Investigación Clínica. Nº 21: 33-52. 1967.

ULTRAESTRUCTURA DE LA NEURONA

Revisión

— **Dr. Orlando J. Castejón Sandoval.**

Jefe de la Sección de Microscopía Electrónica.
Instituto de Investigación Clínica.
Facultad de Medicina.
Universidad del Zulia.

Trabajo presentado en el Simposio sobre Aspectos Básicos de Neurología. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. Mayo 5. 1967.

La aplicación del microscopio electrónico al estudio del sistema nervioso, desde hace 27 años, ha proporcionado información valiosa y detallada sobre su organización submicroscópica. El poder de resolución del microscopio electrónico (10 Angstrom), muy superior al poder de resolución del microscopio de luz (2000 A°), permite en la actualidad hacer un análisis molecular de la membrana celular, del núcleo y de los diferentes sistemas membranosos intracelulares, tales como el retículo endoplásmico, las mitocondrias y el complejo de Golgi. El estudio de la interrelación neuronal a nivel de la sinapsis, ha suministrado información básica sobre los mecanismos de transmisión del impulso nervioso. Esta nueva disciplina iniciada con el microscopio electrónico, la Neurología Molecular, abre nuevos y esperanzadores caminos para una mejor comprensión de las más elevadas funciones del ser humano: naturaleza del pensamiento, memoria, aprendizaje, imaginación, inteligencia.

Las microfotografías electrónicas que observaremos corresponden a un estudio sobre la ultraestructura del sistema nervioso central que estamos realizando en la Sección de Microscopía Electrónica del Instituto de Investigación Clínica de esta Facultad. El tejido nervioso humano se obtuvo, por biopsia quirúrgica, en el Servicio de Neurología del Hospital Universitario de Maracaibo. Los tejidos fueron fijados con glutaraldehido al 4% en solución tamponada 0,1 M de fosfato de sodio, a pH de 7.4 y osmolaridad entre 300-400 mOs/litro. Se hizo luego fijación secundaria en tetraóxido de osmio, en solución similar a la utilizada con el glutaraldehido. Los tejidos se deshidrataron en concentraciones crecientes de etanol y de óxido de propileno y se incluyeron en Epón. Las secciones finas se realizaron con ultramicrotomo LKB equipado con cuchilla de vidrio y se recogieron en rejillas de cobre cubiertas con películas de formvar y estabi-

lizadas con baño de carbón. Se hizo luego tinción con soluciones saturadas de acetato de uranilo y de citrato de plomo y se observó con microscopio electrónico Siemens Elmiskop I.

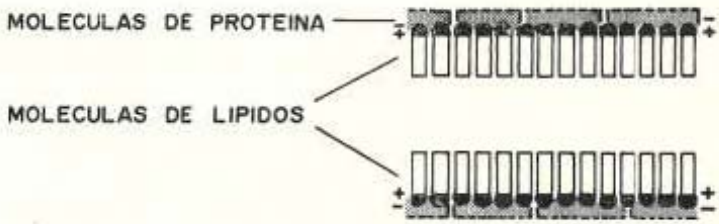
CITOPLASMA

Membrana celular

Las neuronas muestran una membrana celular, la cual se extiende en forma continua hacia el axón y las dendritas. Esta membrana tiene una estructura triple formada por dos líneas densas de 25 A° separadas por un espacio claro de aproximadamente 35 A° (Fig. 1). Esta estructura triple fue estudiada ini-

Fig. 1. Microfotografía electrónica mostrando dos membranas neuronales simétricas íntimamente adosadas. Cada membrana neuronal, de aproximadamente 85 A° de grosor, exhibe una estructura triple (flecha) formada por dos líneas densas, separadas por un espacio claro. Cada línea densa es de 25 A° y el espacio claro es de aproximadamente 35 A°. Fijación en tetraóxido de osmio —agua de mar artificial. Inclusión en metil—butil metacrilato. Magnificación 120.000 X.

cialmente por J. D. Robertson (1959), quien utilizó el permanganato de potasio como fijador. Robertson [16] designó esta estructura triple con el nombre de "unidad de membrana". Su espesor es de 75 A°. La estructura submicroscópica de la membrana celular corresponde al modelo propuesto por Dawson y Danielly en 1943 (Fig. 2). Estos autores [2] consideran que la membrana celular está formada por dos capas monomoleculares de proteínas, separadas por una capa bimolecular de lípidos. Las dos líneas densas observadas al microscopio electrónico, corresponden a las capas de proteínas; y el espacio claro, a la capa bimolecular de lípidos. Investigaciones posteriores, han demostrado que no todas las membranas celulares presentan el mismo patrón estructural postulado por Robertson. Sjöstrand y Elfvin (1962) y Sjöstrand (1962) demostraron la existencia de membranas celulares asimétricas, de un espesor de 90 a 100 A°. La asimetría de la membrana celular se debe a un engrosamiento de su capa densa citoplasmática. Las diferencias en grosor y en arreglo

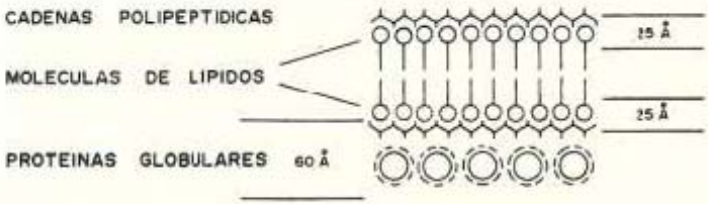


ESTRUCTURA MOLECULAR DE LA MEMBRANA CELULAR

(Davson y Danielli, 1943)

2

Fig. 2. Estructura molecular de la membrana celular propuesta por Dawson y Danielli. La capa molecular de proteínas correspondería a las líneas densas, y la capa bimolecular de lípidos, al espacio claro de la microfotografía electrónica.



