



en las últimas décadas, permitiendo el estudio del cerebro desde todos los ángulos posibles -morfológico, molecular, fisiológico y genético-, si bien tan sólo hemos comenzando a desentrañar algunos de los misterios que encierra. Aunque parezca sorprendente, todavía no tenemos respuesta a algunas de las principales preguntas de la neurociencia, como por ejemplo: "¿Cuál es el substrato neuronal que hace que las personas sean humanas?". En otras palabras, ¿qué tiene de especial la neocorteza humana y cómo se diferencia de otras especies? (DeFelipe *et al.*, 2002). "¿Cómo se altera el cerebro y por qué se produce la esquizofrenia, la enfermedad de Alzheimer o la depresión?". "¿Cómo integra el cerebro simultáneamente la información procesada en distintas áreas corticales para producir una percepción unificada, continua y coherente?". Todas estas preguntas fundamentales y otras muchas no tienen todavía respuesta, a pesar de los grandes avances científicos actuales.

Por supuesto, nuestros conocimientos actuales sobre el sistema nervioso, en general, y del cerebro, en particular, son el resultado del trabajo colectivo de un buen número de científicos, pero las investigaciones de Cajal contribuyeron de forma mucho más decisiva a la creación de la atmósfera científica necesaria para el nacimiento de la neurociencia moderna (DeFelipe, 2002). La aparición de Cajal en el mundo de la neurociencia provocó un cambio radical en el curso de la historia de esta ciencia. A diferencia de otros grandes investigadores, Cajal no se limitó a realizar un único descubrimiento de gran importancia, sino que aportó numerosas e importantes contribuciones al conocimiento de la estructura y función del sistema nervioso. Sus investigaciones sobre la microanatomía de prácticamente todo el sistema nervioso, sus observaciones sobre la degeneración y regeneración, junto con sus teorías sobre la función, desarrollo y plasticidad, tuvieron una profunda influencia en los científicos de su época. Numerosos científicos siguieron el ejemplo establecido por Cajal, comprobando y ampliando sus teorías en casi todos los campos de la neurociencia. Estos estudios representan las raíces de los descubrimientos actuales en algunas de las áreas más apasionantes acerca de la estructura y función del cerebro en condiciones normales y patológicas. Sus contribuciones son tan numerosas que resulta del todo imposible resumirlas en unas líneas. Para dar una idea de la importancia científica de los estudios de Cajal, un buen ejemplo es que la inmensa mayoría de las referencias bibliográficas en la literatura científica actual se refieren a los últimos 5-10 años: es como si las observaciones y teorías prescribieran tras este corto periodo de tiempo. Sin embargo, la obra de Cajal es atípica, pues sigue siendo una referencia constante en numerosas publicaciones actuales.

En tiempos de Cajal, la forma generalmente utilizada para ilustrar las observaciones microscópicas era mediante dibujos, por lo que aceptar los hallazgos histológicos que se publicaban entonces era a menudo un acto de fe. De este modo, algunos dibujos de Cajal eran considerados por algunos investigadores como interpretaciones "artísticas", no copias más o menos exactas de las preparaciones histológicas. En realidad, los dibujos de Cajal no sólo son de extraordinaria importancia por su belleza e indudable valor museístico, sino también porque son copias fidedignas de preparaciones histológicas que muestran la microorganización del sistema nervioso, como un mapa que contiene las conexiones de las neuronas y las rutas que siguen los impulsos nerviosos a través de las mismas. Con este fin, hemos seleccionado algunos dibujos realizados por Cajal para compararlos con imágenes obtenidas de sus propias preparaciones -que se conservan en el Instituto Cajal- y con imágenes de preparaciones de tejido cortical humano obtenidas en nuestro laboratorio con técnicas modernas. Además, para facilitar la interpretación de los hallazgos de Cajal y sus ilustraciones, el texto que sigue incluye una breve introducción sobre su carrera investigadora y el ambiente científico de su tiempo. Los lectores interesados en los distintos métodos para reproducir las imágenes del microscopio, así como el material utilizado por Cajal para realizar sus dibujos, pueden consultar la propia obra de Cajal, en particular su libro titulado *Manual de histología normal y de técnica micrográfica*, cuya primera edición fue publicada en 1889 (Cajal, 1889a) y reeditada durante años, aumentando y corrigiéndose su contenido.

## RESUMEN DE LA CARRERA CIENTÍFICA DE CAJAL

En la carrera científica de Cajal se pueden distinguir tres grandes periodos. En el *primer periodo* -antes de conocer el método de Golgi-, que abarca de 1877 a 1887, realizó una serie de estudios histológicos y

de microbiología de carácter general. El *segundo periodo* comprende de 1887 a 1903, y se caracterizó por una intensa actividad investigadora, aplicando el método de Golgi para describir la arquitectura celular y desenmarañar los circuitos neuronales de prácticamente todo el sistema nervioso. Ya durante los tres primeros años de estos estudios, los fundamentos de la doctrina neuronal -teoría que establece principalmente que las neuronas son unidades independientes- quedaron sólidamente establecidos. Además, desde el comienzo de sus estudios con el método de Golgi, Cajal realizó descubrimientos importantes y formuló teorías fundamentales sobre el desarrollo del sistema nervioso. Por ejemplo, descubrió y bautizó el *cono de crecimiento axónico* (Cajal, 1890b) e ideó la hipótesis de la quimiotaxis o quimiotactismo (Cajal, 1892b), más tarde conocida como neurotropismo. Su obra cumbre en este periodo es *Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados* (Cajal, 1899b, 1904; 1909, 1911), obra clásica de la neurociencia, en donde Cajal resume sus trabajos de investigación que supusieron el nacimiento de la neurociencia moderna. El *tercer periodo* cubre desde 1903 hasta su muerte, acaecida en 1934. Esta etapa fue igualmente muy activa, y se caracterizó especialmente por sus estudios sobre la degeneración y regeneración del sistema nervioso, utilizando principalmente el método del nitrato de plata reducido. Publicó diversos artículos de extraordinaria importancia que fueron resumidos en otra obra clásica de la neurociencia titulada *Degeneración y regeneración del sistema nervioso* (Cajal, 1913a, 1914a). También durante este periodo son muy notables las modificaciones técnicas y los nuevos métodos neurohistológicos que Cajal desarrolla, así como sus estudios sobre la estructura de la retina y centros ópticos de los invertebrados.

## EL DESCUBRIMIENTO DE LA *REAZIONE NERA*: COMIENZO DEL ESTUDIO SISTEMÁTICO DEL SISTEMA NERVIOSO

El estudio sistemático del sistema nervioso comenzó a mediados del siglo XIX. Según Rudolf Albert von Kölliker (1817-1905), el artículo publicado en 1836 por Gabriel Gustav Valentin (1810-1883) representó un hito en la histología del sistema nervioso y la primera descripción aceptable de los elementos del sistema nervioso (Kölliker, 1852; citado en Shepherd, 1991). La Figura 2 (tomada de la publicación de Valentin, 1836) representa, según Clarke y O'Malley (1968), la primera imagen microscópica clara de una célula nerviosa llamada *glóbulo* (probablemente una célula de Purkinje). También -en este artículo de Valentin- emergió la idea de que los glóbulos (células nerviosas), junto con las fibras nerviosas, eran elementos fundamentales en todas las formas de organización del sistema nervioso central (Clarke y Jacyna, 1987). El siguiente paso importante en el desarrollo de las ideas sobre la organización del sistema nervioso fue dado por Jan Evangelista Purkinje (1787-1869), quien, un año después de la publicación del clásico artículo de Valentin, describió la primera célula nerviosa bien caracterizada en una conferencia que impartió en el Congreso de Médicos e Investigadores de la Naturaleza, celebrado en Praga el 23 de septiembre de 1837 (Purkinje, 1838): los corpúsculos grandes del cerebelo, que más adelante se denominaron células de Purkinje en honor a su descubridor (Figura 3). La ilustración de Purkinje tiene, asimismo, una gran importancia, debido a que en ella se describe por primera vez la citoarquitectura por capas de una región del sistema nervioso (Shepherd, 1991).

Durante las siguientes cuatro décadas se avanzó muy poco en el conocimiento de la estructura y función del sistema nervioso. Por ejemplo, en el clásico libro de Kölliker publicado en 1852, justamente cuando nació Cajal, se describe la estructura del sistema nervioso de manera muy simple, como se puede observar en la Figura 4. La razón principal de esta falta de información se debía al hecho de que, con las técnicas histológicas disponibles, la visualización de las neuronas era incompleta, pues a menudo sólo se podía observar el soma y las partes proximales de las dendritas y el axón. Así pues, no era posible seguir la trayectoria de los axones finos ni visualizar las arborizaciones axónicas terminales, por lo que no era técnicamente factible abordar uno de los temas fundamentales de la organización del sistema nervioso: el trazado de las conexiones entre neuronas o circuitos neuronales. Según palabras de Cajal (1917):

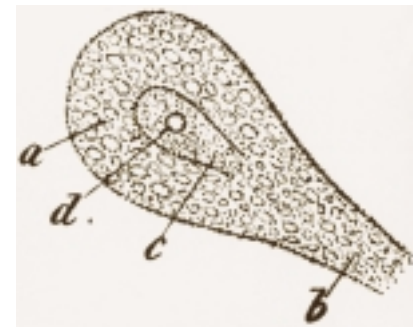


Figura 2. Primera ilustración microscópica clara de una célula nerviosa (llamada glóbulo) de la corteza del cerebelo humano (Valentin, 1836). a, cuerpo celular; b, apéndice (probablemente un tallo dendrítico); c, núcleo; d, pequeño corpúsculo interno (probablemente el nucleolo). La leyenda de la figura está basada en las publicaciones de Clarke y O'Malley (1968) y Shepherd (1991).

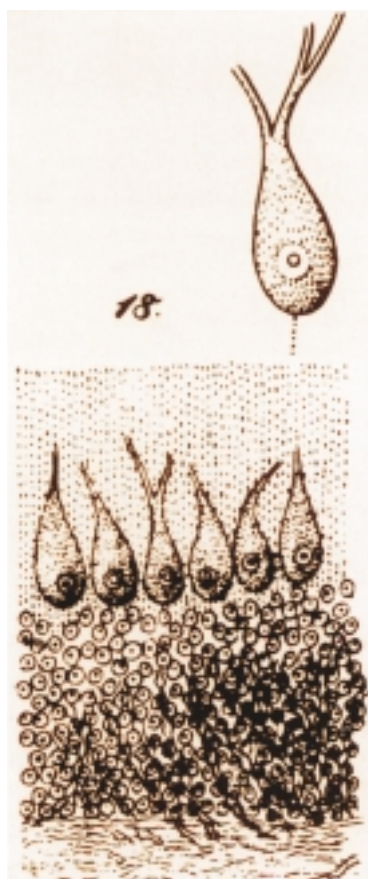


Figura 3. Ilustración de la primera célula nerviosa identificada en el sistema nervioso: los corpúsculos grandes del cerebelo, más tarde denominados células de Purkinje. En esta figura también se muestra por primera vez la citoarquitectura por capas del cerebelo (de arriba abajo): capa molecular, corpúsculos grandes, granos y fibras. Tomada de Purkinje (1837).

como decía Cajal, por cabos libres (sin anastomosis).

