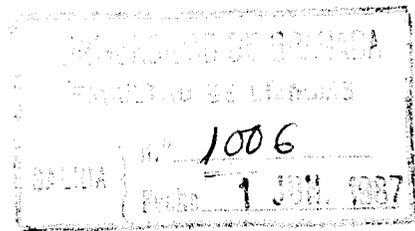


R. 32.955



UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR

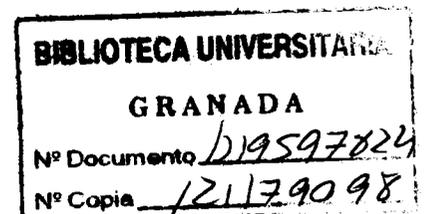
T
13
5

ANALISIS MORFOMETRICO DE POBLACIONES:
UN ESTUDIO CUANTITATIVO DE LAS NEURONAS
DEL NGLD DEL TALAMO DEL CONEJO
(*Oryctolagus cuniculus L.*)

RAMON CARMONA MARTOS

TESIS DOCTORAL

1987





UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE CIENCIAS

— DON JUAN DE DIOS PEREZ JIMENEZ; PROFESOR Y SECRETARIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA.—

Núm. 1006

C E R T I F I C O: Que la presente Tesis Doctoral corresponde a la presentada en esta Facultad por D. Ramon Carmo-
na Martos y que fue calificada con -
Apto "cum Laude" el dia 15 de Mayo -
de 1.987 por el Tribunal correspon--
diente, y que fue aprobado en Comi--
sión Permanente celebrada el dia 18
de Marzo de 1.987 siendo el titulo -
de la Tesis: "Análisis morfométrico
de poblaciones: Un estudio cuantita-
tivo de las neuronas del NGLD del ta-
lamo del conejo (*Oryctolagus cuniculus* L.)

Y para que conste expido la presente cer-
tificación con el Vº.Bº. del Ilmo. Sr. Decano
en Granada a veintinueve de Mayo de mil nove--
cientos ochenta y siete.

Vº.Bº.
EL DECANO,

Carballeira

J. O. Pérez

18.02.85



UNIVERSIDAD DE GRANADA

Facultad de Ciencias (Sección de Biológicas)

Dpto. de Biología Celular

ANALISIS MORFOMETRICO DE POBLACIONES: UN ESTUDIO CUANTITATIVO DE LAS
NEURONAS DEL NGLD DEL TALAMO DEL CONEJO (*Oryctolagus cuniculus L.*)

Trabajo presentado por Ramón Carmona Martos,
Licenciado en Ciencias Biológicas, para optar
al grado de Doctor.

Los abajo firmantes, Prof. Dr. D. Francisco Abadía-Fenoll y la Dra. Dña
Ruth Calvente Iglesias, directores de la presente tesis, certifican que la
misma ha sido realizada en el Dpto. de Biología Celular de la Facultad de
Ciencias de la Universidad de Granada.

Francisco Abadía-Fenoll

Ruth Calvente Iglesias

Granada 25 de Marzo de 1987

A Gloria

A mis Padres

Quiero testimoniar mi agradecimiento a todos aquéllos que han hecho posible la realización del presente trabajo:

Al Prof. Dr. D. Francisco Abadía-Fenoll y a la Dra. Dña. Ruth Calvente Iglesias, por la dirección y ayuda recibida para la realización de esta tesis.

Al Dr. D. Antonio Almendros Gallego y al Dr. D. J. Luis Caballero López-Lendínez, por sus consejos acerca del tratamiento histológico del material.

A todos los componentes del Departamento de Citología e Histología de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Granada, que, de una u otra forma, me prestaron su colaboración.

INDICE

I. INTRODUCCION	1
II. SITUACION BIBLIOGRAFICA	5
1. ESTEREOLOGIA. METODOS ESTEREOLOGICOS	6
1.1. Cálculo del volumen de la estructura contenedora	8
1.2. Reconstrucción tridimensional	13
1.3. Métodos para la determinación del número de neuronas ...	15
1.4. Parámetros que caracterizan a los objetos contenidos en una estructura	22
1.4.1. Tamaño	22
1.4.2. Superficie específica	24
1.4.3. Forma	26
1.5. Métodos para el análisis de la organización espacial de las estructuras celulares	28
1.6. Influencia de los procedimientos técnicos en los estudios estereológicos	31
2. NUCLEO GENICULADO LATERAL	33
2.1. Sistema Visual de Mamíferos. El Núcleo Geniculado Lateral (NGL)	33
2.2. Aspectos morfológicos del Núcleo Geniculado Lateral	34
2.3. Organización del Núcleo Geniculado Lateral dorsal	37
2.4. Estudio de los elementos estructurales del NGLd de mamíferos	44