ESTRUCTURA MOLECULAR DE UNA MEMBRANA CELULAR ASIMETRICA

(Sjöstrand, 1962)

3

Fig. 3 Modelo molecular de membrana celular asimétrica propuesto por Sjöstrand. La asimetría se debería a un engrosamiento de la capa densa citoplasmática.

geométrico implican, según Sjöstrand,[23] diferencias en su estructura molecular. El diagrama de la Fig. 3 ilustra el modelo molecular de membrana celular asimétrica propuesto por Sjöstrand. Se requieren futuras investigaciones para tratar de dilucidar aún más la naturaleza de las membranas celulares, así como su mecanismo de formación.

Substancia de Nissl

Al microscopio de luz, la substancia de Nissl aparece como masas densas, basófilas, distribuidas en todo el citoplasma. Las investigaciones realizadas con el microscopio electrónico y con métodos histoquímicos, demuestran que las masas basofílicas están formadas por agregados de membranas del retículo endoplasmático dispuestas en paralelo y por gránulos de ribonúcleoproteínas (ribosomas) asociados a la superficie externa de las membranas (Figs. 4 y 5). Estos gránulos de ARN son de 100-200 Angstrom de diámetro. La substancia de Nissl, no es sino el retículo endoplasmático del tipo rugoso, presente en el citoplasma neuronal. Las membranas dispuestas en paralelo, representan las secciones de túbulos, cisternas aplanadas, o vesículas, del retículo endoplasmático. La substancia de Nissl se observa en el cuerpo celular y en las dendritas, pero no en el axón. En el axón sólo se han observado membranas del retículo endoplasmático sin ribosomas. Probablemente estas membranas representan una forma simplificada de la substancia de Nissl.

Los ribosomas pueden hallarse también, dispersos en el citoplasma, aislados, o formando grupos en roseta (ribosomas libres). El contenido de ARN de las neuronas, varía con los diferentes tipos de células nerviosas y su cantidad oscila entre 45-1500 microgramos. Los ácidos nucleicos de la neurona, como en todas las células del organismo, están relacionados con la síntesis de las proteínas; la cual se realiza bajo la influencia del núcleo. Hyden y colaboradores (1961) han demostrado que la neurona "in vivo" facilita la síntesis normal de los ácidos nucleicos y las proteínas durante el desarrollo, y que existe un aumento del ARN y de las proteínas neuronales durante el proceso de aprendizaje.[10] La estimulación eléctrica "in vitro" del tejido nervioso de animales adultos, produce degradación o ruptura de las proteínas y de los ácidos nucleicos, los cuales se resintetizan durante el período de reposo. Hyden ha especulado acerca del probable papel del ARN en el suministro de enzimas necesarias para el funcionamiento de la bomba de sodio y potasio, y como el substrato molecular de la memoria[11].

Mitocondrias

Las mitocondrias neuronales son semejantes a las de otras células del organismo. Aparecen como cuerpos alargados u ova-

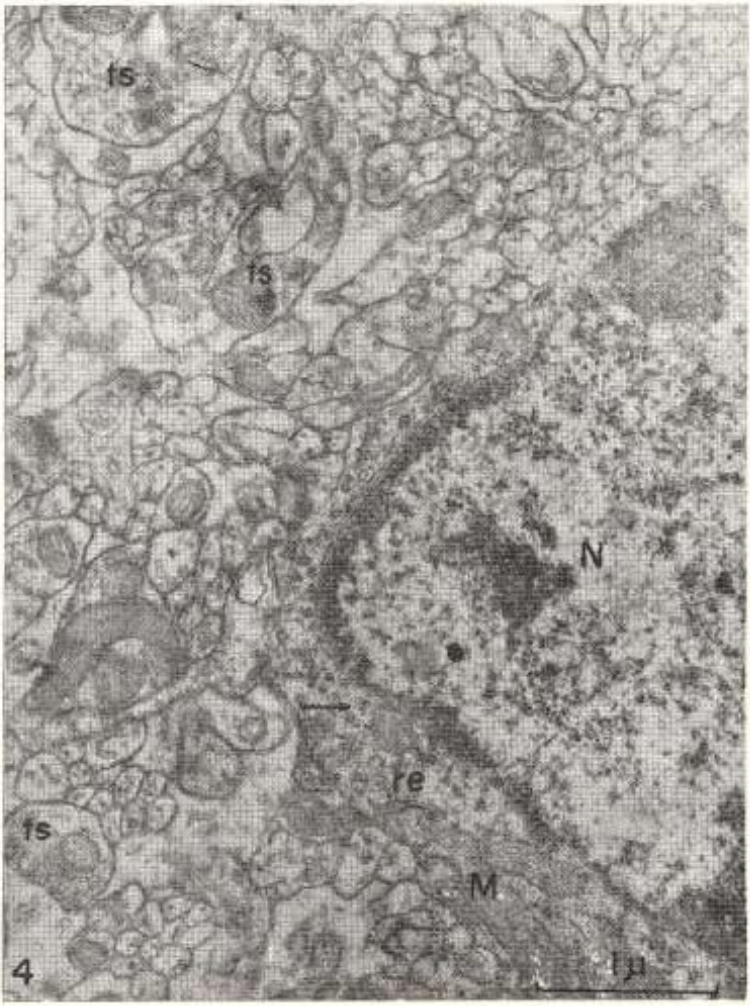


Fig. 4. Microfotografía electrónica de una neurona estrellada de la capa molecular de la corteza cerebelosa de ratón albino suizo. El citoplasma neuronal muestra los canalículos del retículo endoplasmático (re). Se pueden observar los ribosomas adheridos a la superficie externa de los mismos. Existen mitocondrias (M), y gran cantidad de ribosomas libres (flecha). El núcleo (N) exhibe una doble membrana nuclear y la presencia de masas cromatínicas agrupadas hacia la membrana nuclear interna. En la vecindad del cuerpo neuronal, se observan las secciones transversales de numerosas prolongaciones celulares. Se distinguen varios terminales sinápticos (ts), caracterizados por la presencia de vesículas sinápticas y mitocondrias. Fijación por perfusión con glutaraldehído. Posifijación en osmio. Inclusión en Epón. Magnificación 36.000 X.

