

cional. Esta hipótesis ecléctica la sostuvieron muchos clínicos: Edinger, Biedl, Paulesco, Pende, Zondek y Marañón, diciendo este último autor, textualmente, que "esta hipótesis ha recibido confirmación plena por los trabajos de Vergara y Collin, que histológicamente han demostrado que el coloide infundibular hipofisiario pasa al lóbulo posterior, sube por el tallo pituitario, probablemente por simple capilaridad, ya por las vainas perivasculares, ya entre las fibrillas nerviosas, llegando a los centros infundibulares, poniéndose en contacto con los centros diencefálicos".

He intentado exponer mi contribución al estudio de la neurocrinia hipofisiaria, concepto que emití desde el año de 1924; pero sería injusto si dejara de mencionar las investigaciones de J. Abel, que en octubre de 1924, publicó sus estudios químicos y clínicos sobre los principios activos de la hipófisis, en el boletín de Johns Hopkins Hospital, y que mi contribución está representada únicamente por mis investigaciones histológicas que fijaron la entidad anatómica e histofisiológica y diencefalo-hipofisiaria, que fué confirmada en 1925 por Remy Collin y que ha sido aceptada por Leandro Cervera y Gregorio Marañón, en España. El concepto histofisiológico de la neurocrinia hipofisiaria ha venido a ratificarse una vez más el año de 1933, por Collin, al cual agradezco sus puntos de vista en relación con mis trabajos, e igualmente al doctor Harvey Cushing que ha tomado en consideración, confirmando mi contribución al estudio de la histofisiología de la hipófisis.

### ●

## **Algunos datos citológicos y nucleolares del testículo embrionario humano \***

Por el Dr. I. GONZALEZ GUZMAN.

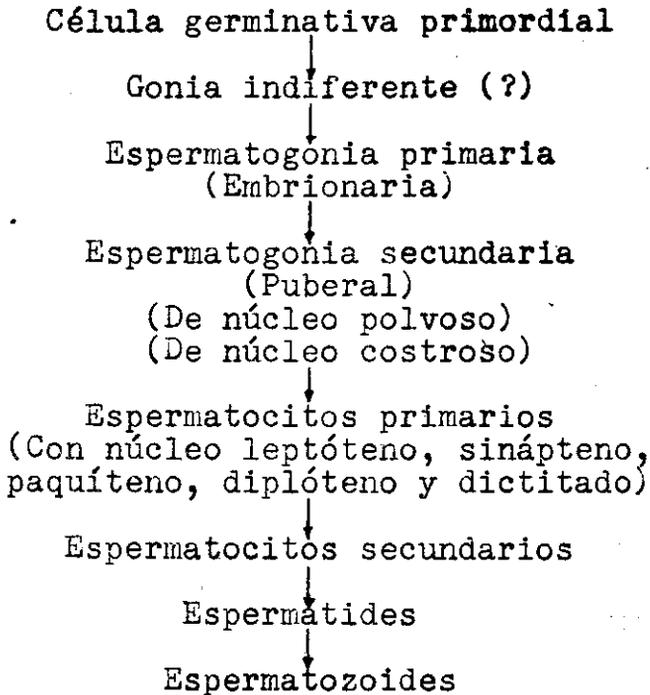
La opinión más aceptada acerca del origen de las células que forman el testículo embrionario humano, es la que señala que las gónadas indiferentes se derivan del epitelio celómico y se encuentran constituidas en esa época por dos tipos celulares: gruesas células de núcleo voluminoso y turgente, denominadas células germinativas primordiales, y elementos epiteliales, sinciciales y peque-

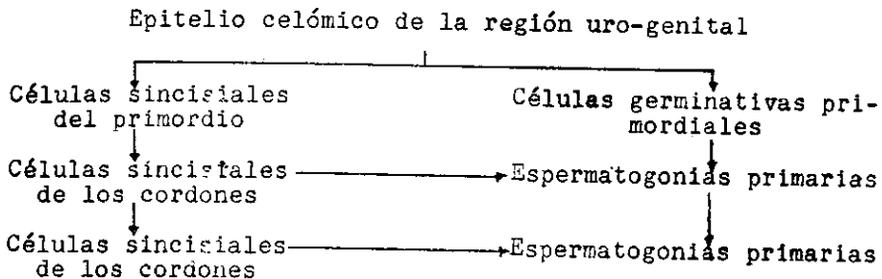
\* Trabajo de los Laboratorios de Estudios Médicos y Biológicos. Leído en la sesión del 17 de diciembre de 1941.

