

tenga muy delgadas las tunicas de aquel órgano (conejo común de ocho á quince días, conejillo de Indias, rata, etc.), porque como no aparece la reacción más que en zonas muy superficiales (un tercio de milímetro de ordinario), si el animal posee una túnica muscular superficial espesa (por ejemplo, el gato y perro adultos), será imposible la penetración, hasta el plexo de Auerbach, del oxígeno del ambiente, y no habrá, por consecuencia, impregnación nerviosa.

Esta regla de escoger órganos delgados es general, y todavía debe aplicarse con más rigor en la médula espinal, retina y cerebro de los mamíferos.

Elegido el animal, se inyectará por la aorta torácica, es decir, hacia abajo, el azul (disuelto en agua salada al 0'75 por 100 ó al 0'5 por 100) en cantidad tal que el intestino adquiera un tinte azul de mediana intensidad. Una inyección forzada dará un azul oscuro, perjudicando la reacción y coloreando demasiado el fondo muscular. Acto continuo se separarán las asas intestinales, que se colgarán dentro de una cámara húmeda, de suerte que el aire las bañe por todas partes. Aquí permanecerán durante tres cuartos de hora á hora y media.

Por último, trozos de dicho órgano se fijarán, ora en picrato amónico, ora en molibdato (pág. 90). Aplicado al tubo intestinal el molibdato, tiene el inconveniente de prestar demasiada opacidad á la trama muscular; en este caso, pues, como en algunos otros, será preferido el picrato amónico de Dogiel, á causa de la propiedad que posee de transparentar notablemente los tejidos y de evitar la rigidez de los músculos lisos.

El líquido de Dogiel no es otra cosa que una solución saturada acuosa de picrato amónico á la que se añaden algunas gotas de ácido ósmico (solución de picrato, 100; solución de ácido ósmico al 1 por 100, 1).

De este líquido, donde las piezas deben permanecer de seis á veinticuatro horas, se trasladarán éstas á la glicerina saturada de picrato amónico, y en ella se abandonarán por doce á veinticuatro horas, hasta que adquieran la debida transparencia. El examen se practicará en este mismo vehículo, para lo cual será el intestino reducido por exfoliación á sus tunicas musculares, las cuales se montarán de plano sobre el porta, y se comprimirán ligeramente por una laminilla.

Es posible transformar en definitivos estos preparados. Para ello, antes de llevar las piezas á la glicerina, se las trata, como aconsejan Dogiel y Bethe, por la solución de molibdato amónico (pág. 90), donde permanecen de doce á veinticuatro horas. Aquí el precipitado de azul de metileno se vuelve insoluble en alcohol, y podremos, por consiguiente, deshidratar la preparación y montarla en bálamo á la manera ordinaria.

Citemos otro ejemplo: la coloración de la retina de las aves. El animal preferido será la paloma, porque su retina es muy delgada y extensa. También serán ventajosos la gallina, el gato y el conejo.

Aquí se puede teñir por lubricación ó por inyección; ambos procedimientos dan buen resultado. No obstante, si deseamos la coloración de las fibras centrifugas, debe ser preferida la inyección. Con tal objeto, se hace penetrar el líquido por las carótidas, se extirpan inmediatamente los globos oculares, se separa con las tijeras el hemisferio posterior de los mismos, que se privará del humor vítreo, y una vez la retina al descubierto, se mantendrá por una hora en cámara húmeda. Para fijar, en este caso, escogeremos el molibdato, en cuya solución quedará la retina de seis á veinticuatro horas.

Si se desea observar la retina de plano, montada en preparación definitiva, se lavará primeramente durante media hora con agua para extraer el molibdato (y á fin de evitar que el órgano se arrugue, convendrá practicar el lavado entre dos laminillas, echando agua por un lado y absorbiéndola mediante papel secante por otro); se deshidratará en alcohol de 40° ó absoluto que contenga pequeña cantidad de cloruro platínico ó que se halle á 0, como aconseja Bethe; se aclarará en xilol y se montará en d'Ammar disuelto en xilol.

Caso de ser precisa la ejecución de cortes, se procederá después de la aclaración en xilol á una inclusión en parafina. Dada la delgadez del órgano, este encastramiento podrá hacerse en una ó dos horas. Los cortes, que tendrán bastante grosor, se desparafinarán con xilol y se montarán en d'Ammar disuelto en este mismo líquido.

Los dos casos citados pueden servir de pauta para todos los demás. Mas el procedimiento de induración podrá variar según los objetos estudiados. En general, evitaremos el cortar siempre que se pueda, pues los líquidos indurantes, particularmente el alcohol, obrando á la larga, padecen algo la impregnación. Para el cerebro, asta de Ammon, médula espinal, etc., la induración necesaria á la práctica de cortes, se hará en el formol platínico (pág. 90).

El azul de metileno colora casi uniformemente de azul el protoplasma de las fibras y células nerviosas. A la manera del método de Golgi, la impregnación no se extiende á todas las células de un foco, sino que en cada preparación prefiere ciertos elementos. Por esta razón, el estudio debe también basarse en el examen de numerosísimas preparaciones.