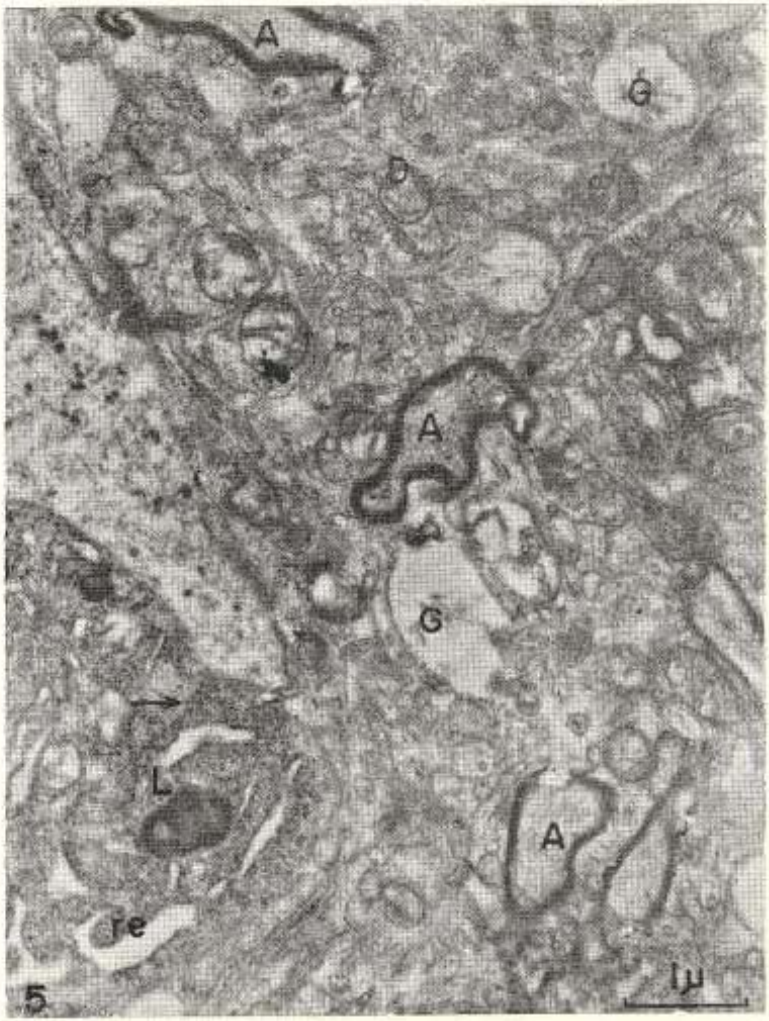


Fig. 5. Microfotografía electrónica de la corteza cerebral de un paciente con síndrome hipertensivo endocraneano por tumor cerebral. En el ángulo inferior izquierdo se visualiza parte del citoplasma de una neurona, que muestra los canalículos del retículo endoplasmático (re) de aspecto dilatado, ribosomas libres (flecha) y gránulos de lipofucsina (L). El resto de la figura muestra una compleja red formada por axones mielínicos (A), dendritas (D) y prolongaciones de células neurogliares (G). Doble fijación glutaraldehido-osmio. Inclusión en Epón. Magnificación 24.000 X.

lados (Fig. 4), cubiertos por una doble membrana. La membrana interna se invagina para formar las crestas mitocondricles. Estas limitan la matriz mitocondrial. Las mitocondrias se hallan distribuidas en el citoplasma neuronal, en las dendritas y en los axones, y tienden a acumularse a nivel de los botones sinápticos. En material fijado en tetraóxido de osmio y permanganato de potasio, Sjöstrand ha encontrado valores de 50 y 60 A° de grosor para las membranas mitocondriales. Esto es, las membranas celulares más finas observadas hasta ahora.[21] Esto revela una difererte arquitectura molecular para las membranas mitocondriales Las mitocondrias son de gran importancia

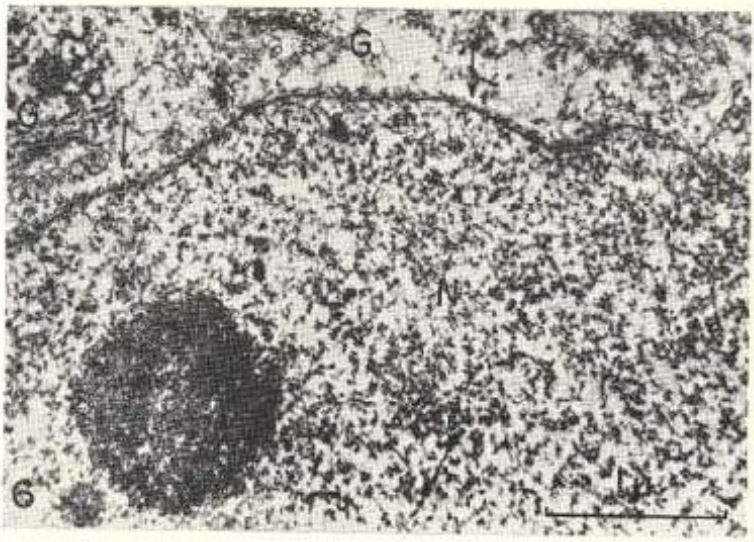


Fig. 6. Microfotografía electrónica de una neurona de la capa cortical del ganglio estrellado del calamar. El núcleo (N) muestra un nucleolo prominente y una doble membrana nuclear (flecha). La membrana nuclear interna es continua y de mayor grosor que la externa. Esta última, muestra interrupciones y orientación hacia las membranas del retículo endoplasmático. El citoplasma neuronal presenta complejos de Golgi (G). Fijación en osmio-agua de mar artificial. Inclusión en metil-butil metacrilato. Magnificación 36.000 X.