3. Sugirió que existen dos clases principales de células nerviosas: *tipo I* o células cuyo axón, después de emitir colaterales, entran en la sustancia blanca (células de proyección); *tipo II* o células cuyo axón permanece dentro de la corteza (interneuronas).

Aunque parezca sorprendente, a pesar de la excelente tinción obtenida con el método de Golgi, el propio Golgi fue el defensor más destacado de la teoría reticular. Golgi proponía que las dendritas terminan libremente, mientras que las colaterales axónicas se anastomo-

"[...] el gran enigma de la organización del cerebro se cifra en averiguar el modo de terminarse las ramificaciones nerviosas y de enlazarse recíprocamente las neuronas. Reproduciendo un símil ya mencionado, tratábase de inquirir cómo rematan las raíces y las ramas de esos árboles de la sustancia gris, de esa selva tan densa que, por refinamiento de complicación, carece de vacíos, de suerte que los troncos, ramas y hojas se tocan por todas partes."

Fue entonces en 1873 cuando apareció el método de la *reazione nera* (reacción negra) de Camillo Golgi (1843-1926). Por primera vez se pudieron observar en una preparación histológica las células nerviosas y las células neurogliales con todas sus partes (cuerpo celular, dendritas y axón, en el caso de las neuronas; cuerpo celular y prolongaciones, en el caso de la neuroglía) (Figuras 5 y 6). Así, se observó que las neuronas tienen una arborización axónica y dendrítica muy compleja, de tal forma que si en una región dada del cerebro se tiñeran todas las neuronas con sus dendritas y axones se observaría una maraña extraordinariamente densa de cuerpos celulares, axones y dendritas, que sería imposible de analizar. Otra ventaja del método de Golgi era que en una misma preparación se podían teñir varias células a la vez, pero en un número relativamente pequeño, de tal forma que permitía examinar las células nerviosas individualmente y estudiar sus posibles conexiones. Por otra parte, la tinción obtenida con el método de Golgi era de gran calidad, lo que hizo posible la caracterización e identificación de diversos tipos de células nerviosas y el análisis morfológico detallado (como por ejemplo, el descubrimiento de las espinas dendríticas).

Golgi completó el conocimiento de la estructura de las células nerviosas con las siguientes observaciones (Golgi, 1873, 1886):

1. Confirmó los hallazgos de Deiters en la médula espinal de que, de todas las prolongaciones de las células nerviosas, solamente una es el axón. Además, a diferencia de la creencia general de la época de que el axón permanece *simple* a lo largo de su trayectoria, Golgi añadió que emite colaterales que dan lugar a un plexo axónico local.

2. Describió que las dendritas, en vez de ramificarse indefinidamente hasta *disolverse* en una sustancia amorfa fundamental -como proponía Rindfleisch (citado por Golgi, 1873)- o formando una red -como proponía Gerlach-, terminan libremente, o



Figura 4. Tipos morfológicos de células nerviosas en la corteza cerebral. Tomada de Kölliker (1852).

saban y formaban una red muy extendida (Golgi, 1873). Por tanto, sugirió que el sistema nervioso consistía en una *rete nervosa diffusa* (red nerviosa difusa), confirmando en parte la teoría reticular de Gerlach, una idea que siempre mantuvo y que defendió incluso en la conferencia que pronunció cuando recibió el Premio Nobel de Fisiología o Medicina, que compartió con Cajal en 1906. En esta conferencia, Golgi comenzó diciendo (Golgi, 1929):

*"Parece un hecho extraño que yo que siempre he sido contrario a la doctrina neuronal -aunque reconozca que el punto de partida hay que buscarlo en mis propios estudios-, haya elegido como tema de esta conferencia justamente la cuestión de la neurona, más aún cuando en estos momentos se afirma por varias fuentes que esta teoría está en su atardecer."*

## CAJAL Y LA TEORÍA NEURONAL

La teoría neuronal representa los principios fundamentales de la organización y función del sistema nervioso, estableciendo que las neuronas son las unidades anatómicas, fisiológicas, genéticas y metabólicas del sistema nervioso (Shepherd, 1991; Jones, 1994). Como veremos a continuación, Cajal no sólo apoyó vivamente la teoría neuronal, sino que fue el científico que más datos aportó para su demostración y aceptación por la mayoría de la comunidad científica.



Figura 6. Dibujo realizado por Cajal para ilustrar las células neurogliales impregnadas con el método de Golgi. "Neuroglia de las capas superficiales del cerebro del niño de dos meses. A, B, D, células neurogliales de las capas plexiformes; E, F, R, etc., células neurogliales de las capas segunda y tercera; V, vaso sanguíneo; J, I, neuroglia con sus pseudopodos vasculares." Esta figura fue reproducida en la *Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados* (Cajal 1899b, 1904, figura 697). © Herederos de Santiago Ramón y Cajal.



Figura 5. Primera ilustración realizada por Golgi de una preparación histológica teñida con el método de Golgi. "Dibujo semiesquemático de una porción de una sección vertical del bulbo olfatorio de un perro". Tomada de Golgi (1875).

Cuando Cajal estaba realizando sus estudios de doctorado en 1877, uno de los cursos del programa era Histología Normal y Patológica, y el principal texto utilizado era el libro *Tratado de histología normal y patológica*, de Aureliano Maestre de San Juan, profesor de Histología de la Facultad de Medicina de Madrid. En este libro, publicado en 1879, en la segunda edición de 1885 no se menciona el método de Golgi. A pesar de los años transcurridos desde la publicación -en 1873- de la *reazione nera*, en la mayoría de los textos disponibles a la sazón no se ha-

cía referencia a este método. Así, la información aportada en estas publicaciones era realmente muy rudimentaria. No obstante, Maestre de San Juan fue quien introdujo a Cajal en el campo de la microscopía óptica. Según Cajal, cuando Maestre de San Juan le mostró unas preparaciones histológicas, se quedó tan impresionado por la belleza de algunas de estas preparaciones que decidió montar un laboratorio de microscopía como complemento indispensable para la anatomía descriptiva. Durante los 10 años siguientes, Cajal publicó artículos muy variados sobre microbiología e histología (Merchán-Pérez, 2001), hasta que le fue presentado el método de Golgi en 1887 durante una visita al laboratorio privado de Luis Simarro (1851-1921), conocido psiquiatra y neurólogo aficionado a la histología. En manos de Cajal, el método de Golgi representó la herramienta principal que hizo posible cambiar el curso de la historia de la neurociencia y significó el nacimiento de la neurociencia moderna. Para Cajal, el método de Golgi mostraba una organización diferente a la propuesta por Golgi y otros científicos, es decir, la interpretación de las imágenes microscópicas era diferente:

*"Como el fondo no teñido se muestra totalmente, transparente, y como de ordinario los corpúsculos impregnados son pocos, desaparece ó se aminora notablemente aquella dificultad extraordinaria de interpretación ofrecida por el plexo nervioso intersticial de la substancia gris, examinado en los cortes finos coloreados con carmín ó con hematoxilina. Ante la clarísima imagen que nos ofrecen los corpúsculos nerviosos impregnados, se desvanecen, tanto la famosa red de Gerlach, como los brazos protoplásmicos de Valentin y Wagner."* (Cajal, 1899b).

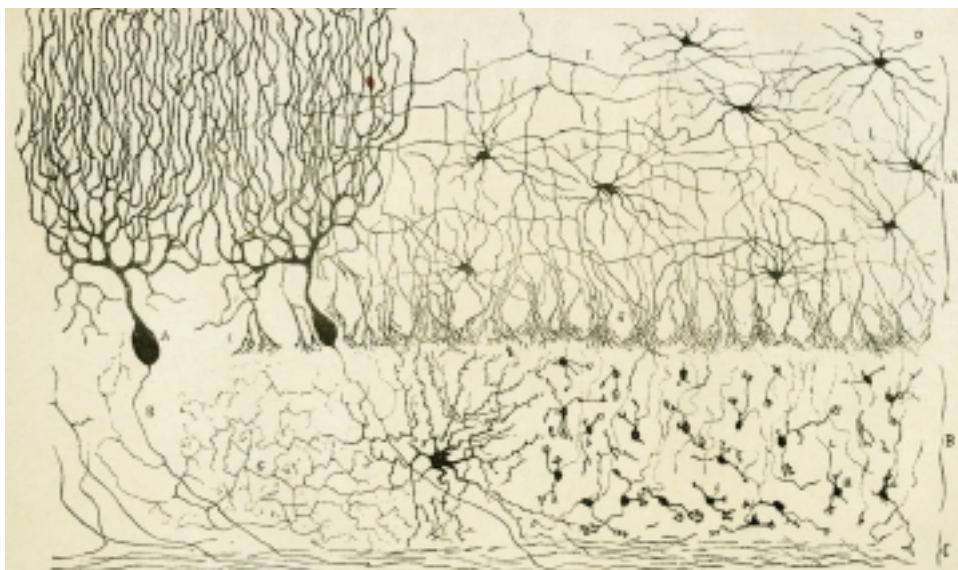


Figura 7. Primera ilustración realizada por Cajal de una preparación histológica (cerebelo de gallina) teñida con el método de Golgi, en donde hizo la observación trascendental de que todas las prolongaciones de la célula nerviosa terminan libremente y que las células nerviosas se comunican entre sí por contacto, no por continuidad. Además, en este artículo, describió por primera vez la existencia de espinas dendríticas, las cuales, desde entonces hasta nuestros días, han sido objeto de una intensa investigación (*sic* apartado *Espinas dendríticas de las células piramidales*). Tomada de Cajal (1888). © Herederos de Santiago Ramón y Cajal.

