The background of the entire page is a dense, intricate network of red-stained neural tissue. The staining highlights various cell bodies, likely neurons and glial cells, with their characteristic star-like or multipolar shapes. Fine, branching processes extend from these cells, creating a complex, interconnected web of fibers and structures. The overall appearance is that of a highly detailed histological section, possibly from the central nervous system, showing the intricate architecture of neural tissue.

**Participación de la Escuela Española de
Histología en el descubrimiento
y caracterización de la Glía del Sistema
Nervioso Central**

Enrique Hilario y Antonia de los Ángeles Álvarez

**“Participación de la Escuela Española de
Histología en el descubrimiento y
caracterización de la Glía del Sistema
Nervioso Central”**

Enrique Hilario y Antonia de los Ángeles Álvarez

Los autores son Catedrático y Profesora Titular del Departamento de Biología Celular e Histología de la Facultad de Medicina y Enfermería de la Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea. Así mismo, son miembros de la Sociedad Española de Histología e Ingeniería Tisular.

Editorial Ikeder. Bilbao

ISBN: 978-84-96649-02-6

Depósito Legal: BI-1178-2019

**“Participación de la Escuela Española de
Histología en el descubrimiento y
caracterización de la Glía del Sistema
Nervioso Central”**

Enrique Hilario y Antonia de los Ángeles Álvarez

ÍNDICE

<i>Dedicatoria</i>	i
<i>Agradecimientos</i>	iii
<i>Prólogo de los autores</i>	v
1.- Introducción: Intenciones.....	1
2.- Historia del concepto celular del tejido nervioso y del descubrimiento de la neuroglía	3
3.- La glía y la Escuela Española de Histología: breves reseñas biográficas	9
3.1.- Santiago Ramón y Cajal.....	17
3.2.- Nicolás Achúcarro Lund.....	23
3.3.- Discípulos y seguidores de Cajal y de Achúcarro	27
4.- La neuroglía con Cajal, Achúcarro y del Río-Hortega.....	33
5.- La neuroglía a mediados del siglo XX y principios del XXI	57
6.- Funciones de la glía	75
6.1.- Astrocitos	75
6.2.- Oligodendrocitos	76
6.3.- Ependimocitos.....	77
6.4.- Microglía.....	77
7.- Breve análisis bibliográfico sobre la Glía	79
7.1.- Google.....	79
7.2.- PubMed.....	80
7.3.- Revista Glia	80
8.- Referencias	83

Dedicatoria

A nuestras familias, por darnos la oportunidad de compartir tantos “momentos chispeantes” dentro y fuera del trabajo.

A Agustina, Javier, Amaya, Miguel, Malena y Olivia.

A Philippe, Diego y Mikel.

A nuestra compañera y amiga ML Cañavate.

Agradecimientos

Deseamos agradecer la ayuda que se nos ha prestado para poder escribir este libro, aportando sugerencias, leyendo el manuscrito, y de las maneras más diversas. Especialmente a nuestras familias, que tanto nos han apoyado y tanto tiempo les hemos quitado en casi 35 años de trabajo codo con codo.

Agradecer a los Profesores Antonio Campos de la Universidad de Granada y Juan José Goiriena de Gandarias de la Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), la bibliografía que nos proporcionado para poder profundizar en la vida y obra de Nicolás Achúcarro y Pío del Río Hortega. También agradecer a los Profesores Fernando Ortega de la UPV/EHU y Manuel Garrosa de la Universidad de Valladolid en su implicación en la minuciosa corrección del manuscrito.

El Profesor Antón Erkoreka, Director del Museo Vasco de la Medicina y su infatigable compañera, la Profesora Begoña Madarieta, ambos de la UPV/EHU, nos han proporcionado las microfotografías obtenidas a partir de preparaciones histológicas originales de Santiago Ramón y Cajal y que presentamos en este libro. Ángel García Hilario ha llevado a cabo un trabajo creativo para clarificar, a los no especialistas en este campo, la histogénesis de las neuronas y de la glía en el sistema nervioso central. El Dr. Francisco José Álvarez, del Instituto de Investigación Biocruces-Bizkaia, del Hospital Universitario de Cruces, nos ha proporcionado unas espectaculares imágenes de la glía; algunas de las cuales lustran e ilustran la portada y la contraportada de este libro.

Queremos hacer especial mención en estos agradecimientos a la Sociedad Española de Histología e Ingeniería Tisular, y a su presidente el Profesor Juan Francisco Madrid, de la Universidad de Murcia, por el aliento y entusiástico apoyo en la difusión de este libro.

A Kepa Aranguiz de Prinhaus por su inestimable ayuda a la hora de dar forma a este manuscrito, y gestionar con eficacia y rapidez los derechos de publicación e ISBN del mismo, y también, por este mismo motivo, a la Editorial Ikeder por confiar en esta obra y prestarnos toda su ayuda.

A todos ellos y a muchos otros que no nombramos, nuestro agradecimiento.

Prólogo de los autores

La lenta evolución de la vida en general y de la especie humana en particular, y la lenta construcción del conocimiento científico siempre han sido materias que suscitan un gran interés. A lo largo de los tiempos hay momentos clave en los que surge una persona, una cultura, unas ideas que suponen “un antes y un después”. Estos momentos históricos son bien conocidos y jalonan la Historia.

El impulso creativo de ciertas culturas y la aparición de esos "momentos" hacen que se produzca un avance no homogéneo, no lineal, entre los diferentes pueblos que constituyen la especie humana. Hay pueblos que en un determinado periodo se erigen como líderes para después decaer y ser sustituidos por otros. Sólo el impulso creador de algunas culturas, como la sumeria, la griega y la judeocristiana han marcado profundas diferencias con respecto al desarrollo de otras culturas, de otros pueblos. La cultura griega cambió la forma de entender tanto al hombre como a su entorno; y esta diferente forma de pensar (filosofía) hizo que muchos años después la cultura occidental, de raíz judeocristiana, se despegara de otras culturas siendo actualmente la preeminente.

Fruto del impulso creador de nuestra cultura aparecen personas que marcan esos saltos cualitativos en el avance de la ciencia y de la humanidad. Es lo que, a nuestro entender, sucedió en Europa con la aparición a finales del siglo XIX y principios de XX de una serie de grandes personajes que marcaron un antes y un después en la Ciencia. Esta época hierve en aportaciones, a las cuales no es ajena España y en la que quizás Santiago Ramón y Cajal, Nicolás Achúcarro, y el discípulo de éste, Pío del Río-Hortega, sean los autores que han contribuido de manera notable al conocimiento de la estructura del sistema nervioso. A su alrededor se fueron agrupando una serie de grandes figuras científicas en el

campo del estudio microscópico de los tejidos, que terminaron dando lugar a la Escuela Española de Histología.

A lo largo del texto incorporamos las descripciones realizadas por algunos de los autores debido a que, el significado de algunos de los términos que manejamos hoy en día en ocasiones no se corresponde con el que entonces tenían. Es decir, que con la misma palabra estamos definiendo cosas que no son iguales. A modo de ejemplo, y refiriéndonos a la glía del sistema nervioso, cuando en 1856 Rudolf Virchow describió la neuroglía se refería a ella diciendo que *“no dejaba de ser más que una variedad de tejido conectivo en el cual el tejido nervioso está embebido”*. Hoy en día entendemos como neuroglía a unas células como astrocitos y oligodendrocitos, de origen neural, que no tienen nada que ver con el tejido conectivo. Además, en aquellos años, la neuroglía comprendía a la que luego se identificó como microglía (de origen mesodérmico) y que hoy, aunque mantiene en su nombre la palabra glía, es algo totalmente ajeno a la neuroglía (de origen ectodérmico).

En el presente trabajo intentamos poner de relieve el papel de una serie de científicos españoles con grandes inquietudes, que se sumaron entusiásticamente a los intensos acontecimientos que se vivían en Europa a finales del siglo XIX y principios del XX. Para ello, además de referir sus trabajos científicos hacemos una breve alusión a su biografía para poder comprender mejor su entorno y su trayectoria.

Esta obra está licenciada bajo la Licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visite <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/> o envíe una carta a Creative Commons, PO Box 1866, Mountain View, CA 94042, USA. Se permite poder utilizar parcialmente la información de este libro, sin ánimo de lucro, haciendo siempre referencia a la fuente de la siguiente manera: “Hilario E y Álvarez A. Participación de la Escuela Española de Histología en el descubrimiento y caracterización de la glía del sistema nervioso central. Editorial Ikeder. Bilbao” 2019^{1a}.

Hilario E y Álvarez A. Participación de la Escuela Española de Histología en el descubrimiento y caracterización de la glía del sistema nervioso central. Editorial Ikeder. Bilbao 2019.

1.- Introducción: Intenciones

Hoy en día sabemos que el cuerpo humano está constituido por células que se organizan en un nivel superior formando los tejidos, que a su vez constituyen órganos y que, por último, estos se disponen en aparatos y sistemas.

Mientras en nuestros días la definición de célula como la unidad morfofuncional de los seres vivos es ampliamente aceptada, la definición de tejido es más difusa. El diccionario de la Real Academia Española define a los tejidos como *“cada uno de los diversos agregados de células de la misma naturaleza, diferenciadas de un modo determinado, ordenadas regularmente y que desempeñan en conjunto una determinada función”*. Podríamos decir que los tejidos son los encargados de ejercer una función coordinada dentro del organismo.

Uno, o habitualmente varios tejidos forman un órgano, que normalmente lleva a cabo una determinada función, como puede ser el intestino. A su vez varios órganos coordinados llevan a cabo una función más compleja, agrupándose en aparatos o sistemas (bien mediante la continuidad física de sus órganos como ocurre en el aparato digestivo o en el aparato respiratorio, o bien sin contacto físico como ocurre en el sistema endocrino o en el hematopoyético).

Se abre entonces una nueva vía de descripción del funcionamiento de los órganos y tejidos como un trabajo coordinado de distintas estirpes celulares especializadas.

2.- Historia del concepto celular del tejido nervioso y del descubrimiento de la neuroglía

Fue en el siglo XIX cuando, la anatomía de Bichat y su equivalente microscópico, la histología de Mayer, adquieren contenido y orientación celular en el libro "Anatomía General" de Henle (en el año 1841), que se considera es el primer libro de histología, y en el "Libro Instructivo de Histología" de von Kölliker (en el año 1852). A partir de entonces, el tejido de Bichat será entendido como un conjunto de células de la misma especie, y la histología como la ciencia que estudia los distintos tejidos o sistemas celulares del organismo (Lain Entralgo, 1982).

El gran patólogo alemán **Rudolf Virchow (1821-1902)**, creador de la patología celular, propugnó la doctrina de la "*Generatio Univoca*", basada en sus estudios sobre la cicatrización de las heridas, la histogénesis y sobre la proliferación de las células neoplásicas. Confirmó la tesis sustentada por **Remak** que señalaba la necesidad de que las células se multipliquen para formar nuevos tejidos, tanto en los sanos como en los enfermos. Virchow en 1858 postuló el axioma "*Omnis Cellula e Cellula*", (toda célula deriva de otra célula), que supuso el tercer principio de la Teoría Celular previamente postulada por **Matthias J. Schleiden** (1804-1881) y **Theodor Schwann** (1810-1882) en 1839, y condenó definitivamente la idea de formación libre de células a partir de un blastema sin estructura, opinión que había sido sustentada hasta entonces por numerosos citólogos" (Radl, 1988). No obstante, los experimentos del microbiólogo francés **Louis Pasteur** (1822-1895) sobre la multiplicación de organismos unicelulares supusieron la aceptación definitiva de la teoría celular.

Como podemos apreciar en la **Tabla 1**, durante esta época la teoría celular se generalizó a todos los tejidos animales, excepto al nervioso, el cual se pensaba que estaba constituido por una estructura reticular, bien de tipo dendrítica según Joseph **Von Gerlach** (1820-1896) o axonal según **Golgi** (1843-1926). Estos dos autores planteaban una "teoría reticular", según la

cual las células nerviosas se unían entre sí para formar una red difusa que se dispersaba por la sustancia blanca del sistema nervioso. En contraposición, autores como **Wilhelm His** (1831-1904) y **August-Henri Forel** (1848-1931) defendían la conocida como “teoría neuronal”, según la cual las prolongaciones de las células nerviosas terminaban libremente sin anastomosarse ni formar una red. Estos últimos combatieron la doctrina de las redes y prepararon los espíritus para la admisión de la teoría de los contactos y de la libre terminación de las expansiones nerviosas. De hecho, His llegó a proponer que la célula nerviosa era la unidad embriológica o genética del sistema nervioso (de Felipe, 2007).

Tabla 1: Relación de algunos de los principales científicos que trabajaron en el concepto celular de los principales tejidos animales.

TEJIDO	PRINCIPALMENTE ESTUDIADO POR
Epitelial	Jacob Henle (1809-1885) Albert von Kölliker (1817-1905) Eduard von Rindfleisch (1836-1908)
Conjuntivo	Rudolf Virchow (1821-1902) Louis Antoine Ranvier (1835-1922)
Muscular	William Bowman (1816-1892) Armauer Hensen (1841-1912) Otto Deiters (1834-1863) Wilhelm Krause (1833-1910) Theodor Engelmann (1843-1909)
Células nerviosas y glía	Christian Gottfried Ehrenberg (1795-1876) Otto Deiters (1834-1863) Rudolf Virchow (1821-1902) Vladimir Betz (1834-1894)

Santiago Ramón y Cajal (1852-1934) sentó las bases fundamentales de lo que hoy conocemos como sistema nervioso al estudiar su estructura y funcionamiento. Su aportación al conocimiento de la histología del sistema nervioso ha sido fundamental para la ciencia. Al enunciar la teoría neuronal, según la cual las neuronas eran unidades celulares independientes que establecían entre sí exclusivamente relaciones de contigüidad, demostró que el sistema nervioso está constituido por esas unidades neuronales. Su

esquema estructural del sistema nervioso como un aglomerado de unidades independientes y definidas pasó a conocerse con el nombre de “doctrina de la neurona”, y en ella destaca la ley de la polarización dinámica, modelo capaz de explicar la transmisión unidireccional del impulso nervioso (Laín Entralgo, 1982). Su teoría fue aceptada en el Congreso de la Sociedad Alemana de Anatomía, celebrado en octubre de 1889 en Berlín.

Pero, además de las neuronas, en el sistema nervioso se iban describiendo otras estructuras, que los sistemas de tinción no acababan de permitir ver con claridad e impedía que se pudiesen comprender sus características. En 1856, Rudolf Virchow introdujo el término “Neuroglía” en sus investigaciones, y tres años más tarde publicó en su tratado *“Die Cellularpathologie in ihrer Begründung auf physiologische und pathologische Gewebelehre”* lo que para él significaba este término:

“La peculiaridad de esa capa, el hecho de que sea continuación de la materia intersticial, que es el verdadero pegamento que reúne los elementos nerviosos y de que en todas sus propiedades constituya un tejido diferente de todas las otras formas de tejido conectivo, me ha inducido a darle un nuevo nombre, neuro-glía o pegamento de los nervios” (<https://dicciomed.usal.es/palabra/microglia>).

Para Virchow, la neuroglía no dejaba de ser más que una masilla, una variedad de tejido conectivo en el cual el tejido nervioso está embebido, sin que pareciese tener un origen celular y que estaba formado por fibras y masas intercelulares (Parpura y Verkhratsky, 2012)

Después de Virchow, varios investigadores describieron y dibujaron imágenes de neuroglía. En 1851, **Heinrich Müller** (1820-1864) identificó la que se conocería como la glía radial de la retina (células de Müller) y que posteriormente fue caracterizada por **Max Schultze** (1825-1874) en 1859. En 1858, **Karl Bergmann** (1814-1865) visualizó fibras radiales en el cerebelo (glía de Bergmann), que luego Golgi identificó como células gliales. En 1865, **Otto Friedrich Karl Deiters** (1834-1863) fue el primero, según Cajal, en

describir en el tejido nervioso central, células que no eran neuronas (las que posteriormente fueron denominadas “astrocitos estrellados”). Sin embargo, el primero que profundizó en el estudio de la glía fue Camilo Golgi en la década de 1870 estableciendo también su naturaleza celular (Golgi, 1873).

Golgi ensayó la tinción de plata del reconocido neuroanatomista sueco **Magnus Gustaf Retzius** (1842-1919) que la había desarrollado para observar la piamadre en muestras de cerebros previamente colocadas en dicromato de potasio con el propósito de estudiar la membrana encefálica. Al observar el tejido cerebral adyacente, descubrió imágenes de unas estructuras que él consideró que podían ser células del sistema nervioso. Quizás se pueda considerar a Golgi como el precursor del estudio moderno de las células gliales, gracias al empleo de una técnica histológica, claramente superior a las utilizadas en la época y que expuso minuciosamente en su libro, publicado en Milán en 1886, “*Sulla fina anatomia degli organi centrali del sistema nervoso*” (Golgi, 1886). Ya era conocido por la comunidad científica que el nitrato de plata mostraba una diferente afinidad por los diversos componentes tisulares, y que si los tejidos tratados con nitrato de plata se exponían a la luz, la plata se reducía y ennegrecería. De esta forma, los elementos que se combinan con la plata se podían ver con facilidad y, además esta técnica proporcionaba una información cualitativa (Golgi, 1886).

Fue Golgi quien logró por primera vez la visualización de neuronas que mostraban su estructura completa (cuerpo celular, dendritas y axón) en una preparación histológica (Torres-Fernández, 2006). La mayoría de sus estudios sobre la estructura histológica del sistema nervioso los publicó en revistas científicas italianas de poca circulación en otros países europeos (Torres-Fernández, 2006).

Por lo tanto, fue Golgi quien describió en 1855 que las prolongaciones de las células de la neuroglía estaban frecuentemente en contacto con los vasos sanguíneos (pies vasculares) y neuronas. También postuló que las células gliales constituían un puente entre la red vascular y el parénquima, y por lo tanto eran responsables del soporte estructural y del intercambio celular

(Parpura y Verkhratsky, 2012).

En 1891 **Michael von Lenhossék** (1863-1937) bautizó como astrocitos a las células que Deiters había descrito veintiséis años antes (Lenhossék, 1891). Dos años después, **William Lloyd Andriezen** los subdividió en protoplasmáticos (en la sustancia gris) y fibrosos (en la sustancia blanca) (Andriezen, 1893). Este mismo autor un año más tarde refería que:

“el método original de Golgi, y posteriores, daban buenos resultados con cerebros de animales jóvenes y de embriones, pero no con cerebros adultos o humanos” y proponía uno *“cuyas exitosas preparaciones muestran las células nerviosas y sus procesos hasta sus más finas ramificaciones y terminaciones, y lo mismo sucede con las células gliales, tanto con las células protoplasmáticas como con las fibrosas, y todos esos elementos celulares son claramente diferentes muy diferentes”* (Andriezen, 1894).

3.- La glía y la Escuela Española de Histología: breves reseñas biográficas

El conocimiento de la glía por parte de Virchow recibió un fuerte impulso gracias a los trabajos de Santiago Ramón y Cajal, Nicolás Achúcarro, y su principal discípulo Pío del Río-Hortega (Figura 1).

En aquella época, España contaba con una figura de la talla de **Aureliano Maestre de San Juan** (1828-1890), que contribuyó decisivamente al desarrollo de la Histología en nuestro país. Fue un médico granadino que se interesó en el conocimiento morfológico, y supo combinar su faceta académica con el ejercicio clínico de la medicina. En 1856 publicó un artículo sobre una autopsia practicada a un varón con hipogonadismo en quien constató la falta de desarrollo del pedículo olfatorio, describiendo por vez primera el síndrome de "hipogonadismo hipogonadotrópico idiopático con anosmia" (Maestre de San Juan, 1856), que casi cien años más tarde (1944) describiría, Franz Jozef Kallmann (1897-1965). En 1860 obtuvo la cátedra de Anatomía de la Facultad de Medicina de Granada y desde entonces su interés por la Histología fue en aumento, incluyendo en su Tratado de Anatomía General (1872) una introducción acerca del conocimiento y manejo del microscopio y de la preparación y conservación de los objetos micrográficos (<https://www.historiadelamedicina.org/maestre.html>). Durante sus vacaciones solía viajar al extranjero para poder conocer de primera mano los avances que se iban produciendo en el campo de la Histología; dedicando desde entonces toda su atención y trabajo a esta materia (<https://www.ranm.es/academicos/academicos-de-numero-anteriores/1058-1885-maestre-de-san-juan-y-munoz-aurelio.html>). En 1873 obtuvo la cátedra de Histología Normal y Patológica en la Universidad Central de Madrid. Fue la primera vez que se otorgaba esta especialidad como cátedra en España, e inicialmente estaba orientada a ser una disciplina optativa del doctorado; aunque tan solo dos años después se convertiría en enseñanza obligatoria y en 1886 era incorporada a los estudios de licenciatura (<http://dbe.rah.es/biografias/13347/aureliano-maestre-de-san-juan-munoz>). Fruto de su trabajo en esta disciplina, es la publicación en 1879 del primer

Tratado de Histología Normal y Patológica, con lo que se puede considerar a Maestre como “el padre de la Histología española y su cultivador más destacado hasta la etapa de Santiago Ramón y Cajal” (<https://www.historiadelamedicina.org/maestre.html>;
[https://es.wikipedia.org/wiki/Aureliano Maestre de San Juan](https://es.wikipedia.org/wiki/Aureliano_Maestre_de_San_Juan)).