ños. Se admite también que las células germinativas primordiales, a través de una etapa fugaz y no por todos aceptada de gonias indiferentes, dan nacimiento a una primera generación de espermatogonias, llamadas primarias. Estas pueden reconocerse fácilmente en los cordones testiculares embrionarios, por su gran tamaño, su núcleo redondeado, vesiculoso, turgente, finamente estructurado y rico en nucleolos, aspecto que contrasta con el conjunto monótono de núcleos elipsoidales o redondeados que salpica el sincicio cordonal.

Esta estructura testicular persiste largo tiempo y sólo se observa en ella, después del nacimiento sobre todo, la degeneración y desaparición de muchas de las espermatogonias primarias. No sería sino en la época prepuberal que aparecerían las espermatogonias secundarias o definitivas a expensas de las primarias, según los más, o teniendo su origen en las células sinciciales, según una hipótesis que cada vez gana más adeptos. Ambos conceptos genéticos pueden quedar resumidos en los esquemas siguientes:

**Ideas clásicas sobre la espermatogénesis:**





El objeto de esta comunicación es señalar algunos aspectos estructurales del testículo embrionario humano y el contenido nucleolar de las células que los cordones albergan en esa época de la vida.

**Material y técnica.**—Me han servido para estos estudios, los testículos de dos embriones, de cuatro a cuatro y medio meses, órganos que he podido extraer de productos recién muertos y fijar inmediatamente en formolina al 10% durante varias semanas, fijación que es la preferible para el empleo posterior de técnicas nucleolares a base de impregnaciones argénticas.

El estudio citológico general se hizo en cortes teñidos con carbonato de plata, ya sea en frío y reduciendo o en caliente, piridinando y reduciendo, tal y como lo recomienda Río Hortega.

El estudio nucleolar fué hecho practicando la doble impregnación argéntica de Río Hortega, haciendo todos los tiempos en frío y sin reducir después de la coloración final en carbonato de plata piridinado, limitándome a fijar las tinciones obtenidas mediante un paso rápido por hiposulfito al 5%.

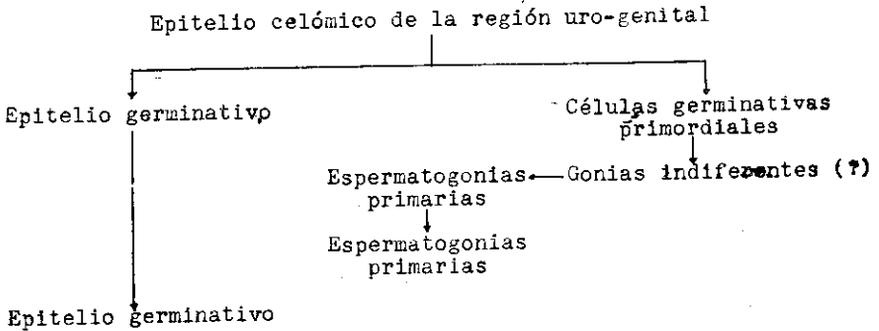
**Resultados.**—Van a ser consignados separadamente para la citología y génesis espermática y para los datos nucleolares.

Las células de los cordones ofrecen aspectos que permiten asegurar que los dos tipos contenidos, sincicial y espermatogónico, no son dos estirpes celulares distintas, como se pretende por muchos autores, sino una sola con dos aspectos distintos.

