

CARACTERISTICAS SUBMICROSCOPICAS
DE LAS DENDRITAS DE PURKINJE

— **Dr. Orlando J. Castejón.**

Instituto de Investigación Clínica.
Facultad de Medicina.
Universidad del Zulia.
Maracaibo, Venezuela.

INTRODUCCION

En años recientes se han publicado varios estudios, en los cuales se ha hecho especial énfasis en la estructura fina de las dendritas, en diferentes regiones del sistema nervioso (Pappas y Púrpura, 1961; De Lorenzo, 1961; Gray, 1959; Palay, 1956, 1964; Peter and Palay, 1966). Así mismo, algunas de las características submicroscópicas de las dendritas de Purkinje de diversos vertebrados, tales como cobayos, ratas, gatos y monos, han sido descritas por varios autores (Hager, 1961; Fox, 1962; Herdon, 1963; Fox y colaboradores, 1964; Hamori y Szentagothai, 1964).

En el curso de un estudio sistemático de la corteza cerebelosa del ratón, realizado en nuestro laboratorio, hemos creído conveniente reportar nuestros hallazgos sobre la estructura fina de las dendritas de Purkinje, estudio aún no existente en la literatura, en un intento por proveer la información estructural adicional y necesaria para la interpretación de las propiedades fisiológicas de las dendritas de Purkinje, para el estudio de sus relaciones sinápticas con las fibras aferentes, y para el estudio comparativo de la morfología dendrítica en diferentes regiones del sistema nervioso.

MATERIAL Y METODO

Se utilizaron ratones albinos suizos, cuyo peso oscilaba entre 20 a 35 gramos, los cuales fueron anestesiados con inyección intraperitoneal de 0.20-0.30 mgrs. de Nembutal (Pentobarbital sódico de los laboratorios Abbott) por gramo de peso corporal. Se practicó la fijación del sistema nervioso central mediante la técnica de perfusión vascular, popularizada por Palay

y colaboradores²² y modificada por nosotros³, para adaptarla al ratón albino suizo.

Los animales recibieron respiración artificial con carbógeno (mezcla de 96% de oxígeno y 4% de anhídrido carbónico), para evitar alteraciones estructurales por hipoxia. El líquido de perfusión utilizado fue la solución de glutaraldehído al 1% en solución tampón 0.2M de fosfato de sodio, a pH de 7.4 y osmolaridad de 380-410 mOsm/litro. La osmolaridad de la solución se determinó mediante el método crioscópico, utilizando osmómetro Fiske, modelo G; calibrado con soluciones patrones de cloruro de sodio de 100 y 500 mOsm/litro. Una vez completada la perfusión, se aisló cuidadosamente el sistema nervioso central y se tomaron muestras de la corteza cerebelosa, las cuales se lavaron por dos horas en solución tampón de fosfato de sodio, de composición similar a la utilizada en el líquido de perfusión. Bloques pequeños de 1-2 mm, se fijaron secundariamente en solución al 1% de tetraóxido de osmio en solución tampón 0.1 M de fosfato de sodio, a un pH de 7.4 y osmolaridad de 210 mOsm/litro. Se hizo deshidratación en concentraciones crecientes de etanol y en dos pasajes sucesivos por óxido de propileno, y se incluyó en Epón. Para estudiar la histología de la capa molecular de la corteza cerebelosa se hicieron secciones gruesas, de 0.5-2 micras de espesor, antes de realizar las secciones finas. Estas últimas se obtuvieron con ultramicrotomo LKB, provisto de cuchilla de vidrio; se recogieron sobre rejillas de cobre, cubiertas con una película de Formvar y estabilizadas con un baño de carbón. Se colorearon con solución saturada de acetato de uranilo¹ o citrato de plomo a pH alto⁸ y se observaron con microscopio electrónico Siemens Elmiskop I, provisto de una apertura de 50 micrones en el objetivo. Las estructuras submicroscópicas de las microfotografías electrónicas se midieron con una máquina Universal Cambridge.

RESULTADOS

Las dendritas de Purkinje constituyen las prolongaciones más grandes de la capa molecular de la corteza cerebelosa. Se bifurcan en ramas primarias, secundarias y terciarias, siguiendo un plano perpendicular a la hoja cerebelosa^{26,27}. Se caracterizan por poseer abundantes membranas del retículo endoplasmático,

ribosomas libres, canalículos dendríticos, numerosas mitocondrias densas y alargadas, con sus crestas dispuestas longitudinalmente, en paralelo con el eje mayor de la prolongación. Se observaron de 4 a 16 mitocondrias por cada 10 micrones de largo de la dendrita. Estos organelos parecen aumentar hacia las dendritas más pequeñas (Fig. 1, 2, 3 y 8).