Entre los muchos médicos que se formaron en su laboratorio se encontraba Ramón y Cajal, quien allí pudo ver por vez primera preparaciones microscópicas. El propio Maestre apadrinó su ejercicio de doctorado sobre la patogenia de la inflamación.

En 1874, Aureliano Maestre de San Juan fundó la Sociedad Histológica Española, que supo ser integradora de los esfuerzos de los cultivadores de la disciplina y afines (<https://www.historiadelamedicina.org/maestre.html>). En 1885 ingresó como Académico de Número en la Real Academia Nacional de Medicina (<https://www.ranm.es/academicos/academicos-de-numero-antteriores/1058-1885-maestre-de-san-juan-y-munoz-aurelio.html>).

Ramón y Cajal en sus memorias ([https://es.wikipedia.org/wiki/Aureliano Maestre de San Juan](https://es.wikipedia.org/wiki/Aureliano_Maestre_de_San_Juan)) se refirió a él con las siguientes palabras:

"El buenísimo de don Aureliano, a quien tanto venerábamos sus discípulos, sucumbió a las resultas de un accidente de laboratorio. Una salpicadura de sosa cáustica, producida por la ruptura de un frasco, determinó la pérdida de la vista, a que siguió una pasión de ánimo tan grande, que arrebató en pocos meses al maestro. Fue el doctor Maestre un excelente profesor que sabía comunicar sus entusiasmos a quienes le rodeaban. Yo le debo favores inolvidables. Tras haberme apadrinado en la ceremonia de la investidura de doctor, me animó insistentemente durante mis ensayos de investigador, fortaleciendo mi confianza en las propias fuerzas. Las cartas con que acusaba recibo de mis publicaciones constituían para mí tónico moral de primer orden".

Tanto Cajal como Achúcarro, tuvieron en común el haber estado en contacto con **Luis Simarro Lacabra** (1851-1921) catedrático de Psicología en la Universidad Complutense de Madrid desde 1902, quien les introdujo en las tinciones de plata de Golgi que había aprendido durante su estancia en Italia.

Se puede considerar que, en esa época entre otros insignes miembros de la denominada Escuela Histológica Española existían dos líneas paralelas, encarnadas cada una de ellas por estas dos figuras centrales: Santiago Ramón y Cajal y Nicolás Achúcarro. Estas dos líneas, aunque bastante independientes entre sí no pierden, sin embargo, el contacto, como nos describe Sánchez Álvarez-Insúa:

“dentro de la Escuela Histológica Española debemos distinguir entre dos grupos claramente diferenciados: el de los discípulos directos de Cajal y el encabezado sucesivamente por Nicolás Achúcarro y Pío del Río-Hortega, en quienes Cajal influyó de modo decisivo” (véase Sánchez Álvarez-Insúa, 1986).

A su vez, López Piñero, afirma que, a pesar de haber compartido muchos momentos, e incluso enseñanzas, no puede decirse que Achúcarro sea discípulo de Cajal (López Piñero, 1968); aunque la influencia de Cajal en Achúcarro es indiscutible. Según Martínez Murillo, de hecho, las relaciones de Achúcarro con Cajal fueron bastante tardías y ...

“los integrantes de este segundo grupo (refiriéndose al de Achúcarro) no se formaron junto a Cajal y sólo ocasionalmente trabajaron en la Cátedra de Histología y Anatomía Patológica y en el Laboratorio de Investigaciones Biológicas de Madrid, que dirigía Cajal” (Martínez Murillo, 2005).

Cuando, en 1922, se le entrega a Cajal la medalla Echegaray (concedida por la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales) por el reconocimiento de su trayectoria científica, hace un acto de reconocimiento global y habla de sus discípulos y colaboradores, citando además de a su

hermano Pedro, a Claudio Sala Pons; Carlos Calleja; Isidoro Lavilla; R. Terrazas; Tomás Blanes; Federico Olóriz; J. Javet; Luis del Río; R. Fornis; Francisco Tello (primer discípulo, y predilecto, de Cajal); Domingo Sánchez; Manuel Márques; Gonzalo Rodríguez Lafora; M. Sánchez y Sánchez; Fernando de Castro; Nicolás Achúcarro; Luis Calandre; Miguel Gayarre; Pío del Río-Hortega; Jorge Ramón Fañanás (hijo de Cajal); Galo Leoz Ortín; Lorenzo Ruíz de Arcaute; L. Foster; Rafael Lorente de Nó; M. Serra; Mariano Górriz y José María Villaverde” (Martínez Murillo, 2005).

En cuanto a la escuela de Nicolás Achúcarro, como hemos mencionado anteriormente, su principal colaborador y discípulo fue Pío del Río-Hortega, formándose también junto a él figuras de la talla de Miguel Gayarre, Felipe Jiménez de Asúa, José Miguel Sacristán y Luís Calandre (Martínez Murillo, 2005); además de influir en la labor de Gonzalo Rodríguez Lafora (<http://mah.sen.es/index.php/exposiciones-actividades/descubre/item/74-nicolas-achucarro-lund-1880-1918>).

Las dos escuelas aportaron grandes avances en la comprensión de la estructura del tejido nervioso, si bien Juan Domingo Toledo escribía que:

“podemos decir que la Escuela de Cajal era más morfológica mientras que Achúcarro imprimía a sus trabajos y a los de sus discípulos un sello especial, dinámico, histofisiológico o histofisiopatológico” (Toledo, 1968).

Trascurridos unos años el gran impulso de la Histología se vio mermado, tanto en España como en el extranjero. Según nos relata Antonio Campos (Campos 2004) en su discurso de ingreso en la Real Academia Nacional de Medicina de España:

“Con el impulso del positivismo el conocimiento más básico de la microscopía del cuerpo, lo más esencial de la observación microscópica, había terminado prácticamente hacia los años veinte del pasado siglo. Para algunos la histología, como la anatomía, había muerto y cumplido su etapa en el proceso intelectual del conocimiento corporal humano. [.....].”

Muchos investigadores de la época, inicialmente histólogos van abandonando, en el curso de este proceso, su quehacer histológico y van dirigiendo su mirada hacia otras áreas más dinámicas de la investigación corporal. Algunos de los discípulos más preclaros de Don Santiago [.....] inician esa evolución hacia ámbitos mucho más fisiológicos que estrictamente descriptivos”

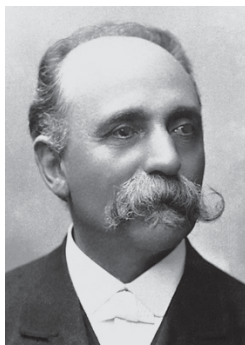
Siguiendo con el relato que nos hace Antonio Campos cuando hacía pensar que la Histología iba a disolverse en otras disciplinas, Julián Sanz Esponera (1938-2013)

“convocó a los histólogos españoles a Zaragoza, y a Petilla de Aragón, para celebrar allí, en la tierra originaria de Don Santiago, el I Congreso Nacional de Histología”.

A partir de ese mismo año, 1979, la vieja Sociedad Histológica Española, refundada en 1977 como Sociedad Española de Histología, salió fortalecida, proyectándose hacia el futuro. En 2001 se constituyó la Sociedad Española de Histología e Ingeniería Tisular (SEHIT) que es continuación de la anteriormente denominada Sociedad Española de Histología, y a partir de 2005 adquirió carácter internacional con el objeto de congregar a histólogos de distintos países, acogiendo sus congresos también la denominación de International Congress of Histology and Tissue Engineering, y desde 2014 Congresos Iberoamericanos de Histología, estos últimos auspiciados por el Comité Iberoamericano de Histología.



Rudolf Virchow
(1821-1902)



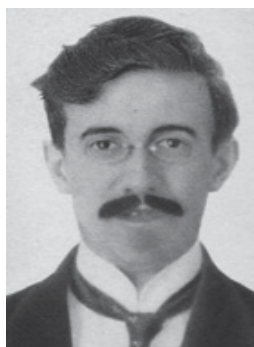
Camilo Golgi
(1843-1926)



Luis Simarro
(1851-1921)



Santiago Ramón y Cajal
(1852-1934)



Nicolás Achúcarro Lund
(1880-1918)



Pío del Río Hortega
(1882-1945)

Figura 1. Fotografías de seis grandes figuras que intervinieron decisivamente en el conocimiento de la glía del sistema nervioso central.

Rudolf Virchow. Imagen tomada de <http://ihm.nlm.nih.gov/images/B29494>

Camilo Golgi. Imagen tomada de https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Camillo_Golgi_nobel.jpg

Luis Simarro. Imagen tomada de <https://www.ecured.cu/index.php?curid=615048>

Santiago Ramón y Cajal. Imagen tomada de Original photo is anonymous although published by Clark University in 1899. Restoration by Garrondo - Cajal.PNG, Dominio público, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=12334552>

Nicolás Achúcarro. Imagen tomada de J.R.Alonso - Trabajo propio, CC BY-SA 4.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=37308995>

Pío del Río Hortega. Imagen extraída del libro "Historia Argentina". Autor: Diego Abad de Santillán.TEA, Tipográfica Editora Argentina. 1971, Buenos Aires, Argentina., Dominio público, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=4655906>

3.1.- Santiago Ramón y Cajal

Qué duda cabe de que la figura más notable de la investigación neurobiológica española es Santiago Ramón y Cajal. Su inclinación hacia la investigación se remonta a los últimos años de la década de 1870, cuando siendo profesor auxiliar de Anatomía en la Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza viajó a Madrid para realizar el doctorado y trabó contacto con **Aureliano Maestre de San Juan** (1828-1890), catedrático de Histología en la facultad madrileña (Baratas, 2007).

Fue Maestre de San Juan quien introdujo a Cajal en el campo de la microscopía óptica cuando al mostrarle unas preparaciones histológicas, éste 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. Tras unos años de gran dedicación a montar un laboratorio histológico (de donde salieron varios trabajos científicos) en 1883 consiguió mediante oposición, la cátedra de Anatomía de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valencia. Esto le dio estabilidad profesional y le supuso un importante espaldarazo a su labor investigadora, creando un comité de investigaciones psicológicas para estudiar la esencia y el mecanismo del pensamiento humano.

Para Agustín Albarracín, agotada la posibilidad de entender el misterio del alma y del pensamiento, Cajal inició pronto una segunda etapa en su obra científica (Albarracín, 1987), comenzando en 1884 la edición de un Manual de Histología Normal y Técnica Micrográfica. Sin embargo, la visualización de las finas estructuras del sistema nervioso no era posible debido a la precariedad de los métodos de tinción. En 1887 tuvo la oportunidad de visitar a Luis Simarro y conectar con alguien cuya preocupación e intereses científicos coincidían con los suyos. Allí, en el laboratorio que Simarro tenía en el Instituto Biológico pudo ver por primera vez cortes de cerebro impregnados en la solución argéntica usada en el método de tinción de Golgi. Después del

encuentro con Simarro, Cajal comenzó inmediatamente a usar el método de Golgi para buscar en la estructura del sistema nervioso la manera de desvelar los problemas de la mente (Albarracín, 1987) y, como nos cuenta Martínez Murillo,

“en las manos de 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” (Martínez Murillo, 2005).

Es más, Albarracín nos dice que:

“Ha bastado el azar de un minuto para que la escuela histológica española se ponga en marcha y para que (.....) las circunstancias hayan permitido a Luis Simarro ser el posibilitador de la empresa” (Albarracín, 1987).

En su obra, “Recuerdos de mi Vida”, Cajal reconoce su deuda intelectual con Simarro y el impulso positivista que dio a sus investigaciones (Ramón y Cajal, 2014).

Según nos refiere Javier de Felipe, en el primer artículo que Cajal escribió sirviéndose del método de Golgi (fue publicado el 1 de mayo de 1888 y trataba sobre los centros nerviosos de las aves), confirmó el resultado 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 (de Felipe, 2005).

Así, Cajal escribió en 1889:

"[...] 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".

Siendo catedrático de la Facultad de Medicina de Barcelona, Cajal comenzó a ser conocido y admirado por la comunidad científica internacional después de presentar sus preparaciones de cerebelo, retina y médula espinal en el Congreso de la Sociedad de Anatomía Alemana, celebrado en octubre de 1.889 en Berlín. Javier de Felipe en el capítulo "Historia de la neurona: influencia de los estudios de Santiago Ramón y Cajal en la neurociencia moderna" (Ministerio de Sanidad y Consumo, CSIC y BOE, 2007) nos comenta al respecto:

"Entre los histólogos y anatomistas más distinguidos del momento se encontraban Wilhelm His, Gustav Schwalbe, Gustaf Retzius, Heinrich Waldeyer (que se considera fue quien acuñó el término neurona en 1891), y especialmente Rudolph von Kölliker, uno de los científicos más influyentes de la época. Kölliker había publicado las primeras descripciones neurohistológicas de la corteza cerebral con técnicas rudimentarias, y dio el nombre de "piramidales" a las células corticales principales. Kölliker se quedó tan Impresionado 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”.

No obstante, y siguiendo con la referencia de Javier de Felipe, ese encuentro con Kölliker fue bastante más prosaico ya que el autor nos relata que:

“Cajal encontrábase solo, no suscitando en torno suyo sino sonrisas incrédulas” y según refiere Van Gehuchten, testigo presencial “Todavía creo verlo tomar aparte a Kölliker, entonces maestro incontestable de la Histología humana y arrastrarlo a un rincón de la sala de demostraciones para mostrarle en el microscopio sus admirables preparaciones y convencerle de sus hallazgos”.

Meses después Kölliker confirmaba lo apuntado por Cajal.

Más tarde, en el Congreso Internacional de Medicina, celebrado en Roma en 1894, Cajal apunta que:

“la actividad intelectual no depende del tamaño ni del número de las neuronas cerebrales, sino de la abundancia de las conexiones interneuronales establecidas por los puntos de contacto de los axones”.

Esto que Cajal denominó dinamismo cerebral es lo que hoy en día se conoce como “plasticidad neuronal”.

La obra de Cajal es extensa y profunda, no limitándose, ni mucho menos, a lo aquí apuntado. Entre 1888 y 1892 publicó más de 30 artículos que fueron resumidos en su primera revisión sobre la estructura del sistema nervioso (Ramón y Cajal, 1892), estableciéndose claramente la teoría neuronal (de Felipe, 2005). En 1892, ya con un sólido prestigio a nivel internacional, Cajal obtuvo la cátedra de Histología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Madrid. Cajal sienta las bases de la Neurohistología moderna y, en la medida que sus interpretaciones anatómicas y funcionales eran exactas, la obra de Cajal representa el punto de arranque para la Neurobiología contemporánea (Baratas, 2007), incluida, por supuesto, la Psiquiatría moderna

(López Muñoz, 2008).

Como ya hemos comentado, Santiago Ramón y Cajal es indiscutiblemente uno de los más sobresalientes exponentes de la ciencia española reciente; ya que su aportación al conocimiento de la histología del sistema nervioso es fundamental para la Ciencia. En el año 1906 recibió, junto con **Camilo Golgi** (1843-1926) el Premio Nobel de Fisiología o Medicina. Hay que señalar que Cajal llevó a cabo su actividad en España, tan sólo mediante la observación minuciosa y concienzuda de sus preparaciones histológicas con ayuda de un simple microscopio de luz. Sin apenas recursos económicos. Describió el modelo básico de la estructura del sistema nervioso demostrando la independencia morfológica y funcional de las células nerviosas y sentó las bases para la comprensión de su funcionalidad. De hecho, pasados más de cien años desde que leyó su discurso ante los representantes de la Academia Sueca con motivo de la concesión del Premio Nobel, la mayor parte de sus postulados se mantienen vigentes. A su valía científica hay que añadir su capacidad para promover las medidas necesarias para implementar un sistema de formación internacional para profesionales aventajados (la “Junta para la Ampliación de Estudios e Investigaciones Científicas”, fundada en 1907 a iniciativa del ministro Amalio Gimeno, y de la que Cajal fue presidente desde su fundación hasta su muerte en 1934). Esta Junta fue impulsada por el mismo espíritu de Giner de los Ríos y dio lugar a la Institución Libre de Enseñanza, que era un organismo privado dedicado básicamente a la enseñanza universitaria (Oliva Aldamiz, 1984).

Paralelamente a la figura de Cajal (máximo exponente de la investigación neurobiológica de carácter histológico) en el panorama científico español de finales del siglo XIX había investigadores cuyo enfoque estaba orientado a otras vertientes, pero que indiscutiblemente forman el marco científico que encumbra la Histología Española de la época.

El caso más significativo es el de **Luis Simarro (1851-1921)**, que participó activamente en las sesiones de la Sociedad Histológica Española. Su papel en la Histología española del siglo XIX, no ha sido tan ampliamente conocido

como se merece, aunque él decía de sí mismo:

“yo soy tan solo un histólogo de ocasión, pues la histología no es para mí fin, sino medio para estudiar la neurología, mi verdadero objeto” (A. Albarracín, 1987).

Según nos comentan Carpintero y cols., en su obra *“Luis Simarro y la psicología científica en España. Cien años de la cátedra de psicología experimental en la universidad de Madrid”*.

“Luis Simarro fue un hombre de su tiempo, un regeneracionista apasionado, hijo de la Institución Libre de Enseñanza, amigo de artistas y poetas, idealista embarcado en luchas políticas por la causa liberal, y al mismo tiempo un hombre de ciencia, cuya inmensa curiosidad intelectual le llevó a dispersarse en gran cantidad de asuntos, quizá con merma de sus posibilidades como investigador” “Publicó poco, pero ejerció una influencia considerable desde su cátedra y desde su laboratorio. También desde la biblioteca de su casa, que fue lugar de reunión de intelectuales, artistas y políticos” (Carpintero y cols., 2002).

Entre 1880 y 1885, Simarro trabajó en París junto al histólogo Louis Antoine Ranvier (1835-1922), y los psiquiatras Jean Martin Charcot (1825-1893) y Valentin Magnan (1835-1916). Su formación conjugaba las dos áreas de conocimiento que configurarían su interés en la Neurociencia, pero con un enfoque poliédrico; más amplio que el de Cajal. Había introducido en España la nueva psicología experimental y las corrientes psiquiátricas alemanas, y se ocupaba desde el evolucionismo de temas de anatomía comparada, embriología e histología del sistema nervioso. Se especializó en Neuropsiquiatría, aunque también se interesó por la Neurohistoria y por la Psicología experimental, obteniendo en 1902 la Primera Cátedra de Psicología en España. Luis Simarro fue un hombre con un amplio rango de intereses científicos e intelectuales, y multitud de testimonios avalan su capacidad como maestro y una gran generosidad para atraer hacia sí e iniciar en la Histología y Neuropsiquiatría a jóvenes brillantes, a los que abrió de par en par el

laboratorio doméstico que compartía con **Juan Madinaveitia** (1861-1938), en su casa madrileña. Introdujo tanto a Cajal como a Achúcarro en la tinción de plata de Golgi, que había aprendido en Italia. Es, por lo tanto, un punto de convergencia en la Escuela de Histología Española, tal y como comentábamos anteriormente. Según nos refiere Albarracín:

“Cajal pasó de la clínica al laboratorio, Simarro por su parte pasó del laboratorio a la clínica. Achúcarro era una posibilidad para la creación de una escuela única. Sin embargo, la obra que en Achúcarro suponía la unificación de las escuelas neurohistológica y neuroclínica no fue más que una esperanza frustrada, quizás por su prematura muerte” (Albarracín (1987).

Simarro dejó muy poca obra escrita, pero, sin embargo, ofreció sus ideas a todo aquel que le preguntaba por ellas. En palabras de Albarracín fue *“un sembrador de ideas”* (Albarracín, 1987).

3.2.- Nicolás Achúcarro Lund

La corta pero intensa vida de **Nicolás Achúcarro Lund** (1880-1918) es realmente deslumbrante, y su prematura muerte nos privó de un gran científico que, sin duda, hubiera dado a la ciencia grandes aportaciones. Quienes deseen profundizar en la vida y obra de Nicolás Achúcarro pueden consultar la extensa y minuciosa obra del Profesor Manuel Vitoria (Vitoria, 1977). Con motivo del centenario del fallecimiento de Nicolás Achúcarro, el profesor Antonio Campos publicó (2018) en los Anales de la Real Academia Nacional de Medicina de España (Campos, 2018) un artículo recordando su vida y su legado. También la centenaria Gaceta Médica de Bilbao se sumó a la conmemoración publicando dos breves reseñas (Aramburu-Araluce y cols, 2018; Franco-Vicario, 2018) con motivo del homenaje que la Academia de Ciencias Médicas de Bilbao le rindió el pasado 9 de noviembre de 2018 con motivo del centenario de su fallecimiento y del cincuentenario de la creación del “Instituto Neuropsiquiátrico Nicolás Achúcarro” (Hospital Zamudio).

Su biografía, menos conocida que la de Santiago Ramón y Cajal, hace que nos parezca apropiado hacer una breve síntesis de la misma. Achúcarro nació en la calle Bidebarrieta del Casco Viejo de Bilbao en el seno de una familia burguesa de gran tradición cultural (su padre era oftalmólogo y su madre era hija de un acaudalado comerciante noruego: Hilario Lund). Nació el 14 de junio de 1880 y dos días después fue bautizado en la Catedral de Santiago, recibiendo los nombres de Nicolás Hilario Severino Basilio y Juan. Criado en un entorno liberal y progresista, recibió una esmerada educación. Comenzó sus estudios en el Instituto Vizcaíno, de Bilbao teniendo como profesor de latín al gran Miguel de Unamuno (1864-1936). Su formación preuniversitaria la completó en el Gymnasium alemán de Wiesbaden (un centro de educación secundaria).

