

## Sobre el conocimiento de la histología patológica del sistema nervioso central en la rabia

Por Nicolás Achúcarro  
(con láminas VIII–XV)

Traducción de los autores al español del capítulo de Nicolás Achúcarro: Zur Kenntnis der pathologischen des Zentralnervensystem bei Tollwut. En: Histologische und histopathologische Arbeiten über die Grosshirnrinde. Eds. F. Nissl y A. Alzheimer. JENA, Gustav Fischer, 1909, Vol. 3, pp. 143-194.

A propuesta del Dr. Alzheimer, me he dedicado a investigar con los nuevos métodos histológicos las distintas alteraciones que se encuentran en el sistema nervioso central tras una infección por rabia.

Desde los años setenta ha llamado la atención de los investigadores la histología patológica en el sistema nervioso central causada por la rabia. Se han encontrado células redondas abundantes y difusas, y pequeños vasos con infiltrados; por ello se dedujo la causa inflamatoria de la rabia. Los primeros hallazgos histológicos fueron pequeñas hemorragias y multiplicaciones de los elementos propios de las paredes vasculares de la médula y cerebro, al lado de infiltrados perivasculares.

Posteriormente se reconocieron grandes vacuolas en los elementos nerviosos, y unos nódulos descritos por Babes que consideró patognomónicos, avivándose el interés diagnóstico anatomopatológico de estas formaciones.

Posteriormente, alteraciones descritas por diferentes investigadores se centraron en este elemento patognomónico. Van Gehuchten y Nelis describieron la multiplicación de elementos capsulares en los ganglios espinales, mientras que Courmont y Lessier describieron la leucocitosis. El hallazgo de un método cómodo y seguro para poner de manifiesto las neurofibrillas permitió a Cajal demostrar alteraciones marcadas en el aparato neurofibrilar de las células ganglionares, valorándolo importante como apoyo diagnóstico.

Recientemente, Siciliano ha valorado la alteración de las células ganglionares en el asta de Ammón de los conejos, y lanzado la pregunta de si estas alteraciones son específicas de la rabia. Muchos trabajos, en la mayoría de los cuales se han demostrado estas alteraciones, señalan no obstante que solo son parcialmente diagnósticas. Sin embargo, un diagnóstico seguro debe fundamentarse en un conjunto de cambios histológicos. Ya antes del descubrimiento de los corpúsculos de Negri había

información sobre hallazgos histopatológicos en los que se creía ver al germen responsable de la rabia. Un grupo de investigadores considera los cuerpos de Negri como formas del parásito de la rabia, aunque otros subrayan la falta de una demostración objetiva. El hecho de que los corpúsculos de Negri sean motivo de polémica, pudiera ser porque son intracelulares y por ello no podemos señalarlos de naturaleza parasitaria sino como alteraciones de las células ganglionares.

En cualquier caso, en los trabajos hasta ahora realizados vemos que las alteraciones producidas por la rabia muestran distintas formas de afectación de las células ganglionares, así como de la glía y aparato vascular. Si seguimos en el cerebro y en la médula la extensión del proceso patológico, comprobamos el gran interés que ofrece para el conocimiento de la histopatología del sistema nervioso central. Es un hecho la relativa semejanza de los infiltrados vasculares en la rabia, parálisis progresiva y encefalitis letárgica, lo que aumenta el interés por estudiar con los nuevos métodos histológicos las múltiples alteraciones de esta enfermedad.

Nuestro material consiste en conejos a los que se introduce el virus en el espacio subdural mediante trepanación craneal. Como es conocido, la enfermedad evoluciona de forma que en 6 o 7 días se comienzan a observar los primeros signos de parálisis. Los animales no se mantienen bien sobre sus patas, permanecen tumbados con sus miembros extendidos, para después quedar totalmente paralizados, acostados sobre un lado, enflaquecen marcadamente, y mueren en el día 10 y en casos raros en el día 11 o 12 después de la inoculación. De los 12 conejos inoculados, murieron o fueron sacrificados en los días siguientes 1 conejo en 3 días, 1 en 6 y medio, 3 en 8 días, 4 en 9, 2 en 10, 1 en 12, y el último en 12 días y medio. Se estudiaron el cerebro, cerebelo, médula oblonga, puente, médula espinal y ganglios espinales. En algunos de ellos también se

investigó el ganglio de Gasser y el ganglio nodoso. Además de este material, se estudió el asta de Ammón de un perro muerto por rabia, con especial atención a la extensión y estructura de los corpúsculos de Negri; también nos dio la posibilidad de poder explorar el cerebro, el cerebelo, la médula oblonga, el puente, el ganglio de Gasser y el ganglio nudoso de una persona de 26 años muerta por rabia.

Es conocido por los trabajos de Kraus y Clairmont que la enfermedad discurre de forma lenta en las aves, por lo que hemos inoculado dos gallinas. Solo una de ellas sufrió la enfermedad. A los 30 días de la inoculación comenzó con los primeros síntomas, con temblor en las patas, quedaba en el suelo tumbada sobre un costado y luego sobre el dorso, sin que hiciera intención alguna de cambiar de postura; una parálisis total, sin que al pellizcarle de la cresta produjera movimientos de defensa de las alas y patas. Esta situación empeoró, sin llegar a producirse una parálisis completa. No podía alimentarse, y enflaqueció marcadamente, insegura, atáxica y con parálisis, de manera que en tres días el animal no podía mantenerse de pie ni podía alimentarse. La sacrificamos 12 días después del comienzo de las alteraciones patológicas; es decir, 42 días después de la inoculación.

En la descripción de nuestros resultados hablaremos inicialmente de los infiltrados en los vasos de la pía, la parte siguiente serán las células de los ganglios, la glía, los productos de grasa reducidos, los corpúsculos de Negri y finalmente las alteraciones de las neurofibrillas.

Desde los primeros trabajos se ha considerado a la rabia como una inflamación difusa del sistema nervioso central. Benedikt describió (1875) en la pared de los vasos y en la pía una multiplicación de núcleos inflamatorios. El exudado perivascular donde los núcleos se encuentran, según el criterio de este investigador, se debe de clasificar dentro del proceso de desintegración granular de Lockhart-Clarke, y los infiltrados perivascuales que también Balzer, Meynert y otros han encontrado. La descripción de parte del proceso vascular se describió por Shaffer y Babes. Schaffer lo señala como la extensión del proceso. Demostró grandes infiltrados en una parte de la médula espinal y que ello se relacionaba con la zona nerviosa de la herida del mordisco. Nosotros podemos a través de nuestros estudios afirmar que el aparato vascular en la rabia tiene una gran parte de responsabilidad en el proceso; la mayor presencia del infiltrado no depende

solo de la puerta de entrada, sino también de la duración de la enfermedad y el tipo de animal de que se trate; en la gallina que después de 42 días de la inoculación todavía vivía, pudimos reconocer infiltraciones masivas.

Como se dijo, la inoculación se hizo perforando el cráneo y traspasando la dura. Sin embargo, no pudimos ver diferencias en los infiltrados entre distintas partes del sistema nervioso central: los hemisferios, lóbulos occipitales, el puente, cerebelo, y médula estaban extraordinariamente invadidos por infiltrados. La pía estaba totalmente infiltrada. La microfotografía en la Lámina XII (figura 1) muestra infiltrados perivascuales en la pía. La preparación se hizo tras fijación en alcohol y tinción con tionina con un corte frontal a través de los hemisferios. Un vaso se seccionó a lo largo, rodeado de gran cantidad de células. Estos infiltrados se presentan tanto en el humano como en los conejos y se tratan de linfocitos y células plasmáticas, mucho más abundantes en la gallina. Aunque las tinciones con toluidina proporcionan buenas preparaciones, hemos hecho también tinciones con verde metilo-pironina, según Pappenheim-Unna con lo que se consigue diferenciar las células plasmáticas. El corte con parafina en líquido Zenker se tiñó con azul de toluidina y después con Cromotrop. También la mezcla triácida panóptica, según Pappenheim, tras inmersión en alcohol y cortes en celoidina proporciona buenos resultados. Con esta tinción se muestra el protoplasma azul y el fondo, cuando existía, teñido en rojo. Era muy perceptible en estos casos la tendencia de las células plasmáticas a penetrar en el tejido por todas partes, incluso se encontraban fuera del espacio linfático.

De la extensión de los infiltrados disponemos de una microfotografía (Lámina XII, figura 2). El corte procede de un hemisferio de gallina. Cuando se examinan las secciones no es infrecuente encontrar células ganglionares rodeadas de células plasmáticas de tal manera que, a primera vista, dan la impresión de una proliferación de células satélite. Esta marcada difusión de los infiltrados por células plasmáticas en la rabia las distingue de la parálisis general progresiva. Con los nuevos estudios de Mott y Spielmeyer, se ha reconocido que en la enfermedad del sueño los numerosos infiltrados en los tejidos son principalmente de células plasmáticas. Los infiltrados en la zona perivascular son notablemente semejantes a los de la encefalitis letárgica. Spielmeyer subraya así mismo que hay aspectos clínicos y marcas

anatómicas semejantes en la parálisis general progresiva y en la encefalitis letárgica.

Otras observaciones señalan que en la enfermedad del sueño hay presencia de células en bastoncito. Spielmeyer a través de un brillante experimento en perros muestra la posible relación entre la degeneración de los cordones posteriores y nervio óptico en la tabes y perros inoculados con tripanosomas; es decir, una cierta coincidencia entre enfermedad metasifilítica y las alteraciones tripanosómicas del sistema nervioso central.

Hablaremos luego de la profunda alteración que sufren los elementos nerviosos en la rabia, así como la degeneración regresiva de la glía, la cual tiende a convertirse en elementos filamentosos. Se encuentran, junto a las alteraciones vasculares descritas, otros hallazgos que muestran gran semejanza con las enfermedades nombradas. En la rabia del conejo y en el humano no se extienden tanto las alteraciones vasculares como en las gallináceas. Aquí las zonas más infiltradas se encuentran en el bulbo, médula espinal y en el puente. En el cerebro del conejo, por el contrario, la proliferación de la glía se limita a determinadas zonas, siendo escasas las alteraciones vasculares. En los ganglios espinales, donde los infiltrados en el conejo son mínimos, hemos observado células plasmáticas. Curiosamente eso no era el caso en el ganglio espinal de las gallinas, que poco o nada se afectan.

Por último, queremos mencionar que, en contados casos, se pueden encontrar en el conejo pequeños focos de células granulosas en relación con la superficie pial o con el epéndimo ventricular. En la microfotografía XII, fig. 3 se muestra uno de estos focos. La preparación teñida según Nissl, procede de los tubérculos cuadrigéminos de un conejo con rabia. El foco se encuentra cerca de la superficie pial, siendo la fuerte infiltración de la pía fácilmente visible en la fotografía.

Otras alteraciones focales en la rabia son los nódulos de Babes. Proceden posiblemente de la proliferación de elementos gliales y, más especialmente, de células satélite. Dichos nódulos, que en el humano son fáciles de encontrar en el puente y la médula oblonga, faltan generalmente en conejo. Es muy posible que no tengan nada que ver con las alteraciones vasculares, ya que se pueden observar junto a vasos normales cercanos del foco o solo ligeramente alterados. La microfotografía de la Lámina XII, fig. 4, muestra la protuberancia de una persona de 26 años teñida mediante el método de Nissl,

con un nódulo de estas características que no ha llegado a tener gran tamaño. En las células ganglionares están presentes en forma de grandes grumos.

Vamos a hablar de las alteraciones que sufren las células ganglionares. Entre las variadas formas de patología que sufren, hemos seguido con especial interés aquellas alteraciones celulares que pudieran ser específicas del proceso. La circunstancia de que la degeneración nuclear esté presente en todas las partes del sistema nervioso, especialmente en presencia de corpúsculos de Negri, concede a este estudio especial interés.

Estas alteraciones hasta ahora solo se habían encontrado en el asta de Ammón y cerebelo de conejos inoculados en los que rara vez se encuentran corpúsculos de Negri, a diferencia del perro y el ser humano en los que se encuentran de forma masiva. Las alteraciones de los núcleos de las células ganglionares y formas regresivas de estas se encuentran también de forma aislada.

Varios investigadores han descrito alteraciones de los núcleos de las células ganglionares en la rabia; Schaffer (1889) los encontraba en la médula en forma de degeneración granulosa de los núcleos coloreados parcialmente con eosina, carmín, entre otras tinciones. Babes ha descrito alteraciones de los núcleos, mientras que Golgi los encuentra junto a infrecuentes imágenes cariocinéticas que no se decide a identificar como mitosis irregulares o alteraciones especiales.

Hace poco afirmaba Siciliano (1905) alteraciones en el asta de Ammón y fascia dentada de los conejos inoculados con rabia que no eran demostrables en el sistema nervioso central de otros animales, especialmente en el cerebelo. Las preparaciones se habían teñido con tionina y con el método de Biondi-Heidenhaim. Con tionina los núcleos aparecen deformados, con granos teñidos, en cuyo centro se muestra una vacuola no teñida en el interior del protoplasma. El autor hace mención de otras formas como núcleos retorcidos, con gránulos cromatínicos en mayor o menor número. Con la mezcla de Biondi se tiñen los gránulos cromatínicos muy marcadamente mientras que con la tionina empalidece la sustancia que los rodea. Siciliano califica el proceso como regresivo, sin más comentarios.