El retículo endoplasmático muestra un arreglo especial, que designaremos con el nombre de sistemas cisternales endoplasmáticos (Fig. 1-7). Las cisternas de estos sistemas se agrupan generalmente en sentido paralelo, en número de 2 a 10, y son aproximadamente de 0.2 a 1 micras de longitud. No hemos observado ribosomas adheridos a la superficie externa de las membranas limitantes de estas cisternas, ni continuidad de estas membranas con aquéllas del retículo endoplasmático. Estas cisternas son de 120 a 240 Å de ancho, y su contenido es electrónicamente transparente. La membrana limitante de cada cisterna es de aproximadamente 80 Å de grosor, y muestra la estructura triple característica de las membranas celulares (Figs. 5, 6 y 7). El espacio existente entre las membranas limitantes de cada cisterna es de aproximadamente 70-110 Å y contiene un material electrónicamente más denso que el resto del citoplasma dendrítico. En algunas microfotografías electrónicas, las cisternas se observan considerablemente distendidas, siendo de aproximadamente 0.09 a 0.2 micras de ancho. A pesar de su distensión, el espacio entre las membranas limitantes de las cisternas se mantiene constante, lo cual sugiere que el material existente entre las membranas actúa como una sustancia cementante. Estos sistemas cisternales se hallan siempre en íntima relación topográfica con las mitocondrias.

De la superficie de las dendritas de Purkinje emergen numerosas prolongaciones colaterales o espinas dendríticas (Fig. 3 y 9) que están formadas por un cuerpo, redondeado u oval, y un pedículo que las une al tallo dendrítico principal. Estas espinas miden hasta 3.7 micras de largo y hasta 0.5 micras de diámetro y su citoplasma contiene membranas del retículo endoplasmático liso. En algunas microfotografías electrónicas, se ha observado una estructura semejante al aparato espinoso descrito por Gray¹².

Cubriendo casi completamente las dendritas de Purkinje se halla un citoplasma claro, de naturaleza glial (Figs. 1, 2, 3, 8 y 9), el cual presumiblemente corresponde a los astrocitos de



Fig. 1. Dendrita de Purkinje (dP) mostrando, a lo largo de su eje longitudinal, los canaliculos dendriticos (flecha) dispuestos en sentido paralelo. Se observan además las mitocondrias (M) y los sistemas cisternales endoplasmáticos (flechas paralelas). El citoplasma glial (G) que cubre a las dendritas de Purkinje muestra inclusiones densas. Magnificación: 24.000X.

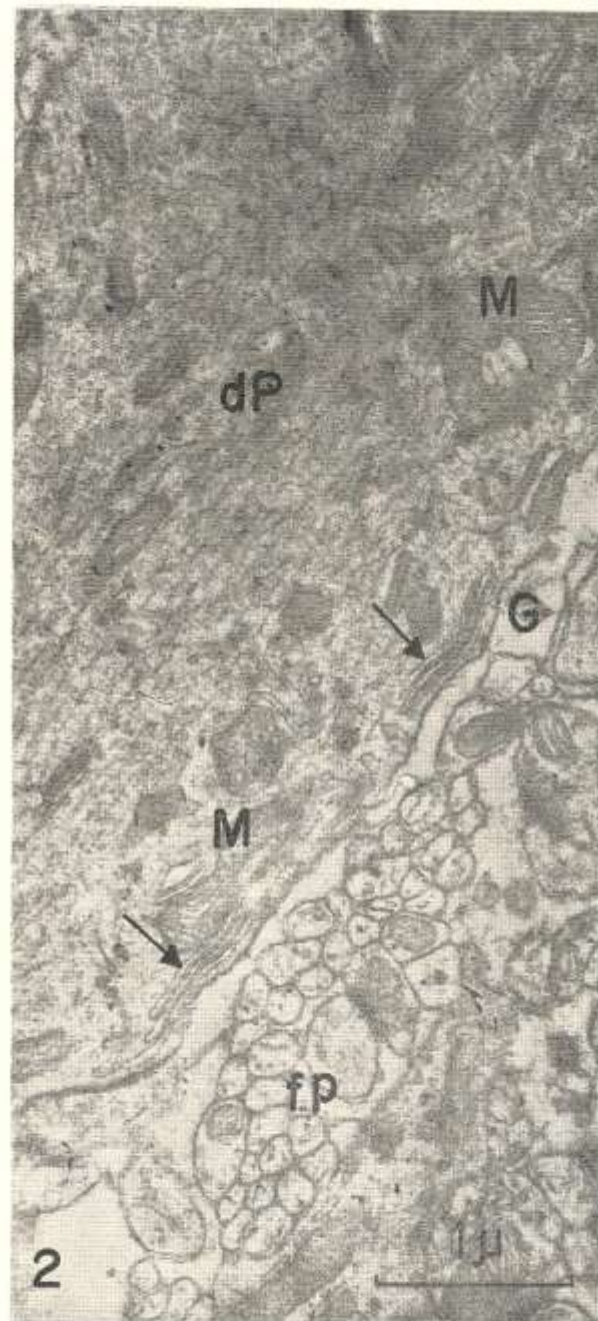


Fig. 2. Dendrita de Purkinje (dP) mostrando las mitocondrias (M) y los sistemas cisternales endoplasmáticos (flechas), ubicadas inmediatamente por debajo de la membrana celular. Las fibras paralelas (fp) están separadas de las dendritas de Purkinje por un citoplasma de naturaleza glial (G). Magnificación: 28.000X.