en la respiración celular. En muestras de mitocondrias cerebrales altamente purificadas, se encuentra un alto grado de oxidación de glutamato, succinato, alfa-ketoglutarato, piruvato y oxalacetato. Un menor grado de oxidación ha sido observado para el glicerol-1-fosfato, fumarato, glucosa 6-fosfato, B-hicroxibutirato, isocitrato, citrato y alfa-aminobutirato. Se ha demostrado en las mitocondrias la actividad de la citocromo oxidasa y de

la succinodeshidrogenasa.[19] Fernández Morán ha descrito a nivel de las crestas mitocondriales, la existencia de "partículas elementales", que ha correlacionado con las enzimas de la cadena respiratoria.[8]

Complejo de Golgi

Representa un sistema de dobles membranas lisas, es decir, sin asociación con gránulos de ácido ribonucleico, y de 60-70 A° de grosor (Figs. 7 y 8). Estas membranas tienden a disponer-

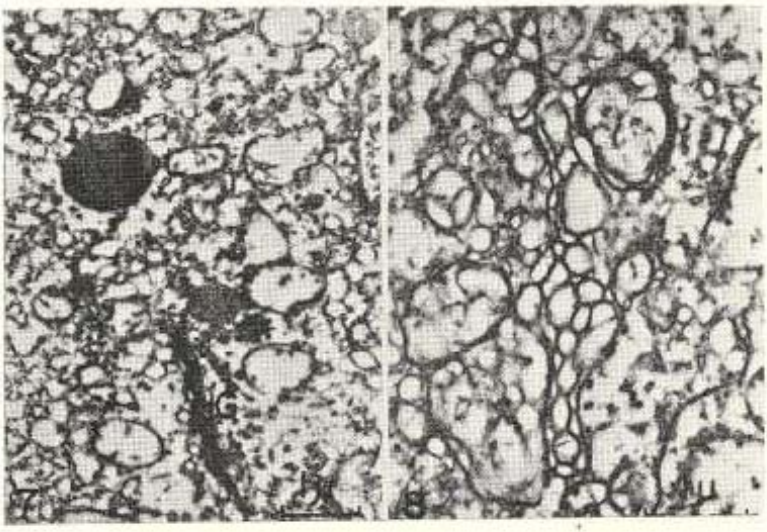


Fig. 7. Microfotografía electrónica de un segmento del citoplasma neuronal mostrando un cuerpo de inclusión denso, posiblemente un lisosoma (L) y un complejo de Golgi (G). Fijación en osmio-agua de mar artificial. Inclusión en metil-butil metacrilato. Magnificación 19.800 X.

Fig. 8. Microfotografía electrónica de un complejo de Golgi caracterizado por un desarrollo extraordinario del componente vesicular (forma vesicular del aparato de Golgi). Fijación en osmio-agua de mar artificial. Inclusión en metil-butil metacrilato. Magnificación 20.000 X.

se en paralelo, formando como sacos aplanados. En su vecindad se distinguen vacuolas y vesículas. Palay y Palade lo describen como un retículo agranular[15]. Se distribuye en todo el citoplasma y tiende a colocarse en situación perinuclear. Se cree que el complejo de Golgi tenga participación en la elaboración de la substancia de Nissl.

Neurofilamentos

Se han descrito neurofilamentos, de 50-100 A° de grosor, a nivel del soma neuronal, del axón y las dendritas, e incluso a nivel de los terminales sinápticos. Se desconoce su función.

Inclusiones

Existen diferentes tipos de inclusiones en el citoplasma neuronal, dependiendo del tipo de neurona. Se han observado inclusiones de lípidos, gránulos de lipofucsina y glucógeno. Gránulos semejantes a la melanina se observan en las neuronas de la substancia negra y del locus caeruleus. Las neuronas secretorias del núcleo supraóptico y paraventricular, contienen gránulos de secreción que han sido relacionados con las hormonas antidiurética, oxitocina y vasopresina.

NUCLEO

El núcleo es generalmente redondo u oval y está limitado por una envoltura formada por dos membranas: la nuclear interna y la nuclear externa (Fig. 6). Están separadas por un espacio llamado cisterna perinuclear, que mide de 100 a 2.500 A° de ancho. La membrana nuclear está interrumpida por aberturas o poros de 500-750 A° de diámetro que permiten el libre intercambio entre el núcleoplasma y el citoplasma. Muy probablemente constituyen la vía de paso del ARN mensajero formado en el núcleo y el cual se desplaza al citoplasma para incorporarse a la substancia de Nissl. El núcleo neuronal tiene uno o varios nucleolos. El nucleolo contiene gran cantidad de ARN, lípidos y una capa difusa de ADN. No posee membrana limitante. Numerosos estudios demuestran que el nucleolo está en relación con la síntesis de ARN y de las proteínas, especialmente las enzimas. Tewari y Bourne,[24] han demostrado a nivel del nucleolo reacciones histoquímicas positivas para la ATP-asa, glucosa-6 fosfatasa, deshidrogenasa succínica, fosfatasa alcalina, fosforilasa, 5-nucleotidasa y colinesterasa. La presencia de estas enzimas relaciona al nucleolo con las actividades respiratorias, productoras de energía y de biosíntesis. Además, se han observado variaciones en el tamaño del nucleolo, de acuerdo con el estado fisiológico de la célula.