Alteraciones como éstas se encontraron en el asta de Ammón de nuestros conejos inoculados con rabia. Posiblemente corresponden a formas progresivas y regresivas del proceso. En otras partes del sistema nervioso central (corteza cerebral o tálamo) y especialmente en el cerebelo, hemos encontrado alteraciones parecidas, aunque las formas que describe Siciliano no se encuentran en el perro ni en el ser humano.

En el proceso es posible distinguir variedades distintas de formas celulares, como en los núcleos degenerados de las células de Purkinje del cerebelo o las alteraciones de las pirámides del asta de Ammón, aunque no cabe dudar en ningún momento de la identidad del proceso.

Queremos comenzar nuestra descripción con la degeneración en el cerebelo basados en los preparados obtenidos mediante la tinción panóptica con la mezcla triácida de Pappenheim. Los cortes se colorearon durante algunos segundos con solución madre y después de lavarlos se mantuvieron algunos segundos sumergidos en agua con ácido acético, y luego en un 95 por ciento de alcohol hasta que el color se volvía rojo. Una inmersión más larga eliminaba el color azul, con lo cual los preparados quedaban inutilizables. Los núcleos normales muestran los nucléolos teñidos de color azul claro, la estructura acromática se colorea de rojo, así como también la membrana nuclear. Es muy importante para valorar el componente patológico tener en cuenta que el fondo del cuerpo celular corresponde a la sustancia de Nissl (Lámina VIII A, fig. 1).

La alteración nuclear comienza con la disolución de su armazón, mientras que la membrana y el cuerpo del núcleo siguen apareciendo sin cambios. En la zona de este último, el núcleo aparece relleno con pequeños gránulos que en parte se tiñen con colorantes ácidos y en parte lo hacen con los básicos (Lámina VIII A, fig. 2).

Posteriormente se pierde la membrana y los nucléolos quedan libres, de forma que en la zona del núcleo solo queda una colección redondeada de fragmentos basófilos y acidófilos, pese a lo cual siempre se puede reconocer el protoplasma de la célula. En este estadio de la alteración nuclear ya no es posible observar la sustancia de Nissl. Toda la muestra posee un color uniformemente rojo, que con la retracción se torna cada vez más intenso (Lámina VIII A, fig. 3). Con la progresión del proceso, la frontera entre núcleo y protoplasma es cada vez menos neta, hasta que la célula adopta la forma de una bola roja, dentro de la cual se observan grumos basófilos (Lámina VIII D, fig.

4, 5 y 6). La glía rodea a los gránulos tratándolos como cuerpos extraños y los envuelven (Lámina VIII A, fig. 7 y 8).

En los núcleos de la glía del cerebelo se advierte la degeneración descrita por Siciliano en el asta de Ammón, y nosotros mismos en la fase final de la atrofia. Pensamos que cada gránulo atrófico representa a la cromatina que ha formado en el centro un grumo grande.

La relación de las células de la glía con el producto final de la degeneración nuclear con la toluidina y tionina mejoran la utilidad con la mezcla de Pappenheim. La misma mezcla la hemos utilizado en la exploración del asta de Ammón, aunque también se consiguen buenos resultados con fucsina –luz verde– y doble coloración. El método de plata reducida de Cajal con tinción posterior mediante clorhidrato proporciona también formas muy nítidas. También la impregnación con toluidina y tionina, que se tiñen metacromáticamente al núcleo, se ha mostrado muy eficaz.

Es en el estrato piramidal del asta de Ammón donde se encuentran las alteraciones de los núcleos, y raramente en la fascia dentada. Como es conocido, el estrato piramidal de los conejos muestra una línea delgada, en la cual se encuentran las células gliales muy cerca unas de otras, en parte por el escaso contenido en protoplasma, y en parte por la escasa sustancia protectora. Estas bandas, que se componen de tres o cuatro capas de células de glía, se dirigen, por un lado, hacia el hipocampo y por el otro hacia la fascia dentada, quedando un gran ensanchamiento de espacio que queda entre las células ganglionares. En la parte central, donde las células están próximas unas de otras y donde las bandas se acercan al ventrículo lateral, se encuentran los trastornos más frecuentes y marcados de los núcleos. En la zona de ensanchamiento de los engrosamientos protoplásmicos puede constatarse la mayor proliferación glial, así como depósito de productos grasos por descomposición.

Los núcleos normales en las preparaciones con azul de toluidina muestran imágenes en forma de ampolla. En el interior del núcleo se identifican los nucléolos. A pesar de que su contenido muestra un aspecto granuloso, en especial en la periferia, raramente se advierten con esta tinción. Los nucléolos en las buenas preparaciones muestran una estructura clara que se corresponde con la porción central esférica. Con preparaciones de buena calidad mediante tinción con toluidina se muestran los dos componentes de los nucléolos coloreados

metacromáticamente, con una gran bola interior rojo-violeta y la masa periférica en color verde-pardo. La metacromasia no es un hallazgo casual, sino que aparece constantemente en la mayoría de las células de conseguirse buenas preparaciones, incluso tras fijación en alcohol según la afinidad al color de cada tejido. El concepto de Levi sobre la composición de los nucléolos parece coincidir con los hallazgos histológicos, especialmente con material fijado en líquido de Hermann y, después de su reposo en parafina, coloreado con la mezcla de Biondi-Heidenhain. Con los hallazgos de este método, afirma Levi que los nucléolos de las células ganglionares en los grandes vertebrados se componen de dos sustancias separables, tanto morfológicamente como de tinción, una de ellas acidófila que reside en los nucléolos de las células ganglionares en forma de pequeñas masas y otra en la periferia presentan nucleína. Otros investigadores, y especialmente Cajal, opinaban por el contrario que en preparaciones con coloraciones sencillas la totalidad de los nucléolos de las células ganglionares muestran desviaciones del color, sea por la escasa participación de las células ganglionares en el proceso de división, o porque la nucleína se encuentra en estado de inacción en relación a su capacidad de crecimiento. Es de señalar que no se trata de una propiedad específica de los núcleos de las células ganglionares, sino que, en células de otros tejidos corporales, como, por ejemplo, los estratos de Malpighi de la piel muestran parecidas desviaciones de la normalidad. También en los carcinomas se ven estos gránulos cromatínicos centrales. No nos es posible decidir hasta dónde juegan algún papel otros procesos regresivos en los casos nombrados. En cualquier caso, es válido el argumento propuesto por Levi de que los nucléolos contienen dos sustancias distintas, estructurales y teñibles, por lo anteriormente comentado. Es verdad que por ello no se demuestra la diferenciación morfológica y clasificación de esas sustancias, como Levi describe, sin que indique que exista una estructura preexistente de los nucléolos. Las distintas presentaciones de los nucléolos por distintos métodos argumentan más bien en contra de lo anteriormente dicho.

Simarro había descrito con su método del bromuro de plata para teñir las fibrillas, que los nucléolos granulares de las células ganglionares se tiñen con intensidad. Este hallazgo fue profundizado y constatado por Cajal con su modificación del método de la plata. En verdad Levi, a través de este mismo método no lo había conseguido demostrar pese a que se podían distinguir los llamados

nucléolos accesorios. Estos últimos son distintos de los gránulos intranucleares tanto en color como en tamaño a diferencia de lo que expone Levi.

Nosotros hemos encontrado nucléolos en las células de los ganglios espinales en cortes fijados con parafina según Flemming y teñidos con fucsina verde brillante, demostrando la misma estructura que con los teñidos con plata. Los nucléolos quedan así rojos, mostrando numerosos y bien diferenciados gránulos azules en el interior. Por el contrario, en otras partes del sistema nervioso hemos encontrado nucléolos con los típicos glomérulos de Levi en la superficie en forma de anillo rojo y gránulos verdes.

Con estas observaciones se puede deducir que a través de los diferentes reactivos, los nucléolos se componen no solo de una sustancia, sino de varias con distintas respuestas según la tinción. Respecto a su clasificación morfológica, no disponemos de un método que apoye la existencia de una estructura preexistente, por lo que estas formas deben ser solo consideradas como imágenes de los nucléolos según los distintos métodos de tinción. Quizás sea cierto que las distintas imágenes sean consecuencia de la existencia de diversas sustancias. No es fácil asegurar si la sustancia basófila que se encuentra en el núcleo sea nucleína, aunque sus propiedades basófilas no sean suficiente para su reconocimiento.

La Lámina VIII B, fig. 1 y 2, muestra dos núcleos normales en el estrato piramidal del asta de Ammón. Como se advierte, el aparato nucleolar puede también ser doble. Una propiedad de estas estructuras es que ambas mantienen su identidad a pesar del proceso degenerativo del núcleo. Son reconocibles leves alteraciones porque los nucléolos mantienen su coloración específica ensalzada por la formación de numerosos gránulos. La parte acidófila muestra marcada multiplicación de forma que a veces aparecen collares compuestos por bolitas rojas, en cuyo final se anclan dos glomérulos azules.

La zona del núcleo no es solo esferiforme, sino que se muestra también en forma de pesa o de filamento. Con el método de la toluidina vemos variadas formas, tornándose más delgadas y más largas, donde destacan la atrofia y la transformación en la forma del núcleo. Los gránulos rojos son raros con este método y la sustancia azul se muestra en grandes grumos. Las membranas del núcleo son mucho más nítidas y penetran en profundidad, de forma que éste aparece como partido. En dichas formas progresivamente degeneradas los grumos azules

son mucho más gruesos que en fases anteriores. Por el contrario, la sustancia roja muestra escasos grumos.

La Lámina VIII B, fig. 3-7, muestra estadios en fases tempranas y la fig. 8-12, por el contrario, estadios más evolucionados. Estas últimas formas se demuestran mucho mejor con el triácido panóptico de Pappenheim. También la fucsina verde brillante, la fucsina-toluidina y la fucsina verde-metilo con doble tinción dan muy buenos resultados. Estas tinciones muestran mejor que las tinciones solamente con toluidina la alteración del núcleo junto a la del protoplasma.

La primera alteración con la coloración de Pappenheim es el contenido del núcleo con grumos rojos y azules de relleno, imágenes similares a las encontradas en las células de Purkinje. La sustancia acidófila del núcleo se diluye y sufre posiblemente alteraciones en su composición mostrando un color rojo marcado. La membrana del núcleo nos muestra el núcleo atrófico teñido de rojo homogéneo con grumos cromatínicos en su interior. Al mismo tiempo aparece una hipotrofia de toda la célula, la prolongación apical se torna granulosa y serpenteante y la coloración del cuerpo celular aparece fuertemente teñida por el colorante ácido. No se observa una frontera entre núcleo y protoplasma, tan solo inflamación del protoplasma y presencia de restos basófilos del núcleo en su interior. La Lámina VIII A, fig. 9-17, muestra junto a una pirámide normal las células y núcleos alterados.

En algunos casos los gránulos basófilos son redondos y aparecen aislados en el interior de la célula, con frecuencia vemos pequeños nucléolos retraídos, y a veces la sustancia basófila se extiende en forma de polvo. En las células atróficas se encuentran no rara vez vacuolas en la cercanía del núcleo, y los cuerpos basófilos en la superficie se disponen en forma de anillo, media luna o encapsulados (fig. 12-15). La forma en semiluna es la más frecuente. Con el método de la plata reducida de Cajal se colorean las inclusiones basofílicas en negro intenso y se observan los núcleos con gran nitidez.

La Lámina XIII, fig. 5, procede de una preparación del asta de Ammón de un conejo muerto por rabia. Después de la acostumbrada reducción con ácido pirogálico, los fragmentos incluidos en parafina y los cortes teñidos con clorhidrato de platino, las células están poco o nada alteradas y muestran en el interior del núcleo una sustancia granulosa que penetra en la cromatina. Además, se encuentran de 3 a 5 grumos negros, probablemente nucléolos. La membrana nuclear protruye claramente

hacia afuera. A-F muestran dichas células normales o poco afectadas, las cuales se diferencian de las gravemente afectadas porque éstas poseen una fuerte prominencia apical en el que se insinúan algunas neurofibrillas, y se encuentran en el estrato radiado. En la misma figura se encuentra en G y en H dos células en las que el protoplasma se desvía de normalidad por su forma y grosor, aunque no hay diferencias notables en la estructura del núcleo. El fondo de éste es pálido y transparente, sin mostrar restos de sustancia gruesa, a diferencia de la estructura acromática que muestran las células normales o poco afectadas. El núcleo se ha transformado en una serie de gránulos esféricos de distinto grosor (2-7 micras). Estas esferas se muestran con distintas intensidades con la plata reducida. En las pequeñas el color es oscuro o incluso negro, mientras otras aparecen rodeadas por un anillo pálido.

Las figuras I-P muestran formas avanzadas de alteración; el cuerpo celular está fuertemente atrófico y la proyección apical aparece quebrada, solo visible en un corto espacio. La membrana nuclear ha desaparecido y no hay ninguna separación entre el núcleo y el protoplasma. Se encuentran vacuolas en el soma celular que adoptan formas en media luna o anulares. No es preciso insistir en la descripción de estas formas, parecidas a la Lámina VIII A, 12-15. El método de la plata reducida no aventaja al de Pappenheim en estas preparaciones. Las alteraciones del núcleo se encuentran principalmente en el asta de Ammón y en el cerebelo del conejo con rabia, también, aunque aisladamente en la corteza cerebral, y raramente en la médula espinal. Pero no solo las células ganglionares sufren un proceso regresivo; también los elementos de la glía. Luego nos ocuparemos en detalle de las alteraciones de la glía.