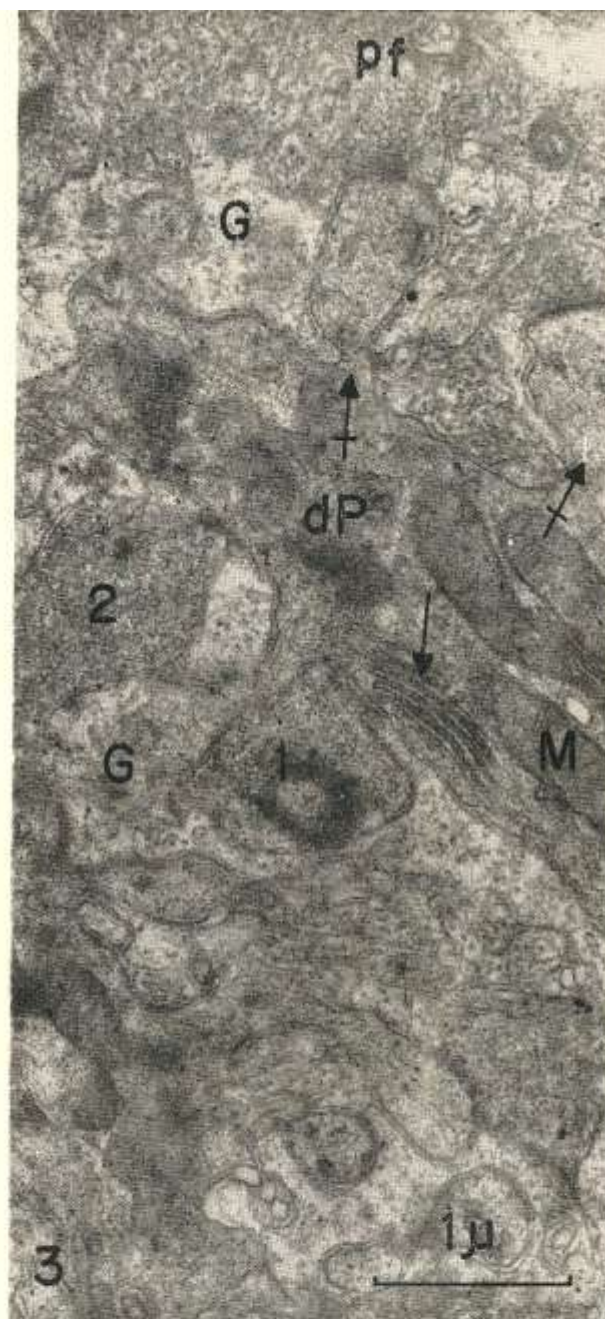


Fig. 3. Microfotografía electrónica mostrando una dendrita de Purkinje (dP), la cual contiene mitocondrias (M) y un sistema cisternal endoplasmático (flecha). En su vecindad se observan dos terminales presinápticos (1, 2) los cuales muestran gran cantidad de vesículas sinápticas. La dendrita de Purkinje se halla rodeada por un citoplasma claro de naturaleza glial, presumiblemente fibras de Bergmann (G). El citoplasma glial separa los terminales sinápticos de las dendritas de Purkinje. Magnificación: 28.000X.

