ganglios superiores, inferiores y laterales a la bifurcación aórtica y a los ganglios iliaco comunes. En 12 cadáveres, los linfáticos

de los ganglios anorrectales, no acompañaban a la arteria rectal superior, ni conectan con los ganglios mesentéricos, pero en cambio, iban directamente a los ganglios pre-aórtico y aórtico lateral o a los ganglios sub-aórtico e iliaco común medio.

#### ORIGEN DE LAS APONEUROSIS DE LA PELVIS EN EL HOMBRE (París).

Estos autores se refieren al estudio de las secciones de grandes embriones y a la disección de 15 especímenes, dando una nueva descripción de la región subperitoneal pélvica en el hombre.

De acuerdo con este estudio, las aponeurosis (especialmente las aponeurosis de Denovilliers) que limitan los recesos de la viscera, no existen. En igual forma, las envolturas vasculares, especialmente en el hipogastrio, son solamente tejidos conectivos perivasculares y están muy adheridos a los conectivos vasculares.

Los vasos y los nervios se encuentran rodeados por tejido conectivo, encontrándose espacios con aberturas por las cuales pasan todos los pedículos vasculo-nerviosos. Estos últimos están perfectamente definidos en su posición y dirección, cuando se ejerce la tracción axial moderada sobre la viscera.

DIRECTIVA DE LA SOCIEDAD  
1963 - 1966

PRESIDENTE:

DR. FERNANDO QUIROZ PAVIA

SECRETARIO:

DR. SADI DE BUEN

TESORERO:

DR. MARIO ALBA RODRIGUEZ

PRIMER VOCAL:

DR. EDUARDO BRAVO GARCIA

SEGUNDO VOCAL:

DR. ANUAR SADI

VOCAL POR HISTOLOGÍA:

DR. MIGUEL GUERRERO

VOCAL POR EMBRIOLOGÍA:

DRA. AMELIA SAMANO BISHOP

VOCAL POR RADIOLOGÍA:

DRA. ALICIA TIRADO

PRESIDENTE HONORARIO:

DR. FERNANDO QUIROZ GUTIERREZ

SECRETARIO PERPETUO:

DR. ROGELIO CAMACHO BECERRIL