Si buscamos una visión general de todo el proceso y fijar los distintos estadios del mismo, será necesario llevar a cabo una sistematización cuidadosa. La primera parte del proceso parece llevar un desarrollo progresivo, en el que los distintos elementos de los nucléolos se parten y multiplican al mismo tiempo que desaparece la estructura acromática, permaneciendo la membrana, la forma del núcleo, así como el protoplasma. Los fragmentos de los nucléolos mantienen su coloración electiva y organización morfológica. El primer cambio consiste en una alteración química expresada por un intenso teñido. Refleja en cierto modo el carácter progresivo de la primera fase de la evolución, ya que es cierto que la nucleína sufre alteraciones fisiológicas mostrando

su carácter basófilo con mayor o menor intensidad dependiendo del estadio en el proceso de fragmentación del núcleo. En la fase de actividad se tiñe profundamente la nucleína mientras que en la fase de descanso o vegetativa lo hace con menor intensidad (Wilson). Naturalmente, no se puede asegurar basados en esta propiedad tintorial que ambos procesos sean idénticos. Morfológicamente es muy difícil resolver la pregunta, y una dificultad parecida está en la valoración de la naturaleza de los corpúsculos de Negri.

Con la disolución de las partes acidófilas de los núcleos alterados comienza un estadio inequívoco de naturaleza regresiva. Aquí ocurre con respecto a la tinción de la sustancia base del núcleo una cierta contradicción entre los hallazgos con azul de toluidina y el método de Pappenheim. Con la disolución de la parte acidófila en los núcleos comienza un estadio en el que ocurren determinadas alteraciones en su composición, como la marcada metacromasia. Con buenas preparaciones con toluidina se demuestran células normales o poco afectadas, de manera que el fondo del núcleo se muestra claro, mientras que el método de Pappenheim las tiñe en rojo intenso. Se advierte ahora la ausencia de la membrana nuclear mientras que al mismo tiempo es notable la marcada alteración de la morfología y tinción característica del protoplasma celular.

En un estadio más avanzado se observa la homogeneización entre el contenido del núcleo y el protoplasma, característicos de la atrofia de toda la célula y la presencia de pequeñas vacuolas con cuerpos de cromatina. Como punto final del proceso degenerativo tales formaciones conforman una bola roja, con uno o varios pequeños grumos azules en su interior. Podemos considerarlo como producto final del proceso degenerativo sin que podamos ofrecer información sobre alteraciones en el interior de las células gliales.

Esta peculiar forma de alteración nuclear es separable de otras alteraciones del núcleo, como aparecen en otros procesos o incluso en la propia rabia. El aumento de los nucléolos, la esclerosis del núcleo y su posición marginal se encuentra en los ganglios de la médula espinal, con aumento y dilución de la sustancia acidófila y desaparición de la membrana. El incremento y la dilución de la sustancia acidófila, la desaparición de la membrana, así como el profundo cambio del protoplasma celular representan un acontecimiento muy particular, en el cual inicialmente se produce una alteración

primaria del núcleo, que secundariamente motiva la alteración de toda la célula. Este fenómeno se encuentra especialmente localizado en el estrato piramidal del asta de Amón, sobre todo en su parte media. No nos es posible explicar la presencia de degeneración nuclear al lado de corpúsculos de Negri.

Las alteraciones descritas de las células ganglionares dan lugar a modificaciones de la glía dependiendo de su localización. La relación entre ambas formas de degeneración es tan estrecha que queremos subrayar la conexión que tienen la una con la otra. También nos ocuparemos de las células ganglionares, especialmente en lo que respecta a los corpúsculos de Negri y las neurofibrillas. Las alteraciones de la sustancia de Nissl son muy profundas, aunque sin especiales características. Finalmente informaremos sobre algunas alteraciones de los gránulos fucsínófilos en las células ganglionares.

La proliferación de elementos gliales en la rabia ha sido descrita por Golgi, Germano y Capobianco. Esta proliferación y degeneraciones regresivas se pueden encontrar en mayor o menor cantidad en todo el sistema nervioso central. Como ya hemos visto, la formación de nódulos de Babes se relaciona con la proliferación de la glía. Las alteraciones descritas por van Gehuchten en los ganglios espinales, en opinión de Cajal, son el resultado de la proliferación de elementos intracapsulares, es decir, de las células satélites (Cajal, Oloriz). Es en los grandes núcleos de las células ganglionares donde las células gliales muestran mayor deterioro, y no solamente en el cerebelo y asta de Amón, donde son muy patentes.

Se trata de la formación de células delgadas longitudinales, con un gran parecido con las llamadas por Nissl células en bastoncito y que en la rabia merecen especial interés, tanto por su origen como por su significado patológico, como han descrito Nissl y Alzheimer, si bien es objeto de discusión. En primer término, es necesario considerar en detalle su organización anatómica. El asta de Amón, fronteriza con el ventrículo lateral, posee las siguientes capas: 1. La capa epitelial del epéndimo ventricular, en contacto con la masa del alveus, la propia médula de la corteza de Amón. 2. El llamado *stratum oriens* donde se expresa la polimorfa capa celular de la corteza. 3. La capa piramidal, que como vimos anteriormente, es en esta capa donde las células ganglionares sufren las consecuencias de la enfermedad. Las células piramidales imprimen sobre la superficie torsionada marcadas prominencias. 4. La capa llamada *stratum radiatum*. 5.

Stratum lacunosum, en la parte externa. 6. Finalmente, el estrato molecular configura la última capa del anillo del asta Ammón.

En el *stratum radiatum* se encuentra la mayor proliferación celular y las alteraciones, que conducen a la formación de células alargadas. La proliferación de las células de la glía se puede interpretar como consecuencia de la profunda afectación de las células piramidales, con marcada extensión del protoplasma en gruesas prominencias del *stratum radiatum*. La proliferación de la glía se muestra primero como un proceso de abundante división celular. Posteriormente, el protoplasma sufre una gran expansión con inclusiones de gránulos basófilos y productos grasos. La forma de las células y su comportamiento hacia las prominencias de las células ganglionares es muy característica (Lámina VIII D, fig. 1-7).

Con excepción de pequeños elementos con forma de estrella, todas las demás células de la glía adoptan la forma de engrosamientos alargados, paralelas unas a otras, y alcanzando la superficie de la circunvolución del asta de Ammón. Otras capas de células no tienen nada que ver con las células alargadas. Faltan en los elementos gliales del asta de Ammón imágenes en forma de aguja, como las halladas en la parálisis general progresiva. (Lámina VIII A, fig. 7) Frecuentemente encontramos una gran expansión desordenada del protoplasma. A veces ocurren desviaciones de la dirección recta que emergen en forma secundaria (Lámina VIII D, fig. 1).

Algunas veces, en el límite de la inflamación del protoplasma, adoptan forma esférica, como en la figura 4. Así mismo la Lámina IX muestra depósitos en las células de la glía, y en la figura 15 se advierte un elemento muy similar a una célula filiforme con expansión esferoide del protoplasma. Otras células adoptan formas más complicadas y por ello se apartan de las células alargadas. Especial atención merecen formas no raras que desde la región del núcleo envían no una, sino dos engrosamientos. A veces brotan en forma de punta desde el cuerpo celular, como en la Lámina VIII, fig. 2. En su recorrido las prominencias son paralelas; la fig. 3, Lámina VIII D, muestra una de esas células. Un núcleo en forma de embutido doblado envía desde ambos polos hacia arriba una rama con el conocido trayecto paralelo. Desde una de estas ramas brota en su recorrido inicial una protrusión en forma de martillo en paralelo a la dirección del eje principal de la célula,

como en la Lámina IX. Frecuentemente en partes del estrato radiado cercano a la capa piramidal se muestra protoplasma a ambos lados del núcleo. En estos casos mantiene el núcleo su forma esférica (Lámina IX, fig. 1 y 2), con lo cual las células largas que pertenecen a la parte central del estrato radiado muestran un largo núcleo en forma de embutido. En todas ellas se encuentran núcleos con particiones de naturaleza mitótica o amitótica (Lámina VIII D, fig. 5-6 y Lámina IX, fig. 14); también en microfotografía, en la Lámina XIII, fig. 6, se pueden comprobar en una célula filiforme tras su partición (la imagen procede del asta de Ammón de un conejo con rabia). A la izquierda se ve el núcleo de la capa piramidal, a la derecha las prominencias protoplásmicas de las pirámides y la considerable proliferación de la glía en el estrato radiado (preparado de tionina).

La gran proliferación de la glía en el estrato radiado muestra distintas formas que tienen en común la tendencia a engrosamientos protoplásmicos en la misma dirección que el protoplasma de las células ganglionares (Lámina VIII, fig. 7), mientras que otras se diferencian por su doble ramificación. En ciertos casos, incluso tres ramificaciones paralelas, mientras otras que, como consecuencia de su cercanía a la capa piramidal, solo envían una protrusión en cuyo caso se distingue por su núcleo redondeado. Otras, por último, presentan grandes engrosamientos al final de los engrosamientos alargados. Mantenemos como posibilidad que todos los elementos gliales nombrados sean solo expresión del mismo proceso, esto es, el acomodo de la glía en proliferación con la pérdida de las estructuras nerviosas, en este caso las protrusiones protoplásmicas de las células piramidales.

Como consecuencia de la gran similitud con las células alargadas, cabe preguntarse por la relación que hay entre ambas formas y aclarar su pertenencia a determinado grupo. Como veremos más tarde, Cerletti ha hecho una propuesta similar para aclarar la formación de las células alargadas, como la que nosotros proponemos para las células gliales del asta de Ammón en la rabia. Antes de aclarar su origen, queremos mencionar que también en conejos normales, se encuentran células gliales mucho más pequeñas y de forma alargada en la región mencionada, si bien es un hecho menos frecuente. Su presencia confirma que bajo circunstancias normales, la disposición glial está influida por otros elementos nerviosos.

En apoyo de que las formas patológicas de la glía representan un ajuste determinado por la pérdida de estructuras nerviosas; su dirección fuertemente paralela determina que no rara vez el núcleo de célula glial adopte también una forma alargada, resultando en ocasiones imposible diferenciarlas debido a la íntima relación entre ambas estructuras. Los engrosamientos protoplásmicos de las pirámides no siempre se tiñen suficientemente. En todo caso, apoya nuestra opinión de que la forma de las células de la glía en cierto modo se modifica dependiendo de los cambios estructurales como ofrece la corteza del asta de Amón cuando sus capas celulares se alteran. Es la corteza del asta de Amón la que por su particular estructura en capas apoya nuestro argumento.

Las células alargadas en el centro del estrato radiado se presentan como un estrecho vallado en coincidencia con los engrosamientos protoplásmicos de las pirámides. Hemos de nombrar aquí especialmente a las células de la glía, en las que brotan dos o tres ramificaciones, y la impresión de que se acomodan a las distintas partes de su recorrido a los engrosamientos protoplásmicos. Las células de la glía que se encuentran cerca de la capa piramidal muestran más frecuentemente forma de piqueta. Para comparar los elementos de las distintas capas, vayamos a la Lámina IX, donde son visibles las células de la glía del asta de Amón portadoras de grasa. Como veremos más tarde, esta captación de grasa será un argumento en apoyo de nuestra suposición.

La pregunta sería hasta dónde lo descrito como elementos alargados está relacionado con las células alargadas de Nissl. A nuestro parecer no está justificado considerar idénticos ambos elementos celulares basándonos en su parecido morfológico, si bien vemos posible que exista una identidad común en su génesis. Cuando Nissl describió las células alargadas en la corteza de la demencia paralítica, las consideró modificaciones de las células de la glía, y solo más tarde las interpretaron Alzheimer y el mismo Nissl derivadas de las células adventiciales de los vasos. Se fundamentaron en su comportamiento topográfico en la corteza cerebral, como la dirección de los vasos, y especialmente por su parecido con las células adventiciales. Mas aún, como subraya Alzheimer, muchas células alargadas reposan con el extremo de su cuerpo protoplásmico sobre la adventicia de los vasos.

Cerletti, en su trabajo sobre la relación de las células alargadas con las células gliales, demuestra que un gran número de éstas se mantienen en dirección recta en

relación con la superficie. También que las mencionadas células aparecen cuando hay una alteración importante de las células ganglionares, especialmente atrofia del protoplasma y aparición de gruesos gránulos cromáticos en el núcleo, acorde con lo descrito por Nissl en fases avanzadas. Según Cerletti, numerosas células alargadas guardan una estrecha relación con las protrusiones apicales de las células piramidales, y en muchos casos es difícil decidir si el protoplasma pertenece a las células ganglionares o a las células alargadas. Cerletti no pudo constatar en todos los casos esta estrecha relación. Observa, sin embargo, células alargadas que se comportan como células de la glía, cuya característica forma depende de la acción de la mecánica de las estructuras próximas. Entre la superficie de las células ganglionares y el tejido pericelular permanece un estrecho espacio libre, que las células de la glía rellenan mediante hipertrofia de su soma celular. Aquellas que se hipertrofian, se ven frenadas por la estrechez del espacio en su crecimiento, transformándose de este modo en células alargadas. El argumento de Cerletti sobre el origen de las células alargadas retorna a la primera hipótesis de Nissl. La relación que establece Cerletti entre células ganglionares y células alargadas, se expresan en este sentido. En cualquier caso, no es posible generalizar esta teoría, ya que bajo el punto de vista de Alzheimer existe una dependencia directa de las células alargadas con las de la adventicia de los vasos. Como no es imaginable que ambas sean posibles, la denominación de células alargadas sería apenas un nombre para denominar elementos de distinta procedencia.