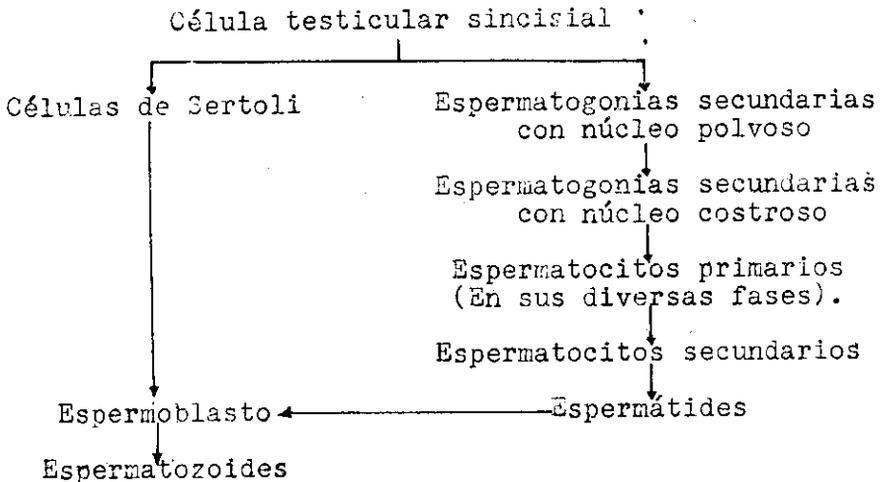
En el sincicio que en estas épocas del desarrollo forma los cor-

Esquema de la generación en dos etapas:

Período embrionario.



Período puberal



En mi concepto, durante la época embrionaria, única a la que me refiero en esta comunicación, el esquema genético sería el siguiente:

dones testiculares, pueden observarse, en efecto, tanto las espermatogonias primarias aisladas y bien individualizadas, como los núcleos elipsoidales sinciciales y las formas de paso que señalan la transformación de éstos en aquéllas.

Las células sinciciales son enérgidas mal limitadas, con núcleo elipsoidal cuya cromatina, escasa, aparece en granos uniformemente repartidos en el seno de la cariolinfa muy cromófila y en el que se albergan de 2 a 4 nucleolos y algunos granos argentófilos extranucleares. El protoplasma del sincicio, muy cromófilo con las impregnaciones argénticas, no muestra estructuras ostensibles o inclusiones; a lo más una delicada estructura esponjosa o trabecular existe en aquellos territorios protoplásmicos que marcan los límites nacientes de la célula que va a sufrir la transformación espermatogónica.

Cuando los elementos sinciciales sufren esta evolución, su núcleo aumenta de volumen, pierde su forma elipsoidal, se redondea y aumenta considerablemente su contenido nucleolar. Paralelamente, el protoplasma perinuclear se separa del sincicio, al que queda por algún tiempo unido mediante delicados puentes. Cuando la separación es completa, la espermatogonia es más grande todavía y se encuentra alojada en una cavidad que se ha ahuecado entre la porción periférica del cordón y el grupo sincicial de las partes centrales. Este antro de contorno irregular y frecuentemente mal limitado parece contener un líquido que resulta quizá, por lo menos en parte, de la desintegración del protoplasma sincicial en torno de la espermatogonia recién formada.

Esta célula muestra de ordinario un gran núcleo esferoidal, más claro que el de las enérgidas sinciciales, cuya cariolinfa menos argentófila alberga un conjunto cromático granular y un complicado aparato nucleolar, así como granos argentófilos extranucleolares, detalles de los que después se hará mención.

**Datos nucleolares.**—Células sinciciales. El aparato nucleolar de las enérgidas consiste en 2 a 4 corpúsculos de algunas granulaciones argentófilas extranucleolares. Los nucleolos se tiñen intensísimamente con las dobles impregnaciones argénticas; la sustancia fundamental es muy cromófila y se colorea con tanta intensidad que no deja observar las estructuras internas a base de granos

argentófilos. Todo el núcleo se tiñe casi en negro y sólo alguno que otro menos colorido deja ver que están constituidos por substancia fundamental abundante, en el seno de la cual hay escasos granos argentófilos, de dos a cinco, pequeños y sólo visibles en los nucleolos más voluminosos. En la cariolinfa se encuentran casi siempre algunas granulaciones argentófilas intensamente negras.