Comenzó sus estudios de medicina en la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Madrid (hoy en día Universidad Complutense de Madrid), donde fue discípulo del guipuzcoano Juan Madinaveitia, por entonces profesor de Histología, del que también fueron discípulos Gregorio Marañón y Santiago Ramón y Cajal.

Insatisfecho de la enseñanza universitaria española, en otoño de 1899 se desplazó junto con su hermano Juan Luis a la Universidad de Marburg (Alemania) donde perfeccionó sus conocimientos sobre diferentes materias. En 1900, gravemente enfermo su hermano, regresa a Madrid y finaliza los tres últimos cursos de medicina.

Siendo aún estudiante de medicina, ya desde el año 1902 y hasta terminar los estudios académicos de Medicina, se reincorporó al departamento de Madinaveitia en el Hospital General de Madrid. Allí, nos dice Luis Granjel (1993) que:

“Fue Madinaveitia quien puso a su discípulo en relación con Giner de los Ríos, lo que introduce a Nicolás Achúcarro en el mundo intelectual de la Institución Libre de Enseñanza y propicia su aproximación a Simarro”

En este sentido, Zarranz comenta que fue Simarro a su vez quien le orientó hacia la investigación histológica en su propio laboratorio (Zarranz, 2014), formándole en asuntos de histología del sistema nervioso, neuroanatomía y anatomía patológica del sistema nervioso, e introduciéndole al mismo tiempo en la psiquiatría y la neurología (Baratas, 2007). Así, podemos decir que el primero de los discípulos formado bajo la protección de Luis Simarro fue, sin lugar a dudas, Nicolás Achúcarro quien, según López Piñeiro, “*encontró en el magisterio de Simarro la primera base histórica directa de su obra científica*” (López Piñeiro, 1968).

Entre 1904 y 1910, ya finalizados sus estudios de Licenciatura, visita los centros más punteros, llegando a trabajar en París con los neurólogos Pierre Marie (1853-1940) y Joseph Babinski (1857-1932), y en Italia con los psiquiatras Ernesto Lugaro (1870-1940) y Eugenio Tanzi (1856-1934). A continuación, se trasladó a Alemania donde trabajó casi tres años con las dos figuras más sobresalientes de la época: Emil Kraepelin (1856-1926) y Alois Alzheimer (1864-1915). Durante su estancia en Múnich desarrolló su tesis doctoral “Contribución al estudio de la anatomía patológica de la rabia” que defendió en Madrid en 1906 (el mismo año en que Cajal recibía el Premio Nobel); y tras lo cual volvería rápidamente a Alemania.

En ese momento, Alois Alzheimer había sido invitado para organizar y dirigir el Departamento de Anatomía Patológica del manicomio federal de Washington (Government Hospital for the Insane) con más de seis mil pacientes. Al no poder hacerse cargo del puesto, declinó la oferta y recomendó para ello al joven Achúcarro. Así, a finales de 1908 marchó a Washington, donde estuvo hasta 1910, fecha en que regresó a España, habiendo propuesto como sustituto al neuropsiquiatra madrileño Gonzalo Rodríguez Lafora (1886-1971). En septiembre de 1909 aparece publicado en España un trabajo informativo de Achúcarro titulado “Psiquiatría en los Estados Unidos de América”, que abrió el camino para una revisión y una actualización de los servicios psiquiátricos en nuestro país (<https://jralonso.es/2014/08/11/achucarro/>).

A su vuelta, Achúcarro ejerce varios trabajos en la medicina privada como

neuropsiquiatra, hasta que entra en contacto con Cajal y éste le incorpora a su laboratorio y a su cátedra como profesor auxiliar. En 1911 consigue por oposición la plaza de Médico en el Hospital Provincial de Madrid. En 1912 es nombrado, a propuesta de Cajal, director del Laboratorio de Histología Normal y Anatomía Patológica creado por la Junta de Ampliación de Estudios. Este laboratorio inicialmente se localizaba en el Museo de Historia Natural y posteriormente, por deseo expreso de Cajal, fue trasladado al edificio del Museo Antropológico; al mismo edificio donde Cajal tenía su laboratorio de Investigaciones Biológicas (Río-Hortega J, 2013). Aunque ambos laboratorios mantuvieron su independencia institucional, con el paso del tiempo esta proximidad y “conciencia de grupo de cada laboratorio” dio paso a graves problemas de convivencia. Este mismo año de 1912 fue invitado por el gran psiquiatra **Carl Gustav Jung** (1875-1961) a impartir unos cursos sobre enfermedades mentales en la Universidad jesuítica de Fordham en Nueva York, y la Universidad de Yale le distinguió con el nombramiento de Doctor *Honoris Causa*.

Su ojo clínico le permitió diagnosticar estando en Washington el primer caso de enfermedad de Alzheimer en Norteamérica (sexto caso de la literatura mundial) (López Muñoz, 2008) y a Ramón y Cajal una arterioesclerosis cerebral. Él mismo se diagnosticó una Enfermedad de Hodgkin tras sufrir los primeros síntomas en 1915. La enfermedad le fue minando físicamente de manera muy severa, lo que le decidió a recogerse en su casa de Neguri, donde falleció el 23 de abril de 1918 a los 37 años de edad (<https://www.senc.es/wp-content/uploads/2017/11/biografia-Nicola%CC%81s-Achucarro.pdf>).

En sus memorias, Ramón y Cajal escribió acerca de Nicolás Achúcarro:

“La ciencia española ha sufrido pérdida irreparable con la prematura muerte de Nicolás Achúcarro. Trabajador infatigable, juntábanse en él el talento y la modestia, y lo que es más raro, un sentimiento hidalgo de justicia hacia el ajeno mérito. Tenía conciencia de padecer dolencia mortal y, sin embargo, laboraba con el entusiasmo de quien tiene delante de sí

perspectiva vital inacabable. Su última carta, impregnada de viril estoicismo, fue para mí dolor angustiosísimo. Amarrado a un sillón por la parálisis, sólo se lamentaba de no poder continuar sus investigaciones sobre la neuroglía. ¡Tortura inimaginable! ¡Sentir en el alma el susurro de un enjambre de ideas y proyectos y ver sólo delante de sí las tinieblas eternas de la muerte! Empero lo mejor de su obra persistirá; transfigurada y mejorada, continuará inspirando la mente de sus amigos y discípulos” (Centro Virtual Cervantes).

López Piñeiro nos refiere que para Fernando de Castro quien comenzó a formarse con Achúcarro, la obra de Nicolás Achúcarro se centró en cuatro principales epígrafes (López Piñeiro, 1968):

- a) las células en bastoncito
- b) el método del tanino y la plata amoniacal
- c) las investigaciones sobre la glía
- d) las alteraciones del ganglio superior simpático en algunas psicosis.

3.3.- Discípulos y seguidores de Cajal y de Achúcarro

Pero, por más que nos deslumbren las grandes figuras de Cajal y Achúcarro, fueron muchos de sus discípulos los que asentaron la Escuela Española de Histología, y por lo tanto no podemos olvidarnos de citar a algunos de ellos.

Jorge Francisco Tello Muñoz (1880-1958) fue discípulo de Santiago Ramón y Cajal desde 1902. Leyó su tesis doctoral el 30 de junio de 1903, sobre el "*Análisis estructural del cuerpo geniculado externo*". En 1907 fue elegido por Cajal como primer ayudante del recién creado Laboratorio de Investigaciones Biológicas, dentro de los proyectos de la Junta para la Ampliación de Estudios. En 1926 obtuvo por oposición la Cátedra de Histología, Anatomía Patológica y Bacteriología de la Universidad de Madrid; y pocos años después consigue que se desglose la Bacteriología como Cátedra autónoma. El mismo año y a propuesta de Ramón y Cajal es nombrado subdirector del Laboratorio de Investigaciones Biológicas. En 1934, al morir Ramón y Cajal, quedó como

director del Instituto (https://es.wikipedia.org/wiki/Jorge_Francisco_Tello). En 1939, tras la guerra civil española, fue destituido de su cátedra y de la dirección del Instituto Cajal, dentro del programa de depuración emprendido por el régimen franquista (que, aunque se inició prácticamente el mismo 18 de julio de 1936, no fue legalmente establecido hasta la publicación del Decreto del 8 de noviembre de 1936).

Aunque el madrileño **Fernando de Castro** (1896-1967) comenzó a formarse junto a Nicolás Achúcarro y al caer éste enfermo pasó, en 1916, a trabajar directamente con Cajal, de quien ya no se separaría hasta su muerte. Se le considera discípulo directo de Santiago Ramón y Cajal. Junto con su compañero Tello se encargó de defender durante la Guerra Civil el patrimonio y equipamiento del Instituto Cajal, algo que cumplieron con eficacia. Al finalizar la Guerra Civil, Fernando de Castro creó el Museo Cajal, dentro del Instituto. Fue también desposeído de su cátedra en la Universidad por motivos políticos, hasta que en 1950 fue repuesto en la misma (https://es.wikipedia.org/wiki/Fernando_de_Castro_Rodr%C3%ADguez).

Sus investigaciones comenzaron con la estructura de los ganglios sensitivos y simpáticos en estado normal y patológico, aunque más adelante se centró en el estudio de la inervación sensorial de la región aorto-carotídea, donde distinguió los barorreceptores (que detectan los cambios de presión de los vasos sanguíneos) de los quimiorreceptores (que detectan los cambios en la composición química de la sangre) (https://es.wikipedia.org/wiki/Fernando_de_Castro_Rodr%C3%ADguez).

Rafael Lorente de Nó (1902-1990) ideó el primer diagrama de los microcircuitos de la neocorteza, basado en la técnica de Golgi (Lorente de Nó, 1938). Muchos de los postulados de Lorente de Nó sobre la sinaptología neocortical se confirmaron después mediante la microscopía electrónica (Nieuwenhuys, 1994).

Gonzalo Rodríguez Lafora (1886-1971) se licenció en 1907 y doctoró en 1914; siendo asistente en el Instituto Cajal de Neurobiología entre 1906 y

1908. Tuvo ocasión de disfrutar de una beca de la “Junta para Ampliación de Estudios” gracias a la cual se desplazó a París y a Alemania, donde entró en contacto con Theodor Ziehen, Emil Kraepelin y Alois Alzheimer, especializándose en neurología (https://es.wikipedia.org/wiki/Gonzalo_Rodr%C3%ADguez_Lafora). Como ya hemos comentado, en 1910 sustituyó a Nicolás Achúcarro en el Hospital mental de Washington. En 1911 describió la que se conoce como “enfermedad de Lafora” (un tipo de epilepsia mioclónica progresiva, relativamente frecuente y particularmente grave que cursa también con demencia. Es una enfermedad de base genética de tipo autosómica recesiva). En 1912 regresó a España y empezó a trabajar en el Laboratorio de Fisiología Experimental del Sistema Nervioso con Santiago Ramón y Cajal, centrándose en los ámbitos de la neurología y la psiquiatría. Para Agustín Albarracín, Rodríguez Lafora es la figura que más se pareció a Luis Simarro (Albarracín, 1987). En el número de 31 de agosto de 2018, en la prestigiosa Nature se puede leer una revisión titulada “Lafora disease - from pathogenesis to treatment strategies” (Nitschke y cols., 2018).

El vallisoletano **Pío del Río Hortega** (1882-1945) tras haber defendido su tesis doctoral en 1909 sobre la “Etiología y anatomía patológica de los tumores del encéfalo” se dirigió a Madrid, donde, en 1912 contactó con Ramón y Cajal, quien le remite al Dr. Tello quien, al parecer, no mostró mucho interés en ayudarlo (Cronobiografía Dr. Pío del Río Hortega, 2012). Sus perspectivas parece que no se cumplieron pues nos refiere que “*esta corta estancia, de apenas dos meses, le resultó estéril, fría y decepcionante*” (Río-Hortega, 2013). Tras esta experiencia, y ese mismo año, se pone en contacto con Achúcarro que le acoge con gran cordialidad y le ofrece un hueco en su Laboratorio de Histología Normal y Anatomía Patológica, donde se familiarizó con la técnica del tanino y plata amoniacal ideada por Achúcarro.

A diferencia de Achúcarro, según comenta el propio Juan del Río-Hortega, él era tímido e introvertido, lo que junto al hecho de que científicamente todavía no tenía “un nombre” a nivel internacional le supusieron grandes dificultades laborales y personales con algunos discípulos de Cajal, y finalmente con el

propio Cajal.

Consigue una beca de la Junta de Ampliación de Estudios para ir en 1913 a París para aprender técnica histológica con profesores de la talla de August Prenant (1861-1927) y anatomía patológica con Maurice Letulle (1853-1929). Prenant y su doctorando Pol Bouin (1870-1962) escribieron entre 1904 y 1917 un Tratado de Histología que era una verdadera enciclopedia de la ciencia microscópica de la época (http://www.professeurs-medecine-nancy.fr/Prenant_A.htm). En 1914 Río-Hortega se dirige a Berlín donde tuvo la ocasión de trabajar en el Instituto de Bacteriología de Robert Koch (1843-1910). Estalla la Gran Guerra y tiene que regresar a Madrid, viendo con satisfacción cómo el Laboratorio de Achúcarro se ha trasladado al Edificio del Museo Antropológico (el mismo edificio donde Cajal tiene su Laboratorio de Investigaciones Biológicas). Al enfermar Achúcarro en 1916 y recluirse en su casa de Neguri, Río-Hortega centra su trabajo en la neuroglía utilizando métodos propios, de Cajal y variaciones del tanino-plata de Achúcarro. Tras el fallecimiento en 1918 de su maestro y protector, los problemas con los discípulos de Cajal (y con el comportamiento del conserje Tomás García de la Torre, que veía a los del laboratorio de Achúcarro como una especie de huéspedes molestos; y que llegó incluso a protagonizar algún altercado personal con Pío del Río-Hortega) aumentaron, hasta el punto de llegar a indisponer a Cajal con Río-Hortega.

La funesta labor de algunos de estos miembros da sus frutos y Cajal en 1920 llegó a escribirle que *“no vuelva a poner los pies en mi laboratorio”* y despidiéndose *“esperando la satisfacción de no volverle a ver a Ud nunca más”* como se nos refiere en la obra de Sánchez Álvarez-Insúa (1986). Río-Hortega se ve obligado a abandonar el laboratorio que tenía en el mismo edificio que Cajal, momento en que la Junta para la Ampliación de Estudios le cede, a finales de 1920, un pequeño local en la Residencia de Estudiantes, donde monta un laboratorio propio del que será su director: el Laboratorio de Histología Normal y Patológica. Además, pronto editará su propia revista (Trabajos del Laboratorio de Histopatología). Poco a poco se va distanciando del laboratorio del gran maestro Cajal, lo que también conllevaba un

distanciamiento de las disputas con los discípulos de éste (<https://books.google.es/books?id=FAqxDAQAQBAJ&pg=PA95&lpg=PA95&dq=Carlos+Collado>). Se encuentra, por fin, en un ambiente científico rodeado de amigos y de estímulos. Sin embargo,

“en España fue objeto de envidias de la universidad que él había criticado, impidiéndole el acceso a una cátedra de nueva denominación y al sillón que había quedado vacante tras la muerte de Cajal en la Real Academia Nacional de Medicina” (Arce, 2015).

Quien desee una información más detallada acerca de lo acontecido en su relación con la Real Academia Nacional de Medicina puede consultar la obra de Granjel (2006).

En abril de 1918, asume diversas tareas en el Laboratorio de Histología Normal y Anatomía Patológica, siendo designado, a la vez, ayudante de laboratorio del Hospital Provincial de Madrid y en 1919 obtiene el primer Premio Achúcarro.

Pasados unos años la relación con Cajal se termina restableciendo, pero no así con sus discípulos, quienes a la muerte del maestro en 1934 reaparecieron; como veremos un poco más adelante. Quien desee una información más detallada puede consultar el artículo de Juan del Río-Hortega que acabamos de citar y el de Sierra y cols., 2016.

Su apoyo a la República hace que en 1936 se vea obligado a salir de España, siendo acusado incluso de robar material. Termina instalándose en Buenos Aires en 1940. En 1939, en aplicación de la nueva ley de Responsabilidades Políticas del Gobierno de Franco, se le acusa formalmente de masón y republicano y se le cesa de todos los cargos con responsabilidad en el Estado español. Ese mismo año, fue nombrado *Doctor Honoris Causa* por la Universidad de Oxford, siendo apadrinado por el gran neurofisiólogo **Charles Scott Sherrington** (1857-1952); nombramiento que según nos refiere Juan del Río-Hortega (2013) fue protestado por la Universidad de Valladolid y por la

Casa de Salud de Valdecilla. En 1943 le nombraron *Doctor Honoris Causa* y profesor extraordinario de la Universidad de La Plata. Fue propuesto dos veces para el Premio Nobel (1929 y 1934), pero nunca se le concedió ningún premio en España, aparte del mencionado Premio Achúcarro. Es más, ninguna institución académica española apoyó ninguna de las dos nominaciones al premio Nobel (Río-Hortega J, 2013).

En 1944 se autodiagnosticó un cáncer urogenital, falleciendo en 1945. En octubre de 1944, poco antes de su muerte pronunció en Montevideo una conferencia en el Homenaje a Santiago Ramón y Cajal donde se puede apreciar la admiración que Río-Hortega tenía hacia él (Sánchez Álvarez-Insúa, 1998).

“Aunque es cierto que, durante esta última fase de su vida, el gobierno franquista hizo algún discreto contacto para ofrecerle su traslado a España e incluso, tras su negativa, pagarle sus gastos hospitalarios en Argentina. La contestación, sarcástica, de D. Pío, recordando que le habían acusado de robo de material valioso, terminó con aquellos intentos de acercamiento” (Arce, 2015).

Río-Hortega es probablemente, después de Cajal, el mayor neurohistólogo; reconocido a nivel internacional. Fueron colaboradores y discípulos suyos personajes tales como Felipe Jiménez de Asúa, Carlos Collado, Juan González Aguilar, Manuel Sánchez, Rafael Vara López, Isaac Costero Tudanca, José María Villaverde, Román Alberca, Antonio Llombart y Juan Manuel Ortiz Picón.

4.- La neuroglía con Cajal, Achúcarro y del Río-Hortega

Cajal vio las posibilidades del método de Golgi, aunque lo consideraba caprichoso y poco seguro. A su vuelta a Valencia, lo mejoró, sistematizó y, junto con sus colaboradores, ideó otros métodos de impregnación argéntica. Dentro de los métodos de tinción empleados por Cajal básicamente tenemos dos (<https://campus.usal.es/~histologia/histotec/neurotec/neurotec.htm>):

El Método de Nitrato de plata (1912). En este método, las muestras una vez fijadas se sumergen en una solución de nitrato de plata a la que se le añaden unas gotas de piridina hasta que los cortes toman un color amarillo. A continuación, se sumergen en una solución reductora que contiene formol e hidroquinona. Tras el lavado con abundante agua destilada los cortes se montan y nos permiten observar los haces de microtúbulos y neurofilamentos del soma, axones y dendritas que se tiñen en negro sobre fondo claro. Es una técnica muy mejorada de la de Golgi y permite el estudio de las prolongaciones neuronales, obteniendo una imagen más completa del tejido nervioso. Aunque no es posible advertir ni el núcleo ni detalles citológicos, sí nos permite ver el neuropilo. Es, por tanto, un método para terminaciones nerviosas.

El método de sublimado de oro (1913). En este método, las muestras, una vez fijadas entre 2 y 15 días en una solución de formol-bromuro, se sumergen en una solución de cloruro de oro (solución mezcla de cloruro de mercurio y cloruro de oro pardo al 1%) recientemente preparada, la cual precipita sobre los neurofilamentos (filamentos intermedios) de algunas células (representados en su mayor parte por la Proteína Ácida Fibrilar de la Glía: GFAP). Posteriormente los cortes se sumergen en una solución fijadora conteniendo hiposulfito de sosa al 5-10% y bisulfito sódico. Al teñirse de negro tanto el soma como las prolongaciones (que se extienden en varias direcciones) destacan sobre un fondo amarillo, y por lo tanto los astrocitos aparecen como estrellas oscuras (Figuras 2 y 3). Es, fundamentalmente, un

método para astrocitos debido a que la GFAP no se encuentra en todas las células gliales: sólo en el citoplasma de los astrocitos. En los oligodendrocitos, por ejemplo, no aparecen (Inagaki y cols., 1994; Guillamón-Vivancos y cols., 2015).

Ya en 1889 Cajal afirmaba que:

“El método de Golgi y las preparaciones por disociación nos han demostrado palmariamente la individualidad absoluta de todas las células neurólicas, incluyendo las fibras de Müller, tanto en el estado adulto como en el embrionario” (Ramón y Cajal, 1889).

Con respecto a la neuroglía, Cajal se preguntaba:

“¿Qué significación funcional debemos otorgar a la neuroglía? Desgraciadamente, en el estado actual de la ciencia no es posible contestar a la importante pregunta más que mediante conjeturas más o menos racionales. En presencia de este problema, el fisiólogo se halla, por falta de métodos, totalmente desarmado” (Ramón y Cajal, 1899).