III. MATERIAL Y METODOS	57
1. MATERIAL DE ESTUDIO UTILIZADO Y PROCEDERES TECNICOS SEGUIDOS PARA LA OBTENCION DE CORTES HISTOLOGICOS	58
1.1. Perfusión	59
1.2. Método de Klüver-Barrera (Klüver-Barrera, 1953).	60
1.2.1. Fijación	61
1.2.2. Inclusión	62
1.2.3. Corte	63
1.2.4. Tinción	63
1.2.4.a. Soluciones colorantes	64
1.2.4.b. Proceso de tinción	64
1.3. Método de Golgi-Adams (Adams, 1979)	66
1.3.1. Fijación	66
1.3.2. Impregnación	67
1.3.3. Inclusión y corte	67
1.3.4. Deshidratación y montaje	67
2. CALCULO DE LA RETRACCION ORIGINADA POR EL PROCEDER TECNICO ..	68
3. TECNICA DE OBTENCION DE DIBUJOS PARA DETERMINACIONES VOLUME- TRICAS Y RECONSTRUCCIONES	71
4. DELIMITACION DE LAS ZONAS DE ESTUDIO	77
5. RECONSTRUCCION TRIDIMENSIONAL GRAFICA DEL NGL	83
6. CALCULO DE VOLUMENES	87
6.1. Elección de la muestra	88
6.2. Determinación de áreas	89
6.3. Obtención de volúmenes	90
7. DETERMINACION DEL NUMERO DE NEURONAS	92
7.1. Unidades muestrales	93

7.2. Determinación del tamaño de la muestra	93
7.3. Estimación del número total de neuronas	95
7.4. Efecto Holmes	95
7.5. Corrección del efecto Holmes	96
7.6. Cálculo de la densidad	98
8. METODOLOGIA PARA EL ANALISIS DE POBLACIONES CELULARES	99
8.1. Perfiles neuronales	100
8.2. Parámetros analizados	101
8.3. Elección de la muestra	102
8.4. Criterios de clasificación de los perfiles	105
8.5. Análisis de la excentricidad del nucléolo	108
9. ESTADISTICA APLICADA	113
IV. OBSERVACIONES Y RESULTADOS	115
1. MORFOLOGIA GENERAL Y ORGANIZACION CITOARQUITECTONICA DEL NGLd	116
2. RECONSTRUCCION TRIDIMENSIONAL DEL NGL	141
3. DETERMINACIONES VOLUMETRICAS EN EL NGLd DEL CONEJO	147
4. DETERMINACION DEL NUMERO DE NEURONAS. CALCULO DE LA DENSIDAD NEURONAL	163
5. COMPARACION DE LOS VALORES DE DENSIDAD NEURONAL OBTENIDOS EN LAS DIFERENTES ZONAS DE LOS SECTORES α_E Y α_I	180
6. ANALISIS DE LAS CARACTERISTICAS MORFOMETRICAS DE LAS POBLA- CIONES NEURONALES EN EL SECTOR α_E DEL NGLd DEL CONEJO	184
6.1. Analisis de la excentricidad del nucleolo	185