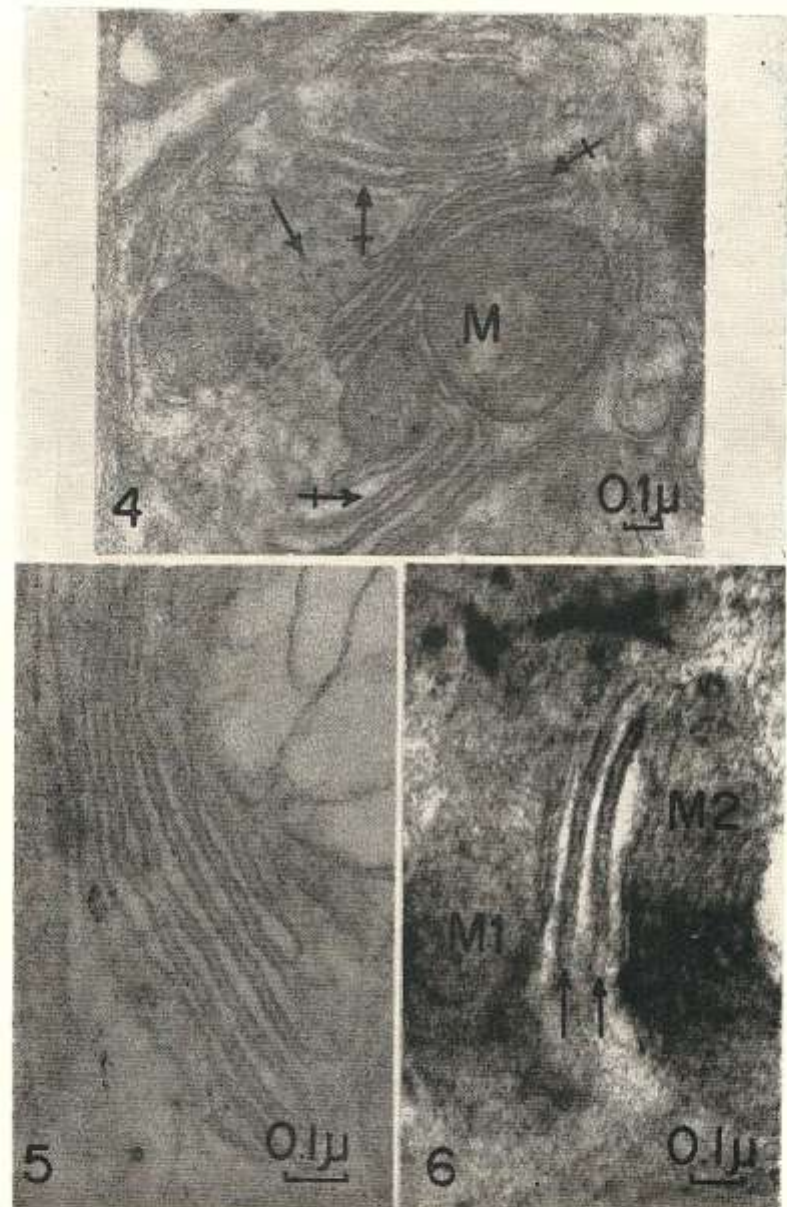


Fig. 4. Sección transversal de una ramificación dendrítica de Purkinje mostrando las mitocondrias (M), los sistemas cisternales endoplasmáticos (flechas en cruz) y los canaliculos dendríticos (flecha). Magnificación: 54.000X.

Fig. 5. Sistema cisternal endoplasmático de una dendrita de Purkinje, cortado en sentido paralelo a su eje longitudinal. La membrana limitante de cada cisterna muestra la estructura triple característica de las membranas celulares. Magnificación: 90.000X.

Fig. 6. Membranas limitantes de las cisternas endoplasmáticas (flechas) ubicadas entre dos mitocondrias (M1 y M2). Coloración con citrato de plomo. Magnificación: 75.000X.

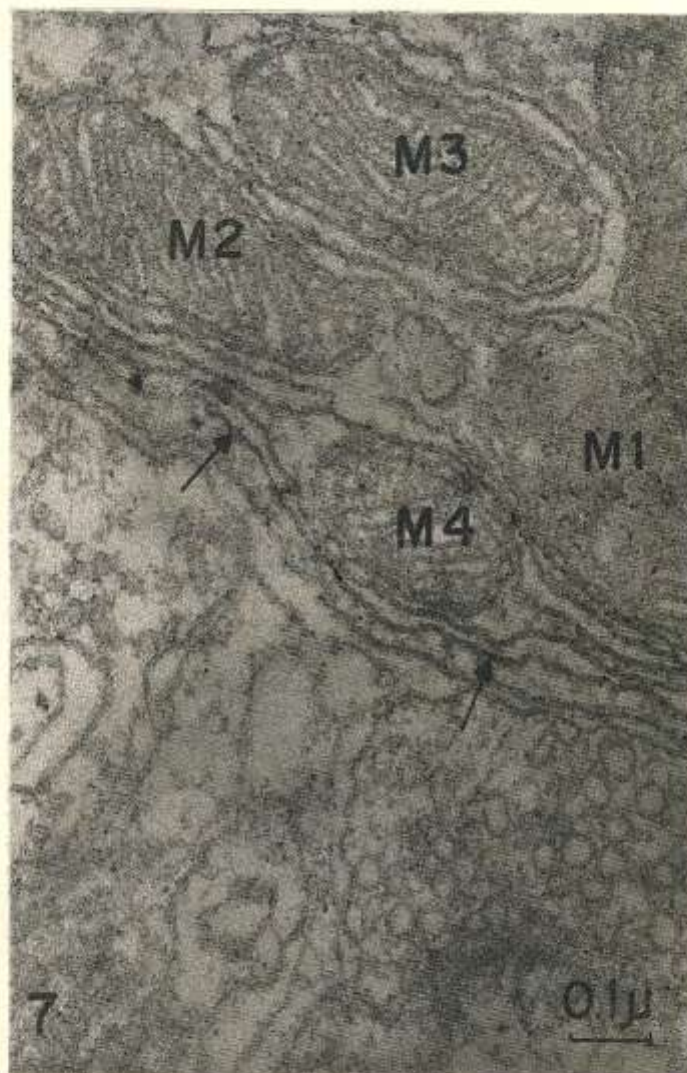


Fig. 7. Microfotografía electrónica de alta resolución mostrando la estructura trilaminar de las membranas limitantes de las cisternas endoplasmáticas (flechas). Obsérvese su íntima relación con las mitocondrias (M1, M2, M3, M4). Magnificación: 120.000X.



Fig. 8. Ramificación dendrítica de Purkinje (dP) rodeada por numerosas sinapsis espinosas (flechas). Nótese el revestimiento glial (G) alrededor de los contactos sinápticos. Magnificación: 36.000X.