María Teresa Miras nos señala, en su magnífico Discurso inaugural del curso 2017 en la Real Academia Nacional de Farmacia, que Cajal tenía su propia visión de la función de los astrocitos:

“Todo astrocito de la substancia blanca o gris está provisto de un aparato chupador o pedículo perivascular. El aparato chupador constituye no sólo una disposición constante de los astrocitos de la substancia blanca, sino uno de los factores neurólicas más importantes de los centros. Semejante generalidad, junto con el hecho de que en los animales de pequeña talla (conejo, cobaya, etc.), y en los en curso de evolución (perro y gato de pocos días), el órgano chupador constituye la más espesa, y a veces la única expansión perceptible y bien coloreable del astrocito denotan que el susodicho apéndice debe desempeñar cometido fisiológico de primer orden”.

A pesar de los grandes avances tecnológicos,, todavía hoy en día quedan muchas incógnitas para comprender la función de los astrocitos en el entramado del tejido nervioso (Miras Portugal, 2017)

Para poder entender cuáles eran las sombras en las que se movían los investigadores en aquella época, creo que es ilustrativo poder leer lo que referente a la neuroglía de la médula espinal, Ramón y Cajal publicaba en 1889 en la revista *Histología Normal y Patológica*, que era el Órgano del Laboratorio de Histología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona, y que él dirigía:

“En la neuroglía es preciso distinguir dos formaciones: el epitelio endodermal o células radiales, y los corpúsculos estrellados o aracniformes”.

Respecto a las que denomina como células en araña o células aracnoides o de Deiters, y refiriéndose a la médula espinal nos dice que

“no son medianamente reconocibles en la médula embrionaria de pollo hasta el décimo día de incubación. El paraje donde se las ve, primeramente, es la parte anterior del asta motriz; luego se las halla en la sustancia blanca de los cordones antero-laterales, y por último en el resto de la médula. ¿De dónde provienen estas células en araña? Para nosotros la contestación es bien sencilla. Las células citadas no son otra cosa que elementos del epéndimo dislocados y profundamente transformados” (Ramón y Cajal, 1889). Así, nos explica que *“La sola cuestión que a nuestro juicio queda por resolver es el cómo ocurre y a qué causas obedece la dislocación sufrida por las células en araña en sus fases primitivas. Pudiéranse aquí invocar movimientos activos; pero esto no explicaría el por qué estas células ciegamente emigradas conservan su orientación y hasta sus apéndices fundamentales. Así que nosotros nos inclinamos a pensar que todo depende de la segmentación de los corpúsculos endodermiales, Estos se alargaron primero ocupando todo el*

espesor medular, luego se escindieron en una porción central y otra periférica. La central conservará su carácter epitelial, formando parte del revestimiento del epéndimo, sin otras variaciones que la ramificación y transformación de su expansión periférica; la periférica, una vez desligada de su convergencia forzada, se transformará poco a poco en un corpúsculo en araña. Conspira también en favor de esta opinión: 1° el aumento sucesivo de las células neuróglícas, en los embriones de pollo de 12, 14, 16, etc. días. 2° El encuentro de fases de partición en algunas fibras radiales” (Ramón y Cajal, 1889).

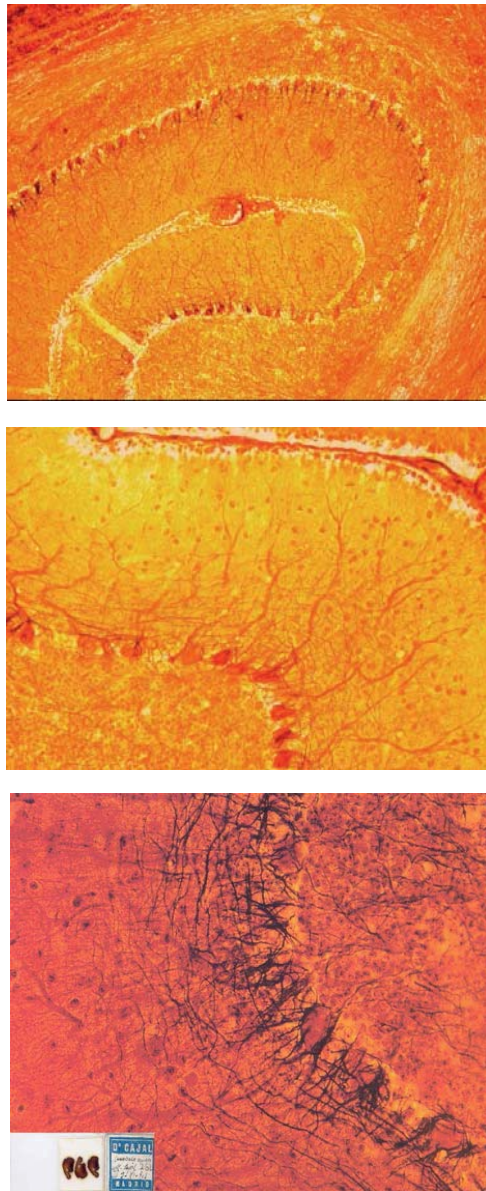


Figura 2. Imágenes de cerebelo de conejo procedentes de una preparación histológica de Ramón y Cajal (ver recuadro) teñida mediante la tinción de sublimado de oro. Adviértase la finura de la tinción y el magnífico aspecto de las células de Purkinje y de su árbol dendrítico. Cortesía del Museo Vasco de la Medicina de la Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea.

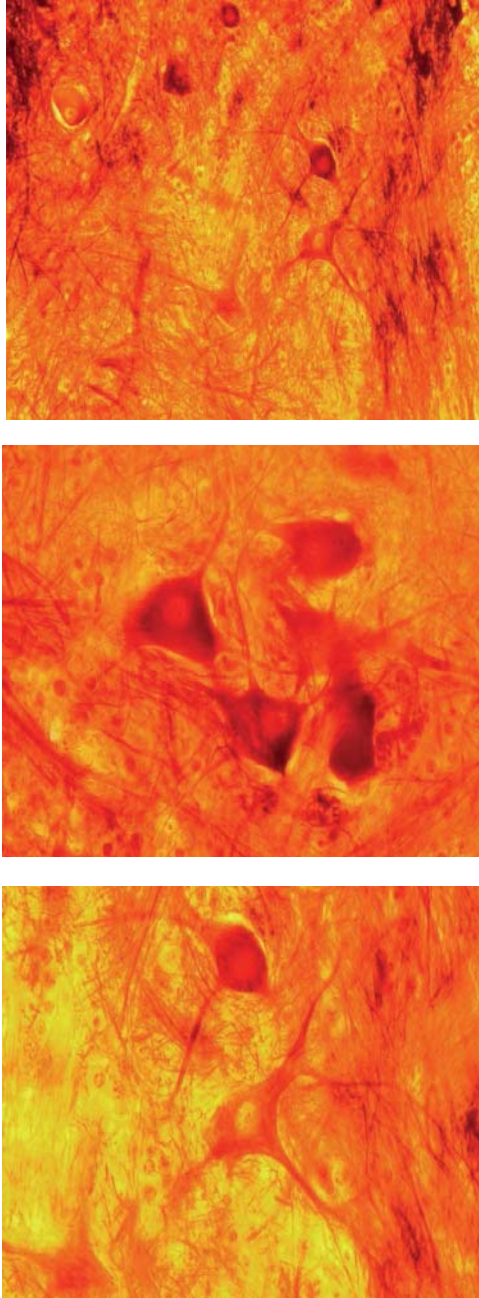


Figura 3. Imágenes de médula espinal de conejo procedente de una preparación histológica de Ramón y Cajal teñida mediante la tinción de sublimado de oro. Cortesía del Museo Vasco de la Medicina de la Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea.

Respecto a las células endimarias Cajal refiere que Golgi había sido el primer autor que valiéndose de su método ha demostrado por modo evidente la forma y disposición verdaderas de las células epiteliales o del epéndimo. Por su parte, Cajal las describe como

“células larguísimas, recias en su parte interna donde albergan el núcleo, y delgadísimas en su porción periférica, la que después de atravesar radialmente toda la médula, vendría a terminarse debajo de la pía-mater”
(Ramón y Cajal, 1889)

Nicolás Achúcarro se entusiasmó con las nacientes técnicas histoquímicas y los hallazgos que estas permitían, orientándose hacia las funciones metabólicas y endocrinas de la neuroglía y la gliarquitectura. Para Fariña y Escalona

“Achúcarro fue el primer español interesado en el estudio de las células intersticiales del Sistema Nervioso Central, dedicado hasta entonces, por la gran influencia de Cajal, al estudio de las neuronas y sus conexiones”
(Fariña-González y Escalona-Zapata, 2005).

Según nos refiere el profesor Manuel Vitoria (Vitoria, 1977) Cajal tenía en gran consideración la capacidad técnica de Achúcarro, expresando que:

“hizo uso, no sólo de los métodos analíticos conocidos sino de técnica propia y personalísima; porque Achúcarro era, ante todo y sobre todo, un técnico primoroso e incansable rebuscador de nuevas reacciones reveladoras”.

Achúcarro se preguntaba por qué el método de Golgi, que había dado tan buenos resultados en el estudio de la neuroglía, no lo hacía al ser aplicado a la histopatología del sistema nervioso. Por ello, se esforzó en tener una técnica que pudiese teñir unos elementos gliales que no podían distinguirse bien con los métodos existentes, lo que le llevó a inventar en 1911 (Achúcarro, 1911a; Achúcarro, 1911b) el método del tanino y la plata amoniacal (Figura 4).

Manuel Vitoria (1977) nos describe minuciosamente el método de tinción con tanino y plata amoniacal de Nicolás Achúcarro:

“los cortes de piezas fijados en formol al 10% y ejecutados al micrótopo de congelación, son llevados después de un breve lavado en agua destilada a una solución saturada en frío, de tanino, donde se calientan hasta desprendimiento de vapores, pero sin permitir la formación de burbujas. Se deja enfriar el líquido y después de breve lavado en agua destilada los cortes se tratan individualmente del método siguiente: se prepara la solución de plata amoniacal como para el método de Bielschowsky, pero sin diluir en agua, y de esta solución se vierten de seis a ocho gotas en un pocillo cristizador mezclándola con 10cc. de agua destilada. A poco de introducir un corte, tratado como anteriormente se ha dicho, en esta mezcla, se desprende de la periferia del corte una coloración parda. El corte se tiñe de amarillento y entonces se traslada al formol al 10% donde el corte se oscurece rápidamente. Después de diez minutos de permanencia en el formol, puede ser trasladado al agua y montado como de ordinario”.

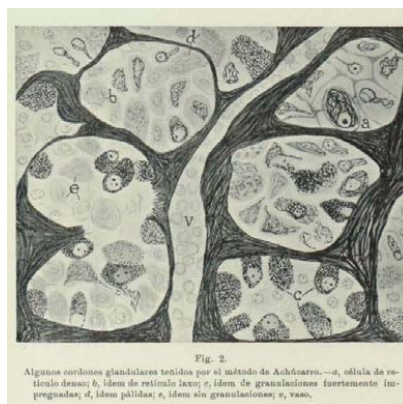
El método descrito por Achúcarro supuso una mayor eficacia a la hora de teñir la neuroglía, con respecto al clásico método existente del alemán Max Bielschowsky (1869-1940), aunque no permitía hacer estudios sistemáticos de la misma, fundamentalmente porque no ofrecía coloraciones adecuadas del citoplasma de la neuroglía y de sus relaciones con las neuronas, motivo por el cual utilizó también el método del oro-sublimado que Cajal publicó en 1913 (López Piñero, 1968).

Además de para colorear la neuroglía, la técnica de Achúcarro, también se demostró muy útil para teñir las fibras reticulares del tejido conjuntivo, lo que le permitió aportar interesantes contribuciones acerca de las lesiones vasculares presentes en la parálisis general progresiva (también conocida como neurosífilis parética) (<https://jralonso.es/2014/08/11/achucarro/>). Así, Fernández Galiano (1916) describe este método con ligeras variaciones para

el estudio del tejido conjuntivo.

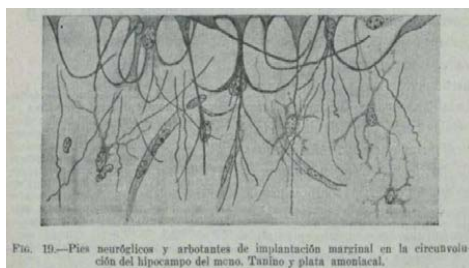
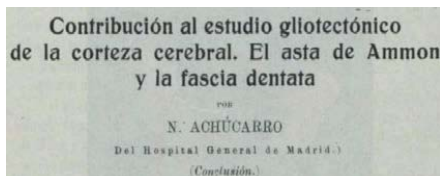
A finales del siglo XIX y principios del XX, se trabajaba y discutía mucho sobre las células intersticiales del tejido nervioso, que había “entre” las neuronas. Ya hemos comentado la identificación de la neuroglía por parte de Virchow, y cómo se habían podido identificar, por tanto dos elementos celulares: las neuronas y los astrocitos. Los trabajos de Cajal y de Achúcarro utilizando sus propias preparaciones les permitieron describir detalladamente los dos tipos de astrocitos que en 1893 había identificado Andriezen: los astrocitos protoplasmáticos (con prolongaciones cortas y anchas) y los astrocitos fibrosos (con prolongaciones largas y finas). Achúcarro también se interesó en las prolongaciones de los astrocitos que tomaban contacto directo con los capilares formando unos ensanchamientos terminales que ya habían sido descritos en 1855 por Camilo Golgi, y que hoy en día son conocidos como “pies vasculares”. Achúcarro consideró que estas estructuras se encargaban de tomar los nutrientes de la sangre para transportarlos hasta las neuronas, ya que éstas al ser tan especializadas no serían capaces de alimentarse por sí mismas (Achúcarro, 1915a; Achúcarro, 1916). En ocasiones se hace referencia a esas terminaciones como “trompas de Achúcarro” o “pies chupadores de Achúcarro” (Aguirre Viani, 2005).

Pero, si hay algo por lo que se conoce la obra de Nicolás Achúcarro es por sus estudios sobre las “células en bastoncito” o “Stäbchenzellen” (Figura 5). Éstas pertenecían al “tercer elemento” de los centros nerviosos, en palabras de Cajal. Tercer elemento que William Ford Robertson (1867-1923) ya había descrito confusamente en 1900 denominándolo mesoglía (Robertson, 1900), en la que se incluían todas las células de núcleo redondo u oval, citoplasma invisible y sin prolongaciones citoplasmáticas (Fariña-González y Escalona-Zapata, 2005). Así, Cajal aceptaba la existencia de dos elementos diferenciados en la histología del sistema nervioso: el primer elemento era la neurona y el segundo elemento era la neuroglía astrocitaria (protoplasmática y fibrosa).



Revista Clínica de Madrid. Año IV, nº 16: 121-137. 15-agosto-1912. Biblioteca Nacional de España.

Tomada de <http://mental.net/admin/archivosboletin/Achucarro.pdf>



Revista Clínica de Madrid. Año VII, nº 12: 454-470. 30-junio-1915. Biblioteca Nacional de España.

Imagen tomada de Achúcarro N. Contribución al estudio gliotectónico de la corteza cerebral. El asta de Ammon y la fascia dentata. Revista Clínica de Madrid. Año VII, nº 12: 454-470. 30-junio-1915. Biblioteca Nacional de España.

Figura 4. Imágenes de la publicación del método del tanino y la plata amoniacal (arriba) y de la aplicación de este método al conocimiento de la glioarquitectura de la corteza cerebral (abajo) realizadas por Nicolás Achúcarro.

El tercer elemento era algo que no podía distinguirse bien y se describía como formado por elementos adentríticos; y de los cuales Achúcarro comentó que

“en realidad no se sabe nada de la naturaleza y significación fisiológica de dichos corpúsculos” (<https://dicciomed.usal.es/palabra/microglia>).

Achúcarro se esforzó en estudiar las células en bastoncito que ya en 1898 habían sido descubiertas por Franz Nissl (1860-1919) en paralíticos cerebrales y cuya naturaleza y función eran muy discutidas. Aunque inicialmente Nissl consideró a estas células como de naturaleza neuróglia, los estudios de Alzheimer inclinaron decididamente la opinión hacia el origen mesodérmico de las células en bastoncito, las cuales provendrían de los vasos sin que pudiera afirmarse, ni fuera probable, que tuvieran una relación estrecha con la neoformación vascular (Achúcarro y Gayarre, 1914a). Fue precisamente para poder conocer la naturaleza de esas células en bastoncito para lo que desarrolló el método del tanino y la plata amoniacal (Achúcarro, 1911b; Achúcarro, 1912). Aunque no llegó a descubrir su significado, sí lo hizo su discípulo Pío del Río Hortega, quien aclaró importantes cuestiones relativas a su significado funcional; como veremos más adelante.

El gran médico e historiador de la ciencia López Piñero nos refiere que Nicolás Achúcarro, en su tesis doctoral planteaba que las células en bastoncito eran formas de adaptación de las neuronas piramidales del Asta de Ammon del hipocampo que se encontraban en fase de degeneración. En las zonas situadas alrededor de las lesiones que él experimentalmente provocaba en el asta de Ammon de conejos, pudo observar como las células en bastoncito almacenaban gotas de grasa y lipoides, tanto en mayor cantidad cuanto más cercanas estaban al foco de necrosis. Así, planteaba que su principal función era la de fagocitar los restos de las neuronas tras los procesos inflamatorios (Achúcarro, 1910a; 1910b; López Piñero, 1968). También señaló que las células en bastoncito migraban desde los vasos presentes en los focos inflamatorios, proponiendo que serían unas células fagocíticas con un origen mesodérmico (serían leucocitos especializados) que se adaptarían mecánicamente a la forma y direccionalidad de los procesos

neuronaes; aunque no descartaba que también algunas poblaciones de las mismas tuvieran un origen neural.

Se interesó en la relación existente entre la neuroglía y las modificaciones patológicas observables en el sistema nervioso (Achúcarro, 1911a). Así, junto con su discípulo Miguel Gayarre hizo una importante contribución al papel que desempeña la neuroglía tanto en la parálisis cerebral como en la demencia senil; y en concreto en la alteración celular que se produce en la enfermedad de Alzheimer. Achúcarro defendió, tanto en 1910 (Achúcarro, 1910b) como en 1914 (Achúcarro y Gayarre, 1914b), el papel de la glía en la formación de los ovillos neurofibrilares, siendo el primero en establecer en 1910 la posibilidad de que estos ovillos pudieran originarse también a partir de alteraciones fibrilares de la neuroglía, que se confundirían en su fase final con los ovillos neurofibrilares descritos por Alzheimer en la conocida como enfermedad de Alzheimer (Alzheimer, 1907).

El estudio de los elementos del sistema nervioso le llevó a interesarse por el conocimiento de cómo se disponía la neuroglía, tanto en la corteza como en la sustancia blanca del cerebro. Hasta entonces se había utilizado el término citoarquitectura para referirse a la disposición estratificada de las neuronas, y fue precisamente Achúcarro quien propuso el de gliotectonia (Figura 4) (Achúcarro, 1913a; Achúcarro, 1913b). Se pensaba que la gliotectonia cortical podría constituir «*un amplio campo de investigación abierto al estudio de la corteza patológica*» (Achúcarro, 1914; Achúcarro, 1915b; <https://jralonso.es/2014/08/11/achucarro/>). Según José María López Piñeiro (1933-2010) los resultados obtenidos en la gliotectonia son...

“sin duda uno de los aspectos de mayor trascendencia de su contribución científica”, pues comprobó que “la topografía del asta de Ammon y en la fascia dentada corresponde a la disposición en estratos de las neuronas en estas regiones” y también que “en los organismos más avanzados filogenéticamente (hombre y mono) aparece una mayor diferenciación de la neuroglía, tanto en su variedad protoplasmática como fibrosa” (López Piñeiro, 1968).

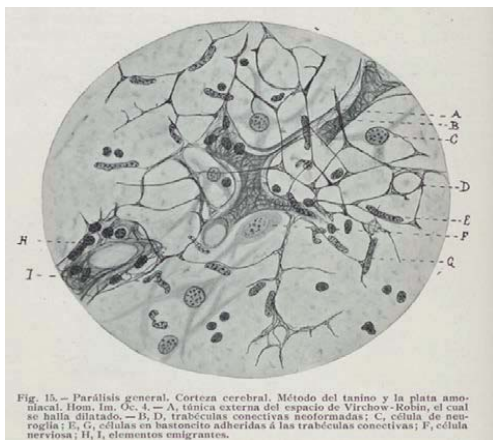


Fig. 10. — Parálisis general. Corteza cerebral. Método del tanino y la plata amoniacal. Hom. Im. Ox. 4. — A, túnica externa del espacio de Virchow-Robin, el cual se halla dilatado. — B, D, trabéculas conectivas neoformadas; C, célula de neuroglia; E, G, células en bastoncito adheridas a las trabéculas conectivas; F, célula nerviosa; H, I, elementos emigrantes.

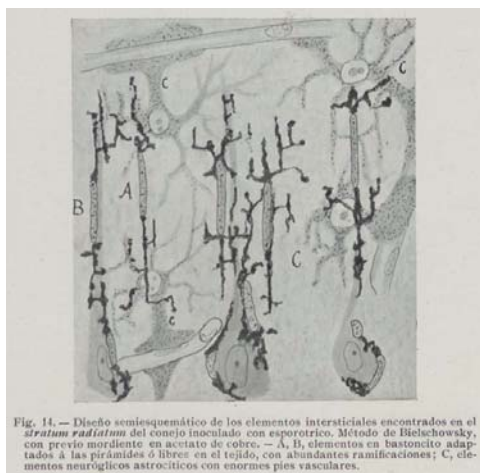


Fig. 11. — Dicho semiesquemático de los elementos intersticiales encontrados en el *stratum radiatum* del conejo inoculado con esporotricosis. Método de Bielschowsky. — A, B, elementos en bastoncito adaptados a las pirámides ó libres en el tejido, con abundantes ramificaciones; C, elementos neuroglicos astrocíticos con enormes pies vasculares.