Una advertencia para terminar con este método: la acción del aire, necesaria para la asimilación del azul, provoca en las expansiones protoplásmicas una degeneración varicosa particular, tomada como disposición normal por ciertos autores. Por igual causa se exageran notablemente también las irregularidades de las ramificaciones nerviosas que, en ocasiones, parecen sargas de granos azules unidos por puentes incoloros. Es preciso tener presentes tales alteraciones (que por cierto no aparecen en las preparaciones de Golgi gracias al empleo de la fijación previa con la mezcla osmio-bicrómica), para evitar groseros errores de interpretación. Las coloraciones que más fé deben merecernos, son las ob-

tenidas en el período inicial de la reacción, cuando las degeneraciones provocadas por el aire son poco graduadas aún.

Coloración de la neuroglia por el método de Weigert.—Mediante este método se obtiene una coloración azul específica de las fibrillas de las células neuróglícas, quedando incoloro el cuerpo mismo de éstas, cuyo protoplasma granuloso viene á ser el punto de entrecruzamiento de las citadas hebras. Tampoco se tiñen los corpúsculos epiteliales ni las espinas ó apéndices penniformes de ciertos elementos en araña (células penniformes de la substancia gris).

He aquí el *modus faciendi*:

1.º Las piezas, no muy voluminosas, de centros nerviosos humanos (en los animales, los resultados son muy inciertos) se induran previamente ya en formol al 10 por 100, ya en bicromato al 5 por 100.

2.º Dichas piezas permanecen luego, por ocho días, en el líquido siguiente:

Agua.....	100 gramos.
Acetato de cobre.....	5 —
Acido acético.....	5 —
Solución de alumbre de cromo.....	2,5 —
Formol.....	10 —

Esta solución se prepara disolviendo primeramente por cocción en agua el alumbre, y añadiendo después el ácido acético y el acetato de cobre finamente pulverizado.

3.º Induración en alcohol, inclusión en celoidina y ejecución de cortes finos.

4.º Los cortes se llevan á un líquido reductor formado por la solución al 0,3 por 100 de permanganato potásico. En este licor permanecen diez minutos.

5.º Lavado rápido en agua y sumersión de los cortes en esta solución:

Cromógeno.....	5 gramos.
Acido fórmico.....	5 —
Agua.....	100 —

Antes de usarlo, se añaden á 90 partes de este licor 10 de una solución acuosa, al 10 por 100, de sulfito de sosa.

6.º Lavado rápido en agua y coloración subsiguiente en solución concentrada de violado de metilo, á saber:

Violado de metilo disuelto á saturación en alcohol de 70°.	100 gramos.
Solución acuosa de ácido oxálico al 5 por 100.....	5 —

7.º Fijación del color mediante la solución iodo-iodurada del método de Gram (solución de iodo á saturación en yoduro de potasio al 2,5 por 100).

Este líquido se aplica durante algunos minutos sobre los cortes previamente fijados en el porta-objetos y enjugados con papel secante.

8.º Decoloración en una mezcla á partes iguales de xilol y aceite de anilina.

9.º Absorción con papel secante del exceso de xilol y montaje en bálsamo ó d'Ammar disueltos en este mismo ménstruo.

Bibliografía neurológica.—A los alumnos que deseen formarse una idea general de los progresos realizados en la histología de los centros nerviosos y terminaciones periféricas durante el último decenio, aconsejamos la lectura de las siguientes obras de conjunto:

Van Gehuchten: Le système nerveux de l'homme, 2 édit., 1897.

A. Kölliker: Handbuch der Gewebelehre des Menschen, 2. Band., 1893.

E. Eödinger: Zwölf Vorlesungen ueber den Bau der nervösen Centralorgane, 4^e Aufl., 1893. Véase también su nuevo libro: Vorlesungen ueber den Bau der nervösen Centralorgane, &. Leipzig, 1899.

v. Lenhossék: Der feinere Bau des Nervensystems im Lichte neuester Forschungen, etc., 2 Auflage, 1895.

S. Ramón Cajal: Les nouvelles idées sur la structure du système nerveux chez l'homme et chez les vertebres. 2. Tirage. Traduction de l'espagnol par le Dr. L. Azoulay. Préface de M. Mathias-Duval. Paris. C. Reinwald, 1895.

W. His: Histogenese und Zusammenhang der Nervenlemente. *Reférat in der anat. Section des Intern. méd. Congress zur Berlin.* Sitzung, 7 August 1890.

Déjerine: Anatomie des centres nerveux. Tom. I, 1895.

Los que quieran conocer más á fondo las principales fuentes de nuestros progresos sobre el mismo tema, deben consultar las Monografías siguientes:

C. Golgi: Sulla fina anatomia degli organi centrali del sistema nervoso. Milano, 1887. Una traducción al alemán de este libro, y de otros trabajos de Golgi, ha sido hecha recientemente por la casa de G. Fischer, de Jena, bajo el título de: Untersuchungen ueber den feineren Bau der centralen und peripherischen Nervensystems. Jena, 1894 (la edición italiana original está agotada).