Después del encuentro con Simarro, Cajal comenzó inmediatamente a usar el método de Golgi para estudiar prácticamente todo el sistema nervioso. Tan sólo un año más tarde publicó su primer artículo importante (Figura 7), titulado *Estructura de los centros nerviosos de las aves* (Cajal, 1888). Fue en esta publicación donde Cajal confirmó la observación de Golgi de que las dendritas terminan libremente, pero añadió la observación crucial de que esto también ocurría con las colaterales axónicas, las cuales formaban una arborización *libre* (sin anastomosis) y *varicosa* (dilatación o ensanchamiento axónico), afirmando que:

*"cada [célula nerviosa] es un cantón fisiológico absolutamente autónomo".*

Desde el principio, para Cajal, las células nerviosas constituían claramente una unidad anatómica y funcional, que se comunicaban entre sí por contacto o contigüidad, no por continuidad. Así, Cajal escribió en 1889 (Cajal, 1889b):

*"[...] nunca hemos podido ver una malla de semejante red [axónica de Golgi], ni en el cerebro, ni en la médula, ni en el cerebelo, ni en la retina, ni en el bulbo olfatorio, etc., creemos que es hora ya de desligar a la histología de todo compromiso fisiológico, y adoptar sencillamente la única opinión que está en armonía con los hechos, a saber: que las células nerviosas son elementos independientes jamás anastomosados ni por sus expansiones protoplasmáticas [dendritas] ni por las ramas de su prolongación de Deiters [axón], y que la propagación de la acción nerviosa se verifica por contactos al nivel de ciertos aparatos o disposiciones de engranaje, cuyo objeto es fijar la conexión, multiplicando considerablemente las superficies de influencia."*

Cajal continuó aportando numerosas observaciones que confirmaban la teoría neuronal en diversas partes del sistema nervioso de diferentes especies. Entre 1888 y 1892 publicó más de 30 artículos que fueron resumidos en su primera revisión sobre la estructura del sistema nervioso (Cajal, 1892a), estableciéndose claramente la teoría neuronal. De hecho, los resultados de estos primeros estudios fueron tan decisivos que formaron el núcleo principal del clásico e influyente artículo de revisión en apoyo de la teoría neuronal publicado en 1891 por Wilhelm von Waldeyer-Hartz (1836-1921), en donde este científico introdujo el término *neurona* para denominar a la célula nerviosa (Waldeyer, 1891). Las aportaciones de Cajal a la teoría neuronal fueron resumidas en varios artículos y libros por él mismo y, especialmente, en su artículo *¿Neuronismo o reticularismo? Las pruebas objetivas de la unidad anatómica de las células nerviosas* (Cajal, 1933).

## EL DIBUJO COMO HERRAMIENTA PARA ILUSTRAR LAS IMÁGENES MICROSCÓPICAS

No cabe duda de que Cajal fue el científico que más contribuyó a la victoria de la teoría neuronal frente a la teoría reticular. Pero esta victoria no fue fácil, ya que para superar la idea establecida desde hacía años de que los elementos del sistema nervioso formaban un continuo, a modo de red, era necesario realizar una demostración contundente, comprobada por otros científicos, de que esta hipótesis era errónea.

En los tiempos de Cajal existían varios tipos de aparatos de microfotografía como accesorios del microscopio, siendo algunos de estos aparatos muy sofisticados (Figura 8), si bien la técnica microfotográfica no se había desarrollado todavía. De este modo, la obtención de una buena imagen microscópica, especialmente a gran aumento, era una tarea difícil. Por otra parte, como la estructura del sistema nervioso es muy compleja y los métodos de tinción selectivos utilizados por Cajal -como el método de Golgi- no permiten visualizar en una misma preparación y en un mismo plano focal todos los elementos que constituyen una región dada, la ilustración de dicha estructura -así como sus posibles conexiones- a través de la microfotografía era una labor realmente dificultosa y poco eficaz. Cajal, en su discurso de ingreso en la Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales leído el 5 de diciembre de 1897 y titulado *Fundamentos racionales y condiciones técnicas de la investigación biológica* (Imprenta de L. Aguado, Madrid) -fue publicado posteriormente en sucesivas ediciones aumentadas y corregidas con el título *Reglas y consejos sobre investigación científica-*, comenta lo siguiente:

*"Si nuestros estudios atañen á la morfología, ora macro, ora microscópica, será de rigor ilustrar las descripciones con figuras copiadas todo lo más exactamente posible del natural. Por precisa y minuciosa que sea la descripción de los objetos observados, siempre resulta inferior en claridad á un buen grabado."* (Cajal, 1897).

En la 3.<sup>a</sup> edición añade el siguiente párrafo:

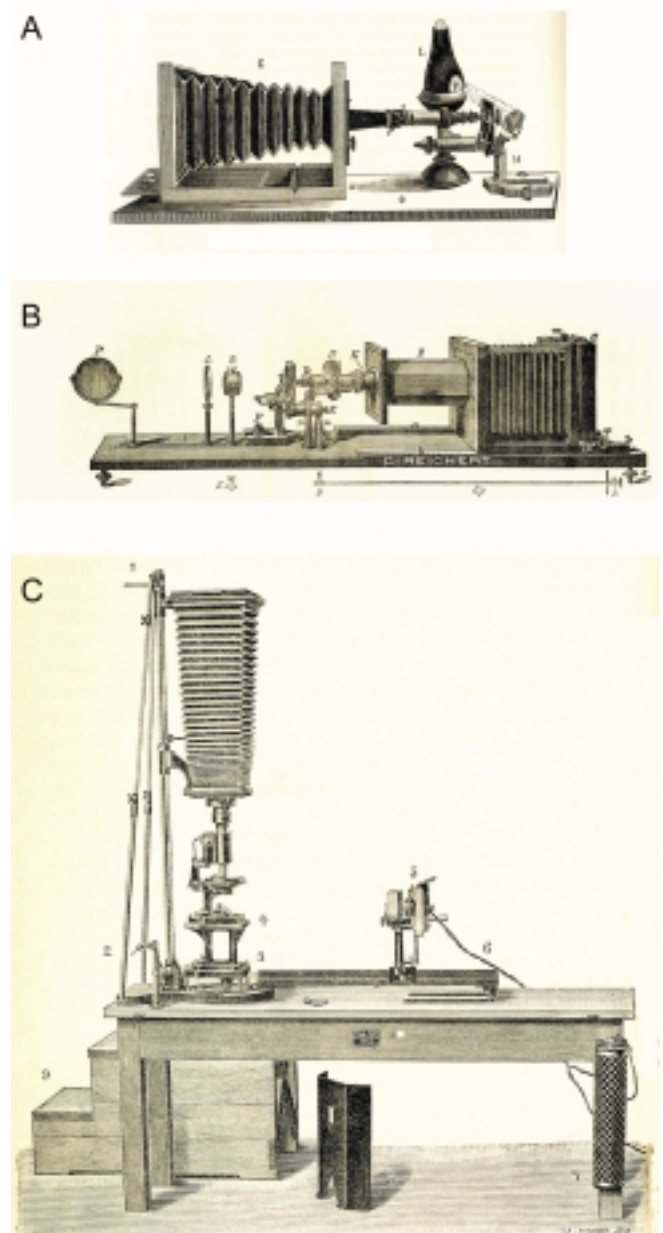


Figura 8. Ilustraciones de aparatos de microfotografía publicados por Cajal en diversas ediciones del *Manual de histología normal y de técnica micrográfica* (A, 1889a [Figura 12]; B, 1893 [Figura 19]; C, 1914b [Figura 44]). © Herederos de Santiago Ramón y Cajal.

*"Si los objetos representados son demasiado complicados, á los dibujos exactos que copian formas ó estructura añadiremos esquemas ó semiesquemas aclaratorios. En fin, en algunos casos podrá prestarnos importantes servicios la microfotografía, suprema garantía de la objetividad de nuestras descripciones."* (Cajal, 1913b).

Así, muchos de los dibujos de Cajal son composiciones en las que nos muestra sintéticamente la compleja textura de una región dada del sistema nervioso, y esto es realmente la contribución más importante de Cajal, ya que requiere aunar las dotes artísticas con la interpretación de las imágenes microscópicas; es decir, discernir entre lo que es un artefacto o un elemento real y resaltar las características fundamentales de la estructura a través de la copia exacta de la imagen obtenida con el microscopio. De este modo, la ilustración de los hallazgos histológicos mediante dibujos dio lugar irremediabilmente a cierto escepticismo. Muchos de los dibujos de Cajal eran considerados por algunos investigadores como interpretaciones "artísticas", y no como copias más o menos exactas de las preparaciones. Éste es uno de los motivos por los que los estudios de Cajal pasaran desapercibidos al principio. Un buen ejemplo de este hecho se refleja en el discurso de respuesta que pronunció Arthur van Gehuchten (1861-1914) en el homenaje recibido con motivo de sus 25 años de docencia en la Universidad de Louvain. En este discurso, van Gehuchten describe el momento histórico del que fue testigo en que Kölliker -uno de los neurocientíficos más influyentes de la época- descubre a Cajal en el Congreso de la Sociedad de Anatomía Alemana, celebrado en la Universidad de Berlín en octubre de 1889. El párrafo en el que van Gehuchten comenta este acontecimiento merece la pena reproducirlo para comprender mejor la difícil situación a la que Cajal se enfrentaba:

*"Los hechos descritos [por Cajal] en sus primeras publicaciones resultaban tan extraños que los histólogos de la época -no pertenecemos felizmente a ese número- los acogieron con el mayor escepticismo. La desconfianza era tal que en el Congreso de anatómicos celebrado en Berlín en 1889, Cajal, que llegó a ser después el gran histólogo de Madrid, encontrábase solo, no suscitando en torno suyo sino sonrisas incrédulas. Todavía [creo] verlo tomar aparte a Kölliker, entonces maestro incontestable de la Histología alemana, [y] arrastrarlo a un rincón de la sala de demostraciones, para mostrarle en el microscopio sus admirables preparaciones y convencerle asimismo de la realidad de los hechos que pretendía haber sacado a la luz. Esta demostración fue tan decisiva que, unos meses más tarde, el histólogo de Würzbourg [Kölliker] confirmaba todos los hechos avanzados por Cajal."* (van Gehuchten, 1913).

Kölliker quedó tan impresionado con los descubrimientos de Cajal, que le dijo:

*"Los resultados obtenidos por usted son tan bellos que pienso emprender inmediatamente, ajustándome a la técnica de usted, una serie de trabajos de confirmación. Le he descubierto a usted, y deseo divulgar en Alemania mi descubrimiento."* (Cajal, 1917)

Cajal, animado por el éxito obtenido en el Congreso de Anatomía y por la belleza de las preparaciones histológicas, quedó atrapado para siempre por el fascinante mundo de la investigación del sistema nervioso. Según palabras de Cajal (1917):

*"Fueron los años de 1890 y 1891 periodos de intensa labor y gratísimas satisfacciones. Alentado por el aplauso de Kölliker y persuadido de haber hallado al fin mi camino, entrégueme al trabajo con verdadero furor [...]. Mi tarea comenzaba á las nueve de la mañana y solía prolongarse hasta cerca de la medianoche. Y lo más curioso es que el trabajo me causaba placer. Era una embriaguez deliciosa, un encanto irresistible. Es que, realmente, dejando aparte los halagos del amor propio, el jardín de la neurología brinda al investigador espectáculos cautivadores y emociones artísticas incomparables. En él hallaron, al fin, mis instintos estéticos plena satisfacción. ¡Como el entomólogo á caza de mariposas de vistosos matices, mi atención perseguía, en el vergel de la sustancia gris, células de formas delicadas y elegantes, las misteriosas mariposas del alma, cuyo batir de alas quién sabe si esclarecerá algún día el*



Figura 9. Dibujo realizado por Cajal para ilustrar las células de Purkinje impregnadas con el método de Golgi. "Célula de Purkinje del cerebelo del hombre adulto. a, axon; b, colateral recurrente; d, vacíos en donde se alojan células en cesta; c, huecos para vasos." Esta figura fue reproducida en la *Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados* (Cajal 1899b, 1904, figuras 10 y 365). © Herederos de Santiago Ramón y Cajal.