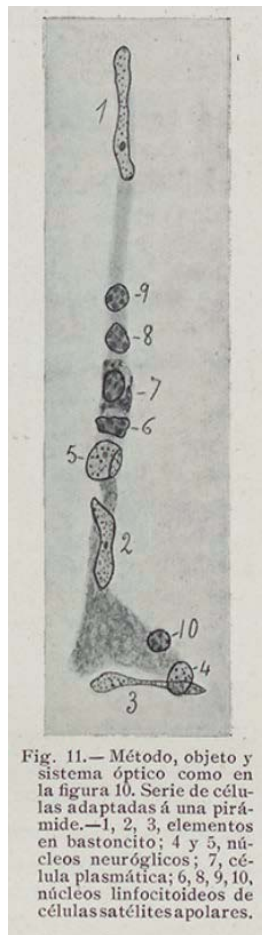


Fig. 11. — Método, objeto y sistema óptico como en la figura 10. Serie de células adaptadas a una pirámide. — 1, 2, 3, elementos en bastoncito; 4 y 5, núcleos neuroglicos; 7, célula plasmática; 6, 8, 9, 10, núcleos linfocitoideos de células satélite apolares.

Imagen tomada de Achúcarro y Gayarre. La corteza cerebral en la demencia parálítica con el nuevo método del oro sublimado de Cajal. Trab Lab Invest Biol Univ Madrid 12: 1-38. 1914. Biblioteca Nacional de España.

Figura 5. Imágenes representativas de la morfología y disposición de las “células en bastoncito” en la corteza cerebral, que fueron objeto de gran interés por parte de Nicolás Achúcarro.

En 1917 la neuroglía representaba un tema de gran interés entre los histólogos debido a que el método de Golgi y el del oro sublimado de Cajal habían permitido acercarse mucho al conocimiento casi completo de sus características generales. Río-Hortega, que utilizaba habitualmente esos métodos, junto al de Achúcarro, seguía sin poder esclarecer la diversidad de resultados que se obtenían, tanto debido a factores intrínsecos al objeto de estudio (tales como las variaciones regionales en la coloración de la glía) como extrínsecos, la temperatura, entre otros. En 1918 Río-Hortega da con un método que le va a permitir resolver ese enigma, según nos refiere Pedro Cano con gran meticulosidad (Cano Díaz, 1985):

“una mañana, en el antiguo laboratorio de Investigaciones Biológicas de Cajal, Río-Hortega iba a confeccionar el óxido de plata amoniacal de Bielschowsky. Tuvo Don Pío la feliz ocurrencia de verter sobre la solución de nitrato de plata otra solución saturada de carbonato de litio, que tenía a mano, y disolver después con amoniaco el precipitado lechoso que se había producido”. Nos refiere la sorpresa de don Pío al comprobar cómo “la neuroglía fibrosa se teñía más fácilmente y con más selectividad que con ningún otro método conocido”, aunque él mismo lo refirió humildemente diciendo que “no carece de interés el hallazgo de un nuevo y sencillo método”.

En su publicación, Fernando de Castro nos relata cómo Río-Hortega no conseguía obtener buenas preparaciones de la glía para el estudio gliotectónico de la corteza cerebral, sobre todo de las capas más superficiales, y cómo la aplicación de su nuevo método...

“fue fecunda en revelarla desde el primer momento, con nitidez y abundancia sorprendente” (Castro, 1945).

De esta manera, gracias al perfeccionamiento de los métodos de Achúcarro y también al desarrollo de un método propio basado en el carbonato de plata amoniacal, Río-Hortega pudo describir la microglía normal y patológica y la oligodendroglía. Básicamente, podemos decir que el método del Río-Hortega

utiliza nitrato de plata y carbonato de litio, formando un precipitado de carbonato de plata. Éste se reduce con formol y vira con cloruro de oro. Como resultado, los astrocitos se ven muy bien delimitados, con sus prolongaciones de color negro y fondo amarillo. Existen además variaciones de esta técnica para la demostración de oligodendroglía y microglía.

En una comunicación en la Real Sociedad Española de Historia Natural con el título: “Histogénesis y evolución, éxodo y distribución regional de la microglía”, Pío del Río-Hortega describió la microglía, su origen y función, al mismo tiempo que rebatía la inconcreta descripción relativa a la génesis y funciones de estas células (Cronobiografía Dr. Pío del Río Hortega, 2012). Escribe Río-Hortega:

“Cuando en periodos avanzados del desarrollo embrionario, la vascularización cerebral alcanza gran desarrollo, la microglía, cuya aparición se retrasa con respecto a los vasos, surge en la sustancia blanca central cerca de las cavidades ventriculares, pero sin tener el más pequeño contacto con el epitelio que las tapiza, cuyas células, al dislocarse y emigrar, engendran neuroblastos y glioblastos, o sea el primero y segundo elemento del tejido nervioso. La microglía (tercer elemento) como vamos a demostrar, tiene origen distinto..... Resulta, pues, de esta breve exposición que la microglía cerebral se forma en la vecindad de las meninges, tela coroidea superior y tractus conjuntivo que une a los plexos coroideos laterales, especialmente, y que desde los sitios recubiertos por tales membranas irradia en varias direcciones hasta diseminarse por toda la masa cerebral... la formación de la microglía en el cerebro se inicia y prosigue lentamente, hasta los días que preceden al nacimiento y después de éste toma rápido incremento, llegando a su mayor apogeo hacia el cuarto día” (<http://mah.sen.es/index.php/exposiciones-actividades/descubre/item/79-pio-del-Rio-Hortega-1882-1945>).

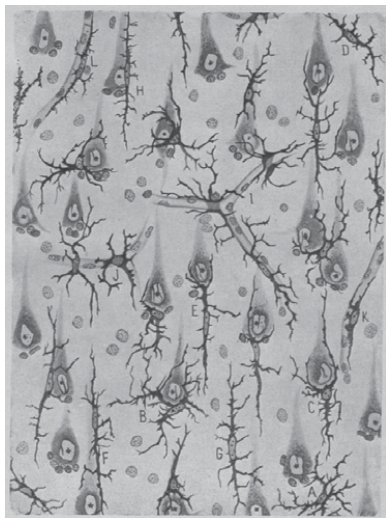
Fue Río-Hortega quien entre 1920 y 1921 tipificó exactamente las células del “tercer elemento” y desveló el verdadero significado de las células en

bastoncito y de los cuerpos gránulo-adiposos de Achúcarro (Figura 6). Así pues, las células apolares que Cajal había descrito utilizando el método de formol-urano que había desarrollado hacia 1912, resultaba que no existían como tales sino que estaban muy ramificadas. Este método de formol-urano permite precisar numerosos detalles acerca de la disposición, fases evolutivas y conexiones del aparato de Golgi (López Piñero, 1988).

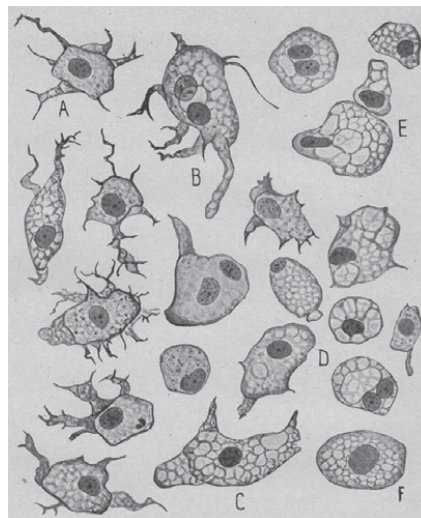
Además, en ese “tercer elemento” Río-Hortega incluía dos tipos diferentes de células:

1. Una de origen mesodérmico y que denominó microglía, la cual adoptaba morfologías diferentes en función de su estado funcional (cuando entraban en actividad se transformaban en células redondas o panzudas repletas de material fagocitado en su citoplasma: los cuerpos gránulo-adiposos) (Río-Hortega, 1920a; Río-Hortega, 1920e; Río-Hortega, 1921a; Río-Hortega, 1924a). Acuñó el término microglía caracterizando su origen embrionario y su significado funcional (Río-Hortega, 1920b; Río-Hortega, 1920c; Río-Hortega, 1920d) y resolvió el enigma de las células en bastoncito, o “Stäbchenzellen”, describiendo la microglía normal y patológica (Río-Hortega, 1920e; Río-Hortega, 1924b).
2. Y otra, que aún no había sido descrita, y que él denominó oligodendroglía o glía con núcleo redondo y escasas prolongaciones que se enrollan alrededor de las fibras nerviosas generando la mielina (Río-Hortega, 1921b; Río-Hortega, 1928; Iglesias-Rozas y Garrosa, 2012). Consideró a los oligodendrocitos como células de origen ectodérmico, y por lo tanto como parte del segundo elemento junto con los astrocitos (Pérez-Cerdá y cols., 2015). Después de la redefinición de la glía fascicular como oligodendroglía (del Río-Hortega, 1922), aclarando su histogénesis y función (Cano Díaz, 1985; Lassmann, 2012; Iglesias-Rozas y Garrosa, 2013), fue Wilder Penfield (1891-1976) quien reafirmó y describió el papel de los oligodendrocitos en la formación de mielina (Penfield, 1924).

Los resultados de Río-Hortega sobre la microglía estuvieron prácticamente inmutables hasta 1988, cuando Hickey y Kimura confirmaron las observaciones de Río-Hortega y refirieron que su actuación era similar a la de los macrófagos, incluyendo un importante papel inmunológico (Hickey y Kimura, 1988).



Aspecto de la corteza cerebral humana en un paciente con meningitis. E, F, G y H, diferentes tipos de "células en bastoncito".



Últimas etapas de la formación de los cuerpos granulo-adiposos en el centro de una herida cerebral. C, D, E y F, aspectos globulares con estructura reticular y contenidos grasos.

Imágenes procedentes de: Río-Hortega P. El tercer elemento de los centros nerviosos. II Intervención de la microglía en los procesos patológicos (células en bastoncito y cuerpos gránulo-adiposos). Bol. Soc. Esp. Biol. 8: 91-103. 1920. *Imágenes tomadas de Sierra et al, Glia 2016*

Figura 6: Como puede advertirse en las imágenes, la microglía adopta morfologías diferentes en función de su estado funcional: cuando entran en actividad adoptan aspectos laminares y globulares (izquierda) y finalmente se transforman en células redondas o panzudas repletas de material fagocitado en su citoplasma: los cuerpos gránulo-adiposos (derecha).

5.- La neuroglía a mediados del siglo XX y principios del XXI

El conocimiento de la biología de la neuroglía desde las aportaciones de Río-Hortega hasta nuestros días se ha incrementado de tal manera que excede los límites de esta publicación. Tan sólo señalaremos algunas de las numerosas aportaciones científicas existentes.

La invención en 1931 del microscopio electrónico de transmisión (MET) por Ernst Ruska y Max Knoll permitió un conocimiento más detallado de la estructura celular y subcelular (sobre todo en la década de los cuarenta y cincuenta del siglo pasado). Sin embargo, el conocimiento del tejido nervioso no se vio inicialmente muy favorecido debido a que las tinciones que se empleaban no servían para teñir las secciones ultrafinas (menos de 100 nanómetros de grosor) que se utilizan en microscopía de transmisión (Ham, 1970). Así, el problema de la identificación celular se abordó inicialmente correlacionando las características que las neuronas y las células gliales presentaban a microscopía de luz con el aspecto de esas mismas células mediante microscopía electrónica (Luse, 1956a).

Sarah Luse (1918-1970) fue una pionera tanto en el campo de la investigación como en el estudio del sistema nervioso mediante microscopía electrónica llegando a ser una autoridad indiscutible en ultraestructura. También deseamos destacar que participó como consultora del prestigioso Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de Estados Unidos y que perteneció a diferentes comités de los también prestigiosos Institutos Nacionales de la Salud de Estados Unidos. Dicho esto, y para mostrar su alto nivel de competencia, permítannos citarla para mostrar lo cauto que se era en aquellos años al establecer criterios que fueran fiables:

“el aspecto de la neurona en las preparaciones de microscopía electrónica es similar al que se observa mediante microscopía de luz con varias dendritas que tienen un citoplasma similar al del pericarion. Las sinapsis son relativamente comunes en la superficie de la neurona y en sus

dendritas. Las células de la microglía son relativamente pequeñas y densas con escasas prolongaciones, y en la mayoría de las ocasiones se disponen como satélites perineuronales y perivasculares. Las células oligodendrogiales son identificables por su posición como satélites perineuronales, y en la sustancia blanca como células dispuestas en hileras. Ellas tienen un núcleo uniformemente redondo u ovoideo con un citoplasma pálido, el cual presenta un componente finamente granular dispuesto de manera dispersa y unas pocas y pequeñas mitocondrias. Los astrocitos son de aspecto variable. Sus núcleos moderadamente grandes, irregularmente ovoideos y el citoplasma adyacente al núcleo finamente granular y escaso. (.....). Los procesos citoplasmáticos de los astrocitos a menudo rodean axones, a otros procesos celulares, y también a algunos vasos sanguíneos mientras que se adherían a una parte de la pared de otro vaso” (Luse, 1956a).

Sin olvidar que en los primeros años de utilización del MET había que estar seguro de si lo que se estaba observando era algo que se correspondía con la realidad o simplemente eran artefactos (tanto consecuencia del procesamiento de las muestras como de la tinción). Por ello, muchas de las identificaciones no eran más que meras suposiciones. En la década de los 50 y de los 60 hubo un gran interés por la neuroglía, lo que se tradujo en un aumento en el número de publicaciones (Glees, 1955; Palay, 1958; Windle, 1958; Nakai, 1963; Mugnaini y Walberg, 1964; De Robertis y Carrea, 1965; Kuffler y Nicholls, 1966).

Cabe destacar el trabajo de De Robertis y Gerschenfeld sobre la morfología submicroscópica y la función de las células gliales (principalmente astrogliá y oligodendrogliá), en el cual analizan la morfología de los astrocitos, así como su significado funcional en relación al intercambio de agua e iones, sobre la permeabilidad capilar y sobre las barreras fisiológicas del cerebro. También prestaron especial atención a la ultraestructura de los oligodendrocitos interfasciculares de la sustancia blanca en relación al mecanismo celular que se produce en la síntesis de lipoproteínas durante la mielinización (De Robertis y Gerschenfeld, 1961).

El profesor argentino Eduardo De Robertis (1913-1988) llegó a distinguir en los axones lo que llamaría neurotúbulos (forman parte del citoesqueleto neuronal) (De Robertis y Schmitt, 1948; De Robertis y Franchi, 1953) y demostró la importancia del papel fisiológico de las vesículas sinápticas en la neurotransmisión, confirmando la individualidad de las neuronas hasta en sus componentes más microscópicos (De Robertis y Thornburg, 1956). Es ilustrativo consultar su magnífico tratado de Biología Celular y Molecular que desde 1946 ha servido de libro de texto a muchas generaciones, y en cuya décima edición de 1981 se explica y describe con finura y claridad el conocimiento que en las postrimerías del siglo pasado existía sobre la neurobiología celular y molecular (De Robertis y De Robertis, 1981).

En la década de los 70 se produjo un auge en el interés por la citoarquitectura debido a la aparición de nuevos métodos de estudio que, entre otras cosas, permitían trazar las conexiones axonales de las diferentes partes de la corteza cerebral. Responsables de este interés fueron los trabajos que mostraban que varias áreas citoarquitectónicas tenían diferentes conexiones corticales y subcorticales (Yorke y Caviness, 1975; Broadwell y Bleier, 1976; Akers y Killackey, 1978; Jones y cols., 1978; Goldman-Rakic, 1981). Recuérdese que hacía ya muchos años que Korbinian Brodmann (1868-1918), cuyo objeto de trabajo era la organización de la corteza cerebral humana, había publicado (1909) su investigación original sobre citoarquitectura cortical (tomado de Wikipedia: https://es.wikipedia.org/wiki/Korbinian_Brodman) donde describía las que se conocen como Áreas de Brodmann y que se asocian con determinadas funciones nerviosas.

Estos años fueron, quizás, la era dorada del estudio de la citogénesis del sistema nervioso y de sus conexiones gracias al desarrollo de métodos más precisos (Arees y Mayer, 1967; Fink y Heimer, 1967; Cowan y cols., 1972; Fujita, 1980).

Por su parte, el conocimiento de los oligodendrocitos se ha prolongado mucho en el tiempo debido fundamentalmente a que no ha habido ninguna técnica de

tinción adecuada para su observación, como ocurría con el método de sublimado y cloruro de oro de Cajal para los astrocitos y con el método de carbonato de plata de Río-Hortega para la microglía (Ham, 1970; Iglesias-Rozas y Garrosa, 2013).

Ya se ha comentado cómo Wilder Penfield fue una figura clave, al completar la caracterización de los oligodendrocitos y su relación con la neuroglía clásica (Penfield, 1924). En el artículo de Gill y Binder se describe la contribución de Penfield en la caracterización de las células gliales en colaboración con los maestros Santiago Ramón y Cajal y Pío del Río-Hortega durante sus estudios en el laboratorio de Histología Normal y Patológica de la Residencia de Estudiantes en Madrid en 1924 (Gill y Binder, 2007). Fue precisamente haciendo esa estancia en Madrid con Río-Hortega para completar su formación de neurocirujano cuando estudió la caracterización de la oligodendroglía. Con posterioridad editó una serie de tres volúmenes con contribuciones de diferentes autores (algunos tan prestigiosos como Pearce Bailey, Alfred Bielschowsky, Stanley Coob, Pío del Río-Hortega, Cornelius Kappers, Heather Woods y él mismo) bajo el título genérico "*Cytology and celular pathology of the nervous system*" (Penfiel, 1932a) y en cuyo segundo volumen Penfield escribe acerca de la neuroglía (Penfiel, 1932b).

A finales de la década de los 50 el proceso de mielogénesis era objeto de discusión y no estaba nada claro si la formación de la vaina de mielina alrededor de los axones de las neuronas (tanto en el sistema nervioso central como periférico) se producía como consecuencia de un proceso de síntesis de nueva membrana en el citoplasma del oligodendrocito o si era el resultado de un envolvimiento del axón por parte del oligodendrocito (Robertson, 1955; Luse, 1956a; Luse, 1956b; De Robertis y cols., 1958; Porter, 1959; Peters, 1960). Richard Bunge llevo a cabo una importante contribución al demostrar el papel de los oligodendrocitos en la mielización del axón, dilucidando el hecho de que la mielina tiene un origen oligodendrocitario, lo que ya había sido apuntado por Río-Hortega al homologar la oligodendroglía a las células de Schwann (Río-Hortega, 1922). En su magnífico trabajo, Bunge (1968) comenta que:

“A pesar de la abundante literatura existente, en esta revisión se cree que es necesaria una discusión que se ocupe principalmente de la citología de la sustancia blanca del Sistema Nervioso Central. Hay datos, tanto antiguos como nuevos, relativos a la citología (.....) de la sustancia blanca del sistema nervioso central que no han sido reunidos y presentados conceptualmente como se pretende aquí”. En su revisión aborda lo que él considera como “ciertos aspectos histológicos, citológicos, patológicos y fisiológicos de la vaina de mielina”, dejando establecido el concepto de que “el oligodendrocito y la vaina de mielina son una unidad sinónima, de tal manera que los componentes citoplasmáticos de la vaina de mielina mantienen continuidad con la célula relacionada con la mielina. La vaina de mielina, además, permanece como una parte de esa célula” (Bunge, 1968).

Los trabajos de Mori y Leblond también fueron añadiendo importantes aportaciones sobre la morfología de los oligodendrocitos (Mori y Leblond, 1970). Estos autores estudiaron en el cuerpo caloso esas células que no se identificaban como microglía (la cual se tiñe con el método de carbonato de plata de Río-Hortega) y que tampoco podían ser identificadas como astrocitos (los cuales se tiñen con el método del cloruro de oro sublimado de Cajal). Esas células las estudiaron mediante microscopía de luz en secciones semifinas (1 µm) teñidas con Azul de Toluidina y mediante microscopía electrónica de transmisión en secciones teñidas con acetato de uranilo y citrato de plomo. Pudieron observar que *“esas células constituían un grupo numeroso y un tanto heterogéneo, pero tenían en común unos pocos rasgos: núcleos regulares, citoplasmas ricos en ribosomas y microtúbulos y un número variable de finos, estrechos y no ramificados procesos de diámetro uniforme. Debido a esos rasgos, estas células son en su conjunto oligodendrocitos”*. Y, además, establecieron tres grandes grupos: oligodendrocitos claros, de sombreado intermedio, y oscuros (Ling y Leblond 1973; Ling y cols., 1973; Paterson y cols., 1973).

Los endimocitos, en términos generales han recibido mucha menos

atención que los otros componentes neurogliales. Su función de tapizar los ventrículos cerebrales ha sido objeto de estudio en lo relativo a su relación con la glía astrocitaria subyacente que forma la lámina glial limitante interna. Son responsables, a nivel de los plexos coroideos de la formación de líquido cefalorraquídeo.