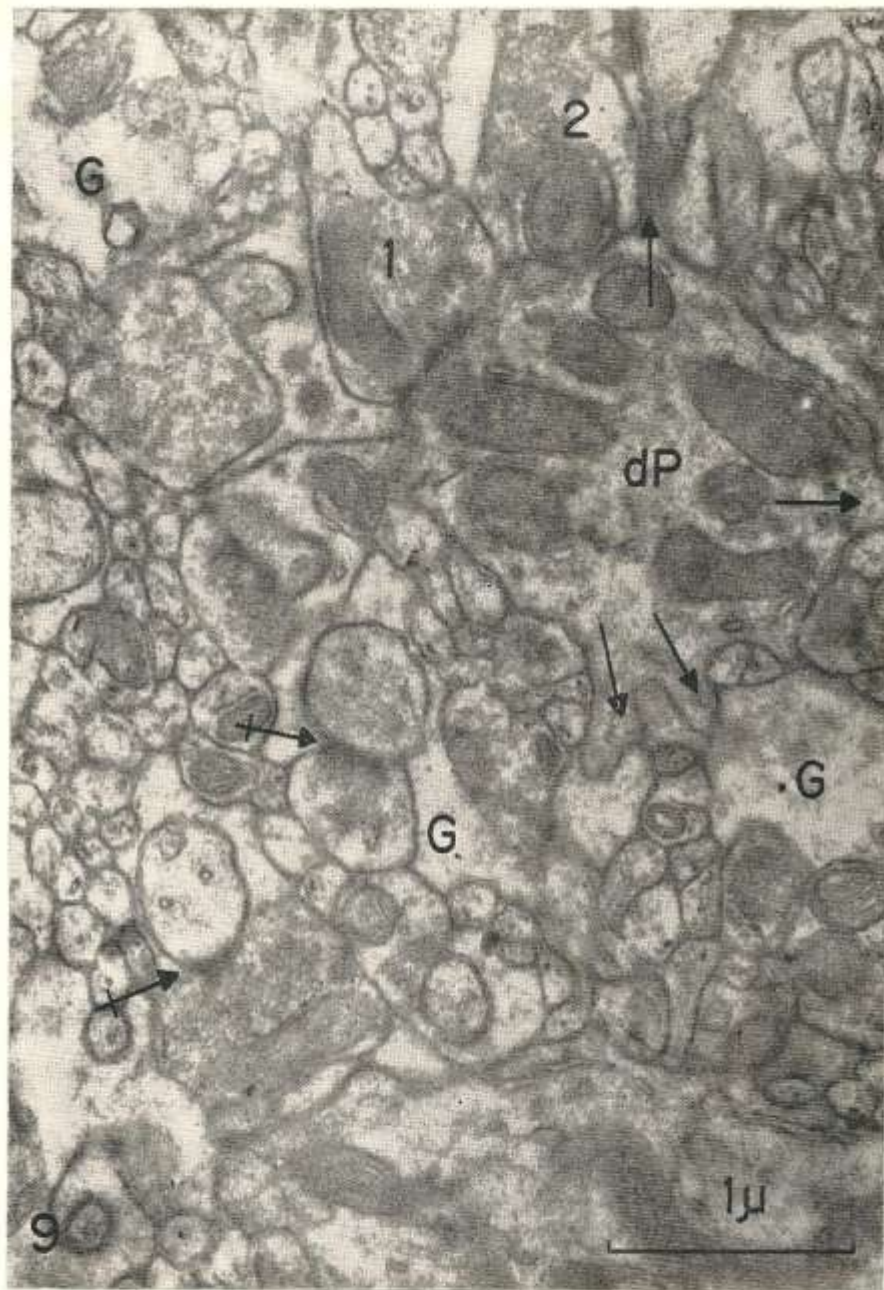


Fig. 9. Sección transversal de una ramificación dendrítica de Purkinje (dP). Las flechas señalan el sitio de emergencia de las espinas dendríticas. Se observan dos terminales sinápticos (1, 2) en contacto con la superficie dendrítica ubicada entre las espinas dendríticas. En su inmediata vecindad se observa una compacta neuropila formada por sinapsis espinosas (flechas en cruz) y citoplasma glial (G). Magnificación: 36.000X.

Bergmann (8,9). Este citoplasma rodea a las espinas dendríticas y a los contactos sinápticos espinosos. Las espinas dendríticas de Purkinje atraviesan la capa glial para establecer contacto sináptico con las fibras paralelas. En las microfotografías electrónicas de baja resolución (Figs. 3 y 8) se observa un engrosamiento considerable de la membrana de la espina dendrítica, a nivel del contacto sináptico, debido a la existencia de un material electrodenso unido a su superficie citoplasmática.

Las espinas dendríticas constituyen solamente una parte de la superficie postsináptica de las dendritas de Purkinje. Se observan, además (Fig. 9), terminales sinápticos caracterizados por la presencia de microvesículas y mitocondrias, en contacto con el cuerpo de la dendrita y los cuales, presumiblemente, corresponden a las fibras trepadoras o a los axones de las células estrelladas.

Los contactos sinápticos de las dendritas de Purkinje con las fibras paralelas, semejan al tipo I descrito por Gray¹². En la vecindad de las dendritas de Purkinje (Fig. 9) se observan numerosos botones sinápticos, redondeados u ovales, caracterizados por la presencia de vesículas sinápticas y mitocondrias. Estos botones sinápticos corresponden a las principales fibras aferentes a las dendritas de Purkinje: fibras paralelas o axones de las células granulosas, fibras trepadoras, axones de células estrelladas, colaterales recurrentes de los axones de las células de Purkinje y a los colaterales ascendentes de las células de cesta. Las relaciones sinápticas de las dendritas de Purkinje con las fibras paralelas, trepadoras y con los axones de las células estrelladas, serán objeto de próximos trabajos¹.