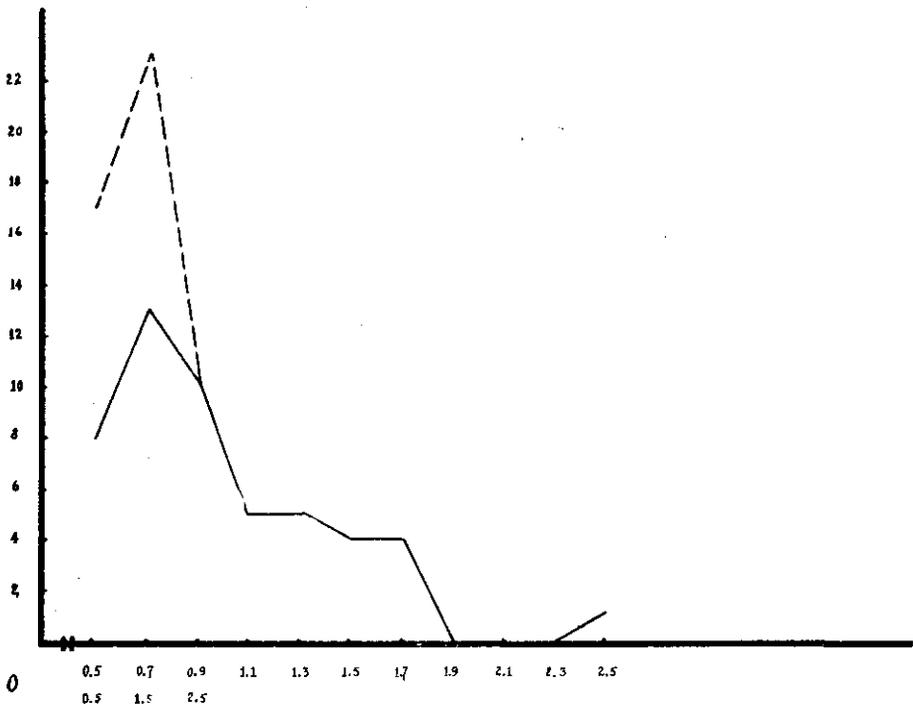


Figura No. 1.—Características nucleolares de las células sinciciales. Con trazo lleno, polígono de frecuencias de los valores del índice Rn. Con línea discontinua, polígono de frecuencias del número de nucleolos contenidos en los núcleos sinciciales. Datos correspondientes a 50 células medidas.

El número de corpúsculos nucleolares en los núcleos sinciciales, tiene una media aritmética de 1.86, cifra que es influida por una desviación media de 0.81 y una desviación estándar de  $\pm 0.86$ .

La abundancia de materiales nucleolares expresada por la relación del índice Rn, muestra una considerable riqueza nucleolar,

cuya media aritmética de 1.0 es influida por una desviación media de 0.34 y una desviación estándar de  $\pm 0.38$ .

En la fig. núm. 1, se han representado dos polígonos de frecuencias; en el primero, trazado con línea llena, se han consignado por frecuencias los valores del índice Rn; en el segundo, hecho con trazo discontinuo, el del número de nucleolos contenido en los núcleos sinciciales.

**Espermatogonias.**—En estas células el aparato nucleolar es más complejo y ofrece muchas características interesantes. Desde luego el número de nucleolos es mayor que en las células sinciciales, de 2 a 6, y esos corpúsculos ofrecen mayor volumen, polimorfismo y complejidad estructural.

Los nucleolos suelen ser muy voluminosos, enormes, y presentan formas variadas, procesos de gemación, estructuras bizarras, que los distinguen de los contenidos en las células sinciciales. Si es verdad que muchos son redondeados y de contorno muy regular, también es cierto que otros presentan formas curiosas, en V, en herradura, poligonales, gemantes, etc. Su situación puede ser cualquiera en el seno de la cariolinfa; pero presentan con mucha frecuencia una marcada tendencia a colocarse por debajo de la cara interna de la membrana nuclear, adheridos a ella y deformándose a consecuencia del íntimo contacto que toman ambas formaciones. Es posible que esta situación esté íntimamente relacionada con el funcionalismo nucleolar y favorezca la expulsión del nucleolo hacia el protoplasma, ya sea de materiales elaborados por los nucleolos o de substancias nucleolares mismas. Esta idea encontraría apoyo en la observación frecuentísima de nucleolos que están saliendo del núcleo al protoplasma o que salidos ya de la vesícula nuclear son fácilmente identificables en el seno de la masa protoplásmica. Estos nucleolos ectópicos conservan fuera del núcleo, por lo menos en las preparaciones estudiadas, la misma estructura observable en el interior de la vesícula nuclear y sólo es de agregarse que con frecuencia se aprecia una condensación periférica anular más argentófila que las porciones centrales.