En lo referente a la microglía, también Mori y Leblond aportaron información relevante acerca de su morfología (Mori y Leblond, 1969). A la prudente y atinada descripción de Sarah Luse (Luse, 1956a) estos autores apuntaron que como características más sobresalientes de la microglía a microscopía electrónica destacaban

“un núcleo pequeño con una cromatina densa que contrasta con su claro nucleoplasma, y un citoplasma conteniendo cuerpos densos (presumiblemente lisosomas) y escaso retículo rugoso. Además, añaden que “se puede observar cómo alguna microglía es encontrada dentro de expansiones de la membrana basal de los capilares (microglía pericítica)” y que también hay evidencia de que “esas células pueden romper las membranas basales en las que están embebidas y entrar dentro del tejido nervioso propiamente dicho. Así, ellas pueden dispersarse individualmente entre las otras células y fibras. Estas células (microglía intersticial) emiten largas prolongaciones. (.....). Estas observaciones apoyan la idea clásica de que la microglía son macrófagos cerebrales” (Mori y Leblond, 1969).

Mori y Leblond también llevaron a cabo estudios con timidina tritiada para conocer su proliferación y después de constatar la ausencia de marcado en las autorradiografías concluyeron que *“la microglía no prolifera en condiciones normales”* (Mori y Leblond, 1969).

El gran maestro canadiense Arthur Ham (1902-1992), autor del excelente y clásico Tratado de Histología en el que hemos aprendido Histología muchas generaciones (Ham, 1970), en su edición de 1970 (la primera es de 1950) nos hace una breve, pero precisa descripción del estado del arte referente a la

microglía cuando dice que a finales de la década de los sesenta del siglo pasado el origen de la microglía era todavía objeto de debate.

“Se aceptaba que intervenía en la defensa de manera comparable a los macrófagos en otros territorios, y mayoritariamente se admitía su origen sanguíneo, probablemente a partir del monocito”. (Ham, 1970)

Sin embargo, su paso desde la sangre al interior del sistema nervioso era objeto de controversia debido a que tendrían que atravesar la membrana basal. Este hecho se intentaba explicar especulando que

“una vez que han atravesado la barrera de la célula endotelial, parece que se hallan incluidas en una expansión de la membrana basal del capilar, en la cual se transforma en una “célula peritelial”. Finalmente rompen su cubierta de membrana basal, en situaciones de emergencia, y penetran en el tejido cerebral” (Ham, 1970).

El origen de la microglía seguía siendo objeto de interés y discusión en la década de los 80 (Fujita, 1980; Boya y cols., 1987), sugiriéndose que la microglía incipiente tenía un origen exógeno, probablemente monocítico (Ferrer y Sarmiento, 1980a; Rützel y Schiebler, 1980) y que muchas de las células que se ven en la glía reactiva en el cerebro en desarrollo tras una lesión incisiva tienen un origen exógeno, muy probablemente monocítico, aunque un cierto número de células endógenas pueden también actuar como macrófagos en las lesiones cerebrales (Ferrer y Sarmiento, 1980b). De hecho, ya se describe que los verdaderos macrófagos, la “microglía ameboide” y las células en bastón observadas en la encefalitis aguda viral derivan de leucocitos mononucleares circulantes, los cuales entran en el parénquima cerebral tras la agresión (Kitamura, 1980). Aunque estas opiniones se iban aceptando, el asunto no estaba todavía zanjado (Perry y cols., 1985; Schelper y Adrian, 1986; Sminia y cols., 1987; Jordan y Thomas, 1988; Streit y cols., 1988; Kettenmann y cols., 1990).

Todavía casi a finales del siglo XX, las relaciones e interacciones de la

microglía con la neuroglía constituía un tema de amplio debate (Giulian y Baker, 1985; Hao y cols., 1991; Gehrmann y cols., 1995; Fedoroff y cols., 1997). Hoy en día se admite que las células de la glía del sistema nervioso central son bastante más que “meras acompañantes” o un simple pegamento (Allen y Barres, 2009), habiéndose producido una explosión en su conocimiento (Sierra y cols., 2016). La población se subdivide en cuatro grandes tipos celulares: (1) astrocitos, (2) oligodendrocitos, (3) las células endoteliales y (4) la microglía (Figura 7). Aunque muchos de los aspectos de las células gliales están bastante bien caracterizados, las funciones de las diferentes poblaciones en el cerebro, permanecen sin haberse resuelto del todo, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas (Jäkel y Dimou, 2017).

La aparición de una población de células neurales (neuronas y glía) que presentaban un rasgo diferencial con respecto a las poblaciones ya conocidas hizo que se pensara en un nuevo tipo celular. Así, se bautizó como glía NG2 (Nerve/Glial antigen 2), o ploidendrocitos (Nishiyama y cols., 2009), a una población de células neurales que era diferente de las neuronas, los astrocitos y los oligodendrocitos, y al que se le atribuía como principal papel el de ser progenitores de oligodendrocitos (Levine y cols., 2001). Las células que constituyen esta población representan entre un 5 y un 10% del total de la glía, están presentes tanto en el sistema nervioso en desarrollo como en el del adulto y presentan diferentes propiedades y funciones (Dimou y Gallo, 2015; Eugenin-von Bernhardt y Dimou, 2016). Estas células se distribuyen tanto en la sustancia gris como en la blanca, y algunas de ellas incluso proliferan en el adulto; lo que implica una renovación continua de esta población celular. En realidad, estas células se corresponden con una población heterogénea que se caracteriza porque sus células expresan en su superficie un mismo antígeno, el Nerve/Glial antigen 2, que es una proteína transmembrana (proteoglicano 4 de sulfato de condroitina) con un peso molecular de 300 kDa (Stallcup, 1981). Este antígeno es expresado por diferentes células progenitoras, tales como precursores oligodendrocitarios, células stem mesenquimales, condroblastos, osteoblastos y queratinocitos inmaduros, además de por pericitos y por varias células tumorales (Stallcup y Huang,

2008; Nishiyama y cols., 2009; Trotter y cols, 2010; Armulik y cols., 2011; Price y cols., 2011).

Las células gliales no pueden considerarse una pequeña población celular puesto que constituyen, dependiendo de las especies de mamíferos, entre el 33 y el 66% del total de la masa del cerebro (Azevedo y cols., 2009; Herculano-Houzel, 2014). Los astrocitos representan la población más abundante entre las células gliales (Kettenmann y Ransom, 2005), constituyendo el 25% del volumen cerebral (Tower y Young, 1973). Los oligodendrocitos vienen a representar entre el 5 y el 10% de la población glial; y la microglía el 10%. Así, se considera que en el cerebro humano hay unas 10^{11} neuronas asociadas con unas 10^{12} células gliales. Es decir, unos cien mil millones de neuronas por unos mil millones de células gliales (por cada neurona hay 10 células gliales).

Pero si el número absoluto de astrocitos es importante, también es importante tener en cuenta su número relativo. En este sentido, la proporción relativa entre células gliales y neuronas se incrementa logarítmicamente con la filogenia, lo que se revela como resultado de un incremento en el procesamiento de información. El cerebro humano también posee diferentes subtipos de astrocitos GFAP positivos (Guillamón-Vivancos y cols., 2015), que son específicos tanto de humanos como de primates, sugiriendo su importancia en la evolución del cerebro humano. Además, los astrocitos protoplasmáticos humanos son significativamente mayores en diámetro y más complejos que su contrapartida de roedores. Por término medio son 2,5 veces mayores en diámetro y poseen 10 veces más procesos principales GFAP positivos.

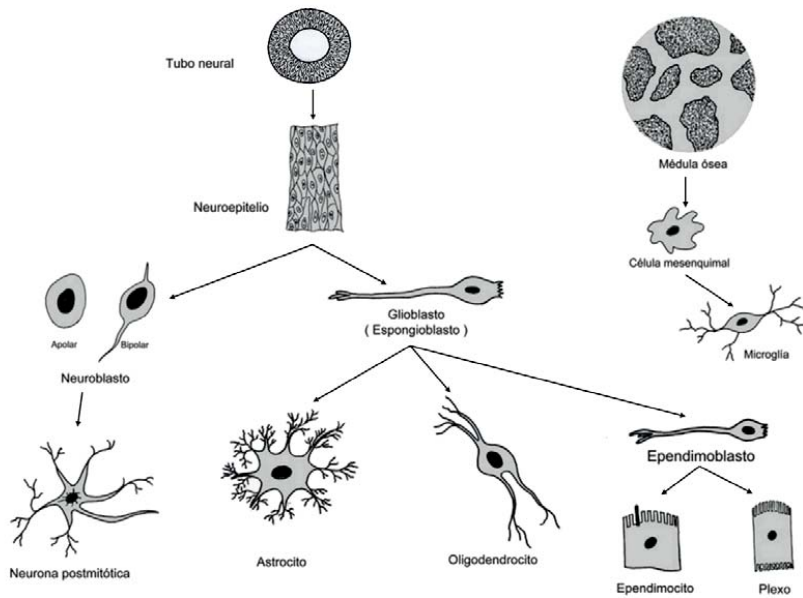


Figura 7. Histogénesis de las neuronas y la glía en el sistema nervioso central. Como puede observarse, las neuronas y la neuroglía derivan del tubo neural, y por lo tanto tienen un origen embrionario ectodérmico. Por el contrario, la microglía deriva de la médula ósea, y tiene un origen embrionario mesodérmico. Imagen cedida por Ángel García Hilario. Modificada de López Serna, 2011.

Los astrocitos mantienen una íntima comunicación con las neuronas (Perea y Araque, 2003), incluso a nivel de las sinapsis mediante participación activa en las mismas (Araque y cols., 1999). En la sustancia gris...

“la disposición espacial de los astrocitos protoplasmáticos y de sus ramificaciones cubren como si fueran baldosas a las neuronas, de manera que su finamente ramificada estructura tiene consecuencias muy importantes, tanto a nivel sináptico como en lo referente a ocupar diferentes territorios de tal manera que sus prolongaciones tan solo se toquen en las regiones más periféricas, y como en lo relativo a conectar los vasos sanguíneos (mediante sus pies vasculares) con otras estructuras. Además, el que a lo anterior se le suma el hecho de un pronunciado acople intercelular entre las prolongaciones astrocitarias mediante uniones tipo gap sugiere la idea de los astrocitos como un continuo y amplio volumen que serviría de reservorio para las labores de homeostasis” (Oheima y cols., 2018).

Por lo tanto, los astrocitos participarían de manera decisiva en las interacciones entre los circuitos neuronales y las redes astrogiales (Genoud y cols., 2015). Así, la estructura de la trama astrocitaria está dispuesta para poder mediar las interacciones locales entre las neuronas y los vasos sanguíneos, para cubrir un amplio volumen tisular y para controlar distintos dominios de poblaciones celulares más que para establecer una comunicación a gran distancia (Oheima y cols., 2018). Los astrocitos protoplasmáticos humanos se organizarían en dominios en los que un solo astrocito se asocia con hasta 600 dendritas, dando lugar a territorios autónomos de neuropilo que son influenciados por un único astrocito (Halassa y cols., 2007). Se ha estimado que el ámbito de un único “dominio astrocitario” humano contiene aproximadamente un millón de sinapsis (Pekny y Wilhelmsson, 2006) además de una red vascular muy desarrollada, lo que supone una gran complejidad frente a las 20.000 a 100.000 sinapsis que tienen los dominios de los roedores. Por lo tanto, los astrocitos podrían actuar como integradores de la actividad neuronal, a través de muchas sinapsis e implicando diferentes tipos de neurotransmisores (Perea y Araque, 2006; Perea y Araque, 2010). El grado

de acoplamiento intercelular entre los astrocitos generalmente refleja la compartimentación morfofuncional del cerebro (Houades y cols., 2008).

Los astrocitos son relativamente resistentes a la falta de oxígeno y de glucosa, pudiendo mantenerse vivos mucho más tiempo que las neuronas, debido a que almacenan glucógeno en su interior y pueden obtener ATP de forma anaeróbica. Por ello son importantes en condiciones extremas o patológicas (Wilhelmsson y cols., 2006; Li y cols., 2008). Cuando se producen algunos traumas o daños en el encéfalo se observa una hipertrofia (aumento en el tamaño) o hiperplasia (aumento en el número) de astrocitos, denominándose astrocitos reactivos. Esto es lo que se denomina gliosis reactiva. Durante esta proliferación se han encontrado dos tipos de astrocitos con efectos diferentes. Unos son básicamente reparadores, mientras que los otros favorecen la degradación del tejido (Bylicky y cols. 2018; De Luca y cols. 2018; Verkhatsky y Nedergaard, 2018). Los reparadores son importantes para la formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis) (Pekny y cols., 2014; Megías Pacheco y cols., 2017; Wilhelmsson y cols., 2017) y para facilitar la regeneración de las conexiones neuronales (Sofroniew, 2005).

Solamente un par de apuntes acerca de un tipo de endimocito modificado, que se denomina tanicito y cuyo papel ha estado un tanto relegado en la bibliografía, pero que se localiza en zonas clave de nuestro sistema nervioso (Kaur y Ling, 2017), tapizando la región ventral y ventrolateral del tercer ventrículo. Se unen entre ellos y a su vez con las células endimarias adyacentes mediante desmosomas en cinturón. Son, células polarizadas. En su polo apical, que se orienta al tercer ventrículo, tienen microvellosidades (pudiendo tener cilios) y en su membrana expresan numerosos receptores y transportadores. En su polo basal presentan un largo proceso que atraviesa la membrana glial limitante interna alcanzando el parénquima del hipotálamo o la eminencia media, y también a los vasos sanguíneos, sobre los que emite pies vasculares (al igual que lo hacen los astrocitos) (Rodríguez y cols., 2005). Por tanto, los tanicitos se comunican con el LCR y con la porción neuroendocrina del sistema nervioso a ese nivel (Löfgren, 1959; 1960).

Los tanicitos no constituyen una población celular homogénea, sino que pueden distinguirse cuatro subtipos ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$ y $\beta 2$) (Rodríguez y cols., 2010), aunque su función sigue siendo poco conocida. Al igual que los astrocitos expresan uniones gap y producen señales mediante ondas de calcio (Orellana y cols., 2012). Hoy en día se les atribuye un importante papel como sensores metabólicos que influyen en la función neuronal del hipotálamo y por lo tanto interviniendo en el control de la alimentación y en el metabolismo energético (Bolborea y Dale, 2013; Langlet, 2014; Freire-Regatillo y cols., 2017; Ebling y Lewis, 2018) y en los ritmos estacionales del peso corporal y de la reproducción mediante el catabolismo de hormonas tiroideas (Barrett y cols., 2007; Lewis y Ebling, 2017). Además, también se ha sugerido que los tanicitos tendrían propiedades de células stem (Rojczyk-Gołębiewska y cols., 2014).

Actualmente, el gran desarrollo tecnológico que se ha producido en el campo de la investigación biomédica nos permite disponer de poderosas herramientas para estudiar los elementos celulares y tisulares. En la Figura 8 mostramos microfotografías de cerebro de mamífero en el que se resaltan estructuras celulares y moleculares.

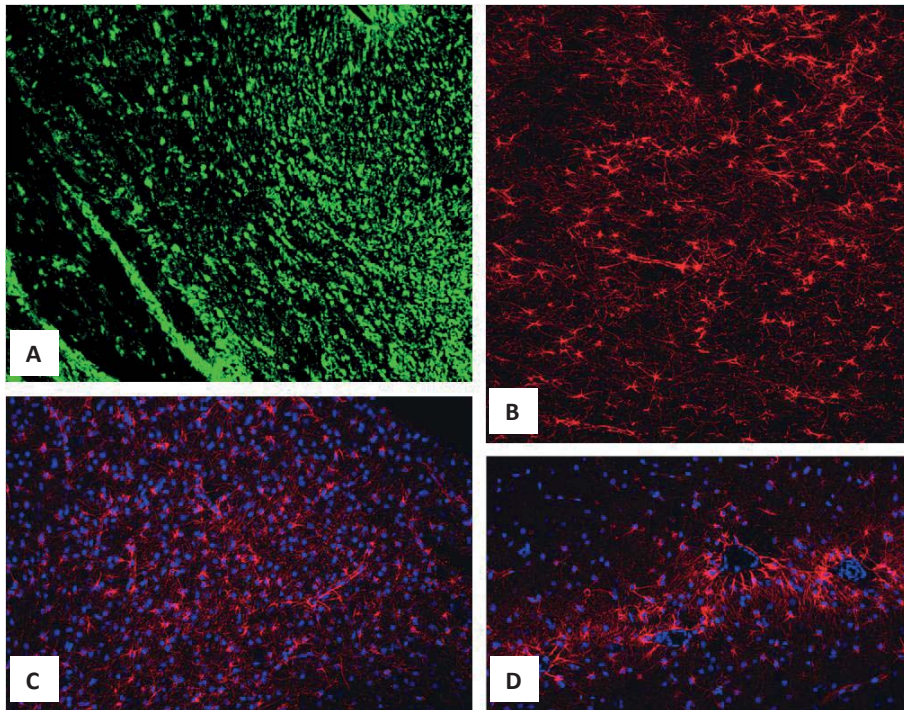


Figura 8. Imágenes de corteza parietal e hipocampo de cerdito recién nacido obtenidas mediante microscopía confocal. En **A** se muestra una panorámica con todos sus componentes celulares. En **B** se observa el gran número de astrocitos y cómo éstos se disponen a modo de red, ocupando prácticamente toda la superficie de la imagen. En **C** y **D**, se muestra cómo los astrocitos (en rojo) y la microglía (en azul) se disponen muy próximos. En la figura **D** podemos observar los procesos citoplasmáticos de los astrocitos rodeando a los núcleos de las neuronas (que aparecen oscuros pues no se han teñido) y la densa presencia de células de la microglía. **A:** corteza parietal, inmunotinción con pimonidazol; **B:** corteza parietal, inmunotinción con proteína glial fibrilar ácida (GFAP); **C** y **D:** corteza parietal e hipocampo, respectivamente, con inmunotinción con “proteína glial fibrilar ácida” (GFAP) para astrocitos (en rojo) y con “molécula adaptadora de unión a calcio ionizada” (IBA) para microglía (en azul). (Aumento original de: X100). Cortesía de Francisco José Álvarez Díaz, del Instituto de Investigación Biocruces-Bizkaia, del Hospital Universitario de Cruces. Barakaldo, Bizkaia.

6.- Funciones de la glía

Aunque originariamente se consideraba como un mero pegamento o gelatina donde se embebían las neuronas, un siglo de investigación ha puesto de relieve tanto sus componentes celulares, como su importancia y sus múltiples funciones. A continuación, y de manera muy concisa se citarán a modo de listado, para que queden más claramente resaltadas, las principales características y funciones de cada uno de los componentes.

6.1.- Astrocitos

- Son más numerosos que las neuronas
- Tienen un aspecto estrellado. El soma mide unas 10-20 micras, y sus procesos radiales se extienden otras 20-30 micras
- Participan en el desarrollo del sistema nervioso
- Dan soporte estructural a las neuronas
- Se organizan en microdominios
- Forman la membrana glial limitante externa e interna
- Forman la barrera hematoencefálica
- Forman parte de la unidad neurovascular
- Intervienen en la regulación del flujo sanguíneo (unión neurovascular)
- Participan en el metabolismo del sistema nervioso
- Mantienen la homeostasis de las neuronas
 - almacenan glucógeno
 - pueden obtener ATP de forma anaeróbica
 - regulan el pH del sistema nervioso
 - regulan el medio iónico extracelular
 - eliminan los neurotransmisores excedentes
 - regulan el contenido del espacio extracelular
 - proporcionan a las neuronas moléculas neurotróficas
- Modulan la excitabilidad y la respuesta neuronal
- No propagan potenciales de acción, pero responden a las señales de

- las neuronas mediante oleadas de calcio
- Se conectan entre ellos mediante uniones gap (iones de calcio)
 - Liberación de gliotransmisores (glutamato y ATP, fundamentalmente)
 - Forman parte de las sinapsis tripartitas (control de la función sináptica)
 - Participan en la sinaptogénesis y en la plasticidad neuronal
 - Influyen en los circuitos neuronales desde la expresión sináptica hasta la dinámica general
 - Intervienen en procesos relacionados con la memoria y el aprendizaje
 - Intervienen en la neurogénesis adulta (quizás actuando como precursores neurales)
 - Participan en la fagocitosis de neuronas muertas
 - Intervienen en la patología del sistema nervioso
 - Retienen la capacidad de dividirse
 - Forman la cicatriz glial: son las células “cicatrizales” del sistema nervioso (astrogliosis)

6.2.- Oligodendrocitos

- Más pequeños que los astrocitos, con menos prolongaciones y más cortas
- Tienen dos variedades:
 - Los satélites, en la sustancia gris, se sitúan junto a los somas de las neuronas grandes y su función es imprecisa
 - los interfasciculares, en la sustancia blanca, se encargan de elaborar y conservar la vaina de mielina
- Dan soporte estructural y aislamiento a los axones
- Forman parte de la unidad neurovascular
- Participan en la transmisión de señales con otros tipos celulares

6.3.- Ependimocitos

- Tapizan los ventrículos cerebrales y la cavidad medular, y forman parte de los plexos coroideos (donde se produce el LCR)
- En los lugares donde el tejido neural es delgado forman una membrana limitante interna, que reviste el ventrículo, y una membrana limitante externa bajo la piamadre
- Pueden establecer una comunicación abierta con los capilares sanguíneos a nivel de los órganos circunventriculares (donde se regula el sistema nervioso autónomo y las glándulas endocrinas)
- Actúan como sensores metabólicos que influyen en la función neuronal del hipotálamo
 - intervienen en el control de la alimentación y en el metabolismo energético
 - intervienen en los ritmos estacionales del peso corporal y de la reproducción mediante el catabolismo de hormonas tiroideas

6.4.- Microglía

- Constituye una población heterogénea
- Células pequeñas de origen mieloide (mesodérmico)
- Tiene capacidad de división
- Interacciona con las neuronas y la neuroglía
- Interviene en el desarrollo del sistema nervioso
- Regula el número de precursores neurales
- Influye en la neurogénesis, modulando la diferenciación, la migración y el posterior desarrollo de las neuronas.
- Contribuye al desarrollo de los oligodendrocitos y a la mielogénesis
- Influencia el desarrollo y funcionamiento de los circuitos neuronales en diferentes regiones del cerebro
- Participa en el mantenimiento de la función sináptica
- Interviene en la homeostasis del sistema nervioso
- Participa en la respuesta inflamatoria

- Se consideran protectores inmunológicos del sistema nervioso central
- Capacidad de presentar antígenos y de segregar citoquinas
- Su función fundamental es la fagocitosis, sobre todo de células muertas
- Durante la neurohistogénesis se encarga de eliminar las células apoptóticas y las sinapsis superfluas

7.- Breve análisis bibliográfico sobre la Glía

Hoy en día, el número de referencias existentes en las bases de datos virtuales de prácticamente cualquier disciplina es ingente. Uno podría pensar que, en campos menos amplios, como es el que nos ocupa la cuestión es abarcable, pero, vemos que también en lo referente a la glía resulta de todo modo imposible poder leer todo lo que se publica (o se ha publicado). Veamos, a fecha de 3 de julio de 2019, dos grandes recursos, uno genérico como es Google y el otro especializado como es PubMed.