S. R. Cajal: Sur l'origine et la direction des prolongements nerveux de la couche moléculaire du ceruelet. *Internation. Monatschr. f. Anat. u. Physiol.*, Bd. vi, 1889.

Cajal: Sur les fibres nerveuses de la couche granuleuse du ceruelet et sur l'évolution des éléments cérébelleux. *Intern. Monatschr. f. Anat. u. Physiol.*, Bd. viii, 1890.

Kölliker: Das Kleinhirn. *Zeitschr. f. wissen. Zool.*, Bd. 49, 1890.

- van Gehuchten*: La moelle épinière et le cervelet. *La cellule*, t. vi, 2 fasc., 1890.
- G. Retzius*: Die nervösen Elemente der Kleinhirnrinde, 1892. *Biologische Untersuchungen*, Bd. iii.
- G. Retzius*: Ueber die Golgi'schen Zellen und die Kletterfasern Ramon Cajal's in der Kleinhirnrinde. *Biologische Untersuchungen*, Bd. iv, 1892.
- Cajal*: Sur la structure de l'écorce cérébrale des quelques mammifères. *La cellule*, t. vii, 1891.
- P. Ramón Cajal*: El encéfalo de los reptiles, 1891.
- Martinotti*: Contributo allo studio della corteccia cerebrale, etc. *Annali di freniatria e scienze affini*, etc., et *Intern. Monatsch. f. Anat. u. Physiol.*, Bd. vii, 1890.
- Retzius*: Die Cajal'sche Zellen des Grosshirnrinde beim Menschen, etc., y Die Neuroglia des Gehirns beim Menschen und beim Säugethiere. *Biologische Untersuchungen*. Bd. v. u. vi, 1893 y 1894.
- C. Calleja*: La región olfatoria del cerebro, 1893.
- Sala Pons*: La corteza cerebral de las aves, 1893.
- Golgi*: Sulla fina struttura dei Bulbi olfaktorii. Regio-Emilia, 1875.
- Cajal*: Origen y terminación de las fibras nerviosas olfatorias. *Gaz. san. de Barcelona*, 1890.
- van Gehuchten et Martin*: Le bulbe olfatif de quelques mammifères. *La cellule*, T. ii, 1891.
- Golgi*: Ueber den feineren Bau des Rückenmarks. *Anat. Anzeiger*, n° 13 et 14, 1890.
- Cajal*: Sur l'origine et les ramifications des fibres nerveuses de la moelle embryonnaire. *Anat. Anzeiger*, n° 3 y 4, 1890.
- Kölliker*: Das Rückenmark, *Zeitschr. f. wissensch. Zool.*, B. LI, Bd. I, 1890.
- Tartuferi*: Sull Anatomia della Retina. *Intern. Monatschr. f. Anat. u. Physiol.*, 1887.
- A. Dogiel*: Ueber das Verhalten des nervösen Elemente in der Retina des Ganoiden, Reptilien, Vögel und Säugethiere. *Anat. Anzeiger*, 1888.
- Cajal*: La rétine des vertébrés. *La cellule*, T. ix, 1893.
- Cajal*: Notas preventivas sobre la retina y gran simpático de los mamíferos, 1891.
- Cajal*: Sur la fine structure du lobe optique des oiseaux et sur l'origine réelle des nerfs optiques. *Intern. Monatschr. f. Anat. u. Physiol.* Bd. viii, 1891.
- Cajal*: Estructura del asta de Ammon y Fascia dentata. *An. de la Sociedad esp. de Historia natural*, 1893.
- Cajal*: Nuevas observaciones sobre la estructura de la médula espinal de los mamíferos, 1890.

- G. Retzius*: Zur Kenntnis der Ganglienzellen des Sympathicus (1889) y Ueber Typus der sympathischen Ganglienzellen der höheren Thiere. *Biologische Untersuchungen*. Bd. iii, 1891.
- L. Sala*: Sulla fina anatomia dei ganglii del simpatico. *Monitore zool. italiano*, 1892.
- Retzius*: Weiteren über Endigungsweise des Gehörnerves. *Biologische Untersuchungen*. Bd. v, 1893.
- Cajal*: Los ganglios y plexos nerviosos del intestino de los mamíferos, 1883.
- Cajal*: Apuntes para el estudio del bulbo raquídeo, cerebelo, etc. Madrid, 1895.
- Cajal*: El azul de metileno en los centros nerviosos. *Rev. trim. microgr.*, Tomo I, 1896.
- P. Ramón*: El encéfalo del camaleón. *Rev. trim. microgr.*, Tomo I, 1896.
- Dogiel*: Die Nerven-elemente im Kleinhirn der Vögel und Säugethiere. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 47, 1896.
- Cajal*: Estudios sobre la corteza cerebral humana. *Rev. trim. microgr.*, 1899 y 1900.

Omitimos aquí, en obsequio á la brevedad, otros muchos trabajos aparecidos en los últimos años. Una bibliografía bastante completa se hallará en nuestro libro antes citado. «Les nouvelles idées sur la structure du système nerveux», etc., 1895, París, y sobre todo en la obra extensa en curso de publicación: *Histología del sistema nervioso de los vertebrados*. Madrid, 1898 á 1901.