En cualquier caso, afirmamos que en el asta de Amón de la rabia se encuentran elementos alargados. Mantenemos que, en nuestro caso, el parecido de las células de la glía junto a las estructuras nerviosas en proceso de deterioro es activa y que posiblemente los productos de desecho están en relación con ello. Cerletti considera que la forma filiforme en el relleno del intersticio ocurre tras la atrofia de las células ganglionares.

La multiplicación de las células de la glía en la corteza cerebelosa es bien visible en las células de Purkinje. También se advierte el acomodo de las células satélite a las células ganglionares. La proliferación de la glía sucede en mayor o menor medida en todo el sistema nervioso central sin que muestre características especiales. Como hemos mencionado, en humanos es notable la abundancia de gránulos basófilos y la proliferación de la glía del puente.

Hablaremos luego de los depósitos de grasa en las células satélite de la corteza cerebral.

Las células de la glía sufren cambios a nivel del núcleo como se demuestra claramente mediante la mezcla triácida de Pappenheim. Ya hemos mencionado el parecido de las alteraciones del núcleo de la glía con el núcleo degenerado de las células ganglionares. Los núcleos se atrofian por la pérdida de la membrana nuclear, por lo que el fondo se tiñe de rojo escarlata. En la masa redondeada creada se depositan corpúsculos cromatínicos de distinto grosor. En raros casos se deposita solo un corpúsculo de gran tamaño. Dichos núcleos degenerados son muy abundantes en las células satélite, aunque también se encuentran en la célula ganglionar, sea en su interior o sobre su superficie con imágenes no diferenciables de los corpúsculos descritos por Negri.

En la Lámina VIII M, fig. 18–23, se muestran alteraciones regresivas de las células de la glía y especialmente de las células satélite. Queremos llamar la atención sobre la figura 19 en la cual el núcleo de la célula satélite ya no es reconocible, de manera que solo son reconocibles tres fragmentos azules y uno en rojo.

Como final, queremos ocuparnos del depósito de grasa en las células de la glía. Nuestros estudios sobre este punto fueron desarrollados con el método de Herxheimer escarlata en cortes congelados. De esta forma hemos encontrado en la corteza cerebral y especialmente en las astas de Ammón del conejo grandes cantidades de sustancia grasa. Resulta todavía más interesante aplicando ácido ósmico como agente reactivo a la grasa. En cambio, utilizando como reactivo la solución de Fleming solo hemos podido detectar pequeñas cantidades de grasa. Las investigaciones anteriores de Grigorjev e Ivanov mediante el método de Marchi daban resultados negativos. La diferencia de los resultados entre ambos reactivos es tan llamativa que lleva a pensar en la diversidad de productos. Nuestra descripción trata solo de los resultados obtenidos con el método escarlata.

Es en el asta de Ammón donde se encuentra la mayor cantidad de materia grasa, y el sitio con más intensa proliferación glial. También en la corteza cerebral están presentes productos grasos de descomposición, aunque no en tan gran cantidad. Es especialmente reseñable que el depósito de grasa casi solo ocurre en las células de la glía y las células adventiciales.

Entre las células de la glía son las células satélites las que tienen grasa. Por el contrario, las células ganglionares en nuestros animales de experimentación, incluso en casos con alteraciones profundas, permanecen libres de gránulos grasos. Tan solo muy rara vez hemos podido ver rastros de sustancia grasa en las células piramidales del asta de Ammón. La materia grasa se muestra en forma de grandes gotas que se ordenan en la dirección de las prolongaciones (Lámina IX, fig. 13–16). En raros casos, los gránulos de grasa son más pequeños (Lámina IX, fig. 17). Por el especial acomodo de los gránulos grasos se puede fácilmente reconocer que poseen dos largas prolongaciones (Lámina IX, fig. 16).

Si nos acercamos a la capa piramidal, reconocemos fácilmente cada elemento glial rodeado de apenas una hebra de plasma. Estas formaciones ricamente cargadas de grasa se colocan junto a la propia célula piramidal (Lámina IX, fig. 2). Poseen un núcleo redondo, y algunas se encuentran en el estrato radiado como dos líneas paralelas de gránulos grasos (Lámina IX, fig. 1). La fig. 14 muestra tal partición. La fig. 3 corresponde claramente a una célula de la glía de la capa piramidal, expresando una partición cariocinética. La circunstancia de que esta célula grasa muestre particiones siguiendo la regla mitótica, constata que la grasa ocasiona atrofia regresiva del protoplasma celular. Las células de estrato oriens (Lámina IX, fig. 4, 5 y 6) muestran gotas grasas en forma redondeada o en estrella.

Las células satélite de la corteza cerebral se comportan en lo que concierne a depósitos grasos en forma muy similar. Según la zona, su protoplasma acumula grumos grasos de distinta configuración. A nivel de las prolongaciones apicales los grumos se alinean en forma de triángulo en la zona de donde parten las ramificaciones. (fig. 8) con configuraciones muy variables. La fig. 7–11 muestra algunas de esas formas. Las células adventiciales, tanto en la corteza cerebral (fig. 20) como en el asta de Ammón (fig. 18 y 19), muestran importantes depósitos de corpúsculos grasos, en la misma cantidad que en las células satélites.

En el tejido teñido con rojo escarlata no hay productos grasos simples en el sistema nervioso central de animales muertos por rabia. En humanos, con material fijado con el líquido de Zenker, cortes de parafina con acetato de cobre macerado y teñido con hematoxilina de Weigert, encontramos en las células gliales del asta de Ammón gránulos de distintas formas que, con hematoxilina, se

muestran de color azul oscuro. Estos gránulos en relación con los núcleos de las células de la glía, según Alzheimer se deben de entender como sustancias *protagonoides* (sic) (“principio cristalino del encéfalo y corpúsculos sanguíneos, mezcla según parece de lecitina y cerebrina”) y se muestran con forma de granos, esféricos o anulares. Ocasionalmente se unen algunos grumos con formas en anillo. Rara vez se encuentran grandes grumos (Lámina IX, fig. 21).

Por lo dicho y como conclusión, en la rabia se presentan distintos productos de descomposición, especialmente sustancias grasas en gran cantidad que se depositan en el interior de las células de la glía y en las células adventiciales de los vasos. Lo apoya, en primer término, la localización de las células satélite en relación con células de la glía degeneradas, y no solo con el cuerpo celular, sino también en las largas prolongaciones protoplasmáticas, en las que se depositan productos grasos en grandes cantidades. Se puede pensar que, por la vecindad de las células de la glía con las células satélite, las primeras estarían especialmente expuestas a los productos originados en la degeneración. Contra la hipótesis de la simple degeneración, habla la ausencia de señales regresivas en el núcleo y protoplasma de las células que contienen grasa; incluso mostrar procesos de división mitótica. Mucho más probable es que las células de la glía jueguen un papel activo en la eliminación de células en descomposición en forma de gránulos grasos.

Este comportamiento en cierto modo es similar al que Alzheimer ha demostrado en la corteza cerebral en la idiocia amaurótica. También aquí las células de la glía y las adventiciales contienen abundante grasa. Por el contrario, las células ganglionares solo aparecen como espolvoreadas con finos gránulos grasos. Las relaciones funcionales de las células satélite con las células ganglionares en procesos patológicos son todavía poco conocidas. Como la diferente interpretación del concepto de neuronofagia, de forma que no es posible avanzar ninguna hipótesis sobre el papel que juega la glía en este caso. De todos modos, y en consonancia con nuestras investigaciones, suscribiríamos que la glía juega un gran papel en la recogida de productos de descomposición de las células ganglionares, como dice Cerletti; incluso cabe conjeturar como piensa Marinesco si las células de la glía no fagocitan a las células ganglionares. Este investigador posteriormente rechazó esta opinión, y recientemente solo acepta con propiedades fagocitarias a las células reticuladas de Nissl. Parece cierto que las

células de la glía se adaptan a las células ganglionares atróficas y parece seguro que en ocasiones algunas de ellas aparezcan en su interior. Recordemos la absorción e inclusión de productos degenerativos nucleares en el cerebelo. En el caso de la formación de grasa en el interior de las células satélite las cosas son de otra manera. En cualquier caso, las observaciones mencionadas hablan de la participación activa de las células de la glía en la conformación de dicha sustancia.

De acuerdo con nuestro estudio no hay ninguna evidencia de que los corpúsculos de Negri se deban de interpretar como parásitos. Las formas endocelulares de los corpúsculos de Negri son características, y algo habla a favor de que en su construcción jugarían un papel tanto las células ganglionares como la alteración de las células satélite. Parece correcto hablar en este punto de alteraciones de las células ganglionares y de la glía en la formación de los corpúsculos de Negri. En el año 1903 describió Negri corpúsculos de distinto grosor en el sistema nervioso central de animales enfermos de rabia, sobre todo en células del asta de Ammón y cerebelo, que se mostraban muy bien con tinciones acidófilas. Los corpúsculos se encontraban en el interior de las células ganglionares. En los más diminutos no se podía reconocer ninguna estructura mientras que en las más grandes se reconocía una complicada organización interna. Los cuerpos poseían un doble contorneado brillante dependiendo de su grosor. En algunas de esas formaciones internas se veían inclusiones basófilas. El descubrimiento de corpúsculos de Negri en las células ganglionares de animales muertos por rabia, ha sido constatado por todos los investigadores que se han ocupado de esta cuestión. Negri mantiene que los corpúsculos representan parásitos de la rabia, como protozoos en distintas fases evolutivas. Posteriormente muchos investigadores con métodos nuevos y depurados han encontrado otras peculiaridades estructurales.

Los nuevos estudios han constatado la naturaleza parasitaria de los corpúsculos, como lo investigado por Volpino y Bertarelli. El último trabajo de Negri describe el ciclo vital del parásito hasta la fase de formación de esporas. El último método que empleó Negri está fundamentado en preparados con el método de Romanowski. Según Negri es el método que consigue mejores resultados, como se ven en microfotografías muy buenas conseguidas por este autor.

En una primera época, Negri pudo ver los corpúsculos en preparaciones no teñidas, muy válido para un examen rápido, pero sin gran valor para conocer su estructura. En épocas más recientes, son ventajosas la eosina, azul de metileno, el método de Giemsa y el de Romanowski. También Maresc intenta estudiar la estructura de los corpúsculos de Negri con el método de la plata de Bielschowsky. El último trabajo de Babes utiliza el método de plata de Cajal y posterior tinción con el Giemsa. Este investigador ha utilizado también el método de Mansche.

Existen dos preguntas principales sobre los corpúsculos de Negri. La primera es si los corpúsculos se encuentran en todos los animales afectados por rabia o solo en algunos, lo cual es de gran valor diagnóstico. El segundo problema es la naturaleza de los corpúsculos y, de momento, solo se pueden investigar morfológicamente ya que el cultivo de los corpúsculos para averiguar si eran parásitos resultó imposible.

Nuestro método de investigación no nos permite tomar una decisión sobre el primer punto ya que solo lo posibilitaría el estudio de una cantidad enorme de material. La mayoría de investigadores piensan que generalmente en los animales con rabia que han sobrevivido más de 15 días tras la infección se encuentran corpúsculos de Negri en el sistema nervioso central, siempre en las astas de Ammón, de manera que es la forma más rápida de hacer el diagnóstico de rabia. Volpino opina que en el 98% de los animales con rabia se encuentran corpúsculos de Negri en el sistema nervioso. También la estadística de Abbas y Borman apoya este hecho. No todos los investigadores aceptan esta afirmación y, en su último trabajo, Babes opina que los corpúsculos de Negri faltan muchas veces. Hay también informes aislados que aseguran que pueden hallarse en otras enfermedades. Así, Babes los ha encontrado en los ganglios espinales de intoxicados por arsénico. Schiffman encontró formaciones similares en la peste aviar.

Se advierte que la opinión de los investigadores sigue en este sentido dividida. Solo existe acuerdo general en la gran cantidad de corpúsculos que se encuentran en animales enfermos de rabia, así como la preferencia de su localización en el asta de Ammón cuando se inocula por vía subdural mediante trepanación craneal y en los ganglios espinales cuando se inocula en el ciático.

En lo que se refiere a la naturaleza de los corpúsculos, las exploraciones histológicas permiten una doble

interpretación. La primera, que los corpúsculos son de naturaleza parasitaria, se apoya en aspectos morfológicos. Ernst opina que la estructura de los corpúsculos en la rabia demuestra su naturaleza parasitaria. En su primer trabajo, Negri aseguraba que era difícil darlo por sentado con seguridad porque los productos de degradación del protoplasma se mostraban acidófilos con el preparado de Mann.

Una segunda interpretación sería que los corpúsculos de Negri son meros productos de deshecho del protoplasma celular. Una interpretación intermedia es la de Babes en su último trabajo, según la cual los corpúsculos de Negri formarían un conjunto de dos partes; una de las cuales constituiría los diminutos parásitos de la rabia y la otra sería una cápsula formada como reacción del protoplasma de la célula nerviosa para aislar al germen. La esencia del proceso, según afirma Babes, sería la entrada de un elemento irritante en la célula, lo cual llevaría a una degeneración metacromática hialina, en cierto modo una necrosis por coagulación del protoplasma, a pesar lo cual la célula se mantiene viva y se protege por encapsulamiento y secuestro del elemento irritante como medio de protección.