7.1.- Google

Google (<https://www.google.com>) es una compañía cuya especialización son los productos y servicios relacionados con Internet, software, dispositivos electrónicos y otras tecnologías. El principal producto de Google es el motor de búsqueda de contenido en Internet que constituye una potentísima herramienta de búsqueda on-line que se puede consultar en varios idiomas. Veamos el número de referencias que existen en español (<https://www.google.es>) de una palabra correspondiente a algunas de las células que han sido parte importante de este trabajo, nos encontramos que de la palabra.....

Glía: aparecen 11.900.000 resultados

Células de la glía: aparecen 79.300 resultados

Neuroglía: aparecen 1.050.000 resultados

Astrocitos: aparecen 192.000 resultados

Oligodendrocitos: aparecen 486.000 resultados

Ependimocitos: aparecen 11.400 resultados

Microglía: aparecen 3.610.000 resultados

7.2.- PubMed

PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>), es un motor de búsqueda de libre acceso a la base de datos MEDLINE de citas y resúmenes de artículos de investigación biomédica en inglés, ofrecido por la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos (<https://www.nlm.nih.gov/>). Fue desarrollada en conjunción con editores de literatura biomédica como una herramienta para acceder a las citas existentes. Representa la base de datos y bibliográficos más importante que existe, conteniendo más de 28 millones de citas de la literatura biomédica procedentes de MEDLINE, revistas de las ciencias de la vida (life science journals) y “libros online”.

Veamos el número de trabajos disponibles cuando se introduce en el buscador de la página inicial de PubMed una palabra correspondiente a algunas de las células que han sido parte importante de este trabajo. Nos encontramos con que de la palabra

Glial: aparecen 136.837 citas disponibles

Glial cells: aparecen 122.800 citas disponibles

Neuroglia: aparecen 97.834 citas disponibles

Astrocyte: aparecen 53.832 citas disponibles

Oligodendrocyte: aparecen 29.920 citas disponibles

Ependimocyte: aparecen 198 citas disponibles

Microglia: aparecen 29.465 citas disponibles

7.3.- Revista “Glia”

Existe una revista internacional denominada Glia, que se anuncia como el mayor encuentro internacional de los investigadores de la glía de todo el mundo (<https://onlinelibrary.wiley.com/journal/10981136>). Es una revista de gran prestigio, que publica artículos originales y de revisión (con revisores externos) de temas de la biología celular glial, tanto en la salud como en la enfermedad.

Esta revista comenzó a publicarse el año 1988, y hoy en día la edita “Wiley Periodicals, Inc”, gozando de excelente salud: en su página señala que en 2017 tuvo un Factor de Impacto de 5,846, lo que la sitúa en el puesto 33 de 261 revistas de Neurociencias (Q1: primer cuartil). Es la revista número uno en investigación glial.

8.- Referencias

1. Achúcarro N, Gayarre M. Contribución al estudio de la neuroglía en la corteza de la demencia senil y su participación en la alteración celular de Alzheimer. *Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid* 12: 67-83. 1914b.
2. Achúcarro N, Gayarre M. La corteza cerebral en la demencia parálitica con el nuevo método del oro y sublimado de Cajal. *Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid* 12: 1-38. 1914a.
3. Achúcarro N. Algunos datos relativos a la naturaleza de las células en bastoncitos de la corteza cerebral humana obtenidos con el método de Cajal. *Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid* 8: 169-176. 1910a.
4. Achúcarro N. Algunos resultados histopatológicos obtenidos por el procedimiento del tanino y de la plata amoniaca. *Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid* 9: 269-288. 1911b.
5. Achúcarro N. Contribución al estudio gliotectónico de la corteza cerebral. El asta de Ammon y la fascia dentata (con 23 grabados en negro y en color). *Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid* 12: 229-272. 1914.
6. Achúcarro N. De l'évolution de la néuroglie, et spécialement de ses relations avec l'appareil vasculaire. *Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid* 13: 169-212. 1915a.
7. Achúcarro N. Evolución de los pies vasculares neuróglícos en los vertebrados. *Bol. Soc. Esp. Biol.* 5: 5-7. 1916.
8. Achúcarro N. La estructura de la neuroglía en la corteza cerebral. *Bol. Soc. Esp. Biol.* 2: 27-30. 1913b.
9. Achúcarro N. Neuroglía y elementos intersticiales patológicos del cerebro, impregnados por los métodos de reducción de plata o por sus modificaciones. *Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid* 9: 161-179. 1911a.
10. Achúcarro N. Notas sobre la estructura y funciones de la neuroglía y en particular de la neuroglía de la corteza cerebral humana. *Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid* 11: 187-217. 1913a.
11. Achúcarro N. Nuevo método para el estudio de la neuroglía y del tejido conjuntivo. *Bol. Real Soc. Esp. Biol.* 1: 139-141. 1912.
12. Achúcarro N. Sobre la glioarquitectura de la corteza cerebral. *Bol. Soc. Esp. Biol.* 4: 159-162. 1915b.
13. Achúcarro N. Some pathological findings in the neuroglia and in the ganglion cells of the cortex in senile conditions. *Bull. Gov. Hosp. Insane (Washington)* 2: 81-90. 1910b.
14. Aguirre Viani C. Pasado y futuro de la obra científica de Río Hortega. *ARBOR Ciencia y Cultura* CLXXXI 714 julio-agosto. 2005
15. Akers RM, Killackey HP. Organization of corticocortical connections in the parietal cortex of the rat. *J. Comp. Neurol.* 181: 513-537. 1978.

16. Albarracín A. El Dr. Simarro y la escuela histológica española. En: Los orígenes de la psicología experimental en España. JJ Campos Bueno & R Llavona, editores. *Investigaciones Psicológicas* 4: 99-113. 1987.
17. Alby JC. La concepción antropológica de la medicina hipocrática. *Enfoques XVI* (1): 5-29. 2004. Argentina. ISBN: 1514-6006. Se puede consultar en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=25900102>.
18. Allen NJ, Barres BA. Neuroscience: glia - more than just brain glue. *Nature*. 457: 675-677. 2009.
19. Alzheimer A. Über eine eigenartige erkrankung der hirnrinde. *Allg. Z. Psychiat.* 64: 146-148. 1907.
20. Andriezen WL. A modified Golgi's method for the study of the human brain. *Br. Med. J.* 1: 909. 1894.
21. Andriezen WL. The neuroglia elements of the brain. *Br. Med. J.* 2: 227-230. 1893.
22. Aramburu-Araluce E, Pacheco-Yáñez L, Martínez-Azumendi, Matute C. Centenario del fallecimiento del doctor Nicolás Achúcarro Lund y cincuentenario de la creación del Instituto Neuropsiquiátrico Nicolás Achúcarro (Hospital Zamudio) (Resumen). *Gac. Med. Bilbao* 115: 191-193. 2018.
23. Araque A, Parpura V, Sanzgiri RP, Haydon PG. Tripartite synapses: glia, the unacknowledged partner. *Trends Neurosci.* 22: 208-215. 1999.
24. Arce F. El Hospital Marqués de Valdecilla y D. Pío del Río Hortega. Visión cariñosa de una relación fugaz. Editado por la Sociedad Española de Anatomía Patológica. Artes Gráficas Quinzaños. Torrelavega, Cantabria. 2015.
25. Arees EA, Mayer J. Anatomical connections between medial and lateral regions of the hypothalamus concerned with food intake. *Science*. 157: 1574-1575. 1967.
26. Armulik A, Genove G, Betsholtz C. Pericytes: developmental, physiological, and pathological perspectives, problems, and promises, *Dev. Cell*. 21: 193-215. 2011.
27. Azevedo FA, Carvalho LR, Grinberg LT, Farfel JM, Ferretti RE, Leite RE, Jacob Filho W, Lent R, Herculano-Houzel S. Equal numbers of neuronal and nonneuronal cells make the human brain an isometrically scaled-up primate brain. *J. Comp. Neurol.* 513: 532-541. 2009.
28. Baratas Díaz A. Neurociencias en la Junta para Ampliación de Estudios. *Asclepio. Revista de Historia de la Medicina y de la Ciencia.* vol. LIX: 115-136. 2007.
29. Barrett P, Ebling FJP, Schuhler S, Wilson D, Ross AW, Warner A, Jethwa P, Boelen A, Visser TJ, Ozanne DM, Archer ZA, Mercer JG, Morgan PJ. Hypothalamic thyroid hormone catabolism acts as a gatekeeper for the seasonal control of body weight and reproduction. *Endocrinology*. 148: 3608-3617. 2007.

30. Bolborea M, Dale N. Hypothalamic tanycytes: potential roles in the control of feeding and energy balance. *Trends Neurosci.* 36: 91-100. 2013.
31. Boya J, Carbonell AL, Calvo J, Borregón A. Ultrastructural study on the origin of rat microglia cells. *Acta Anat. (Basel).* 130: 329-335. 1987.
32. Brissaud JM. Las civilizaciones prehistóricas. Círculo de Amigos de la Historia. Madrid. ISBN: 84-225-0073-26. 1976.
33. Broadwell RD, Bleier RA. Cytoarchitectonic atlas of the mouse hypothalamus. *J. Comp. Neurol.* 167: 315-339. 1976.
34. Bunge RP. Glial cells and the central myelin sheath. *Physiol. Rev.* 48: 197-251. 1968.
35. Bylicky MA, Mueller GP, Day RM. Mechanisms of endogenous neuroprotective effects of astrocytes in brain injury. *Oxid. Med. Cell Longev.* Apr 1; 2018: 6501031. 2018
36. Campos A. Cuerpo, Histología y Medicina. De la descripción microscópica a la ingeniería tisular. Discurso de Ingreso en la Real Academia Nacional de Medicina. Madrid. 2004.
37. Campos A. Nicolás Achúcarro. Su vida y su legado a los cien años de su muerte. *Anales de la Real Academia Nacional de Medicina.* 135: 125-131. 2018.
38. Campos J y Llavona R. La lección de Pavlov y el Dr. Simarro. *Investigaciones Psicológicas*, 4, monográfico sobre Los Orígenes de la Psicología Científica en España: El Doctor Simarro, p. 12. 1987. (Citado por Carpintero y cols., 2002).
39. Cano Díaz P. Una contribución a la ciencia histológica: la obra de don Pío del Río-Hortega. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Instituto "Arnau de Vilanova". Madrid. 1985.
40. Carpintero H, Campos J, Bandrés J. (editores científicos). Luis Simarro y la psicología científica en España. cien años de la cátedra de psicología experimental en la universidad de Madrid. Universidad Complutense de Madrid. 2002. En: <https://docplayer.es/61955642-Luis-simarro-y-la-psicologia-cientifica-en-espana-cien-anos-de-la-catedra-de-psicologia-experimental-en-la-universidad-de-madrid.html>.
41. Castro F. Pío del Río-Hortega. Nota necrológica y biográfica. *Trabajos del Instituto Cajal* 37: 7-18. 1945.
42. Centro Virtual Cervantes. Santiago Ramón y Cajal, Recuerdos de mi vida. http://cvc.cervantes.es/ciencia/cajal/cajal_recuernos/recuernos/labor_27.htm;
https://es.wikipedia.org/wiki/Nicol%C3%A1s_Ach%C3%BAcarro.
43. Cowan WM, Gottlieb DI, Hendrickson AE, Price JL, Woolsey TA. The autoradiographic demonstration of axonal connections in the central nervous system. *Brain. Res.* 37: 21-51. 1972.

44. Cronobiografía Dr. Pío del Río Hortega (1882-1945). http://mah.sen.es/pdf/expo_2012.pdf.
45. de Felipe J. Historia de la neurona: influencia de los estudios de Santiago Ramón y Cajal en la neurociencia moderna. En Santiago Ramón y Cajal. Histología del Sistema Nervioso del hombre y de los vertebrados. Tomo I. Editado conjuntamente por Ministerio de Sanidad y Consumo, Consejo Superior de Investigaciones Científicas y Boletín Oficial del Estado. Madrid. 2007.
46. de Felipe J. Santiago Ramón y Cajal y el nacimiento de la neurociencia moderna. En: Ramón y Cajal y la Ciencia Española. Dirección editorial del volumen: Benjamín Fernández Ruiz. Edita: Secretaría General Técnica. Subdirección General de Información y Publicaciones. Ministerio de Educación y Ciencia pp: 9-32. 2005.
47. De Luca C, Colangelo AM, Alberghina L, Papa M. Neuro-immune hemostasis: homeostasis and diseases in the central nervous system. *Front. Cell Neurosci.* 12: 459. 2018.
48. de Robertis E, Carrea R (editors). *Progress in Brain Research. Biology of Neuroglia.* vol 15. New York. Elsevier. 1965.
49. De Robertis E, De Robertis EMF. *Biología Celular y Molecular.* Décima edición. Editorial El Ateneo. Barcelona. 1981.
50. De Robertis E, Franchi CM. The submicroscopic organization of axon material isolated from myelin nerve fibers. *J. Exp. Med.* 98: 269-276. 1953.
51. De Robertis E, Gerschenfeld H, Wald F. Cellular mechanism of myelination in the central nervous system. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 4: 651-658. 1958.
52. De Robertis E, Gerschenfeld H. Submicroscopic morphology and function of glial cells. *Intern. Rev. Neurobiol.* 3: 1-65. 1961.
53. De Robertis E, Schmitt FO. The effect of nerve degeneration on the structure of neurotubules. *J. Cell Comp. Physiol.* 32: 45-56. 1948.
54. De Robertis E, Thornburg W. Polarization and electron microscope study of frog nerve axoplasm. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 2: 475-482. 1956.
55. Dimou L, Gallo V. NG2-glia and their functions in the central nervous system. *Glia.* 63: 1429-1451. 2015.
56. Ebling FJP, Lewis JE. Tanycytes and hypothalamic control of energy metabolism. *Glia.* 66: 1176-1184. 2018.
57. Eugenin-von Bernhardt J, Dimou L. NG2-glia, More than progenitor cells. *Adv. Exp. Med. Biol.* 949: 27-45. 2016.
58. Fariña González J, Escalona Zapata J. La obra de Pío del Río Hortega y sus consecuencias en la neuropatología. *Arbor Ciencia y Pensamiento.* CLXXXI julio-agosto: 221-232. 2005.
59. Fedoroff S, Zhai R, Novak JP. Microglia and astroglia have a common progenitor cell. *J. Neurosci. Res.* 50: 477-486. 1997.

60. Fernández Galiano F. El método de Achúcarro (al tanino y plata amoniaco) aplicado al estudio de las células oleíferas de las semillas. *Treballs de la Societat de Biologia*. 170-175. 1916.
61. Ferrer I, Sarmiento J. Nascent microglia in the developing brain. *Acta Neuropathol*. 50: 61-67. 1980a.
62. Ferrer I, Sarmiento J. Reactive microglia in the developing brain. *Acta Neuropathol*. 50: 69-76. 1980b.
63. Fink RP, Heimer L. Two methods for selective silver impregnation of degenerating axons and their synaptic endings in the central nervous system. *Brain Res*. 4: 369-374. 1967.
64. Franco-Vicario R. Centenario del fallecimiento del doctor Nicolás Achúcarro Lund y del cincuentenario de la creación del Instituto Neuropsiquiátrico Nicolás Achúcarro (Hospital Zamudio) (Introducción). *Gac. Med. Bilbao* 115: 189-190. 2018.
65. Freire-Regatillo A, Argente-Arizón P, Argente J, García-Segura LM, Julie A, Chowen JA. Non-Neuronal Cells in the Hypothalamic Adaptation to Metabolic Signals. *Front. Endocrinol*. 8: 51. doi: 10.3389/fendo.2017. 00051. 2017.
66. Fujita S. Cytogenesis and pathology of neuroglia and microglia. *Pathol. Res. Pract*. 168: 271-278. 1980.
67. Gehrmann J, Matsumoto Y, Kreutzberg GW. Microglia: intrinsic immunoeffector cell of the brain. *Brain Res. Brain Res. Rev*. 20: 269-287. 1995.
68. Genoud C, Houades V, Kraftsik R, Welker E, Giaume C. Proximity of excitatory synapses and astroglial gap junctions in layer IV of the mouse barrel cortex. *Neuroscience*. 291: 241-249. 2015.
69. Gill AS, Binder DK, Penfield W. Pío Del Río-Hortega, and the discovery of oligodendroglia. *Neurosurgery*. 60: 940-948. 2007.
70. Giulian D, Baker TJ. Peptides released by ameboid microglia regulate astroglial proliferation. *J. Cell Biol*. 101: 2411-2415. 1985.
71. Glees P. Neuroglia. Morphology and function. Thomas CC, editor. Springfield, Illinois. 1955.
72. Goldman-Rakic PS. Prenatal formation of cortical input and development of cytoarchitectonic compartments in the neostriatum of the rhesus monkey. *J. Neurosci*. 1: 721-735. 1981.
73. Golgi C. Sulla fina anatomia degli organi centrali del sistema nervoso. U Hoepli, editore. Milano. 1886 (Digitalized by the Internet Archive in 2015. <https://archive.org/details/b21978724>). Reprinted in 2018 by por ReInk Books from SN Books World. Nueva Delhi. La India).
74. Golgi C. Sulla struttura della sostanza grigia del cervello (comunicazione preventiva). *Gazzetta Medica Italiana. Lombardia* 33: 244-246.1873.
75. González Recio JL. Historia filosófica de la Idea de forma orgánica. Madrid. Se puede consultar en: La obra biológica de Aristóteles.