*secreto de la vida mental! [...] la admiración ingenua de la forma celular constituía uno de mis placeres más gratos. Porque, aun desde el punto de vista plástico, encierra el tejido nervioso incomparables bellezas ¿Hay en nuestros parques algún árbol más elegante y frondoso que el corpúsculo de Purkinje del cerebelo [Figura 9] ó la célula psíquica, es decir, la famosa pirámide cerebral [Figura 10].*

Kölliker difundió las observaciones, conceptos y teorías de Cajal, que pronto tuvieron una profunda influencia en los investigadores de su tiempo. Como resultado, distinguidas instituciones e investigadores invitaron a Cajal a exponer sus hallazgos. Entre sus primeras conferencias más importantes se encuentra la *Croonian Lecture*, leída el 8 de marzo en la Royal Society (Burlington House) de Londres en 1894 (Cajal 1894). En esta conferencia Cajal no se limitó a presentar los resultados de sus estudios microanatómicos realizados en pequeños mamíferos: también hizo hincapié en las implicaciones funcionales de los circuitos neuronales que descubrió, sugiriendo las rutas seguidas por los impulsos nerviosos en regiones complejas como la corteza cerebral (Figura 11).



Figura 10. Dibujo realizado por Cajal para ilustrar las células piramidales impregnadas con el método de Golgi. "Pirámide gigante profunda de la circunvolución parietal ascendente del niño de treinta días. a, axon; c, colaterales; d, dendritas basilares largas; e, penacho terminal." Esta figura fue reproducida en la *Revista Trimestral Micrográfica* (Cajal 1899c, figura 23). © Herederos de Santiago Ramón y Cajal.



Figura 11. Representación esquemática de los tipos principales de neuronas de la corteza cerebral de pequeños mamíferos. Las flechas indican las posibles rutas seguidas por los impulsos nerviosos. Tomada de Cajal (1894a). © Herederos de Santiago Ramón y Cajal.

soma, y la identificación (en las grandes células piramidales) de un axón que descendía hacia la sustancia blanca sin ramificarse (Figura 12). Golgi contribuyó al conocimiento de la morfología de las células piramidales con dos importantes observaciones: el descubrimiento de la compleja arborización de las dendritas y la demostración de que el axón emite colaterales durante su trayectoria hacia la sustancia blanca (Figura 13). Cajal, usando también el método de Golgi, añadió a estas observaciones morfológicas que la dendrita apical de muchas células piramidales termina formando un rico penacho de ramas dendríticas y, especialmente, que la superficie de las dendritas está cubierta de espinas (Figura 14) (Cajal, 1890a; *sic* siguiente apartado).

En la Figura 10 Cajal muestra una célula piramidal de la corteza cerebral humana teñida con el método de Golgi, cuyo cuerpo celular se localiza en la capa V y emite una larga dendrita apical que asciende a través de diversas capas corticales hasta terminar en la capa I, en un penacho dendrítico. Sin embargo, es difícil de creer que en una preparación de corteza cerebral humana se puedan visualizar células piramidales impregnadas con el método de Golgi con una dendrita apical tan larga. Dada la gran distancia relativa

## VERACIDAD DE LOS DIBUJOS DE CAJAL

Diversos autores han comprobado la veracidad de un gran número de dibujos de Cajal mediante el análisis de sus propias preparaciones histológicas (e.g., DeFelipe y Jones, 1988, 1991) o utilizando métodos más modernos para analizar el sistema nervioso. Como ejemplos de la exactitud de los dibujos de Cajal hemos seleccionado el tema de sus descripciones e ilustraciones sobre las neuronas piramidales y sus espinas dendríticas, y dos tipos de células gliales: los astrocitos y la microglía.

### CÉLULAS PIRAMIDALES

Las células piramidales son las neuronas más típicas y abundantes de la corteza cerebral, constituyendo la principal fuente de sinapsis excitadoras corticales. Además, son virtualmente las únicas células de proyección de la corteza cerebral. Es decir, la información que se procesa en una región dada de la corteza sale de ella a través de los axones de las células piramidales para alcanzar otras áreas corticales o núcleos subcorticales. Antes de la introducción del método de Golgi, las principales características que se conocían sobre la morfología de las células piramidales eran que poseían una prominente dendrita dirigida hacia la superficie cortical con algunas ramificaciones, varias dendritas cortas y sin ramificaciones que surgían de la base del

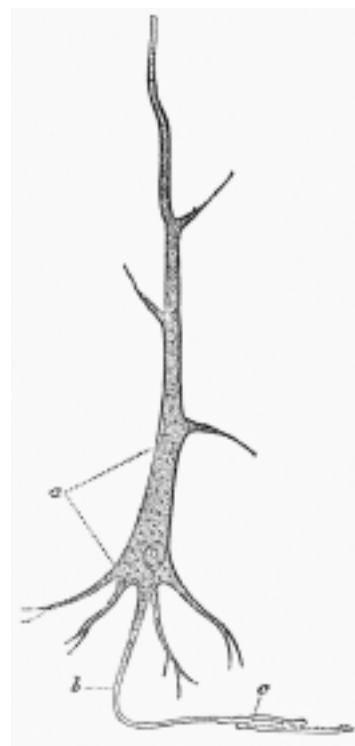


Figura 12. Dibujo realizado por Bastian (1880) de una célula piramidal de la corteza cerebral. "Célula piramidal grande, con sus prolongaciones, de la capa IV de la sustancia gris cortical, denominada célula gigante (Charcot). a, cuerpo de la célula que va afilándose dando lugar a una prolongación piramidal ramificada; b, su prolongación basal [axón] la cual entra en relación con (c), las fibras blancas de la circunvolución (gran aumento)."

entre la capa V y la capa I, lo más frecuente es observar, por un lado, fragmentos verticales de dendritas apicales terminando en la capa I y, por otro, el cuerpo celular en la capa V del que surge una dendrita apical que después de un curso ascendente relativamente corto deja de visualizarse. De este modo, la Figura 10 y otras similares de Cajal que ilustraban las células piramidales, fueron interpretadas por diversos autores como dibujos esquemáticos. No obstante, analizando las preparaciones de Cajal de corteza cerebral humana teñidas con el método de Golgi, observamos la existencia de células piramidales virtualmente idénticas a las ilustradas por Cajal (Figura 15), demostrándose claramente la exactitud de los dibujos de Cajal (DeFelipe y Jones, 1988, 1992). De hecho, la Figura 14 muestra la representación completa de lo que hoy reconocemos como la estructura típica de la célula piramidal (DeFelipe, 1994).

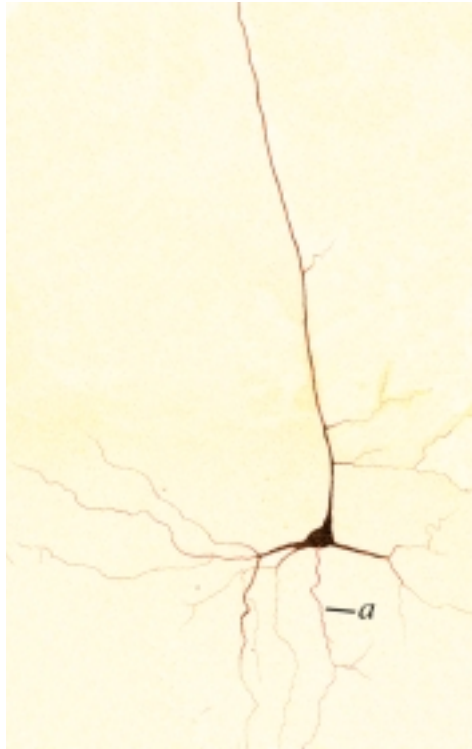


Figura 13. Dibujo realizado por Golgi de una célula piramidal impregnada con el método de Golgi. Nótese que las dendritas son lisas, sin espinas. a, axón. Tomada de Golgi (1886).



Figura 14. Dibujo realizado por Cajal de una célula piramidal de la corteza cerebral del ratón impregnada con el método de Golgi. En esta figura se ilustra la estructura típica de la célula piramidal. "a, [dendritas basales]; b [parte superior del dibujo], tallo radial [o dendrita apical]; P, penacho [dendrítico] terminal; c, colaterales del axón; e, porción inferior de éste exento de colaterales; b [parte inferior del dibujo], sustancia blanca. "Esta figura fue reproducida en la *Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados* (Cajal 1899b, 1904, figuras 9 y 668). © Herederos de Santiago Ramón y Cajal.

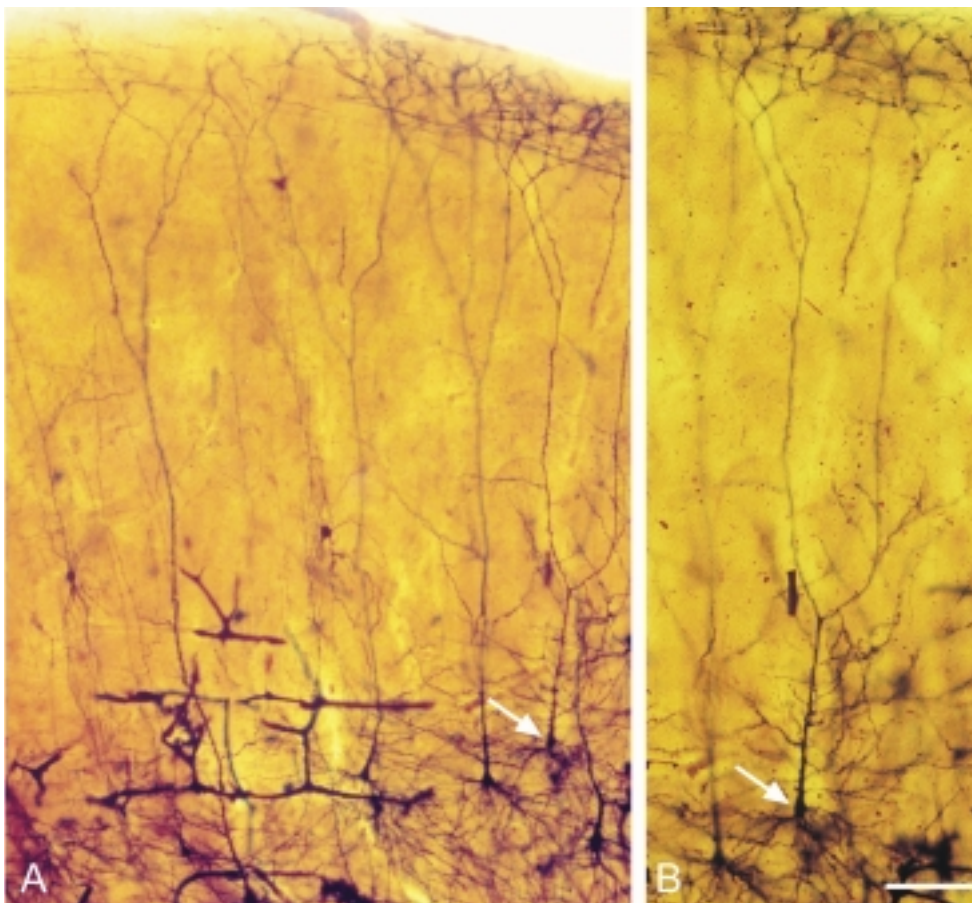


Figura 15. Microfotografías de una preparación realizada por Cajal (Instituto Cajal) de corteza cerebral ("circunvolución postcentral de un niño recién nacido") teñida con el método de Golgi. En A se observan varias células piramidales situadas en la capa V con dendritas apicales que terminan formando un rico penacho dendrítico en la capa I. La célula piramidal indicada con una flecha en A y que se muestra a mayor aumento en B es virtualmente idéntica a la ilustrada por Cajal en la figura 10. Barra de calibración: 130 µm en A; 104 µm en B. Tomada de DeFelipe y Jones (1988)