El concepto de que los corpúsculos de Negri no son causantes de la rabia lo defiende Babes con el argumento de que su tamaño lo excluye; es decir, tras pasar el filtro de Berkefeld el virus todavía sigue siendo virulento. Si el parásito perteneciera a la familia de los protozoos, sus esporas deberían ser extraordinariamente pequeñas y filtrables. El virus de la rabia no traspasa el filtro de Chamberland, por lo que Babes opina que el grosor del parásito no sería mucho menor que 0,1 micras comportándose como los bacilos más pequeños. También está la cuestión de que en las astas de Ammón en el cerebelo el agente no se muestra tan agresivo como en el bulbo y el puente, donde rara vez se encuentran los corpúsculos de Negri. Para Babes es un argumento en contra del concepto los corpúsculos de Negri como parásitos.

En la mayoría de las zonas afectadas con el método de la plata de Cajal y tinción con Giemsa, se advierten ciertos puntos rodeados por vacuolas cuyo grosor coincide con las supuestas infiltraciones. La hipótesis de Babes de que dichos puntos representan el agente responsable de la rabia se debe tomar con muchas reservas, porque puntos semejantes se advierten en las células ganglionares de pacientes sin rabia aplicando el método de la plata

reducida. Ello no se debe a precipitación de la plata, sino también a finos gránulos celulares o degeneración de los nucléolos.

Hemos estudiado los corpúsculos de Negri en el asta de Ammón en perros, y los hemos encontrado en el cerebelo y astas de Ammón en un humano; también los pudimos demostrar en la corteza cerebral, aunque en pequeña cantidad. En el conejo inoculado con rabia rara vez se encuentran corpúsculos de Negri. Por el contrario, hemos encontrado en el puente y, especialmente, en las células de los ganglios espinales, diversas imágenes que no se pueden calificar como corpúsculos de Negri por su figura irregular y su comportamiento basófilo.

En la Lámina XIII, fig. 7, hay cuatro células del ganglio espinal de un conejo con rabia. El preparado se ha fijado con líquido de Zenker, cortado con parafina y tratadas con fucsina saturada mantenida caliente y luego teñida de nuevo con verde ácido. La sustancia de Nissl se muestra de color verde, los nucléolos rojos y las inclusiones celulares también en rojo. Además, se ven puntitos rojos en el protoplasma celular que consideramos gránulos celulares. Se ve una gran imagen del núcleo, con el protoplasma cercano a éste y una estructura envolvente en malla. Se trata quizás de un cuadro atrófico en el interior del protoplasma. En otras células, algunas imágenes tienen aproximadamente el grosor y el aspecto de nucléolos. Muy frecuentemente se presentan como bolas redondas con un interior teñido homogéneamente; en otros casos muestran nucléolos con una o más vacuolas claras y brillantes. En "j" se advierten algunas de estas imágenes en las cercanías de los núcleos. En dicha figura se muestra una célula fuertemente deteriorada, con tres de los mencionados cuerpos en la sustancia de Nissl con una corona periférica (en X). Esta es la forma habitual de presentarse dichos cuerpos. La circunstancia de que en la rabia los nucléolos se presentan muy aumentados (2) y su tamaño es parecido al de las formaciones protoplasmáticas descritas motiva la pregunta de si existe parentesco entre ambos. Como ya hemos comentado, y como se deduce de la anterior degeneración de los nucléolos, estos sufren en las células ganglionares importantes alteraciones, la mayoría en forma de multiplicación. Marinesco observa particiones y multiplicación semejantes en intoxicaciones por morfina y estriquina en animales recién nacidos. También Lugaro menciona una hipertrofia llamativa de los nucléolos en células de los ganglios espinales después de seccionar el nervio correspondiente.

La Lámina XIII, fig. 7j, muestra una forma irregular y estructura desenfocada cuya estructura se interpreta sin duda como un corpúsculo de Negri. Muestra imágenes pequeñas y brillantes en forma de corona. Para discutir sobre los corpúsculos de Negri, deberíamos abordar algunos detalles más sobre su distribución.

La combinación del método de Cajal con fucsina consigue, además de demostrar la presencia de corpúsculos de Negri, una visión completa del protoplasma de las células de los ganglios y la relación entre estos y las estribaciones del protoplasma de las células ganglionares, incluso lejos de los núcleos. Esta relación se puede seguir en las células de Purkinje del cerebelo, donde no solo se encuentran en los somas celulares y en sus grandes ramificaciones, sino que se tiene la impresión que su número en una sola célula de Purkinje es mayor de lo que se consideraría normal.

En la Lámina XIII, fig. 8, 2, está representada una célula de Purkinje con dichos cuerpos. Tienen una cierta predisposición a asentarse en la zona periférica del eje de la prolongación (Lámina XIII, fig. 7, 1 y 3). En las protrusiones con escaso protoplasma, los corpúsculos de Negri se asientan en las zonas de ramificación del soma celular donde el protoplasma sufre un ensanchamiento (Lámina XIII, fig. 8, 3).

Si bien este método da buenos resultados para estudiar la distribución de los corpúsculos de Negri, no es suficiente para determinar su estructura. Mejores resultados se obtienen para estos fines con el método de Mann y, especialmente, con la tinción Giemsa y el método de Alzheimer para tinción de los gránulos. Con ayuda de estos métodos, no hay certeza alguna para considerarlos de naturaleza parasitaria, pudiendo proceder del núcleo de la glía o del interior de las células de los ganglios. La Lámina VIII C muestra corpúsculos de Negri en las células de los ganglios del asta de Ammón de un perro mediante tinción de Giemsa. La Lámina XIV, fig. 8, muestra con tinción de hematoxilina corpúsculos de Negri en el asta de Ammón de un hombre muerto por rabia.

Una segunda interpretación sería que los corpúsculos de Negri son productos de deshecho del protoplasma celular. Una interpretación intermedia sería la de Babes en su último trabajo, según la cual los corpúsculos de Negri serían un conjunto de dos partes, una de las cuales lo constituirían los diminutos parásitos de la rabia y la otra sería una cápsula formada como

reacción del protoplasma para aislar al germen. La esencia del proceso, según Babes, sería la entrada en la célula de un elemento irritante que conduciría a degeneración metacromática hialina mediante necrosis por coagulación del protoplasma. A pesar de lo cual, la célula se mantiene con vida y se protege mediante encapsulamiento y secuestro del elemento irritante como medio de protección. Como argumento según el cual los corpúsculos de Negri no serían los causantes de la rabia, se apoya Babes en el tamaño, según lo cual el virus pasado través del filtro de Berkefeld todavía permanece virulento.

Frente a la opinión de Negri, según la cual, si el parásito fuera un protozoo, sus esporas deberían ser extraordinariamente pequeñas y filtrables. El virus de la rabia no traspasa la vela de Chamberland, de modo que según Babes el grosor del parásito no sería mucho menor que  $0,1 \mu$  comportándose como los bacilos más pequeños. También está la cuestión de su presencia en el asta de Ammón y cerebelo, donde el proceso no se muestra tan agresivo como en el bulbo y protuberancia, donde rara vez se encuentran los corpúsculos de Negri, un argumento en contra de la hipótesis de que los corpúsculos de Negri representarían parásitos.

La hipótesis de Babes se debe tomar con muchas reservas, por la frecuente presencia de iguales imágenes en las células de los ganglios de pacientes sin rabia, como muestra el método de la plata reducida. No se debe a precipitación de la plata, sino también a finos gránulos celulares o degeneración de los nucléolos.

Hemos estudiado los corpúsculos de Negri en el asta de Ammón del perro, y los hemos encontrado en el cerebelo y en las astas de Ammón en un humano; los pudimos demostrar en corteza cerebral, aunque en pequeña cantidad. En el conejo inoculado con rabia se encuentran raras veces corpúsculos de Negri. Por el contrario, en el asta de Ammón del conejo, puente y, especialmente, en las células de los ganglios espinales se advierten imágenes diversas que se comportan como acidófilas pero que no se pueden calificar como corpúsculos de Negri por su figura irregular y ausencia de comportamiento basófilo.

En la Lámina XIII, fig. 7, se muestran cuatro células del ganglio espinal de un conejo con rabia. La preparación se ha fijado en líquido de Zenker, cortado en parafina, tratada con fucsina saturada, mantenida caliente y luego teñida de nuevo con verde ácido. La sustancia de Nissl se muestra verde, los nucléolos en rojo y las inclusiones

celulares también en rojo. Además, se ven puntitos rojos en el protoplasma celular que consideramos gránulos celulares. En X se ve una imagen del tamaño del núcleo, que en el protoplasma próximo al núcleo muestra una estructura en malla envolvente. Se trata quizás de un cuadro atrófico del protoplasma. En otras células hay imágenes que tienen el grosor y el aspecto aproximado de nucléolos. Muy frecuentemente se presentan como bolas redondas con un interior teñido homogéneamente; en otros casos se muestran como nucléolos con una o más vacuolas claras y brillantes. En dicha figura se muestra una célula fuertemente deteriorada, con tres de dichos cuerpos en la sustancia de Nissl a modo de corona periférica (en X). Esta es la forma de presentarse dichos cuerpos. La circunstancia de que en la rabia los nucléolos se presentan muy aumentados (2) y su tamaño parecido a las formaciones protoplasmáticas descritas motiva la pregunta de si hay parentesco entre ambas. Como ya hemos comentado, los nucléolos sufren importantes alteraciones en las células ganglionares, la mayoría en forma de una multiplicación, así como otras desviaciones de su comportamiento normal. Marinesco observa fragmentación y multiplicación semejantes en intoxicaciones por morfina y estricnina en animales recién nacidos. También Lugaro menciona una llamativa hipertrofia de los nucléolos en las células de los ganglios espinales tras seccionar el nervio correspondiente.

Otra imagen de gran bulbo, como en la Lámina XIII, fig. 7, 3, se muestra una forma irregular y estructura desenfocada (borrosa). En la fig. 7, en *n*, se encuentra otra imagen cuya estructura corresponde sin duda a un corpúsculo de Negri. Muestra así mismo una formación interior grande y brillante y varias imágenes pequeñas en forma de corona.

Si ahora nos dirigimos a la discusión sobre los corpúsculos de Negri, deberemos anticipar algunas particularidades sobre el reparto de los mismos.

La combinación del método de Cajal con fucsina consigue demostrar, además de la presencia de los corpúsculos de Negri, una visión completa del protoplasma de las células ganglionares demostrando así su relación. Esta relación también se puede advertir en las células de Purkinje del cerebelo. No solo se encuentran corpúsculos de Negri en los cuerpos celulares y en sus ramificaciones grandes, sino que da la impresión de que una sola célula de Purkinje cuenta con un número superior a lo que se considera generalmente.

En la Lámina XIII, fig. 8, 2, está representada una célula de Purkinje con dichos cuerpos, más abajo contiene algunos muy grandes, y en el origen de los engrosamientos protoplásmicos de una sola célula de Purkinje se encuentran corpúsculos de Negri en algún punto de su trayecto, con cierta disposición a asentarse en la zona periférica de la protrusión (Lámina XIII, fig. 7, 1 y 3). En los engrosamientos protoplásmicos más alejados se asientan los cuerpos en las zonas de ramificación, sitios en los que se produce un ensanchamiento del protoplasma (Lámina XIII, fig. 8, 3).

Si bien este método da buenos resultados para estudiar la distribución de los corpúsculos de Negri, no es suficiente para determinar su estructura. Mejores resultados se obtienen para ello con el método de Mann y especialmente con la tinción Giemsa y la utilización del método de Alzheimer para tinción de los gránulos. Con ayuda de estos métodos, no es posible considerar su naturaleza parasitaria, en tanto que pueden proceder de núcleos de la glía en el interior de las células ganglionares, los cuales no muestran diferencia alguna con los típicos corpúsculos de Negri.

La Lámina VIII C muestra corpúsculos de Negri con tinción de Giemsa en las células ganglionares del asta de Amón de un perro. La Lámina XIV, fig. 9, muestra corpúsculos de Negri mediante tinción con hematoxilina en el asta de Amón de un hombre muerto de rabia. En casi todos los casos se ven los corpúsculos de Negri con inclusiones basófilas; la forma y el orden de las mismas es muy variado. Si consideramos las formas muy típicas, como en la Lámina XIV, fig. 9, 8, vemos inclusiones basófilas con forma redonda en el interior de vacuolas ordenadas simétricamente. También la Lámina VIII, fig. 4, muestra un típico corpúsculo. Otras formas grandes (Lámina VIII C, fig. 1) muestran una capa homogénea periférica teñida de rojo, como una masa con estructura granulosa en cuya periferia se encuentran finos gránulos basófilos. En dichas formas hay una gran similitud entre las células ganglionares y la degeneración nuclear de las células gliales, tal como hemos descrito. En otro caso se muestran los corpúsculos de Negri con vacuolas centrales y finos gránulos basófilos en forma de anillos o media luna (Lámina VIII C, fig. 2, 3).