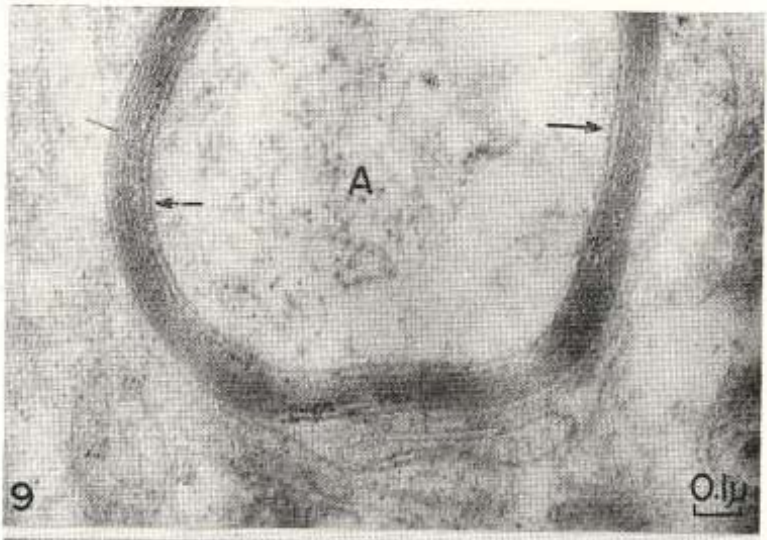
PROLONGACIONES NEURONALES

Dendritas

Representan una extensión del citoplasma neuronal (Figs. 5 y 14). Contienen substancia de Nissl, mitocondrias alargadas, neurofilamentos y canalículos dendríticos, de aproximadamente 200 A° de diámetro, dispuestos paralelamente al eje longitudinal de la prolongación. Cada dendrita se divide generalmente en ramas primarias, secundarias y terciarias. A medida que se ramifican, muestran menor diámetro, aumento del número de mitocondrias y disminución de la substancia de Nissl. La superficie de algunas está provista de prolongaciones colaterales llamadas espinas dendríticas, las cuales constituyen zonas receptoras postsinápticas.

Axón

Se origina del cuerpo celular mediante una pequeña elevación cónica. El axón (Figs. 5, 9 y 10) no contiene substancia de Nissl; es decir, no muestra gránulos de ARN. Es único y usualmente más largo que las dendritas; de grosor uniforme y un poco más fino a nivel de los nódulos de Ranvier. Muestra una zona central o axoplasma que contiene neurofilamentos de aproximadamente 100 A° de grosor, mitocondrias, y membranas del retículo endoplasmático. El axoplasma está cubierto por una membrana llamada axolema, la cual es una continuación de la membrana del cuerpo neuronal. Cubriendo los axones se halla la capa celular de Schwann o neurilema, la cual forma una cubierta continua alrededor del axón. La membrana plasmática de la célula de Schwann se halla separada del axolema por un espacio de aproximadamente 90 A°. Cuando se estudian los axones amielínicos de los nervios periféricos, se pueden observar varios axones encerrados dentro de invaginaciones de la superficie de la célula de Schwann. Los axones quedan conectados con el exterior mediante una doble membrana formada por el reflexión de la superficie de la célula de Schwann. Esta doble membrana fue designada por Gasser (1955) con el nombre de mesaxón.[8] Robertson (1958) encontró que el mesaxón era de 300 A° de grosor, siendo las membranas de 75 A° y el espacio entre ellas de 150 A°.[17]



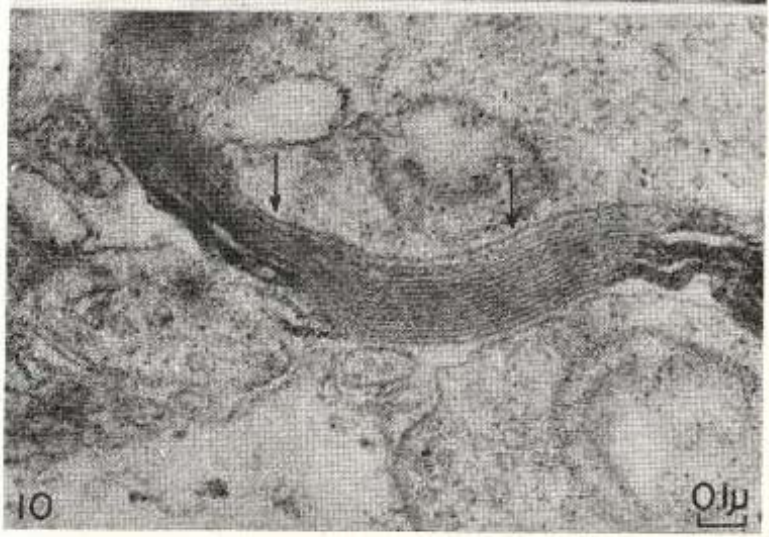


Fig. 9. Microfotografía electrónica de un axón mielínico de la corteza cerebral de un paciente con síndrome hipertensivo endocraneano. Obsérvese el axolema (flecha) limitando el axoplasma (A), y el arreglo multilaminar de la mielina. Doble fijación glutaraldehído-osmio. Inclusión en Epón. Magnificación 48.000X.

Fig. 10. Microfotografía electrónica de la capa de mielina. Las líneas densas, de aproximadamente 25 A°, aparecen separadas por espacios claros (períodos) de aproximadamente 120 A°. Las flechas señalan el axolema. Corteza cerebral humana de un paciente con síndrome hipertensivo endocraneano. Doble fijación glutaraldehído-osmio. Inclusión en Epón. Magnificación 96.000 X.