DISCUSION

El estudio de las características submicroscópicas de las dendritas de Purkinje es importante para una mejor comprensión de los mecanismos de propagación del impulso nervioso a lo largo de uno de los sistemas dendríticos más elaborados del sistema nervioso. Algunas de las estructuras submicroscópicas observadas en las dendritas de Purkinje, tales como las mitocondrias, los ribosomas y el retículo endoplasmático, han sido descritas también en el soma de la célula de Purkinje (Herndon, 1963), y muestran detalles ultraestructurales similares, a los ya reportados por otros investigadores en las dendritas de diferentes vertebrados.

dos^{4,11,15,21,23,26}. Los canalículos dendríticos parecen ser las únicas estructuras diferenciales existentes entre las dendritas y el soma neuronal de Purkinje. Los registros electrofisiológicos efectuados por Granit y Phillips¹⁰, no han mostrado una respuesta especial de este gran sistema dendrítico.

Los sistemas cisternales observados en las dendritas de Purkinje constituyen un arreglo especial del retículo endoplasmático y muestran en su disposición, cierta semejanza con el aparato espinoso descrito por Gray¹² y Gray y Guillery¹³, a nivel de la porción basal de las dendritas de la corteza cerebral y de la médula espinal. No hemos observado hasta ahora, la asociación de estas membranas con los ribosomas, ni las placas densas, descritas por los autores, situadas entre las membranas limitantes de las cisternas, las cuales podrían ser debidas a depósito del ácido fosfogénico utilizado en el procedimiento de preparación del tejido. Los sistemas cisternales endoplasmáticos, muestran también semejanza con los cuerpos laminares descritos por Herndon en el citoplasma de las células de Purkinje¹⁶, con las cisternas superficiales observadas en el ganglio acústico²⁹ y con los sacos endoplasmáticos descritos por Morales y Duncan¹⁹.

La significación funcional de este arreglo membranoso es hasta ahora desconocida. Según Herndon¹⁷, la formación de estos cuerpos laminares podría ser debida a varias causas, entre ellas, a la temperatura del fijador: la acción del tetraóxido de osmio frío; o a la presión de la cuchilla utilizada para seccionar los tejidos, parcialmente fijados. Nuestro estudio nos permite descartar que este arreglo sea provocado por el tetraóxido de osmio frío, ya que hemos fijado primariamente, por perfusión con glutaraldehído a temperatura ambiente. Nimwegen y Sheldon²⁰ consideran que los cuerpos laminares son un arreglo del retículo endoplasmático producido durante la anoxia del tejido. En nuestro estudio, durante la técnica de perfusión se utilizó un sistema de respiración artificial con carbógeno lo cual descarta parcialmente esta posibilidad. La utilización de este procedimiento experimental, sugiere que estos sistemas membranosos podrían ser arreglos del retículo endoplasmático existente en la célula viva, aunque no se descarta la posibilidad de que sean un ordenamiento provocado por el glutaraldehído. Los hemos observado además, en las dendritas de Purkinje de la corteza cerebelosa de pacientes con tumores de la fosa posterior, en donde existen zonas de tejido ede-

matoso. En estos casos, los sistemas cisternales pierden su regularidad y se observan considerablemente distendidos (observaciones no publicadas). Esto indica cierto grado de plasticidad funcional; probablemente se trata de estructuras existentes en el tejido vivo, distendidas por el líquido de edema. Además, su asociación con las mitocondrias, sugiere que puede tratarse de sistemas utilizadores de los productos sintetizados en las mitocondrias o donadores de substratos para el metabolismo mitocondrial. Podría tratarse de estructuras relacionadas con la utilización de fosfatos de alta energía, en la forma ya sugerida por Herndon¹⁷ o bien, en relación con la biosíntesis de fosfolípidos estructurales o con los mucopolisacáridos.

Numerosas prolongaciones colaterales o espinas dendríticas emergen de las ramificaciones secundarias y terciarias de Purkinje. Estas espinas constituyen una de las zonas receptoras postsinápticas y reciben los terminales sinápticos de las fibras paralelas^{8, 15}. Se observaron terminales sinápticos en contacto con la dendrita de Purkinje, en la superficie ubicada entre las espinas dendríticas. Esto indica, que además de las espinas dendríticas, la superficie de las ramificaciones dendríticas constituyen también zonas receptoras postsinápticas.

Las dendritas de Purkinje y sus espinas dendríticas se hallan cubiertas por un citoplasma glial, probablemente continuación de aquel que envuelve el cuerpo de la célula de Purkinje³⁰ y que, presumiblemente, corresponde a los astrocitos de Bergmann⁹. Este citoplasma fue identificado erróneamente por Herndon¹⁶ como perteneciente a las fibras trepadoras. En la actualidad se desconoce la significación funcional de la íntima relación de los astrocitos de Bergmann con las dendritas de Purkinje. Probablemente están relacionados con el intercambio de agua e iones, en la forma como ha sido considerada por De Robertis, Gerschenfeld y Wald, en los astrocitos cerebrales⁵.