El conjunto de la sustancia basófila configura en otros casos una gruesa cápsula, centrada por una vacuola de aspecto claro (Lámina XIV, fig. 9, 6 y 9). Muestran aún mayor semejanza con los núcleos de la glía levemente

alterados, en los cuales la sustancia cromática está organizada en forma granular irregular. En la Lámina XIV, fig. 9, 3, 4 y 7, se encuentran pequeños corpúsculos, algunos difícilmente distinguibles de los núcleos de la glía. La Lámina VIII C, fig. 5, muestra corpúsculos endocelulares en el centro de la sustancia cromática con forma de núcleo celular. Finalmente, en la Lámina VIII C, fig. 6, una célula satélite que se encuentra en una excavación de una célula ganglionar muestra gran parecido con alguna de las formas descritas. Queremos mencionar ciertas formas “en embutido” de los corpúsculos de Negri, los cuales se anclan en las protrusiones protoplasmáticas de las células ganglionares. Recuerdan en cierto sentido a los núcleos filamentosos del estrato radiado del conejo y quizás muestran formas degeneradas de dichos núcleos.

Es necesario comentar que la sustancia de Nissl está en cierto modo en relación con los corpúsculos de Negri. Generalmente se muestra como dos formas esféricas en la superficie del corpúsculo recordando la cápsula corneal (Lámina VIII C, fig. 3 y 4). Esa estructura se resalta mejor teñida por el Giemsa, si bien no hemos podido constatar la reacción metacromática del protoplasma de las células ganglionares, como describe Babes.

Hemos visto que los corpúsculos endocelulares de Negri mostraban variadas formas, algunas con gran parecido con los núcleos degenerados de la glía y en ocasiones con total identidad. Por otra parte, sabemos que las células satélite se aproximan a las células ganglionares e incluso las invaden. Pensamos que los corpúsculos de Negri se pueden interpretar muchas veces como células de la glía invadidas o degeneradas. No se puede dictaminar si tal cosa sucede con las inclusiones de las células de la glía y la complicada organización con gránulos basófilos. Otros sugieren que quizás los corpúsculos de Negri tengan distintos orígenes. Ante esta cuestión queremos adoptar mucha cautela. Es necesario subrayar que las formaciones internas de los corpúsculos de Negri no son suficientemente seguras como para aceptar la existencia del ciclo vital de un protozoo.

Para el estudio de las neurofibrillas hemos utilizado el método de la plata reducida de Cajal, en ocasiones con ayuda de otros métodos, como los de Bethe, Donnagio, Bielschowsky, Joris y Lugaro. Hemos utilizado una combinación de amoníaco y alcohol al 96%, con impregnación mediante disolución de nitrato de plata al 2-3%, reducción con pirogalol e inclusión en

parafina. Incluso preparados con contraste adecuado para microfotografía, se puede utilizar como tinción soluciones de oro como medio auxiliar para conseguir un buen contraste. En algunos casos se mostró muy útil el cloruro de platino para aumentar el tono de las estructuras. Algunas preparaciones para demostrar corpúsculos de Negri fueron realizadas de este modo. La complicada técnica del método de la plata influye muy poco en la tinción de los corpúsculos de Negri. Simarro ya expuso los resultados con el método de la plata reducida con el que podían verse estructuras como los glomérulos de Nissl.

En los últimos años ha aparecido una amplia literatura sobre las alteraciones patológicas de las neurofibrillas, especialmente mediante los métodos de Cajal, Bielschowsky y Donnagio. Todos los métodos para las neurofibrillas resultan caprichosos en cierta manera, por lo que muchas alteraciones patológicas descritas deben tomarse con cautela. Esta inseguridad da escaso valor a descripciones como patológicas, como granulaciones, pérdida de intensidad del color o fibrillas periféricas sin presencia de las mismas en el interior. La razón es que dichos cambios también aparecen en preparaciones de casos normales. Tan solo se pueden considerar patológicas imágenes bien contrastadas que muestren desviaciones de su comportamiento normal.

Las imágenes de Cajal sobre la hipertrofia de las fibrillas en la rabia cumplen estas condiciones. Las neurofibrillas se muestran engrosadas como primera muestra de la enfermedad, lo que se acentúa con la progresión, cuando la totalidad de la célula se transforma y la sustancia argentófila cambia en su forma y número. La hipertrofia de las neurofibrillas ha sido comprobada por Marinesco, quien también lo ha descrito en otras enfermedades. Las alteraciones y desviaciones fisiológicas del aparato neurofibrilar descritas por Cajal y Tello muestran cierta semejanza con dicha hipertrofia.

También Donnagio mostró engrosamiento de las neurofibrillas en un conejo al que se le había sometido a hambre y frío, Schaffer lo ha encontrado en gemelos con idiocia amaurótica, así como también Spielmeyer años más tarde. Recientemente Alzheimer ha descrito muy considerables alteraciones patológicas de las fibrillas en pacientes con profundos trastornos mentales. Las neurofibrillas estaban engrosadas y componían largas tiras con formas en espiral en el cuerpo celular. Esta sorprendente alteración morfológica del aparato

neurofibrilar se acompaña de una profunda alteración bioquímica, en tanto que tiñen con sustancias que las fibrillas normales no captan. Se tornan también muy resistentes, al punto que permanecen en su lugar tras haber sido destruida la célula.

Coincidimos totalmente con la descripción de Cajal sobre la hipertrofia de las fibrillas en nuestras investigaciones en el conejo. Encontramos un grado de engrosamiento de las fibrillas muy elevado en los ganglios espinales de un conejo infectado con rabia que tuvo una larga supervivencia. Este animal falleció 12 días después de la inoculación. La microfotografía de la Lámina XIV, fig. 10, muestra una de estas células ganglionares, que por su grosor se puede considerar como ejemplo. El fondo de la célula se muestra sin color y las gruesas neurofibrillas no se ven como simples cuerdas, sino que delatan una estructura en malla. También en la Lámina X, fig. 1, se muestra una célula en un ganglio espinal del mismo caso. La presencia constante de hipertrofia de las neurofibrillas no alcanza el grado que se muestra en la microfotografía de la Lámina XIV, fig. 10. No hemos podido constatar la proliferación de elementos capsulares descrita por Van Gehuchten y su relación con hipertrofia de las neurofibrillas. En nuestros conejos han sido raros los hallazgos de Van Gehuchten en los ganglios espinales.

Las alteraciones fibrilares de las células ganglionares son tan diversas, que en cada estudio se advierte una nueva forma. Cajal ha hablado de una malla compacta, laxa, fibrosa, en forma de cinta e incluso de malla rizada. Generalmente se muestra el engrosamiento más tempranamente y más marcado en la parte periférica de la célula, aunque rara vez sucede lo contrario. La Lámina X, fig. 2, muestra una célula del ganglio de Gasser en un hombre muerto de rabia. Se advierte un gran manojo de neurofibrillas en la parte central de una zona libre. Las neurofibrillas periféricas muestran una hipertrofia mucho menos importante. También en la Lámina X, fig. 3, hay una célula que también procede del ganglio de Gasser del hombre fallecido por rabia, con gran hipertrofia de las neurofibrillas mucho más marcada en la periferia.

Las células fenestradas no son muy frecuentes en el conejo, pero por el contrario las hemos visto no rara vez en el ganglio de Gasser de humanos. Estas formas celulares se muestran agujereadas a la salida de los cilindros con proliferación capsular a nivel de ciertas oquedades o agujeros. Fueron descritas en un importante trabajo de

Cajal y García y se propusieron como características de la rabia. Más tarde, el mismo Cajal encontró estas mismas células en animales sanos y así mismo, pero con otras propiedades, en los ganglios espinales. Actualmente, los agujeros de los ganglios espinales se consideran por Cajal como normales, pero en el transcurso de procesos pueden mostrarse con más intensidad. En la rabia, en las células de los ganglios espinales no rara vez se encuentran elementos retraídos en el interior de una vacuola del protoplasma, con oquedades que a veces también ocurren en células normales. La Lámina X, fig. 6, muestra una de dichas oquedades en una célula de un ganglio en un caso con rabia.

En dicha Lámina se encuentran también las ramificaciones de los cilindroejes. Las pequeñas protrusiones en forma de espina que se advierten en distintas partes del cilindroeje posiblemente representen parte de la ramificación original normal, alterada por la proliferación de elementos capsulares. Además, en las oquedades también se encuentran estas células en el ganglio de Gasser humano, como Cajal ha descrito en el ganglio espinal de un senil denominándolas “células rotas”. Se muestran como desgarradas por la proliferación y los brotes, acomodadas a la fuerte proliferación endocapsular. Dichas células no solamente se encuentran en el anciano; Rossi las ha descrito en otros procesos y nosotros en la rabia.

Como se dijo, no todas las células presentan alteraciones hipertróficas de las fibrillas, como se muestran en la Lámina X, fig. 4 y 5. Estas células se caracterizan por un rico depósito de una sustancia en forma de pequeños grumos con fuerte tinción con el método de plata. El acúmulo teñido de negro tiene la misma posición en el cuerpo celular que el pigmento claro, de manera que lo consideramos un teñido infrecuente. Frecuentemente se encuentran dos acúmulos en zonas situadas una frente a la otra dentro de una misma célula ganglionar. Tampoco son raros los casos en los que el acúmulo se deposita en el núcleo. Rara vez se encuentran los pigmentos en el inicio del cilindroeje en cuyo caso adoptan forma de anillo. Para valorar estos hallazgos es de señalar que el paciente tenía 26 años, y por tanto no era esperable degeneración grasa en las células.

En el trabajo de Cajal citado sobre las células de los ganglios espinales queda constancia de ciertas proyecciones celulares que, a mayor o menor distancia, terminan en un ensanchamiento en forma de maza.

Los corpúsculos de Krause permanecen bajo la cápsula celular, pero frecuentemente se extienden lejos de la célula original, de forma que la maza no queda libre en el tejido, sino que es rodeada por cierta cápsula celular, de forma que Cajal encuentra un parecido entre ello y lo descrito por Krause en la conjuntiva. Lo había encontrado en animales normales, lo que aclara con una ilustración. Intensas tumefacciones como las descritas tienen gran similitud con lo descrito por Cajal en el cerebelo. Se disponen en forma de delgadas expansiones en relación con las células de Purkinje. En nuestros casos de rabia en humanos, se encontraron en el ganglio de Gasser muchas células semejantes a lo que Cajal señala como mazas. A veces eran de grosor no habitual, grosor tan grande como en células de la glía.

Bajo condiciones patológicas, como tras la sección de un nervio, pueden aparecer corpúsculos de Krause al final de las fibras regeneradas, como han mencionado Cajal, Lugaro, Perroncito y Marinesco. También la tumefacción en las raíces posteriores en la tabes por Nageotte. Y recientemente, Cajal en las degeneraciones del cilindroeje de las células de Purkinje tras un trauma pueden motivar dichas alteraciones. Yo también he descrito en colaboración con el Dr. Carlota tumefacciones redondeadas y grandes en los cilindroejes que es posible demostrar tanto con el método de Cajal como con el de Ströbe y como con el de Kaplan, y que guardan gran similitud con distintos gránulos amiloides observados por mí. Siempre es difícil distinguir en los cilindroejes cambios patológicos de artefactos, como ha comentado recientemente Perusini tras numerosas investigaciones. Los cilindroejes tumefactos que ocurren como reacción en las proximidades de la glía son claramente patológicos, si bien se pueden encontrar gránulos amiloides aislados en el ganglio de Gasser, lo que da pie a pensar si existe alguna relación entre éstos y los corpúsculos de Krause.

Los corpúsculos de Negri no son específicos de la rabia, pero deben de ser citados. Las células que se ven en la Lámina XIV, fig. 11, muestran la posición periférica del núcleo y la disolución de la sustancia cromática en pequeños puntos. En las células más pequeñas se ha depositado sobre sus núcleos una sustancia cromática en forma de malla.

Por consejo del Dr. Alzheimer, hemos estudiado si los gránulos fucsínófilos presentan alteraciones patológicas en la rabia. Held y Levihan han puesto de manifiesto como de especial interés dichas estructuras en las células

ganglionares, y Levi ha descrito alteraciones de los gránulos fucsínófilos en los ganglios correspondientes después de haber estimulado eléctricamente el ciático.

Para nuestro estudio hemos fijado el material en líquido de Fleming. La tinción se hizo tras calentamiento de aproximadamente 15 minutos de los cortes de parafina y solución de fucsina saturada, y después se trató con solución de verde metilo. De esta forma pudimos comparar los gránulos fucsínófilos en los ganglios espinales de conejos sanos y patológicos. Bajo condiciones patológicas, la sustancia fucsínófila se intensifica fuertemente. Además, el método proporciona buenas imágenes de la sustancia de Nissl, quedando claramente reconocibles ambos componentes celulares. En condiciones normales aparecen los gránulos fucsínófilos entremezclados con los gránulos de la sustancia de Nissl, a veces en forma de collar.

En los cambios intensos de la sustancia de Nissl, los gránulos fucsínófilos se acumulan en el centro, multiplicados y formando gruesos gránulos del tamaño de un nucléolo. No podemos decidir si los nucléolos grandes tienen relación con los gránulos fucsínófilos. En cambio, en preparaciones fijadas con líquido de Zenker se observan grandes nucléolos, mientras que no se ven gránulos fucsínófilos. En otro lugar de este trabajo, hemos enfatizado las dificultades para distinguir entre corpúsculos de Negri y diferentes cuerpos fucsínófilos. En cualquier caso, se puede constatar su aumento de tamaño y, en buen número de conejos afectados de rabia, una alteración del núcleo en el protoplasma y la alteración intensa de la sustancia de Nissl.