La célula de Schwann forma la mielina de los nervios periféricos. Según la Dra. Geren Uzman,[9] la mielina se origina por arrollamiento espiral de la célula de Schwann alrededor del axón (Fig. 11). Durante el proceso de arrollamiento en espiral, el citoplasma de esta célula es rechazado y comprimido, dando origen a una estructura de múltiples capas, formada por la aposición de su membrana plasmática. La formación de la mielina en el sistema nervioso central, ha sido relacionada con la oligodendroglia (Luse, 1956).

La capa de mielina aparece en las microfotografías electrónicas (Figs. 9 y 10) como una estructura multilaminar formada por líneas densas de unos 25 A°, separadas por espacios claros o períodos de aproximadamente 120 A°. Estos últimos, apa-

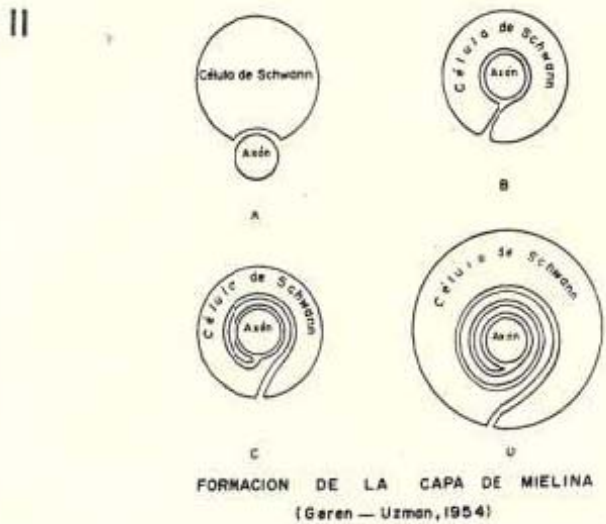
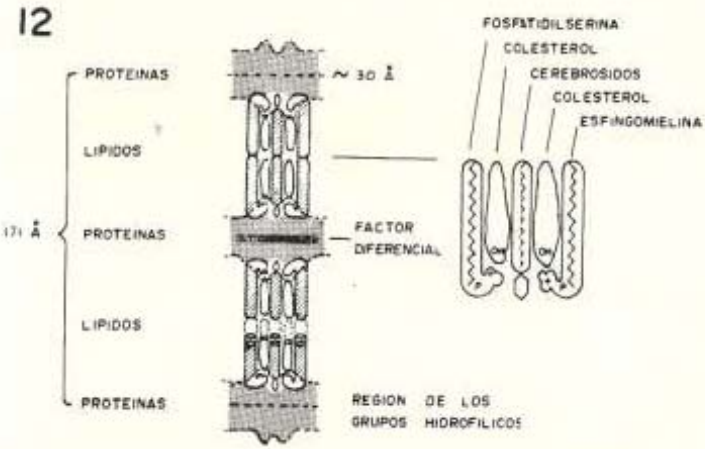


Fig. 11. Diagrama mostrando la formación de la capa de mielina por arrollamiento en espiral de la membrana de la célula de Schwann alrededor del axón (teoría de la Dra. B. Geren Uzman).

recen divididos por una línea irregular fina (línea intraperiódica). Las líneas densas representarían la fusión de la superficie interna o citoplasmática de la membrana de la célula de Schwann; y la línea intraperiódica, la fusión de la superficie externa de la misma, una vez que el citoplasma de la célula de Schwann ha sido comprimido. Los espacios claros o períodos, contienen los lípidos; y las líneas densas, las proteínas de las membranas celulares. Es decir, la mielina está formada por ca-

pas bimoleculares de lípidos, y entre ellas se intercalan capas de material no lipídico tales como proteínas o polisacáridos. Estudios realizados mediante microscopio de luz polarizada (Schmidt, 1936) y difracción de rayos X (Schmidt y colaboradores, 1941), habían permitido establecer antes del advenimiento del microscopio electrónico, la estructura multilaminar de la mielina y su naturaleza lipoproteica. Los métodos histoquímicos y el análisis químico directo, han demostrado el alto contenido de lípidos de la mielina, especialmente colesterol no esterificado, fosfolípidos y cerebrósidos.[5] El contenido de agua de la mielina oscila entre 30 y 70%. La Fig. 12 ilustra la estructura molecular de



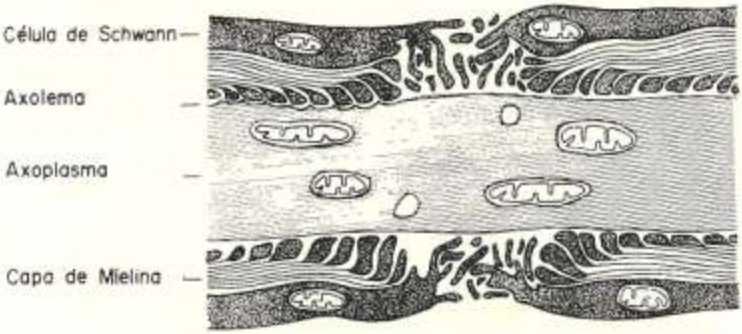
ESTRUCTURA MOLECULAR DE LA MIELINA (Finean, 1960.)