- www.gonzlezrecio.com/bionomos/textos/Publicaciones/LNuno/txt1.pdf. 2004.
76. Granjel, LS (Coordinador). Diccionario histórico de médicos vascos. Editado por el Seminario de Historia de la Medicina Vasca y la Universidad del País Vasco. pp 12-15. Bilbao. 1993.
 77. Granjel, LS. Historia de la Real Academia Nacional de Medicina. Editado por la Real Academia Nacional de Medicina. Impresión Taravilla. Madrid. 2006.
 78. Guillamón-Vivancos T, Gómez-Pinedo U, Matías-Guiu J. Astrocitos en las enfermedades neurodegenerativas (I): función y caracterización molecular. *Neurología*. 30: 119-129. 2015.
 79. Halassa MM, Fellin T, Takano H, Dong JH, Haydon PG. Synaptic islands defined by the territory of a single astrocyte. *J. Neurosci*. 27: 6473-6477. 2007.
 80. Ham AW. Tratado de histología. Editorial Interamericana. Sexta edición. México. 1970.
 81. Hao C, Richardson A, Fedoroff S. Macrophage-like cells originate from neuroepithelium in culture: characterization and properties of the macrophage-like cells. *Int. J. Dev. Neurosci*. 9: 1-14. 1991.
 82. Herculano-Houzel S. The glia/neuron ratio: how it varies uniformly across brain structures and species and what that means for brain physiology and evolution. *Glia*. 62: 1377-1391. 2014.
 83. Hickey WF, Kimura H. Perivascular microglial cells of the CNS are bone marrow-derived and present antigen in vivo. *Science* 239: 290-292. 1988.
 84. Hilario E. Construyendo una identidad y un futuro. Sociedad, ideario y medicina. Real Academia de Medicina del País Vasco/Euskal Herriko Medikuntzaren Errege Akademia. ISBN 978-84-697-1216-0. 2014.
 85. Houades V, Koulakoff A, Ezan P, Seif I, Giaume C. Gap junction-mediated astrocytic networks in the mouse barrel cortex. *J. Neurosci*. 28: 5207-5217. 2008.
 86. <http://dbe.rah.es/biografias/13347/aureliano-maestre-de-san-juan-munoz>.
 87. <http://mah.sen.es/index.php/exposiciones-actividades/descubre/item/74-nicolas-achucarro-lund-1880-1918>.
 88. <http://mah.sen.es/index.php/exposiciones-actividades/descubre/item/79-pio-del-Río-Hortega-1882-1945>.
 89. http://www.professeurs-medicine-nancy.fr/Prenant_A.htm
 90. https://books.google.es/books?id=FAqxDAAAQBAJ&pg=PA95&lpg=PA95&dq=Carlos+Collado+histologia&source=bl&ots=OmFhKZWEVK&sig=SQGscIvEOfQ6mmDprlV0SgqA8qA&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEw iq_PuCg7rcAhUKPFAKHUZwDAIQ6AEwChOECAMQAQ#v=onepage&q=Carlos%20Collado%20histologia&f=false

91. <https://campus.usal.es/~histologia/histotec/neurotec/neurotec.htm>
92. <https://dicciomed.usal.es/palabra/microglia>
93. https://es.wikipedia.org/wiki/Aureliano_Maestre_de_San_Juan.
94. https://es.wikipedia.org/wiki/Fernando_de_Castro_Rodr%C3%ADguez
95. https://es.wikipedia.org/wiki/Gonzalo_Rodr%C3%ADguez_Lafora
96. https://es.wikipedia.org/wiki/Jorge_Francisco_Tello
97. https://es.wikipedia.org/wiki/Korbinian_Brodmann
98. <https://jralonso.es/2014/08/11/achucarro/>
99. <https://www.google.com>
100. <https://www.google.es>
101. <https://www.historiadelamedicina.org/maestre.html>
102. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
103. <https://www.ranm.es/academicos/academicos-de-numero-antiores/1058-1885-maestre-de-san-juan-y-munoz-aurelio.html>
104. <https://www.senc.es>
105. <https://www.senc.es/wp-content/uploads/2017/11/biografia-Nicola%CC%81s-Achucarro.pdf>
106. <https://www.wikipedia.org/>)
107. Iglesias-Rozas JR, Garrosa M. Río-Hortega's third contribution to the morphological knowledge and functional interpretation of the oligodendroglia. Elsevier. Amsterdam. 2012
108. Iglesias-Rozas JR, Garrosa M. The discovery of oligodendroglia cells by Río-Hortega: his original articles. Clin Neuropathol. 31: 437-439. 2012.
109. Inagaki M, Nakamura Y, Takada M, Nishimura T, Inagaki N. Glial fibrillary acidic protein: dynamic property and regulation by phosphorylation. Brain Pathol. 4: 239-243. 1994.
110. Jäkel S, Dimou L. Glial cells and their function in the adult brain: a journey through the history of their ablation. Front. Cell Neurosci. 11: 24. 2017.
111. Jones EG, Coulter JD, Hendry SH. Intracortical connectivity of architectonic fields in the somatic sensory, motor and parietal cortex of monkeys. J. Comp. Neurol. 181: 291-347. 1978.
112. Jordan FL, Thomas WE. Brain macrophages: questions of origin and interrelationship. Brain Res. 472: 165-178. 1988.
113. Kaur C, Ling EA. The circumventricular organs. Histol. Histopathol. 32: 879-892. 2017.
114. Kettenmann H, Hoppe D, Gottmann K, Banati R, Kreutzberg G. Cultured microglial cells have a distinct pattern of membrane channels

- different from peritoneal macrophages. *J. Neurosci. Res.* 26: 278-287. 1990.
115. Kettenmann H, Ransom BR. The concept of neuroglia: A historical perspective. Oxford University Press. Oxford. 2005.
116. Kitamura T. Dynamic aspects of glial reactions in altered brains. *Pathol. Res. Pract.* 168: 301-343. 1980.
117. Kuffler SW, Nicholls JG. The physiology of neuroglial cells. *Ergeb. Physiol.* 57: 1-90. 1966.
118. Laín Entralgo L. Historia de la medicina. Salvat Editores. Barcelona. 1982.
119. Langlet F. Tanycytes: a gateway to the metabolic hypothalamus. *J. Neuroendocrinol.* 26: 753-760. 2014.
120. Lassmann H. The birth of oligodendrocytes in the anatomical and neuropathological literature: the seminal contribution of Pio del Rio-Hortega. 1921. *Clin Neuropathol.* 31: 435-436. 2012.
121. Lenhossék L. Zur kenntnis der neuroglía des menschlichen ruchenmarkes. *Verh. Anat. Ges.* 5: 193-221. 1891.
122. Levine JM, Reynolds R, Fawcett JW. The oligodendrocyte precursor cell in health and disease. *Trends Neurosci.* 24: 39-47. 2001.
123. Lewis JE, Ebling FJ. Tanycytes as regulators of seasonal cycles in neuroendocrine function. *Front. Neurol.* 8: 79. 2017.
124. Li L, Lundkvist A, Andersson D, Wilhelmsson U, Nagai N, Pardo AC, Nodin C, Ståhlberg A, Aprico K, Larsson K, Yabe T, Moons L, Fotheringham A, Davies I, Carmeliet P, Schwartz JP, Pekna M, Kubista M, Blomstrand F, Maragakis N, Nilsson M, Pekny M. Protective role of reactive astrocytes in brain ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 28: 468-481. 2008.
125. Ling EA, Leblond CP. Investigation of glial cells in semithin sections. II. Variation with age in the numbers of the various glial cell types in rat cortex and corpus callosum. *J. Comp. Neurol.* 149: 73-81. 1973.
126. Ling EA, Paterson JA, Privat A, Mori S, Leblond CP. Investigation of glial cells in semithin sections. I. Identification of glial cells in the brain of young rats. *J. Comp. Neurol.* 149: 43-71. 1973.
127. Löfgren F. New aspects of the hypothalamic control of the adenohipophysis. *Acta Morphol. Neerl. Scand.* 2: 220-229. 1959.
128. Löfgren F. The infundibular recess, a component in the hypothalamo-adenohypophysial system. *Acta Morphol. Neerl. Scand.* 3: 55-78. 1960.
129. López Muñoz F, Rubio G, Molina JD, García-García P, Álamo C, Santo-Domingo J. Cajal y la psiquiatría biológica: el legado psiquiátrico de Ramón y Cajal (una teoría y una escuela). *Arch. Psiquiatr.* 71: 50-79. 2008.

130. López Piñero JM. Nicolás Achúcarro, el hombre y la obra. *Gaceta Médica del Norte*. 18: 199-211. 1968.
131. López Piñero JM. Ramón y Cajal. Salvat Editores. Barcelona. 1988.
132. López Serna N. *Biología del desarrollo*. Cuaderno de Trabajo. McGraw-Hill Interamericana. Madrid. 2011.
133. Lorente de Nó R. The cerebral cortex: architecture, intracortical connections and motor projections. In: JF Fulton, editor. *Physiology of the nervous system*. Oxford University Press. London. pp: 291-325. 1938.
134. Luse SA. Electron microscopic observations of the central nervous system. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 2: 531-542. 1956a.
135. Luse SA. Formation of myelin in the central nervous system of mice and rats, as studied with the electron microscope. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 2: 777-784. 1956b.
136. Maestre de San Juan A. Falta total de los nervios olfatorios con anosmia en un individuo en quien existía una atrofia congénita de los testículos y miembro viril. *Siglo Med.* 131: 211-221. 1856.
137. Martínez Murillo R. La Escuela de Cajal y su Instituto hoy. En: Ramón y Cajal y la Ciencia Española. LA Baratas Díez, editor. Ministerio de Educación. pg: 117-149. Madrid. 2005.
138. Megías Pacheco M, Molist García P, Pombal Diego MA. Atlas de histología vegetal y animal. El astrocito. <https://mmegias.webs.uvigo.es/inicio.html>. 2017.
139. Ministerio de Sanidad y Consumo, Consejo Superior de Investigaciones Científicas y Boletín Oficial del Estado, editores. Santiago Ramón y Cajal. *Histología del Sistema Nervioso del hombre y de los vertebrados*. Tomo I. Madrid. ISBN: 978-84-340-1723-8. 2007.
140. Miras Portugal MT. Las células gliales: su importancia en el funcionamiento, desarrollo y reparación del sistema nervioso. Discurso de Apertura de la Real Academia Nacional de Farmacia del Curso Académico del año 2017. ISBN: 978-84-946424-0-1. 2017.
141. Mori S, Leblond CP. Electron microscopic identification of three classes of oligodendrocytes and a preliminary study of their proliferative activity in the corpus callosum of young rats. *J. Comp. Neuron.* 139: 1-28. 1970.
142. Mori S, Leblond CP. Identification of microglia in light and electron microscopy. *J. Comp. Neurol.* 135: 57-79. 1969.
143. Mugnaini E, Walberg F. Ultrastructure of neuroglia. *Ergeb. Anat.* 37: 194-236. 1964.
144. Nakai J. (editor). *Morphology of neuroglia*. Igaku Shoin Ltd. Tokio. 1963.
145. Nieuwenhuys R. The neocortex. An overview of its evolutionary development, structural organization and synaptology. *Anat. Embryol.* 190: 307-337. 1994.

146. Nishiyama A, Komitova M, Suzuki R, Zhu X. Polydendrocytes (NG2 cells): Multifunctional cells with lineage plasticity. *Nat. Rev. Neurosci.* 10: 9-22. 2009.
147. Nitschke F, Ahonen SJ, Nitschke S, Mitra S, Minassian BA. Lafora disease - from pathogenesis to treatment strategies. *Nature Reviews Neurology.* 14: 606-617. 2018.
148. Oheim M, Schmidt E, Hirrlinger J. Local energy on demand: Are “spontaneous” astrocytic Ca²⁺-microdomains the regulatory unit for astrocyte-neuron metabolic cooperation? *Brain Res. Bull.* 136: 54-64. 2018.
149. Oliva Aldamiz H. *Cajal y la anatomía patológica española, una historia compartida.* Salvat Editores. Barcelona. 1984.
150. Orellana JA, Sáez PJ, Cortés-Campos C, Elizondo RJ, Shoji KF, Contreras-Duarte S, Figueroa V, Velarde V, Jiang JX, Nualart F, Sáez JC, García MA. Glucose increases intracellular free Ca(2+) in tanycytes via ATP released through connexin 43 hemichannels. *Glia.* 60: 53-68. 2012.
151. Palay SL. An electron microscopical study of neuroglia. In: *Biology of neuroglia.* WF Windle, editor. pp. 24-28. Springfield, Illinois 1958.
152. Parpura V, Verkhratsky A. Neuroglia at the crossroads of homeostasis, metabolism and signalling: evolution of the concept. *ASN Neuro* 4(4):art:e00087.doi:10.1042/AN20120019. 2012.
153. Paterson JA, Privat A, Ling EA, Leblond CP. Investigation of glial cells in semithin sections. 3. Transformation of subependymal cells into glial cells, as shown by radioautography after 3 H-thymidine injection into the lateral ventricle of the brain of young rats. *J. Comp. Neurol.*149: 83-102. 1973.
154. Pekny M, Wilhelmsson U, Pekna M. The dual role of astrocyte activation and reactive gliosis. *Neurosci Lett.* 565: 30-38. 2014.
155. Pekny M, Wilhelmsson U. GFAP and astrocyte intermediate filaments. In *Handbook of neurochemistry and molecular neurobiology: Neuroactive proteins and peptides* (Lajtha A, editor). pp. 289-314. Springer. Berlin. 2006.
156. Penfiel W. (editor). *Cytology and cellular pathology of the nervous system.* PB Hoeber. New York. 1932a.
157. Penfiel W. *Neuroglia: normal and pathological.* Cytology and cellular pathology of the nervous system. W Penfiel, editor. PB Hoeber. New York Vol 2: 423-479. 1932b.
158. Penfield W. Oligodendroglia and its relation to classical neuroglia. *Brain* 47: 430-452. 1924.
159. Perea G and Araque A. Nuevas vías de información en el sistema nervioso: comunicación entre astrocitos y neuronas. *Rev. Neurol.* 36: 137-144. 2003.

160. Perea G, Araque A. 2010. Glia modulates synaptic transmission. *Brain Res. Rev.* 63: 93-102. 2010.
161. Perea G, Araque A. Synaptic information processing by astrocytes. *J. Physiol. Paris.* 99: 92-97. 2006.
162. Pérez-Cerdá F, Sánchez-Gómez MV, Matute C. Pío del Río Hortega and the discovery of the oligodendrocytes. *Front. Neuroanat.* Jul 7; 9: 92. 2015.
163. Perry VH, Hume DA, Gordon S. Immunohistochemical localization of macrophages and microglia in the adult and developing mouse brain. *Neuroscience.* 15: 313-326. 1985.
164. Peters A. The formation and structure of myelin sheaths in the central nervous system. *J Biophys Biochem Cytol.* 8: 431-446. 1960.
165. Popper KR. *La sociedad abierta y sus enemigos.* Editorial Paidós Ibérica. Barcelona. 2006.
166. Porter KR. The Biology of myelin: other membrane-limited structures of cells. In: *The biology of myelin.* SR Korey, editor. pp: 37-58. Hoeber-Harper. New York. 1959.
167. Price MA, Colvin Wanshura LE, Yang J, Carlson J, Xiang B, Li G, Ferrone S, Dudek AZ, Turley EA, McCarthy JB. CSPG4, a potential therapeutic target, facilitates malignant progression of melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res.* 24: 1148-1157. 2011.
168. Radl EM. *Historia de las teorías biológicas.* Vol. 1. Hasta el siglo XIX. Alianza Editorial. Madrid. 1988.
169. Ramón y Cajal S. El nuevo concepto de la histología de los centros nerviosos. *Rev. Ciencias Med. Barcelona.* 18 (números 16, 20, 22 y 28). 1892.
170. Ramón y Cajal S. *Recuerdos de mi vida.* Editorial Crítica. Barcelona. 2014. Puede consultarse en: https://cvc.cervantes.es/ciencia/cajal/cajal_recuerdos/default.htm
171. Ramón y Cajal S. *Revista trimestral de Histología Normal y Patológica* 3-4. Barcelona. 1889.
172. Ramón y Cajal S. *Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados* Tomo I. Imprenta y Librería de Nicolás Moya. 1899.
173. Río-Hortega J. A propósito de los descubrimientos de la microglía y la oligodendroglía: Pío del Río-Hortega y su relación con Achúcarro y Cajal (1914-1934). *Neurosciences and History* 1: 176-190. 2013.
174. Río-Hortega P. ¿Son homologables la glía de escasas radiaciones y la célula de Schwann? *Bol. Soc. Esp. Biol.* 10. 1922.
175. Río-Hortega P. El tercer elemento de los centros nerviosos. I La microglía normal. *Bol. Soc. Esp. Biol.* 8: 68-82. 1920b.
176. Río-Hortega P. El tercer elemento de los centros nerviosos. II Intervención de la microglía en los procesos patológicos (células en

- bastoncito y cuerpos granulo-adiposos). Bol. Soc. Esp. Biol. 8: 91-103. 1920c.
177. Río-Hortega P. El tercer elemento de los centros nerviosos. III Naturaleza probable de la microglía (Bol. Soc. Esp. Biol. 8: 109-120. 1920d.
178. Río-Hortega P. El tercer elemento de los centros nerviosos. IV. Poder fagocítico y movilidad de la microglía. Bol. Soc. Esp. Biol. 9: 154-166. 1920e.
179. Río-Hortega P. Estudios sobre la neuroglía. La glía de escasas radiaciones (oligodendroglía). Bol. Real Soc. Hist. Nat. 21: 16-43. 1921b.
180. Río-Hortega P. Histogénesis y evolución normal, éxodo y distribución regional de la microglía. Mem. Real Soc. Esp. Hist. Nat. 11: 213-268. 1921a.
181. Río-Hortega P. Innovaciones útiles a la técnica de coloración de la microglía. Bol. Soc. Esp. Hist. Nat. 27: 267-279. 1924b.
182. Río-Hortega P. La microglía y su transformación en células en bastoncito y cuerpos gránulo-adiposos. Trab. Lab. Inv. Biol. 18. 37-82. 1920a.
183. Río-Hortega P. Lo que debe entenderse por “tercer elemento” de los centros nerviosos. Bol. Soc. Esp. Biol. 11: 33-35. 1924a.
184. Río-Hortega P. Noticia de un nuevo y fácil método para la coloración de la neuroglía y el tejido conjuntivo. Trab. Lab. Invest. Biol. 15: 367-378. 1918.
185. Río-Hortega P. Tercera aportación al conocimiento morfológico e interpretación funcional de la oligodendroglía. Mem. Real Soc. Esp. Hist. Nat. 14: 161-280. 1928.
186. Robertson JD. The ultrastructure of adult vertebrate peripheral myelinated nerve fibers in relation to myelinogenesis. J. Biophys. Biochem. Cytol. 1: 271-278. 1955.
187. Robertson WF. A microscopic demonstration of the normal and pathological histology of mesoglia cells. J. Mental Sci. 724. 1900.
188. Rodríguez EM, Blázquez JL, Guerra M. The design of barriers in the hypothalamus allows the median eminence and the arcuate nucleus to enjoy private milieus: The former opens to the portal blood and the latter to the cerebrospinal fluid. Peptides 31: 757-776. 2010.
189. Rodriguez EM, Blazquez JL, Pastor FE, Pelaez B, Peña P, Peruzzo B, Amat P. Hypothalamic tanycytes: a key component of brain–endocrine interaction. Int Rev Cytol. 247: 89-164. 2005.
190. Rojczyk-Gołębiowska E, Pałasz A, Wiaderekiewicz R. Hypothalamic subependymal niche: a novel site of the adult neurogenesis. Cell. Mol. Neurobiol. 34: 631-642. 2014.

191. Rützel H, Schiebler TH. Prenatal and early postnatal development of the glial cells in the median eminence of the rat. *Cell Tissue Res.* 211: 117-137. 1980.
192. Sánchez Álvarez-Insúa A. Río-Hortega P. *El Maestro y Yo*. Edita: Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid. 1986.
193. Sánchez Álvarez-Insúa A. Santiago Ramón y Cajal y Pío del Río Hortega. *Arbor CLXI* 634: 151-176. 1998.
194. Schelper RL, Adrian EK Jr. Monocytes become macrophages; they do not become microglia: a light and electron microscopic autoradiographic study using 125-iododeoxyuridine. *J Neuropathol Exp Neurol.* 45: 1-19. 1986.
195. Sierra A, de Castro F, del Río-Hortega J, Iglesias-Rozas JR, Garrosa M, Kettenmann H. The “Big-Bang” for modern glial biology: Translation and comments on Pío del Río-Hortega 1919 Series of Papers on Microglia. *Glia* 64: 1801-1840. 2016.
196. Sminia T, de Groot CJ, Dijkstra CD, Koetsier JC, Polman CH. Macrophages in the central nervous system of the rat. *Immunobiology.* 174: 43-50. 1987.
197. Sofroniew MV. Reactive astrocytes in neural repair and protection. *The Neuroscientist.* 5: 400-407. 2005.
198. Stallcup WB, Huang FJ. A role for the NG2 proteoglycan in glioma progression. *Cell Adhes. Migr.* 2: 192-201. 2008.
199. Stallcup WB. The NG2 antigen, a putative lineage marker: immunofluorescent localization in primary cultures of rat brain. *Dev. Biol.* 83: 154-165. 1981.
200. Streit WJ, Graeber MB, Kreutzberg GW. Functional plasticity of microglia: a review. *Glia.* 1: 301-307. 1988.
201. Toledo JD. Aspectos morfológicos de la obra del Dr. Achúcarro. *Gaceta Médica del Norte.* Vol 18: 185-190. 1968.
202. Torres-Fernández O. La técnica de impregnación argéntica de Golgi. Conmemoración del centenario del premio nobel de medicina (1906) compartido por Camillo Golgi y Santiago Ramón y Cajal. *Revista Biomédica* 26: 498-508. 2006.
203. Tower DB, Young OM. The activities of butyrylcholinesterase and carbonic anhydrase, the rate of anaerobic glycolysis, and the question of a constant density of glial cells in cerebral cortices of various mammalian species from mouse to whale. *J. Neurochem.* 20: 269-278. 1973.
204. Trotter J, Karram K, Nishiyama A. NG2 cells: properties, progeny and origin. *Brain Res. Rev.* 63: 72-82. 2010.
205. Vargas Llosa M. *La llamada de la tribu*. Editorial Alfaguara. Madrid. 2018.
206. Verkhratsky A, Nedergaard M. Physiology of astroglia. *Physiol. Rev.* 98: 239-389. 2018.

207. Vitoria Ortiz M. Vida y obra del doctor Achúcarro. Edita "La Gran Enciclopedia Vasca". Bilbao. 1977.
208. Wilhelmsson U, Andersson D, de Pablo Y, Pekny R, Ståhlberg A, Mulder J, Mitsios N, Hortobágyi T, Pekny M, Pekna M. Injury leads to the appearance of cells with characteristics of both microglia and astrocytes in mouse and human brain. *Cereb. Cortex.* 27: 3360-3377. 2017.
209. Wilhelmsson U, Bushong EA, Price DL, Smarr BL, Phung V, Terada M, Ellisman MH, Pekny M. Redefining the concept of reactive astrocytes as cells that remain within their unique domains upon reaction to injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103: 17513-17518. 2006.
210. Windle WF (editor). *Biology of Neuroglia.* Springfield, Illinois. Thomas. 1958.
211. Yorke CH Jr, Caviness VS Jr. Interhemispheric neocortical connections of the corpus callosum in the normal mouse: a study based on anterograde and retrograde methods. *J. Comp. Neurol.* 164: 233-245. 1975.
212. Zarranz JJ. Nicolás Achúcarro Lund (1880-1918). *Neurosciences and History.* 2: 74-78. 2014.