Se han observado numerosos botones sinápticos, densamente distribuidos alrededor de las dendritas de Purkinje, que contienen mitocondrias y vesículas sinápticas. Esto demuestra que estas dendritas son excitables químicamente. Estas imágenes no nos permiten excluir su excitabilidad o inexcitabilidad eléctrica. La cantidad de botones sinápticos que rodea a las dendritas se-

cundarias y terciarias de Purkinje, es numerosa. Aparentemente, la densidad de los botones sinápticos, no disminuye a medida que nos alejamos del cuerpo celular, como ha sido observado en las dendritas de las neuronas motoras⁶. Esto indica que las más finas ramificaciones de las dendritas de Purkinje son funcionalmente activas.

RESUMEN

1. Muestras de la corteza cerebelosa de ratón se fijaron, por perfusión vascular, con glutaraldehído al 1%, en solución tampón de fosfato de sodio a pH de 7.4 y osmolaridad de 380-410 mOsm/litro. Se fijaron secundariamente en solución al 1% de tetraóxido de osmio, en solución similar a la del líquido de perfusión y se incluyeron en Epón. Se hicieron secciones finas con ultramicrotomo LKB, las cuales se tiñeron con acetato de uranilo y citrato de plomo y se observaron con microscopio electrónico.
2. Las dendritas de Purkinje contienen abundantes membranas del retículo endoplasmático, ribosomas libres, mitocondrias alargadas, canalículos dendríticos y un arreglo especial del retículo endoplasmático: los sistemas cisternales endoplasmáticos.
3. Se discute la existencia de los sistemas cisternales endoplasmáticos como un arreglo membranoso existente en la célula viva.
4. La superficie de las ramificaciones dendríticas de Purkinje y las espinas dendríticas, constituyen zonas receptoras post-sinápticas.
5. Las dendritas de Purkinje y sus espinas dendríticas se hallan cubiertas por un citoplasma glial, el cual presumiblemente corresponde a los astrocitos de Bergmann.

SUMMARY

1. Mouse cerebellar cortex was fixed by the vascular perfusion technique using one per cent solution of glutaraldehyde —sodium phosphate buffer, the pH as 7.4 and osmolarity

of 380 — 410 mOsm/liter; postfixed in 1% osmium tetroxide — sodium phosphate buffer solution, embedded in Epón, stained with uranyl acetate or lead citrate and examined with the electron microscope.

2. Purkinje cell dendrites show numerous endoplasmic reticulum membranes, free ribosomes, elongated mitochondria, dendritic canaliculi and an unusual arrangement of the endoplasmic reticulum: the endoplasmic cisternae systems.
3. The endoplasmic cisternae system is discussed as a membranous array existing in the "in vivo" condition.
4. The surface of the Purkinje cell dendritic branches and the dendritic spines represents the postsynaptic receptor zones.
5. Purkinje cell dendrites and its spines are covered by a glial sheath, which presumably belongs to the Bergmann astrocytes.

AGRADECIMIENTO

Nuestra gratitud a la Dra. Haydee Victoria de Castejón, por su colaboración durante la realización de la técnica de perfusión vascular; a la Srta. Zoila González y al Sr. José Espinoza, por su asistencia técnica; al Sr. Eduardo Añez, por el trabajo fotográfico; y a la Sra. Françoise de Zagni, por su asistencia secreta-

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 — CASTEJON, O. "Contactos sinápticos entre dendritas de Purkinje y fibras paralelas. Estudio con microscopio electrónico". (En vías de publicación).
- 2 — CASTEJON, O. "Observaciones microscopicoelectrónicas a nivel de la capa molecular de la corteza cerebelosa". Tesis de Grado. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. 1968.
- 3 — CASTEJON, O.; VILORIA DE CASTEJON, H. "Fijación del sistema nervioso central para microscopía electrónica e his-

toquímica, por perfusión vascular con glutaraldehído". (En vías de publicación).