En todas nuestras preparaciones para las neurofibrillas, y también en aquellas para la sustancia de Nissl, se pone de manifiesto que las células de la glía en los ganglios espinales pueden estar fuertemente afectadas, sin que los elementos capsulares tengan la proliferación esperada.

Las células de la médula espinal, del bulbo y del puente muestran la alteración de las neurofibrillas descrita por Cajal en forma muy expresiva. La simplificación y el engrosamiento de la sustancia fibrilar se expande por toda la célula, como se muestra claramente en la Lámina XI, fig. 4. A pesar de la buena impregnación, se pueden apreciar muy pocas fibras. El núcleo está fuertemente desplazado hacia la periferia. La célula proviene de la médula de un conejo, que murió 12 días después de la inoculación. También en la figura 7 de la Lámina X se muestra una célula de la médula del mismo caso caracterizada por la

intensa alteración de la neurofibrillas. Aquí es notable la marcada sinuosidad que adoptan éstas en la célula. Es notable la tumefacción celular y el aspecto sinuoso que toman las neurofibrillas, lo que ocasiona separación de las fibrillas. La sinuosidad no es tan marcada en la célula de la Lámina X, fig. 3, mientras que en la microfotografía XIV, fig. 12, se muestra una imagen semejante. La célula procede del puente de un conejo con rabia que vivió once días desde su inoculación. El protoplasma no muestra aquí la mencionada hinchazón, pero las neurofibrillas aparecen muy engrosadas y parcialmente sinuosas. Se disponen aisladas, sin indicios de estructuras en malla.

Como es conocido, los pies o botones terminales de los cilindros pericelulares se pueden demostrar muy bien con el método de la plata, especialmente con la modificación de Cajal, como han demostrado Cajal y García en la rabia. Como ya describió Cajal, los botones terminales son estructuras fácilmente alterables de forma que solo desviaciones marcadas al lado de otras alteraciones asociadas se pueden considerar como patológicas.

En la rabia se presentan dichas alteraciones en aumento destacable, a la que se asocian desviaciones en la forma y en la estructura. No es raro observar que el botón terminal solo se tiñe homogéneamente en su parte periférica, de manera que se ve como un anillo, formas que fueron definidas por Cajal como imperfectamente teñidas.

En los pies terminales patológicos, una estructura que en ocasiones se presenta con características de malla o red, la imagen puede no ser redondeada sino con esquinas. Las figuras 1 y 2 de la Lámina XI muestra dos células ganglionares de la médula de un conejo con rabia. A pesar de que las fibrillas teñidas en color pardo no muestran alteraciones, los nódulos terminales están fuertemente teñidos en negro y engrosados. En su interior, las fibrillas aparecen desordenadas y sinuosas. También observamos la alteración de los botones terminales pese al comportamiento normal de las neurofibrillas. Por el contrario, hemos podido constatar en humanos con rabia profundas alteraciones de las células con normalidad de los botones terminales. Como más tarde veremos, muchas células ganglionares muestran en ese caso marcada degeneración grasa. El engrosamiento de las neurofibrillas solo es observable en el ganglio de Gasser. En muchas células de la oliva inferior había tal degeneración grasa que solo ha permanecido un borde

periférico de neurofibrillas. En estas células los botones terminales son completamente normales.

Hemos utilizado este mismo método para representar los gránulos celulares en la médula espinal, así como en el bulbo y puente, y queremos exponer aquí los resultados. En la Lámina XV, en un corte superficial de una gran célula del puente se pueden distinguir en el interior de la célula una estructura fibrilar en forma de red.

Se ven parte de las redes con una gran definición, así como pequeños puntos que se unen a los nudos de la malla. Se ven las fibras en un trayecto corto, pero solo en aquellas con un trayecto mayor éste suele estar interrumpido por tumefacciones con morfología granuliforme. En la superficie de la célula, Held ha descrito conglomerados de neurosomas. Consisten entre dos y cinco pequeños grumos separados entre sí en las zonas donde se encuentran muy concentrados. En la periferia de la célula se mantienen aislados, en unión con las fibras pericelulares. Son redondos y están teñidos homogéneamente. De alguno de tales botones terminales brotan pequeñas fibras. A través de este método, en un caso patológico podemos ver en las grandes células del puente su relación con fibras pericelulares (a) que se pueden interpretar como botones terminales (b) y finalmente una imagen de malla en el interior de la célula, en la que en sus nudos se advierten pequeños gránulos fucsínófilos unidos a las fibrillas. Con el método de la plata quizás se deban interpretar como alteraciones patológicas de la sustancia fucsínófila (c).

Las neurofibrillas de las pirámides cerebrales muestran en uno de nuestros conejos con rabia la conocida hipertrofia y simplificación. En algunos casos se advierte también un importante engrosamiento de la protrusión apical, a cuyo nivel las neurofibrillas individualizadas se apartan unas de otras, como se observa en la Lámina XI, fig. 5.

En la corteza cerebral humana las neurofibrillas no estaban engrosadas patológicamente, pero en el interior de las células ganglionares se encontraban acúmulos pigmentarios, especialmente en la protrusión apical que aparecía hinchada. La que se ve en la Lámina XI, fig. 6, pertenece a una célula de Betz gigante. En la salida del cilindroje y lateral a la rama troncal se encuentran depósitos grasos. Solo en sus cercanías se muestran mínimas desviaciones del comportamiento normal.

El intenso acúmulo de sustancias grasas en las células ganglionares de nuestros casos de rabia en humanos,

es diferente de lo que ocurre con los conejos. En estos, las células ganglionares se encuentran libres de grasa, mientras que las células gliales y adventiciales se muestran cargadas con mucha grasa. Opinamos que dicha desigualdad pudiera ser consecuencia del proceso, como hemos encontrado en un joven de 26 años hasta entonces sano. En los infiltrados perivasculares se encuentran gránulos de Babes en el puente y gran cantidad de corpúsculos de Negri en el asta de Amón y en el cerebelo, así como engrosamiento de las neurofibrillas en el ganglio de Gasser, representando así el diagnóstico seguro de la enfermedad rábica.

### Conclusiones

1. Respecto a lo observado en el aparato vascular, cuanto más prolongada sea la enfermedad, más infiltrados existen en los vasos. Los infiltrados se componen en gran parte por células plasmáticas y linfocitos. La situación es parecida a lo encontrado tanto en la parálisis general progresiva como en la enfermedad del sueño (encefalitis del sueño). El parecido con esta última es más marcado por la tendencia de las células plasmáticas a penetrar en el tejido cerebral. Además de infiltrados difusos, se encuentran focos aislados de células granulomatosas que, en los casos estudiados por nosotros, se localizaban en los ventrículos cerebrales, así como en la pía.

2. Las células ganglionares sufren en la rabia alteraciones relevantes. En el conejo representan una forma especial de enfermedad con predominio, si bien no exclusivo, en las células piramidales del asta de Amón y raramente en el cerebelo, posiblemente debido a degeneración nuclear. Además, desaparece la armazón de linina a medida que aumentan la basofilia y los grumos acidófilos. La membrana nuclear y las características tintoriales de las células permanecen intactas.

Con la disolución de la parte acidófila del núcleo y atrofia o pérdida de su membrana, se inician alteraciones del soma celular manifestadas por retracción y fuerte coloración acidófila, de manera que deja de ser posible delimitar entre contenido nuclear y protoplasma. En la situación final del proceso degenerativo aparecen estructuras redondeadas acidófilas junto con gránulos nucleares. En esta fase final, tales estructuras pueden verse rodeadas por células gliales e incluso ser fagocitadas por éstas.

3. Las alteraciones de las células ganglionares desencadenan intensos cambios reactivos de la glía.

La especial estructura del asta de Amón determina el acomodo de determinadas formas de glía, a las que hemos descrito como elementos en bastoncito, de manera que se adaptan a la prolongación apical de las células piramidales que alcanza hasta el estrato radiado.

4. En el cerebro del conejo rábico se producen sustancias grasas en cantidades notables en el protoplasma de la glía. La mayor parte de la grasa se encuentra en las células satélite de la corteza cerebral y, especialmente, en las células alargadas del asta de Amón. También en los seres humanos hemos podido demostrar sustancias grasas en la glía.

5. Las células de la glía experimentan alteraciones regresivas con formación de grumos acidófilos y, en mayor o menor cuantía, inclusión de sustancias basófilas. Si las células satélite ocasionan alteraciones regresivas, se llegan a formar productos endocelulares indiferenciables de los típicos corpúsculos de Negri, explicando así su aparente abundancia. Estas observaciones cuestionan la valoración actual de los corpúsculos de Negri.

6. En cuanto a las neurofibrillas, también sufren alteraciones en la rabia. Cajal ya había descrito en el conejo su engrosamiento en los ganglios de la médula espinal, medula oblongada, puente y en el cerebro. En nuestros casos hemos observado la marcada hipertrofia de éstas en las células de los ganglios espinales. En estadios avanzados las fibrillas se muestran muy sinuosas y adheridas con impregnación marcada por la plata junto a alteraciones del protoplasma. Esa tendencia a unirse es más marcada en las prolongaciones apicales de las pirámides. En humanos, el engrosamiento de las neurofibrillas tiene lugar en el ganglio de Gasser, donde además las células aparecen fragmentadas. Algunas prolongaciones de las células gliales en forma de maza las hemos interpretado como patológicas. En humanos no hemos encontrado engrosamiento de las neurofibrillas en el puente y la corteza cerebral, pero el depósito de pigmentos señalaba un comportamiento patológico. Los pies terminales en agrupaciones pericelulares se encontraban menos alterados en relación con la alteración celular. En las células de la oliva en humanos, afectadas por una intensa degeneración grasa, no se advierte alteración de los botones terminales; por el contrario, en la médula espinal del conejo, se encuentran pies terminales patológicos y agrupamiento de células ganglionares cuyo aparato fibrilar muestra un comportamiento normal. También las células granulares

fucsinófilas se alteran durante el proceso con aumentos aislados en el grosor de los gránulos. Con la utilización de métodos tintoriales selectivos, se encuentra en células grandes del puente en el conejo una estructura de malla, con gránulos fucsinófilos y pequeños nódulos. Dichas estructuras no se relacionan con el aparato fibrilar, según pone de manifiesto el método de plata reducida, sino que deben de valorarse como un cambio patológico propio de la sustancia granular. Además, en la superficie del soma celular se encuentran grumos y pies terminales como estructuras diferenciadas.

### Bibliografía

- Abba et Bormans. Sur le diagnostique histologique de la rage. Ann. de l'Institut Pasteur 1905.
- Alzheimer. Histologische Studien zur Differentialdiagnose, der progressiven Paralyse. 1904. Ders., Über den Abbau des Nervengewebes. Zeitschr. f. Psychiatrie 1906, Bd. LXIII.
- Babes. Ann. de l'Institut Pasteur 1892. Ders., Les nodules rabiques et le diagnostique rapide de la rage. Presse med. 1900.
- Ders. Untersuchung über die Negrischen Körper und ihre Beziehung zu dem Virus der Wutkrankheit. Zeitschr. f. Hyg. 1907.
- Balzer. Lesions cerebrales et bulbaires dans la rage. Soc. Anatom. 1874.
- Benedikt, Wiener med. Presse 1875.
- Cajal, Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados. Madrid 1899.
- Ders., Coloración selectiva del retículo protoplásmico. Trab, del lab. de inv. biol. 1903, Fase. II.
- Ders., Variaciones normales y patológicas del retículo protoplásmico. Trab, del lab. de inv. biol. 1904, Fase. III.
- Ders., Mecanismo de la regeneración de los nervios. Trab, del lab. de invest, biol. 1905, Fase. IV.
- Ders., Note sur la degenerescence traumatique des fibres nerveuses du cervelet et du cerveau. Trav. du lab. de rech. biol. 1907, Tome V.
- Cajal y García, Las lesiones del retículo de las células nerviosas en la rabia. Trab, del lab. de inv. biol. 1904, Fase. III.
- Cajal y Oloriz, Los ganglios sensitivos craneales de los mamíferos. Rev. Trim, micrográfica 1897, Fase. II.
- Catola u. Achúcarro. Über die Entstehung der Amyloidkörperchen im Zentralnervensystem. Virchows Archiv 1906, Bd. CLXXXIV.
- Cerletti. La Neuronofagia. Riv. sperimentale di freni atria 1907.