Fig. 12. Modelo molecular de la capa de mielina propuesto por Finean.

la mielina propuesta por Finean (1960). Las láminas de la mielina muestran separaciones de aproximadamente 400 A°, conocidas como cisuras de Schmidt-Lanterman. Se desconoce su función. Se ha sugerido que pueden ser el resultado de los procedimientos histológicos utilizados.[15]

A nivel de los nódulos de Ranvier (Fig. 13), la capa de mielina se interrumpe y se observa claramente el límite de unión entre dos células de Schwann vecinas.[4, 25] A este nivel, el axón está cubierto solamente por el axolema. El estudio con el microscopio electrónico, muestra como las líneas densas de la mielina se separan y se inclinan hacia el axoplasma, formando con

el axolema un complejo membranoso de unos 160 A° de grosor. Los espacios formados por la separación de las líneas densas de la mielina, aparecen ocupados por citoplasma de la célula de Schwann. A nivel de la región nodal se observan, además, digi-



ESTRUCTURA SUBMICROSCOPICA DE UN NODULO DE RANVIER

13

Fig. 13. Diagrama de la estructura submicroscópica de un nódulo de Ranvier, según los estudios realizados por Roberton (1957), Uzman y Nogueira Graf (1957) y Elfvin (1961).

taciones del citoplasma de esta célula, algunas de las cuales bordean directamente el axón, y del cual están separadas por un espacio de aproximadamente 200 A° de ancho. El nódulo de Ranvier representa una zona donde el axón entra en contacto directo con el medio extracelular, a través de los espacios existentes entre las digitaciones de la célula de Schwann. Es por lo tanto un sitio favorable al intercambio iónico —de entrada de sodio y salida de potasio— que da lugar a los potenciales de acción propagados; los cuales saltan de un nódulo de Ranvier a otro, según la teoría de la conducción saltatoria del impulso nervioso. La conducción saltatoria sería el resultado de circuitos locales operando entre los nódulos de Ranvier.

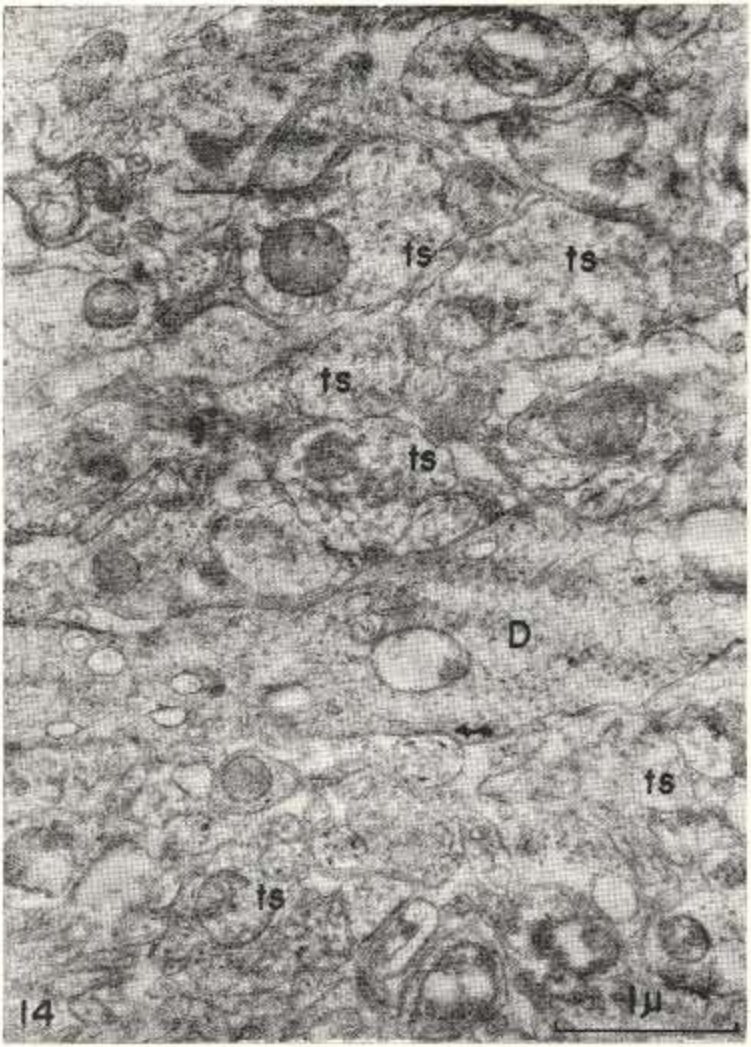


Fig. 14. Microfotografía electrónica ilustrando una región sináptica a nivel de la corteza cerebral humana. Un tallo dendrítico (D) cruza transversalmente el centro de la fotografía. Numerosos terminales sinápticos (ts), con vesículas sinápticas y mitocondrias constituyen un intrincado plexo. En la parte superior de la figura se observa un contacto sináptico (flecha). El terminal presináptico muestra agrupamiento de las vesículas sinápticas hacia la membrana presináptica. Las membranas pre y post sinápticas aparecen engrosadas y con un aumento de su densidad electrónica. El engrosamiento de la membrana postsináptica es mayor que el de la presináptica. Ambas membranas están separadas por la hendidura o espacio sináptico. Doble fijación glutaraldehido-osmio. Inclusión en Epón. Magnificación 36.000 X.

INTERRELACION NEURONAL

Sinapsis

Una de las más grandes contribuciones de la microscopía electrónica al estudio del sistema nervioso, ha sido el estudio del contacto neuronal a nivel de la sinapsis. La fibra presináptica muestra una expansión terminal o botón sináptico, aplicado a la neurona postsináptica, caracterizado por la presencia de elementos submicroscópicos llamados vesículas sinápticas y por un acúmulo de mitocondrias. Las vesículas sinápticas fueron descubiertas en 1953 por De Robertis y Benett.[3] Su tamaño varía de 200 a 650 A° de diámetro y están envueltas por una membrana limitante de aproximadamente 60 A° de grosor. En el sitio de contacto, las membranas pre y postsinápticas aparecen engrosadas y de mayor densidad electrónica que el resto de la membrana neuronal;[1] y están separadas por un espacio de 100 a 200 A°. Este espacio o hendidura sináptica confirma, a nivel submicroscópico, la teoría neuronal de Cajal, que postula a la neurona como unidad estructural independiente.