Figura 16. Dibujo realizado por Cajal para ilustrar diversos tipos de espinas dendríticas de células piramidales (A, conejo; B, niño de 2 meses; C, D, gato). Esta figura fue reproducida en *¿Neuronismo o reticularismo? Las pruebas objetivas de la unidad anatómica de las células nerviosas* (Cajal, 1933, figura 50). © Herederos de Santiago Ramón y Cajal.

fundamental que "conviene conocer porque acaso andando el tiempo alcancen trascendencia fisiológica" (Cajal, 1890a; 1891; 1896a; 1899b). Como para Cajal las espinas dendríticas eran elementos clave en la estructura y función de las neuronas, utilizó otros métodos de tinción -principalmente el del azul de metileno- para demostrar que las espinas no eran artefactos (Figura 17), sino disposiciones anatómicas reales (Cajal, 1896). El estudio de las espinas dendríticas constituye una de las líneas principales de investigación actuales porque a) representan el principal sitio postsináptico en donde se establecen las sinapsis excitadoras, b) son elementos clave en la plasticidad del cerebro, y c) sus alteraciones constituyen el correlato anatomopatológico más consistente en diversos tipos de deficiencias mentales (DeFelipe, 2005).

#### *La célula piramidal y evolución de la corteza cerebral*

Cajal habló en numerosas ocasiones de la mayor complejidad de

### ESPINAS DENDRÍTICAS DE LAS CÉLULAS PIRAMIDALES

El descubrimiento de las espinas dendríticas realizado por Cajal en 1888 (Cajal, 1888) con el método de Golgi (Figura 16) constituye quizás uno de los mejores ejemplos de la influencia de los estudios de Cajal en la actualidad, y muestra que su genialidad consistió en ser un gran observador e intérprete de las imágenes microscópicas. Cuando analizaba una preparación histológica "veía" de forma clara detalles que muchos otros -que disponían de los mismos microscopios y de las mismas preparaciones- eran incapaces de interpretar. Durante cierto tiempo, algunos autores de gran prestigio, como Kölliker, o incluso el propio Golgi, consideraban que las espinas eran artefactos producidos por el método de Golgi, como una cristalización en forma de agujas sobre la superficie de las neuronas y, por tanto, en sus dibujos las dendritas aparecían lisas, sin espinas (Figura 13). Este escepticismo también se debía a que en aquel tiempo las espinas dendríticas sólo se habían visualizado con este método. Sin embargo, Cajal propuso que las espinas dendríticas servían para conectar los axones con las dendritas y que representaban un aspecto morfológico

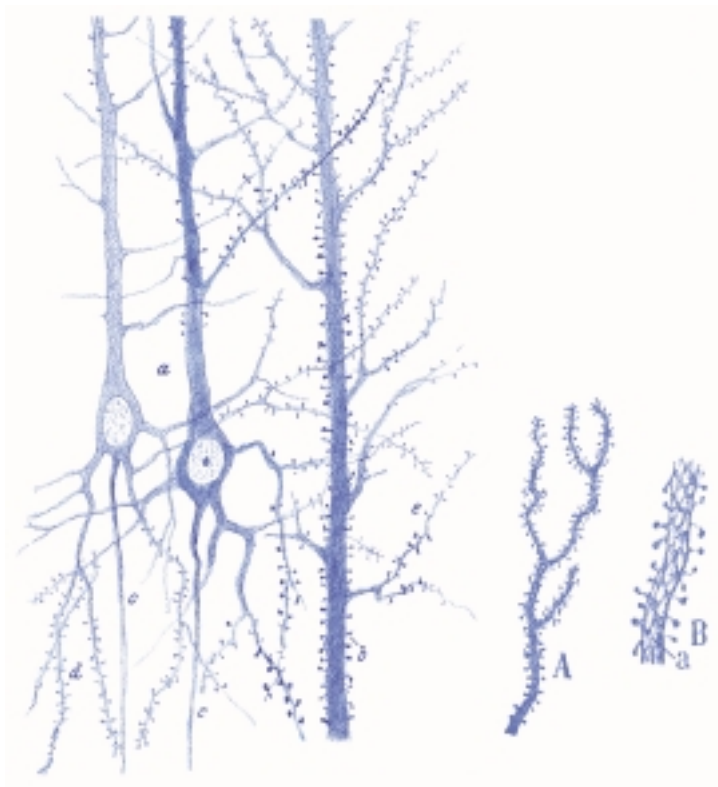


Figura 17. Dibujos realizados por Cajal para demostrar la existencia de las espinas dendríticas con métodos de tinción diferentes al método de Golgi. Izquierda, espinas dendríticas de células piramidales de la corteza cerebral (método del azul de metileno). Derecha (A, B), espinas dendríticas de células de Purkinje del cerebelo (método de Ehrlich). Estas figuras fueron reproducidas en la *Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados* (Cajal 1899b, 1904, figuras 13 y 14). © Herederos de Santiago Ramón y Cajal.

la arborización dendrítica de las células piramidales del cerebro humano en comparación con otras especies. La Figura 18 muestra otro dibujo de Cajal de una célula piramidal de la corteza cerebral humana impregnada con el método de Golgi (Cajal, 1899a), en donde se puede observar la rica arborización de las dendritas basales. Como Cajal no realizó estudios cuantitativos, sus ideas sobre los aspectos evolutivos de la corteza cerebral permanecieron prácticamente olvidadas hasta la introducción en tiempos recientes de nuevas técnicas. Una de estas técnicas consiste en la inyección intracelular de neuronas en tejido fijado con agentes químicos (Buhl y Schlote, 1987; Elston *et al.*, 1996). Este método tiene la ventaja de que no es necesario mantener vivo el tejido para realizar el experimento y, por tanto, se puede utilizar en cerebros humanos obtenidos a partir de autopsias. Mediante una micropipeta de menos de 2 micras de diámetro, se penetra en el interior del cuerpo de la neurona para inyectar una sustancia fluorescente (Lucifer Yellow) que se difunde a lo largo de sus prolongaciones dendríticas, lo que permite la visualización de su arborización dendrítica completa (Figura 19). Estas neuronas se pueden examinar utilizando métodos morfométricos u otras técnicas de análisis morfológicos. Así, el número total de espinas dendríticas que presentan las células piramidales se encuentra determinado por la longitud de los árboles dendríticos-

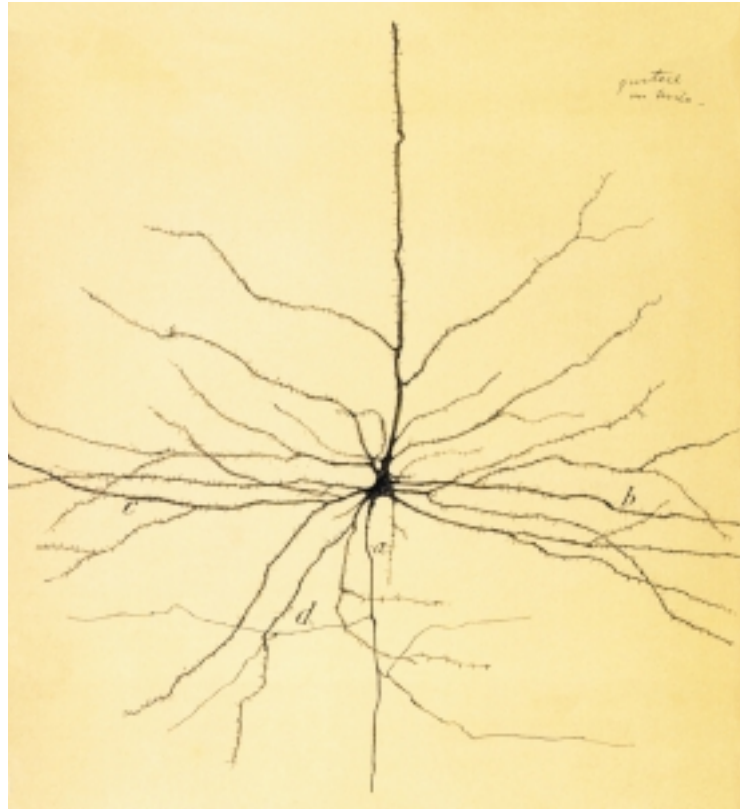


Figura 18. Dibujo realizado por Cajal para ilustrar las células piramidales impregnadas con el método de Golgi. "Pirámide gigante profunda de la región motriz del hombre de treinta años. a, axon; b, dendritas que fueron seguidas de más de un milímetro, y que en la figura sólo parcialmente se han copiado; d, colaterales [axónicas]." Esta figura fue reproducida en la *Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados* (Cajal 1899b, 1904, figura 690). © Herederos de Santiago Ramón y Cajal.