La estructura interna de los nucleolos espermatogónicos es interesante. La mayor parte de ellos muestra una substancia fundamental abundante y muy cromófila que dificulta la observación de las estructuras internas. A pesar de ello, mirando con

atención e iluminación fuerte, se percibe que las más de las veces son pobres en granos argentófilos, 2 a 4 para los nucleolos de mediano tamaño y 3 a 6, u 8 en los voluminosos. Sin embargo, hay algunos que contienen una gran cantidad de granulaciones. Parece haber un cierto antagonismo entre el número de granulaciones y la cromofilia de la substancia fundamental; a mayor número de granulaciones menor intensidad en la coloración de la substancia fundamental y, viceversa, a menor número de granos, mayor argentofilia de la substancia fundamental. Tal parece como si los granos argentófilos se disolviesen y al mezclarse a la substancia fundamental aumentarían grandemente su cromofilia argentófila.

Las granulaciones intranucleolares son habitualmente muy finas, pocas son las que sobrepasan una micra o alcanzan dimensiones mayores. Su situación es habitualmente periférica y en los nucleolos de contorno poliédrico se colocan de ordinario en los ángulos diedros o en los vértices, dando la impresión de que su tendencia a salir hacia la cariolinfa fuese la causa de muchas deformaciones o formas bizarras.

En el seno del jugo nuclear se encuentran casi de modo constante, numerosas inclusiones granulares; unas teñidas en sepia por la doble impregnación, otras intensamente negras como los granos argentófilos intranucleolares. La observación en otras estirpes celulares de hechos semejantes ligados a una hipertrofia e hiperactividad del aparato nucleolar, me permite suponer con verosimilitud que en las espermatogonias primarias existe un hecho comparable y que el acrecentamiento e hiperactividad nucleolares que acompaña a la transformación de las células sinciciales en espermatogonias, es causa de la salida de granos argentófilos al jugo nucleolar; así como de materiales nucleolares o de elaboración nucleolar, y no figurados, tanto a la cariolinfa como a la masa protoplásmica.

La riqueza nucleolar de las espermatogonias es grande y el número de nucleolos que alberga su núcleo es considerable. Este último tiene una media aritmética de 3.52, cifra influida por una desviación media de 1.12 y una desviación estandar de  $\pm 1.42$ .