En los últimos años se ha acumulado suficiente evidencia para considerar que las vesículas sinápticas contienen el transmisor químico.[12] Hasta ahora se tiene la certeza experimental de que la acetilcolina y la noradrenalina actúan como transmisores químicos. Se estudia el papel del ácido gamma-aminobutírico y la 5-hidroxitriptamina en la transmisión del impulso nervioso. Mac Intosch y colaboradores (1959) han estudiado y esclarecido la síntesis y liberación de la acetilcolina.[14]

El acúmulo de mitocondrias en el terminal sináptico proveería la energía necesaria para la actividad sináptica; especialmente para la síntesis del transmisor químico. El potencial de acción provoca en el terminal presináptico la movilización de las vesículas hacia la membrana presináptica y la liberación del transmisor químico; el cual es vertido en el espacio sináptico. El transmisor actúa luego sobre la membrana postsináptica, originando cambios en la permeabilidad iónica para el sodio, el potasio y el cloro. El intenso movimiento iónico a nivel de la membrana postsináptica genera, al igual que en el axón, los potenciales postsinápticos excitatorios o inhibitorios. En esta forma se hace, en la sinapsis de tipo químico, la transferencia de información de una neurona a otra.

Agradecimiento:

El autor expresa su gratitud al Dr. Américo Negrette, por las correcciones de estilo del manuscrito y a la Srta. Zoila González y al Sr. José Espinoza por su asistencia técnica. Expresamos también las gracias al Sr. Eduardo Añez por su trabajo fotográfico y al Sr. Aurelio Bohórquez por la confección de los dibujos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1 CASTEJON, O.J.; VILLEGAS, G.M. "Fine structure of the synaptic contacts in the stellate ganglion of the squid". J. Ultrastruct. Research. 10: 585. 1964.

2 DAWSON y DANIELLI. "The Permeability of Natural Membranes". Cambridge University Press, London. pp. 62. 1943.

3 DE ROBERTIS, E.; BENNET, H.S. "Some features of the submicroscopic morphology of synapses in frog and earthworm". J. Biophys. Biochem. Cytol. I: 47. 1955.

4 ELFVIN, L.G. "The Ultrastructure of the nodes of Ranvier in cat sympathetic nerve fibers". J. Ultrastruct. Research. 5: 374. 1961.

5 ELLIOT, L.A.C.; PAGE, I.H.; QUASTEL, J.H. "Neurochemistry. The Chemistry of Brain and Nerve". Second Edition. Charles C. Thomas. Springfield. pp. 1035. 1962.

6 FERNANDEZ MORAN, H. "New aproaches in the study of biological ultrastructure by high resolution electron microscopy. The Interpretation of Ultrastructure". Edited by R.J.C. Harris. Academic Press. New York. pp. 434. 1962.

7 FINEAN, J. B. "Electron microscopy of myelin". Symposium on Disseminated Sclerosis. Proc. Royal Society of Medicine. 54: 19. 1961.

8 GASSER, H.S. "Olfatory nerve fibers". J. Gen. Physiol. 39: 473. 1956.

9 GEREN, B.B. "The formation from Schwann cell surface of myelin in peripheral nerves of chick embryos". Exp. Cell. Res. 7: 558. 1954.

10 HYDEN, H. "Satellite cells in the nervous system". Scientific American. 205: 62. 1961.

11 HYDEN, H.; EGYHAZY, E. "Changes in RNA content and base composition in cortical neuron of rats in a learning experiment involving transfer of handedness". Proc. Nat. Acad. Sc. 52: 1030. 1964.

12 KRNJEVIE, K. "La transmisión química en el sistema nervioso central". Endeavour. 25: 8, 1966.

13 LUSE, S. A. "Formation of myelin in the central nervous system of mice and rats, as studied with with the electron microscope". J. Biophys. Biochem. Cytol. 2: 777. 1956.
14 MAC INTOSCH, F.C. "Formation, storage and release of acetylcholine at nerve endings". Canad. J. Biochem. 37: 343. 1959.
15 PALAY, S.L.; PALADE, G.E. "Fine structure of neuron". J. Byophis. Biochem. Cytol. 1: 69. 1955.
16 ROBERTSON, J.D. "The ultrastructure of cell membranes and their derivatives". Biochemical Society Symposia. 16: 3. 1959.
17 ROBERTSON, J.D. "Structural alterations in nerve fibres produced by hypotonic and hypertonic solutions". J. Biophys. Biochem. Cytol. 4: 349. 1958.
18 ROBERTSON, J. D. "The ultrastructure of Schmidt-Lantermann clefts and related shearing defects of the myelin sheath". J. Biophys. Biochem. Cytol. 4: 39. 1958.
19 SCHADE, J.P.; FORD, D.H. "Basic Neurology". Elsevier Publishing Co. New York. pp. 373. 1965.
20 SCHMIDT, W.J. "Deppelbrechnung und feinbau der markscheide der nervenfasern". Z. Zellforsch. 23: 657. 1936.
21 SCHMIDT, F.O.; BEAR, R.S.; PALMER, K.J. "X-ray diffraction studies on the structure of the nerve myelin sheath". J. Cell. Comp. Physiol. 18: 3. 1941.
22 SJÖSTRAND, F.S.; ELFVIN, L.G. "The layered, asymmetric structure of the plasma membrane in the exocrine pancreas cells of the cat". J. Ultrastruct. Research. 7: 504. 1962.
23 SJÖSTRAND, F.S. "A comparison of plasma membrane, cytomembranes and mitochondrial membrane elements with respect to ultrastructural features". J. Ultrastruct. Research. 9: 561. 1963.
24 TEWARI, H.B.; BOURNE, G.H. "The histochemistry of the nucleus and nucleolus with reference to nuclei-cytoplasmic relations in the spiral ganglion neurone of the rat". Acta Histochem. 13: 323. 1962.
25 UZMAN, B.G.; NOGUEIRA-GRAF, G. "Electron microscopic studies of the formation of nodes of Ranvier in mouse sciatic nerves". J. Biophys. Biochem. Cytol. 3: 589. 1957.