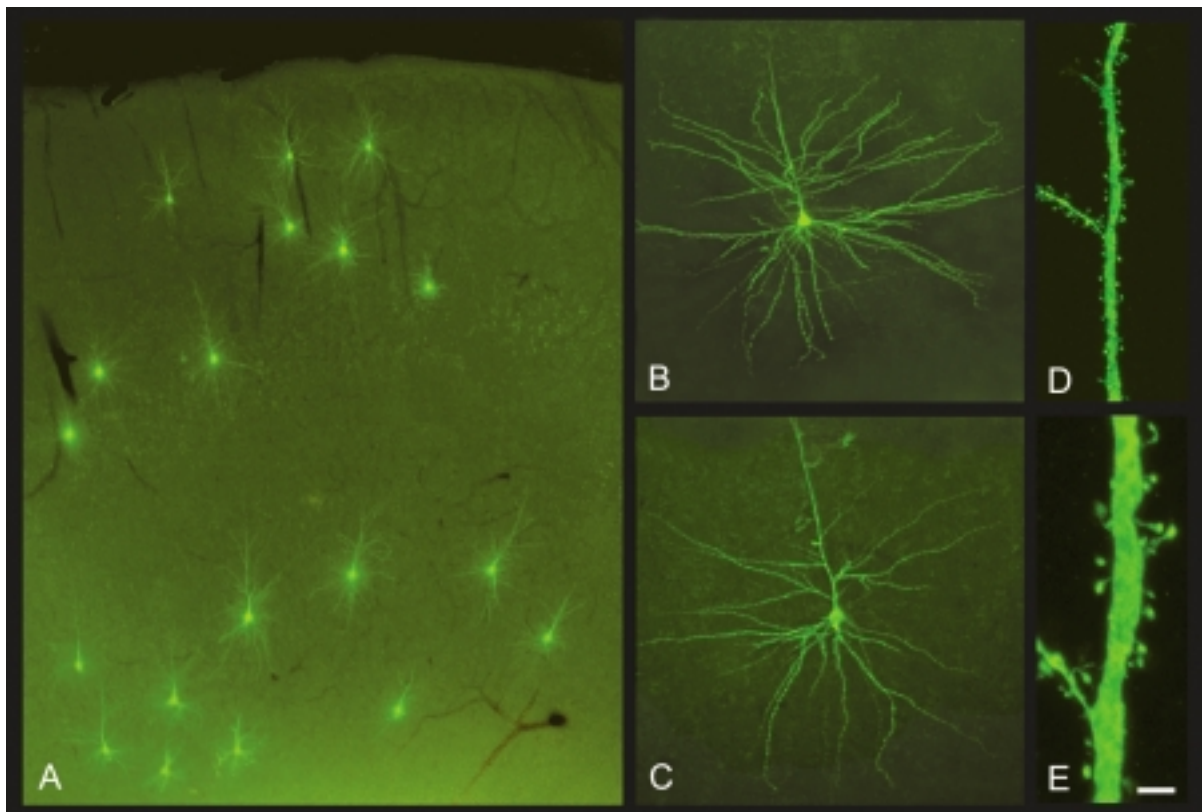


Figura 19. Imágenes tomadas con el microscopio confocal de células piramidales en la corteza temporal humana. Estas células fueron inyectadas intracelularmente con Lucifer Yellow (un marcado fluorescente) en material fijado. El Lucifer Yellow difunde por el interior de la neurona mediante el paso de una corriente negativa continua, permitiendo visualizar la morfología completa de la célula, incluyendo las espinas dendríticas. A, células piramidales en las capas II, IIIa, IIIb, V y VI. B, C: Ejemplos a mayor aumento de células piramidales en la capa IIIa (B) y IIIb (C). D, E, detalle de la misma dendrita apical a mediano (D) y gran (E) aumento para ilustrar la presencia de espinas dendríticas. Barra de calibración: 135  $\mu\text{m}$  en A; 55  $\mu\text{m}$  en B, C; 11  $\mu\text{m}$  en D; 3.5  $\mu\text{m}$  en E. Inyecciones realizadas por Ruth Benavides-Piccione (Instituto Cajal, CSIC).

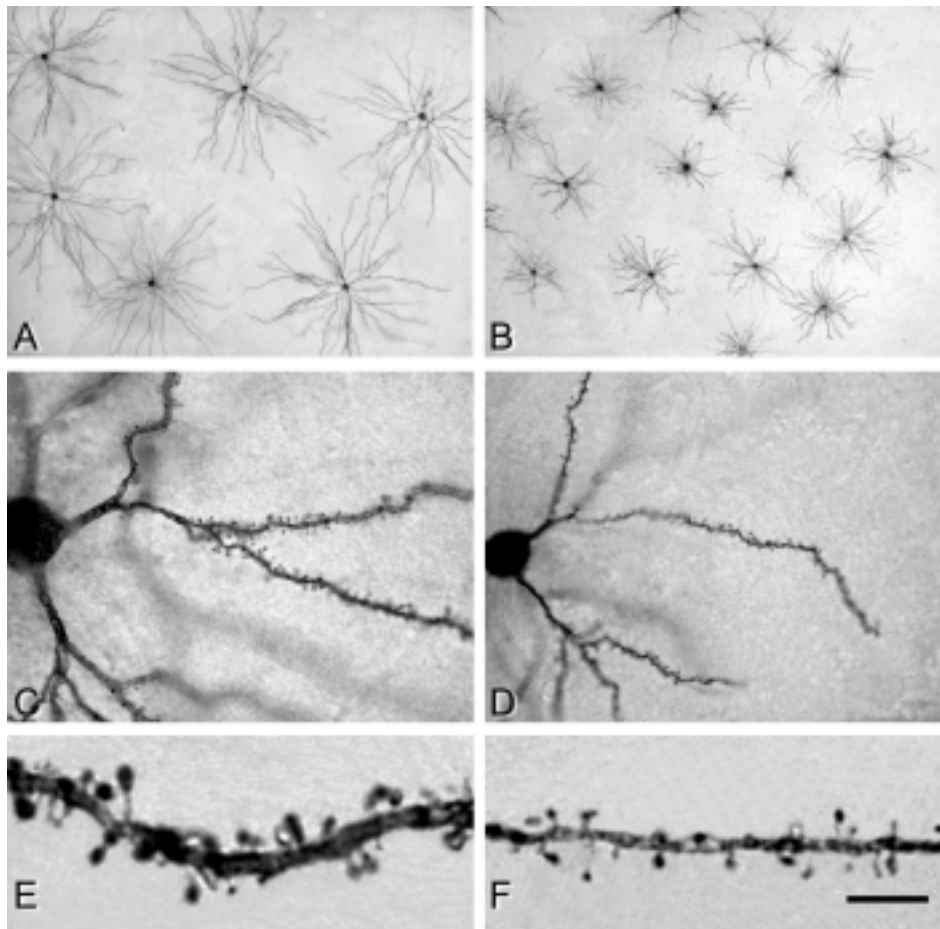


Figura 20. Microfotografías de células piramidales en la neocorteza humana y del ratón, en secciones paralelas a la superficie cortical. *A, B*, microfotografías a bajo aumento de células piramidales de la capa III inyectadas con Lucífer Yellow y procesadas con DAB en la corteza temporal humana (*A*) y corteza somatosensorial del ratón (*B*). Nótese el tamaño menor de las células piramidales en el ratón. *C, D*, microfotografías a mayor aumento de *A* y *B* para mostrar el cuerpo celular y dendritas basales en el humano (*C*) y ratón (*D*). *E, F*, microfotografías a gran aumento (objetivo de inmersión x 100) de una dendrita basal humana (*E*) y del ratón (*F*). Nótese el menor tamaño de las espinas dendríticas en el ratón. Barra de calibración: 425  $\mu$ m en *A, B*; 45  $\mu$ m en *C, D*; 10  $\mu$ m en *E, F*. Tomada de Benavides-Piccione *et al.* (2002).

cos y la densidad de las espinas a lo largo de las dendritas. Por otra parte, el número de espinas que tiene una célula piramidal refleja en buena medida el número de aferencias excitadoras que recibe y, por tanto, su capacidad para procesar esta información (DeFelipe y Fariñas, 1992). Utilizando este método hemos realizado estudios comparativos entre diferentes áreas corticales y especies. Por ejemplo, se ha encontrado que las células piramidales de la corteza temporal humana exhiben aproximadamente el doble de espinas dendríticas que en la corteza temporal del macaco y el tití, y unas 5 veces más que en la corteza somatosensorial del ratón (Figura 20). Además, las células piramidales de la corteza prefrontal humana tienen el 72% más espinas que en la corteza prefrontal del macaco, y aproximadamente 4 veces más espinas que en la corteza prefrontal del tití o la corteza frontal del ratón (Elston *et al.*, 2001; Elston, 2003; Benavides-Piccione *et al.*, 2002; Ballesteros-Yáñez, Benavides-Piccione, Elston, Yuste y DeFelipe, en preparación). Estos datos indican que las células piramidales de la corteza cerebral humana son capa-

ces de integrar un mayor número de aferencias que las células piramidales de cualquiera de las otras especies estudiadas, y que existen diferencias notables entre áreas corticales y especies, confirmando la idea de Cajal sobre la mayor complejidad de las células piramidales en el ser humano (Elston, 2003).

### CÉLULAS NEUROGLIALES

Las células neurogliales (o simplemente células gliales o glía) constituyen las células más abundantes del sistema nervioso, estimándose que superan en al menos 10 veces más al número de neuronas. Los tipos funda-



Figura 21. Dibujo de Cajal para ilustrar astrocitos de la sustancia gris de la corteza cerebral. "Trozo de un corte de la sustancia gris del cerebro de un hombre adulto. Coloración por el cloruro de oro. *A*, tipo neuróglico grande; *B*, tipo neuróglico más pequeño; *C*, pie inserto en un capilar; *D*, pirámide cerebral; *a*, capilar sanguíneo; *b*, pequeños pedículos perivasculares; *d*, células satélites no neuróglicas". Esta figura fue reproducida en la revista *Trabajos del Laboratorio de Investigaciones Biológicas de la Universidad de Madrid* (Cajal, 1913c, figura 1). © Herederos de Santiago Ramón y Cajal.

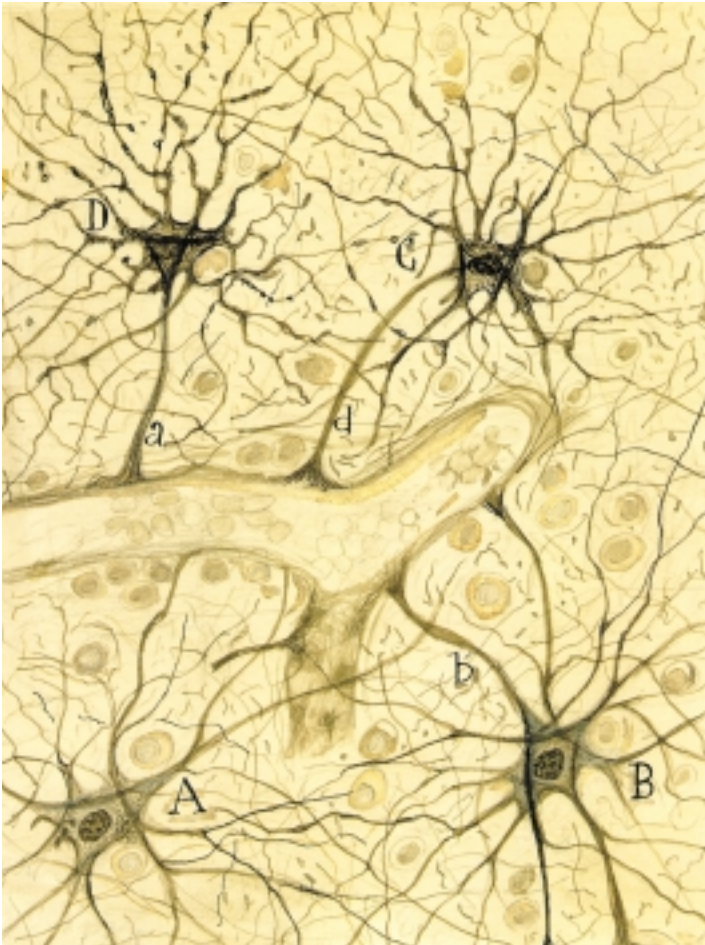


Figura 22. Dibujo de Cajal para ilustrar astrocitos de la sustancia blanca de la corteza cerebral. "Células neuróglícas de la sustancia blanca del cerebro humano adulto. Método del oro. A, aspecto de ciertas células donde se divide un aparato fibrilar; B, C, aspecto ofrecido por otras donde el protoplasma teñido en masa no consiente la percepción de fibras; a, b, c, d, pies perivasculares". Esta figura fue reproducida en la revista *Trabajos del Laboratorio de Investigaciones Biológicas de la Universidad de Madrid* (Cajal, 1913c, figura 14). © Herederos de Santiago Ramón y Cajal.