- Ders. Sopra alcuni rapporti tra le cellule a bastoncello<sup>o</sup> (Stäbchenzellen) etc. Riv. sperimentale di freniatria 1905.
- Donnaggio. Effetti dell'azione combinata del digiuno e del freddo nei centri nervosi di mammiferi adulti. Riv. sperimentale di freniatria 1906. 193
- Ernst. Demonstration der Negrischen Wutparasiten aus dem Zentralnervensystem des Hundes. Sitzungsberichte der Gesellschaft für Morphologie und Physiologie München 1906.
- Germano et Capobianco. Contribution à l'histologie de la rage. Ann. de l'Institut Pasteur 1895.
- Golgi, Archives italiennes de biologie 1887.
- Grigorjew u. Iwanow, Pathologisch-anatomische Veränderungen im zentralen und peripheren Nervensystem bei experimenteller Lyssa. Zentralbl. f. allg. Path. 1898.
- Kraus u. Clairmont, Über experimentelle Lyssa bei Vögeln. Zeitschrift f. Hyg. 1900.
- Levi. Su alcune particolarità di struttura del nucleo dell'cellule nervose. Riv. di pat. nerv. e ment. 1896.
- Ders., Ricerche citologiche comparate sulla cellula nervosa dei vertebrati. Riv. di pat. nerv. e ment. 1897.
- Ders., Contributo alla fisiologia della cellula nervosa. Riv. di pat. nerv. e ment. 1896.
- Maresch. Über die feinere Struktur der Negrischen Körper. Wiener klin. Wochenschr. 1905.
- Marinesco. Recherches sur le 1103-11 et le nucleole. Journ. f. Psychologie u. Neurologie 1905, Bd. V.
- Ders., Nouvelles recherches sur les neurofibrilles. Revue neurol. 1904.
- Ders., Quelques recherches sur la morphologie normale et pathologique des cellules des ganglions spinaux et sympathiques. Le Nevraxe 1906, Vol. VIII.
- Meynert. Klinik der Nervenkrankheiten 1875.
- Mott. Histological observations on the changes in the nervous system in trypanosome infections, especially sleeping-sickness. Arch. of Neurology 1907, Vol. III.
- Negri. Zur Ätiologie der Tollwut. Zeitschr. f. Hyg. 1903.
- Ders. Sulla morfologia e sul ciclo evolutivo del parassita della rabbia. Rendiconti della R. accademia dei Lincei 1907.
- Nissl. Über einige Beziehungen zwischen Nervenzellenerkrankungen und gliösen Erscheinungen bei verschiedenen Psychosen. Archiv f. Psychiatrie 1899, Bd. XXXIII.
- Ders. Zur Histopathologie der paralytischen Rindenerkrankung. Histol. u. histopathol. Arbeiten 1904, Bd. I.
- Rossi. Intorno ad alcune particolarità morfologiche delle cellule dei gangli spinali dei mammiferi. Pavia 1906.
- Simarro. Nuevo método histológico de impregnación por las sales fotográficas de plata. Revista Ibero-Americana de Ciencias Médicas 1900.
- Schiffmann. Zur Kenntnis der NEGRischen Körperchen bei der Wutkrankheit. Wiener klin. Wochenschr. 1905.
- Ders., Wiener klin. Wochenschr. 1906. 194
- Siciliano. Una speciale alterazione nucleare nella rabbia. Riv. Di pat. nerv. e ment. 1905.
- Schafeer. Ann. de l'Institut Pasteur 1889.
- Spielmeyer. Experimentelle Tabes bei Hunden (Trypanosomentabes). Münch, med. Wochenschr. 1906.
- Ders., Schlafkrankheit und progressive Paralyse. Münch, med. Wochenschr. 1907.
- Tello, Las neurofibrillas en los vertebrados inferiores. Trab. del lab. de inv. biol. 1904, Fase. III.
- Van Gehuchten et Nelis. Les lésions histologiques de la rage chez les animaux et chez l'homme. Bull. de l'Acad. Royale de Belgique 1900.

## Explicación de las Láminas

### Lámina VIII

A. Muestra las alteraciones regresivas de las células ganglionares y núcleos gliales en conejos muertos por rabia. Panóptico de triácido mezclado según Pappenheim. Zeiss Homog. Immers. 1, 30.

1. Células de Purkinje normales. Los corpúsculos del núcleo están teñidos de azul claro, el armazón acromatínico y la membrana nuclear son rojos. El cuerpo celular muestra la sustancia de Nissl teñida de azul.

2. Células alteradas en las que la membrana nuclear es solo parcialmente visible. El corpúsculo nuclear no está alterado. El armazón acromatínico no se reconoce con claridad: lo cruzan fragmentos teñidos de rojo, que rellenan y reemplazan al núcleo. Además, el núcleo contiene una gran cantidad de gránulos. El protoplasma no muestra los glomérulos de Nissl. Arriba a la izquierda, dos células. La membrana nuclear solo se ve parcialmente. Izquierda arriba, dos núcleos satélite.

3. Células de Purkinje fuertemente atrofiadas. Ningún rastro de membrana nuclear. No se ven corpúsculos nucleares. Abundantes gránulos de cromatina teñidos de rojo en las cercanías del núcleo, fondo con aspecto troceado. A pesar de que falta la membrana nuclear, la frontera entre el núcleo y el protoplasma es nítida. El cuerpo celular está teñido de rojo, a la izquierda un núcleo satélite.

4, 5, y 6. Muestran formas de avanzada degeneración celular. De la célula de Purkinje permanecen solo esferas coloreadas que contienen un número de gránulos cromatínicos de distintas formas. Están en el centro de la preparación. La limitación con la zona periférica es muy irregular.

7 y 8. Pequeñas esferas con fragmentos cromatínicos que tienen su origen en las células de Purkinje, rodeadas por células gliales.

9 al 16. Muestran células ganglionares de la zona piramidal del asta de Amón.

9. Célula normal, el protoplasma está teñido de azul, la membrana nuclear de rojo, los corpúsculos nucleares en azul claro. Entre los corpúsculos nucleares hay dos grumos cromatínicos de color azul oscuro.

10. Se ve la membrana. El fondo del núcleo está irregularmente coloreado con colores ácidos. En el centro del núcleo se encuentra un grano de cromatina muy grande.

11, 12, 13, 14, 15. Células escleróticas. La separación entre zonas del núcleo y el protoplasma no es visible. Tampoco entre componentes nucleares y protoplasma. En las células teñidas fuertemente con coloración ácida se encuentran un número de nucléolos cromatínicos, cuyo tamaño, cifra y forma es muy variado. En 12, 13, 14 y 15 se ven vacuolas que adoptan forma de medialuna o anillo; están en los corpúsculos cromatínicos.

16 y 17. Formas avanzadas de denervación.

18–23. Muestran formas regresivas de células satélite en la corteza cerebral.

18. Célula piramidal, a su derecha hay una célula satélite. En la prolongación apical hay una formación redonda, fuertemente teñida de color ácido. Contiene tres grandes gránulos cromatínicos. La formación muestra ser un núcleo de una célula glial satélite.

19. Célula piramidal con núcleo satélite degenerado.

20. Muestra una imagen parecida.

21, 22, 23. Células gliales regresivas en las cercanías de células piramidales.

B. Representación de células gliales regresivas degeneradas en la capa piramidal del asta de Amón de un conejo muerto por rabia. Azul de toluidina. Zeiss Homog. Immers. 1, 80.

1, 2. Núcleos normales. Los nucléolos están teñidos de rojo y en sus superficies se adhieren pequeñas estructuras ricas en cromatina. En la figura 2 se observan dos de dichos nucléolos.

3–7. Núcleos alterados. Los núcleos no son tan grandes como en células normales, también la forma se ha hecho irregular. Al mismo tiempo se muestra un aumento de los componentes y especialmente la sustancia teñida de rojo. A consecuencia de este aumento se producen cadenas (4, 5).

8–12. Formas avanzadas del mismo proceso. Aquí la estructura de cromatina ya no se ve. Los núcleos se han alargado, el fondo es muy claro. En el centro hay grandes grumos de sustancia cromática. Algunos (10) gránulos teñidos de rojo.

C. Células ganglionares del estrato piramidal del asta de Amón de un perro muerto por rabia. Fijación de Zenker. Tinción de Giemsa. Zeiss Homog. Immers. 1, 30.

1. Célula ganglionar que tiene dos corpúsculos de Negri. El cuerpo grande y de forma ovoidea muestra una parte central que se diferencia de la parte periférica por una estructura de fondo distinta. Además, en la parte central hay seis inclusiones basófilas. El pequeño nucléolo muestra también en el centro una inclusión basófila.

2. La célula glial muestra un nucléolo. En el centro se encuentra una vacuola, que está separada de forma incompleta por un anillo teñido de azul.

3. Muestra la relación entre los corpúsculos de Negri endocelulares y la sustancia de Nissl. La sustancia de Nissl tiene forma coniforme y está alineada, a lo largo, en las protuberancias protoplásmicas.

4. Célula ganglionar con dos corpúsculos de Negri. El grande tiene dos vacuolas que contienen inclusiones basófilas.

5. Corpúsculos endocelulares de Negri. La parte central no muestra vacuolas, sino la forma de un núcleo celular.

6. Célula satélite alterada al penetrar en una célula ganglionar.

D. Presentación de células alargadas (muy posiblemente células gliales) del *stratum radiatum* del asta de Amón de un conejo muerto de rabia. La disposición paralela de las células corresponde a su posición real. Preparado de tiónina. Zeiss Homog. Immers. 1, 30.

1. Además de su forma alargada, esta célula se caracteriza por una gran proyección perpendicular a la dirección longitudinal.
2. La célula envía hacia arriba dos prolongaciones.
3. Forma muy curiosa, el núcleo curvado envía dos prolongaciones paralelas. De una sale en seguida una prolongación que pronto se separa en dos brazos.
4. Célula alargada con una gran hinchazón del protoplasma.
- 5, 6. Núcleo y parte de célula.
7. ¿Célula en bastoncillo?

#### Lámina IX.

Fig. 1–20. Representación de células de la glía y adventicia con presencia de grasa en la corteza cerebral y el asta de Amón de un conejo muerto de rabia. Tinción grasa de Herxheimer. Zeiss Homog. Immers. 1, 30.

- 1, 2. Células de la glía de la capa piramidal del asta de Amón.
3. Célula glial con grasa de la capa piramidal del asta de Amón.
- 4, 5, 6. Células de la glía con grasa del *stratum oriens*.
- 7, 8, 9, 10, 11. Células piramidales con células satélite de la corteza cerebral. Mientras que las células ganglionares contienen poco o nada de grasa, las células gliales de los ganglios muestran abundante cantidad.
12. Célula glial de la capa libre de células de la corteza cerebral.
- 13, 14, 15, 16, 17. Larga fila de células del *stratum radiatum* del asta de Amón. Se identifican con las células mostradas en la lámina anterior.
14. Célula partida.
15. La gran célula en forma de bastón presenta arriba, al final, una hinchazón protoplásmica.
18. Célula adventicial de un vaso del asta de Amón.
19. Capilar del *stratum radiatum*.
20. Capilares de la corteza cerebral.
21. Representa algunas células gliales que contienen sustancias *protagonoides*. Asta de Amón de un paciente con rabia de 26 años. Método de la hematoxilina según Alzheimer. Los gránulos de color azul intenso y forma irregular que rodean a los núcleos gliales se componen de sustancias *protagonoides*.

#### Lámina X.

Método de plata de Cajal. Zeiss Homog. Immers. 1, 30.

1. Parte de un corte de ganglio espinal de un conejo muerto de rabia. En tres células se puede ver muy claramente el engrosamiento de las neurofibrillas.

2, 3. Dos células ganglionares del ganglio de Gasser de un paciente enfermo de rabia. En 2, intensa hipertrofia y alteración de las neurofibrillas; muy gruesas, especialmente en el centro. En una zona se ven algunos corpúsculos intensamente coloreados. En 3, algunas de las fibrillas periféricas intensamente engrosadas.

4, 5. Células ganglionares del ganglio de Gasser de un enfermo con rabia. La imagen muestra un depósito celular de materia fuertemente teñida con plata.

6. Célula ganglionar con cápsula del ganglio de Gasser de un paciente con rabia. En las hendiduras se encuentran elementos capsulares. Entre la proliferación de elementos capsulares se encuentra el cilindroeje, que adopta varias desviaciones y duras prominencias.

7. Célula de la médula de un conejo muerto de rabia. Engrosamiento y curso tortuoso de las neurofibrillas.

#### Lámina XI.

Método de plata de Cajal. Zeiss Homog. Immers. 1, 30.

1, 2. Células del asta anterior de un conejo muerto de rabia. Las neurofibrillas no muestran alteraciones reseñables. Los gránulos terminales son más gruesos que lo normal. El curso irregular de algunos gránulos terminales y la variabilidad de su estructura reflejan su alteración.

3. Célula del puente de un conejo muerto de rabia. Gran engrosamiento de las neurofibrillas. Algunas neurofibrillas muestran un curso muy tortuoso.

4. Célula de la médula de un conejo muerto de rabia. Las neurofibrillas se reducen a unas escasas y gruesas bandas. Localización lateral del núcleo.

5. Célula ganglionar de la corteza cerebral de un conejo muerto por rabia. Hinchazón del proceso basal. Las neurofibrillas, gruesas y serpiginosas, están separadas unas de otras por la hinchazón. En el citoplasma se ven contadas neurofibrillas en las cercanías del núcleo. En el núcleo se ven numerosos gránulos teñidos de negro.

6. Célula piramidal grande de la corteza cerebral de un humano de 28 años fallecido de rabia. Acúmulo de grasa en las proximidades de la salida de los cilindroejes y lateralmente en prolongación apical. Las neurofibrillas no muestran ninguna alteración en su proximidad al acúmulo de grasa.

7. Célula ganglionar del puente del mismo paciente con rabia. A pesar de que la célula se muestra muy alterada, el grosor de las neurofibrillas no ha aumentado notablemente. Los espacios claros entre las fibrillas indican que hay sustancias depositadas en la célula.

#### Láminas XII–XV.

(Explicación en las propias láminas.)

#### Errata.

Página 26, segunda y tercera líneas de arriba, léase: la figura 2a y b-d de la Lámina II.