- 4 — DE LORENZO, A.J.D. "Electron microscopy of the cerebral cortex. I. The ultrastructure and histochemistry of synaptic junctions". *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 108: 258-279. 1961.
- 5 — DE ROBERTIS, E.; GERSCHENFELD, H.M.; WALD, F. "Ultrastructure and function of glial cells". *Structure and function of the cerebral cortex. Proceedings of the Second International Meeting of Neurobiologists. Amsterdam. 1959.* Págs. 69-80. Tower, D. B.; Schädé, J. P. (eds.). Elsevier. New York. 1960.
- 6 — ECCLES, J. C. "The properties of the dendrites". *Structure and function of the cerebral cortex. Proceeding of the Second International Meeting of Neurobiologists. Amsterdam. 1959.* Págs. 192-201. Tower, D. B.; Schädé, J. P. (eds.). Elsevier. New York. 1960.
- 7 — FOX, C. A. "The structure of the cerebellar cortex". *Correlative anatomy of the nervous system.* Págs. 193-198. McMillan Co. New York. 1962.
- 8 — FOX, C. A.; SIEGESMUND, K. A.; DUTTA, C. R. "The Purkinje cell dendritic branchlets and their relations with parallel fibers: light and electron microscopic observations". *Morphological and biochemical correlates of neural activity.* Cohen, M.; Snider, R. S. (eds.). Págs. 112-141. Hoeber Medical Division. Harper and Row. New York. 1964.
- 9 — FOX, C. A. "Observaciones en microscopía electrónica en las relaciones de las células de Purkinje — fibras de Bergmann". *I Congreso Panamericano de Anatomía. Archivos Mexicanos de Anatomía.* 8: 35. 1966.
- 10 — GRANIT, R.; PHILLIPS, C. G. "Excitatory and inhibitory processes acting upon individual Purkinje cells of the cerebellum in cats". *J. Physiol.* 133: 520-547. 1956.
- 11 — GRAY, E. G. "Axo-somatic and axo-dendritic synapses of the cerebral cortex: an electron microscope study". *J. Anat.* 93: 420-433. 1959.
- 12 — GRAY, E. G. "Ultrastructure of synapse of the cerebral cortex and of certain specializations of neuroglial membranes". *Electron microscopy in Anatomy.* Págs. 54-56. Boy, J. D.; Johnson, F. R.; Lever, J. D. (eds.). Edward Arnold Publisher. London. 1961.
- 13 — GRAY, E. G.; GUILLERY, R. W. "A note on the dendritic spine apparatus". *J. Anat. (Lond.)* 97: 389-392. 1963.
- 14 — HAGER, H. "Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die struktur der sogenannten Grundsubstanz in der Grob- und Kleinhirnrinde des Säugetieres". *Arch. für Psychiatric und Zeitschrift f. d. ges. Neurologie.* 198: 574-600. 1959.

- 15 — HAMORI, J.; SZENTAGOTHAJ, J. "The 'crossing-over' synapse: an electron microscope study of the molecular layer in the cerebellar cortex". *Acta Biol. Acad. Sci. Hung.* 15: 465-479. 1964.
- 16 — HERNDON, R. M. "The fine structure of the Purkinje Cell". *J. Cell Biol.* 18: 167-180. 1963.
- 17 — HERNDON, R. M. "Lamellar bodies, an unusual arrangement of the granular endoplasmic reticulum". *J. Cell Biol.* 20: 338-342. 1964.
- 18 — HERNDON, R. M. "The fine structure of rat cerebellum. II. The stellate neurons, granule cells, and glia". *J. Cell Biol.* 23: 277-293. 1964.
- 19 — MORALES, R.; DUNCAN, D. "Multilaminated bodies and other unusual configurations of endoplasmic reticulum in the cerebellum of the cat. An electron microscopic study". *J. Ultrastr. Res.* 15: 480-489. 1966.
- 20 — NIMWEGEN, D.; SHELDON, H. "Early postmortem changes in cerebellar neurons of the rat". *J. Ultrastr. Res.* 14: 36-46. 1966.
- 21 — PALAY, S. L. "Synapses of the central nervous system". *J. Biophys. Biochem. Cytol. Suppl.* 2: 193-203. 1956.
- 22 — PALAY, S. L.; MCGEE-RUSSELL, S. M.; GORDON, S. M.; GRILLO, M. A. "Fixation of neural tissues for electron microscopy by perfusion with solutions of osmium tetroxide". *J. Cell Biol.* 12: 385-410. 1962.
- 23 — PALAY, S. L. "The structural basis for neural actions". *Brain Function. Vol. 2.* Págs. 69-108. Brazier, M. A. B. (ed.). University of California Press. Berkeley. 1964.
- 24 — PAPPAS, G. D.; PURPURA, D. "Fine structure of dendrites in the superficial neocortical neuropil". *Exptl. Neurol.* 4: 507-530. 1961.
- 25 — PETER, A.; PALAY, S. L. "The morphology of laminae A and A1 of the dorsal nucleus of the lateral geniculate body of the cat". *J. Anat.* 100: 451-486. 1966.
- 26 — RAMON Y CAJAL, S. "Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés". Maloine, A. (ed.). Paris 11. 1st. part. 1911.
- 27 — RAMON Y CAJAL, S. "Sur les fibres mousseuses et quelques points douteux de la texture de l'écorce cérébelleuse". *Trab. Lab. Biol. Univ. Madrid.* 24: 214-251. 1926.
- 28 — REYNOLDS, E. S. "The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy". *J. Cell Biol.* 17: 208-212. 1963.
- 29 — ROSENBLUTH, J. R. "Subsurface cisterns and their relationship to neuron plasma membrane". *J. Cell Biol.* 13: 405. 1962.

- 30 — SZENTAGOTHAÏ, J. "Anatomical aspects of junctional transformation". Information Processing in the Nervous System. Vol. III of Proceedings of the International Union of Physiological Sciences. XXII International Congress. Leiden, 1962.
- 31 — WATSON, M. L. "Staining tissue sections for electron microscopy with heavy metals". J. Biophys. Biochem. Cytol. 4: 475-478, 1958.
-

"Universidad es la institución cultural o escuela de grado superior que comprende o aspira a comprender la totalidad de las ramas del conocimiento humano, la universalidad de las clases de especialización del saber y de las formas de preparación científica y técnica superior para el ejercicio de las distintas profesiones intelectuales".

Rodolfo Mondolfo
"Universidad: pasado y presente"