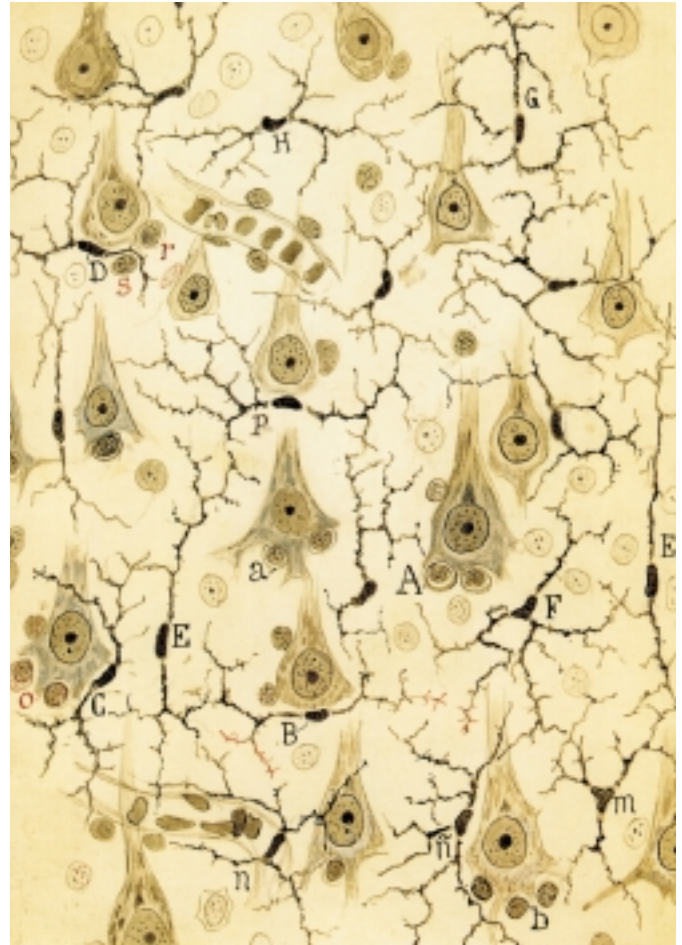


Figura 23. Dibujo de Cajal para ilustrar células microgliales de la corteza cerebral. "Microglía de la corteza cerebral del hombre normal. A, satélites enanas globulosas; a, b, o, r, s, otros tipos semejantes incolorables por la plata; E, microglía bacilar; G, D, microglía satélite; F, P, H, G, m, variedades microgliales triangulares o de otras formas; n, microglia perivascular. (Método de Bielschowsky con mordiente de acetato de cobre)". Esta figura fue reproducida en la revista *Trabajos del Laboratorio de Investigaciones Biológicas de la Universidad de Madrid* (Cajal, 1920, figura 3). © Herederos de Santiago Ramón y Cajal.

mentales de células gliales en el sistema nervioso central son los *astrocitos*, *oligodendrocitos* y *microglía*. Los astrocitos y oligodendrocitos derivan del neuroectodermo, mientras que la microglía deriva del mesodermo. La neuroglía no solamente sirve a las neuronas como soporte estructural y para el mantenimiento de un microambiente adecuado -esencial en el proceso de transmisión sináptica entre neuronas- sino que recientemente se ha sugerido que también pueden ser capaces de intercambiar y procesar información con otras células gliales y con las neuronas vecinas (e.g., Somjen, 1975, 1987; Peters *et al.*, 1991; Kettenmann y Ranson, 1995; Tsacopoulos y Magistretti, 1996; Araque *et al.*, 2001; Perea y Araque, 2003). De este modo, actualmente se ha incrementado notablemente el interés por el estudio de la neuroglía. A continuación veremos que el análisis detallado de la neuroglía comenzó básicamente tras los estudios de Cajal y su discípulo Pío del Río-Hortega (1882-1945).

El descubrimiento de la neuroglía se atribuye frecuentemente a Rudolf Virchow (1821-1902), quien en 1846 describió una sustancia conectiva o intersticial no neuronal en el cerebro y médula espinal en la que los otros elementos del sistema nervioso (células nerviosas y fibras) estaban embebidos (Virchow, 1846). Él denominó a esta sustancia *Nerven Kitt* (pegamento nervioso), término más tarde traducido por *neuroglía*. Virchow también observó que la sustancia intersticial contenía células especiales con forma estrellada o de huso que eran difíciles de distinguir de las células nerviosas más pequeñas. Según Cajal (1899b), las células neurogliales también se llamaban células aracniformes (por parecerse a una araña) o células de Deiters, en honor a su descubridor, Otto Friedrich Karl Deiters (1834-1863). No obstante, el verdadero estudio de las células neurogliales se inició con el método de Golgi, mostrando que estas células presentan una morfología muy compleja (Figura 6). Cajal y Del Río-Hortega, sirviéndose del método de Golgi y de diversas técni-

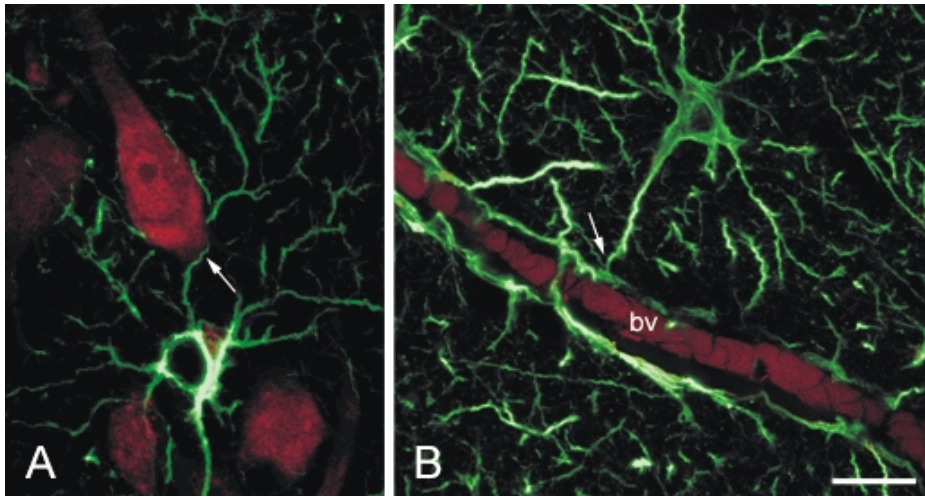


Figura 24. Serie de imágenes obtenidas con el microscopio láser-confocal que ilustran la relación de los astrocitos con las neuronas y los vasos sanguíneos mediante técnicas inmunocitoquímicas de doble marcaje, utilizando a la vez el anticuerpo NeuN, que marca neuronas (en rojo), y el anticuerpo GFAP (proteína ácida fibrilar glial), para visualizar a los astrocitos (en verde). *A*, las ramificaciones astrocíticas marcadas con GFAP se localizan en el neuropilo y adyacentes a neuronas NeuN-positivas (flecha). *B*, ilustra pies astrocíticos perivasculares terminales GFAP-positivos (flecha), situados alrededor de los capilares sanguíneos (*Bv*) identificados por el marcaje inespecífico de los glóbulos rojos. Nótese el parecido de esta figura con la figura 22 de Cajal. Barra de calibración: 15  $\mu$ m en *A* y *B*.

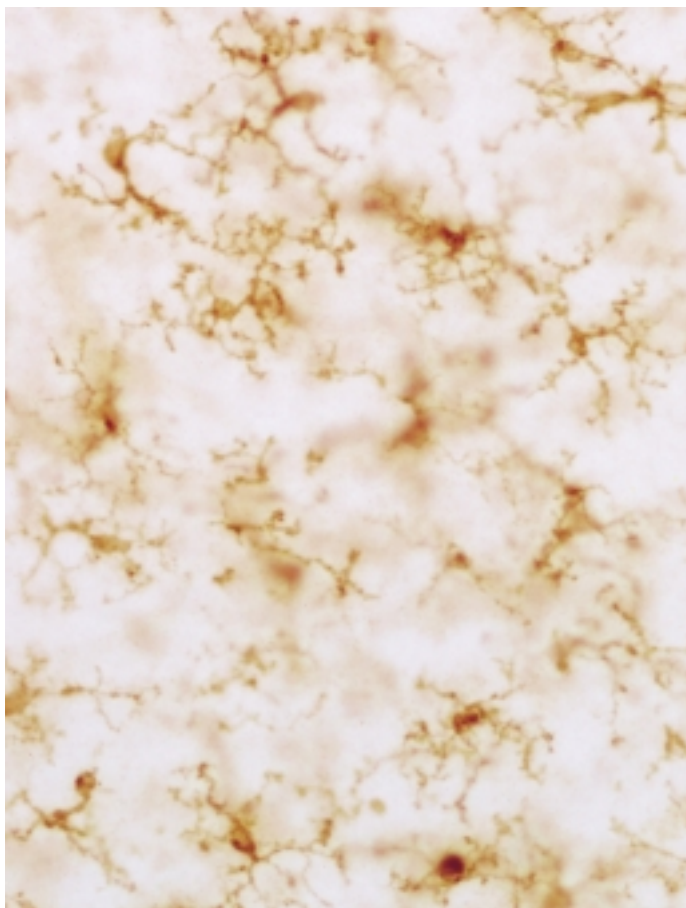


Figura 25. Microfotografía de corteza cerebral humana teñida inmunocitoquímicamente con anticuerpos anti-LN3 para detectar específicamente las células de microglía. Nótese el parecido de esta figura con la figura 23 de Cajal. Barra de calibración: 25  $\mu$ m.

cas de impregnación metálica desarrolladas por ellos mismos, realizaron descubrimientos esenciales sobre la identificación, estructura y función de la neuroglía. Por ejemplo, Cajal describió magistralmente en 1913 la morfología de los astrocitos y su relación con las neuronas y vasos sanguíneos (Figuras 21, 22). Además, en este artículo (Cajal, 1913c), describió un *tercer elemento* de células de naturaleza desconocida que eran diferentes de las neuronas y astrocitos, a las que denominó *corpúsculos enanos adendríticos*, *corpúsculos apolares*, *corpúsculos satélite adendríticos* o *células satélites no neuróglías* (d en Figura 21). Más tarde, Del Río-Hortega estudió estas células de naturaleza desconocida con el método del carbonato de plata y demostró que incluían dos grupos diferentes de células neurogliales: la microglía (Del Río Hortega, 1920) y los oligodendrocitos (Del Río Hortega, 1928).

Del Río Hortega analizó la microglía (Figura 23) descrita por Del Río Hortega -utilizando el método de Bielschowsky-, tras lo cual confirmó y amplió las descripciones de su discípulo (Cajal, 1920).