La riqueza nucleolar expresada por el índice Rn tiene una me-

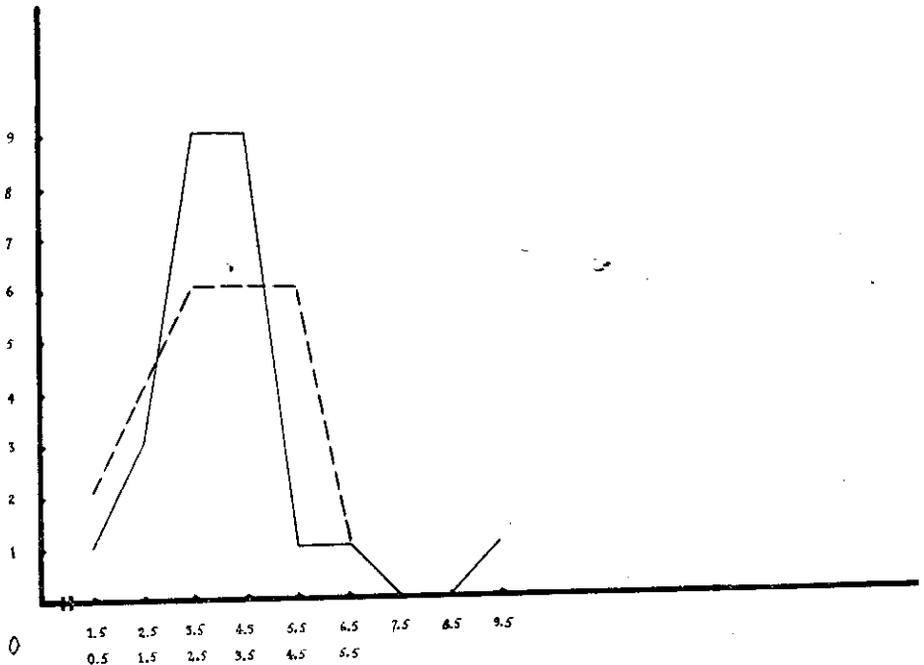


Figura No. 2.—Datos nucleolares de 25 espermatogonias primarias.—Con trazo lleno, polígono de frecuencias de los valores del índice Rn. Con línea discontinua polígono de frecuencias del número de nucleolos contenidos en las espermatogonias.

dia aritmética de 4.2, cifra influida por desviaciones medias de 1.02 y estándar de  $\pm 1.50$ .

En la figura número 2 se ha representado con línea llena el polígono de frecuencias que corresponde a los valores del índice Rn y con trazo interrumpido el del número de nucleolos espermatogónicos. En ella puede advertirse la poca dispersión de las cifras encontradas, lo que señala una cierta regularidad a los hechos descritos.

En las láminas que ilustran este trabajo se consignan numerosas figuras de los aspectos que se describen en el texto.

### Conclusiones

El estudio citológico del testículo embrionario humano de cuatro a cuatro y medio meses, realizado con las impregnaciones argénticas de Rio Hortega, señala como hechos interesantes:



Un cordón testicular con espermatogonias primarias en los sitios marcados por las flechas. Numerosas células sincitiales, intersticiales y fibroblásticas. Tinción nucleolar con doble impregnación argéntica de Río Hortega.



Cordones testiculares con numerosas células sincitiales y una gruesa espermatogonia en el sitio marcado por la flecha. Son bien visibles los corpúsculos nucleolares de las primeras y el enorme y complicado aparato nucleolar de la segunda. Coloración con doble impregnación de Río Hortega.

Aspectos que evidencian la derivación de las espermatogonias primarias, a partir de las enérgides sinciciales.

Contenido nucleolar de los núcleos del sincicio, con índice Rn de  $1.0 \pm 0.38$ ; hecho a base de nucleolos muy argentófilos y con estructuras internas poco visibles.

Hipertrofia e hiperactividad del aparato nucleolar de las espermatogonias primarias, cuyo índice Rn es de  $4.2 \pm 1.42$ , Salida de granos argentófilos de los nucleolos espermatogónicos a la cariolinfa, así como de materiales nucleolares o de elaboración nucleolar tanto a la cariolinfa como a la masa protoplásmica.



## Vacunación antidiftérica en la Casa de Cuna durante el año de 1941 \*

Por el Dr. MANUEL ORTEGA CARDONA.

Desde hace varios años se viene practicando en la Casa de Cuna la reacción de Shick y la vacunación antidiftérica, ésta, primero con la anatoxina y actualmente con el toxoide. El resultado ha sido la desaparición en el establecimiento de las epidemias de difteria; hemos tenido casos aislados y algunos muy dudosos.

En el presente trabajo voy a presentar los resultados de la reacción de Shick y de la vacunación antidiftérica, obtenidos durante el año de 1941.

Practiqué la reacción de Shick a todos los niños asilados al principio del año y a todos los de nuevo ingreso; los Shick negativos fueron controlados a los 6 meses; todos los Shick positivos recibieron una inyección intramuscular de 1 c.c. de toxoide; a los inyectados con toxoide se les practicó otra reacción de Shick 2 meses después de la inyección; los que la dieron negativa son controlados cada 6 meses; los que resultaron Shick positivos siguen siendo controlados cada 2 meses; cuando al tercer control siguen siendo Shick positivos, reciben otro centímetro cúbico de toxoide en inyección intramuscular.

Para hacer estos trabajos he empleado los productos que prepara el Instituto de Higiene del Departamento de Salubridad:

\* Leído en la sesión del 28 de enero de 1942.