El dibujo que se muestra en la Figura 22 ilustra bellamente los pies astrocíticos perivasculares terminales (también llamados pies chupadores) sobre un vaso sanguíneo. Esto confirmó la observación realizada por Golgi en 1885, quien describió que las prolongaciones de las células neurogliales impregnadas con el método de Golgi se encontraban frecuentemente en contacto con los vasos sanguíneos (pies chupadores; *i, j* en Figura 6) y neuronas (como la célula *B* en la Figura 21). Éste fue el hallazgo que condujo a Golgi a proponer que la principal función de las células neurogliales era suministrar nutrientes a las células nerviosas. Como se ha comentado al principio de este apartado, ahora se sabe que las células neurogliales ejercen una función mucho más compleja. En las Figuras 24 y 25 se muestran ejemplos de astrocitos y células microgliales con técnicas de tinción modernas que confirman las observaciones microanatómicas de Cajal. La Figura 24 contiene imágenes obtenidas con el microscopio láser-confocal que ilustran la relación de los astrocitos con las neuronas y los vasos sanguíneos mediante técnicas inmunocitoquímicas de doble marcaje, utilizando a la vez el anticuerpo NeuN, que marca neuronas, y el anticuerpo GFAP (proteína ácida fibrilar glial), para visualizar a los astrocitos.

Para terminar, como decía Fernando de Castro (1896-1967), uno de sus discípulos más destacados, "*con los dibujos de Cajal la ciencia se convierte en arte*", pero no cabe duda de que lo que es realmente fundamental y valioso de estas ilustraciones es la extraordinaria información científica que contienen y que supusieron el origen de la neurociencia moderna.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Araque A, Carmignoto G, Haydon PG (2001) Dynamic signaling between astrocytes and neurons. *Annu Rev Physiol* 63: 795-813.
2. Bastian HC (1880) *The brain as an organ of mind*. Kegan Paul, London.
3. Benavides-Piccione R, Ballesteros-Yáñez I, DeFelipe J, Yuste R (2002) Cortical area and species differences in dendritic spine morphology. *J Neurocytol* 31: 337-346.
4. Buhl EH and Schlote W (1987) Intracellular lucifer yellow staining and electron microscopy of neurones in slices of fixed epithymorous human cortical tissue. *Acta Neuropathol* 75: 140-146.
5. Cajal SR (1888) Estructura de los centros nerviosos de las aves. *Rev Trim Histol Norm Patol* 1: 1-10.
6. Cajal SR (1889a) *Manual de histología normal y de técnica micrográfica*. Valencia: Librería de Pascual Aguilar.
7. Cajal SR (1889b) Nuevas aplicaciones del método de coloración de Golgi. *Gac Méd Catalana* 12: 613-616;-643-644.
8. Cajal SR (1890a) Textura de las circunvoluciones cerebrales de los mamíferos inferiores. *Nota preventiva. Gac Méd Catalana* 1: 22-31.
9. Cajal SR (1890b) *Notas anatómicas. I. Sobre la aparición de las expansiones celulares en la médula embrionaria. Gac Sanit Barcelona* 2: 413-418.
10. Cajal SR (1891) Sur la structure de l'écorce cérébrale de quelques mammifères. *La Cellule* 7: 125-176.
11. Cajal SR (1892a) El nuevo concepto de la histología de los centros nerviosos. *Rev Ciencias Méd* 18: 457-476.
12. Cajal SR (1892b) La rétine des vertébrés. *La Cellule* 9: 121-133.
13. Cajal SR (1893) *Manual de histología normal y de técnica micrográfica. 2ª edición*. Valencia: Librería de Pascual Aguilar.
14. Cajal SR (1894) The Croonian Lecture: La fine structure des centres nerveux. *Proc Royal Soc London* 55: 444-468.
15. Cajal SR (1896) Las espinas colaterales de las células del cerebro teñidas por el azul de metileno. *Rev Trim Micrográf Madrid* 1: 123-136.
16. Cajal SR (1897) *Fundamentos racionales y condiciones técnicas de la investigación biológica*. Madrid: Imprenta de L. Aguado.
17. Cajal SR (1899a) Estudios sobre la corteza cerebral humana I: Corteza visual. *Rev Trim Micrográf Madrid* 4: 1-63.
18. Cajal SR (1899b, 1904) *Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados*. Madrid: Moya.
19. Cajal SR (1899c) Estudios sobre la corteza cerebral humana II: Estructura de la corteza motriz del hombre y mamíferos superiores, *Rev. Trim. Micrográf. Madrid* 4: 117-.200.
20. Cajal SR (1909, 1911) *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés*. Paris: Maloine.
21. Cajal SR (1913a, 1914a) Estudios sobre la degeneración y regeneración del sistema nervioso. Madrid.: Moya.
22. Cajal SR (1914b) *Manual de histología normal y de técnica micrográfica. 6ª edición*. Madrid: Imprenta de hijos de Nicolás Moya.
23. Cajal SR (1913b) *Reglas y consejos sobre investigación científica. 3ª edición*. Madrid, Imprenta y Librería de Nicolás Moya.
24. Cajal SR (1913c) Contribución al conocimiento de la neuroglia del cerebro humano. *Trab Lab Invest Biol Univ Madrid* 11: 255-315.
25. Cajal SR (1917) *Recuerdos de mi vida, Vol.2. Historia de mi labor científica*. Madrid: Moya.
26. Cajal SR (1920) Algunas consideraciones sobre la mesoglia de Robertson y Río-Hortega. *Trab Lab Invest Biol Univ Madrid* 18: 109-127.
27. Cajal SR (1933) ¿Neuronismo o reticularismo? Las pruebas objetivas de la unidad anatómica de las células nerviosas. *Arch Neurobiol* 13: 1-144.
28. Clarke E, Jacyna LS (1987) *Nineteenth-century origins of neuroscientific concepts*. Berkeley: University of California Press.
29. DeFelipe J, Jones EG (1988) *Cajal on the Cerebral Cortex*. New York: Oxford University Press.
30. DeFelipe J, Jones EG (1991) *Cajal's Degeneration and Regeneration of the Nervous System*. New York: Oxford University Press.
31. DeFelipe J, Fariñas I (1992) The pyramidal neuron of the cerebral cortex: morphological and chemical characteristics of the synaptic inputs. *Prog Neurobiol* 39: 563-607.

32. DeFelipe J (1994) Pyramidal cell. *Trends Neurosci* 17: 119.
33. DeFelipe J, Alonso-Nanclares L, Arellano JI (2002) Microstructure of the neocortex: comparative aspects. *J Neurocytol* 31: 299-316.
34. DeFelipe J (2002) Cortical interneurons: from Cajal to 2001. *Prog Brain Res* 136: 215-238.
35. DeFelipe J (2005) Historia de la neurona: influencia de los estudios de Santiago Ramón y Cajal en la neurociencia moderna. In: *Histología del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados. Santiago Ramón y Cajal*. pp x. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo, Consejo Superior de Investigaciones científicas y Boletín Oficial del Estado.
36. Del Río-Hortega P (1920) La microglia y su transformación en células en bastoncito y cuerpos gránulo-adiposos. *Trab Lab Invest Biol Univ Madrid* 18: 37-82.
37. Del Río-Hortega P (1928) Tercera aportación al conocimiento morfológico e interpretación funcional de la oligodendroglia. *Memorias de la Sociedad Española de Historia Natural Tomo XIV*: 1-122.
38. Elston GN (2003) Cortex, cognition and the cell: new insights into the pyramidal neuron and prefrontal function. *Cerebral Cortex* 13: 1124-1138.
39. Elston GN, Rosa MGP, Calford MB (1996) Comparison of dendritic fields of layer III pyramidal neurons in striate and extrastriate visual areas of the marmoset: A lucifer yellow intracellular injection study. *Cerebral Cortex* 6: 807-813.
40. Elston GN, Benavides-Piccione R, DeFelipe J (2001) The pyramidal cell in cognition: a comparative study in human and monkey. *J Neurosci* 21: RC163.
41. Golgi C (1873) Sulla struttura della sostanza grigia del cervello (Comunicazione preventiva). *Gazz Med Ital Lombardia* 33: 244-246.
42. Golgi C (1875) Sulla fina struttura del bulbi olfattorii. Reggio-Emilia: Printer Stefano Calderini
43. Golgi C (1886) Sulla Fina Anatomia delgi Organi Centrali del Sistema Nervoso. Milan: Ulrico Hoepli.
44. Golgi C (1929) Opera Omnia. Vol. IV. Scritti su argomenti varii, 1903-1925. pp 1259-1291. Milan: Ulrico Hoepli.
45. Jones EG (1994) The neuron doctrine". *J Hist Neurosci* 3: 3-20.
46. Kettenmann H, Ransom BR (1995) Neuroglia. Oxford: Oxford University Press.
47. Kölliker Av (1852) (1852) Handbuch der Gewebelehre des Menschen. Leipzig: Engelmann.
48. Merchán-Pérez A (2001) Santiago Ramón y Cajal. Discurso de doctorado y trabajos de juventud. Madrid: Universidad Europea-CEES.
49. Perea G, Araque A (2003) Nuevas vías de información en el sistema nervioso: comunicación entre astrocitos y neuronas. *Rev Neurol* 36: 137-144.
50. Peters A, Palay SL, Webster HD (1991) The fine structure of the nervous system. Neurons and their supporting cells. New York: Oxford University Press.
51. Purkinje JE (1838) Bericht über die Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte in Prag im September, 1837. pt. 3, sec. 5, A. Anatomisch-physiologische Verhandlungen 177-180.
52. Shepherd GM (1991) Foundations of the neuron doctrine. New York: Oxford University Press.
53. Somjen GG (1975) Electrophysiology of neuroglia. *Annu Rev Physiol* 37: 163-190.
54. Somjen GG (1987) Functions of glial cells in the cerebral cortex. In: *Cerebral cortex* (Jones EG, Peters A, eds), pp 1-39. New York: Plenum Press.
55. Tsacopoulos M, Magistretti PJ (1996) Metabolic coupling between glia and neurons. *J Neurosci* 16: 877-885.
56. Valentin GG (1836) Über den Verlauf und die letzten Ende der Nerven. *Nova Acta Phys-Med Acad Caes Leopold-Carol Nat Curiosorum Breslau* 18: 51-240.
57. van Gehuchten A (1913) Le Névrxax: Livre Jubilaire dédié a M.A. van Gehuchten. Vol 12-13. pp 29-45. Louvain: A. Uystpruyt (Librairie Universitaire).
58. Virchow R (1846) Über das granulierte Ansehen der Wandungen der Gerhirnventrikel. *Allg Z Psychiatr* 3: 424-450.
59. Waldeyer-Hartz Wv (1891) Über einige neuere Forschungen im Gebiete der Anatomie des Centralnervensystems. *Dtsch Med Wschr* pp 17: 1213-1218, 1244-1246, 1267-1269, 1287-1289, 1331-1332, 1352-1356.