6.2.	Consideraciones generales sobre el análisis poblacional	193
6.3.	Análisis del área de los perfiles de los somas neuronales	196
6.3.1.	Resultados obtenidos para el sector α_E total ..	200
6.3.2.	Resultados obtenidos para la zona superior del sector α_E ($\alpha_E S$)	205
6.3.3.	Resultados obtenidos para la zona media del sector α_E ($\alpha_E M$)	210
6.3.4.	Resultados obtenidos para la zona inferior del sector α_E ($\alpha_E I$)	214
6.4.	Análisis del área de los perfiles de los núcleos neuronales	218
6.5.	Análisis del factor de forma elíptica de los perfiles neuronales	233
6.6.	Análisis del factor de forma elíptica de los perfiles de los núcleos neuronales	251
6.7.	Relación núcleo/citoplasma	265
6.8.	Esquemas de los perfiles neuronales analizados	287
7.	ANÁLISIS DE POBLACIONES O CATEGORIAS DE PERFILES	297
7.1.	Doble clasificación	298
7.2.	Distribución de poblaciones a partir de perfiles	316
7.3.	Análisis de los perfiles derivados de una partícula ...	318
7.3.1.	Partículas esferoidales	318
7.3.2.	Partículas elipsoidales	319
7.4.	Estudio de los ángulos de inclinación	329
7.5.	Tablas de clasificación por ángulos y factor de forma elíptica para cada tamaño de perfil	338
7.6.	Principios analíticos generales en la distinción de poblaciones	342
7.7.	Procedimiento empleado en el análisis de poblaciones. "Limpieza" de los porcentajes. Obtención de valores reales	346
7.7.1.	Confección de los cuadros de anotaciones (C.A.).	346

7.7.2. Sistema de "limpieza" de "contaminación propia" y de "contaminación derivada"	352
7.8. Categorías reales finales de neuronas encontradas en el sector α_E del NGLd del conejo	361
7.9. Descripción de algunos caracteres morfométricos propios de las categorías neuronales descritas	371
 ICONOGRAFIA REPRESENTATIVA DE LAS CATEGORIAS OBTENIDAS EN LOS PREPARADOS HISTOLOGICOS TRAS SU CLASIFICACION REAL	376
 V. COMENTARIO	383
1. ASPECTOS TECNICOS	384
2. CONSIDERACIONES MORFOLOGICAS	390
3. RECONSTRUCCION GRAFICA Y DELIMITACION DE LAS ZONAS DE ESTUDIO	392
4. ESTIMACIONES DE VOLUMEN	394
5. NUMERO DE NEURONAS Y DENSIDAD NEURONAL	395
6. ANALISIS DE POBLACIONES O CATEGORIAS DE PERFILES REALES: CARACTERES MORFOMETRICOS PROPIOS	398
 VI. CONCLUSIONES	409
 VII. BIBLIOGRAFIA	413

I. INTRODUCCION

El núcleo geniculado lateral (NGL) es un complejo nuclear del tálamo dorsal que comprende diversos núcleos (Szentágothai, 1973). El más prominente de ellos es el núcleo geniculado lateral dorsal (NGLd), el cual constituye un eslabón fundamental en la cadena sensible del Sistema Visual de Mamíferos, ya que recibe un importante contingente de fibras retinales y se proyecta a través de la radiación óptica hasta el córtex cerebral ipsilateral (Wilson y Cragg, 1967). Así pues, el NGLd es estación de relevo de las vías ópticas y el centro óptico primario desde donde las fibras nerviosas que parten de la retina o estación inicial van a alcanzar regiones de la corteza en las áreas visuales o estación final. Cada una de estas estructuras nerviosas reseñadas es doble, encontrándose representada una en la región derecha y otra en la izquierda.

En la actualidad se han realizado estudios suficientemente amplios de la estructura citoarquitectónica del NGLd, y en general de todos los centros visuales así como de las relaciones entre unas y otras zonas. Igualmente, la utilización de técnicas fisiológicas ha sido ampliamente aplicada a los centros y vías visuales. A pesar de estos extensos estudios citoarquitectónicos y fisiológicos, el conocimiento que han aportado acerca del funcionamiento íntimo es todavía incompleto, máxime cuando aún siguen apareciendo nuevos elementos estructurales implicados en el proceso de la visión. En efecto, recientemente Tauchi y Masland (1984) y Masland (1987), en trabajos realizados sobre la retina del conejo, demuestran que los cinco tipos neuronales básicos (células fotorreceptoras, células bipolares, células ganglionares, células amacrinas y células horizontales), a su vez, presentan subtipos con características propias, con lo que el número real de elementos funcionales distintos bien pudiera alcanzar la cincuentena. Por su parte, en el córtex visual, las modernas teorías sobre la visión propugnan la existencia de zonas visuales corticales superiores a las que se proyecta la zona visual primaria, y en las que, con toda probabilidad, se procesa por separado la información acerca del color, el movimiento y la profundidad estereoscópica (Hubel y Wiesel, 1979), lo cual supone de modo razonable la existencia a nivel cortical de nuevos elementos implicados en el proceso visual. En cuanto al NGLd, aunque en líneas

generales hay acuerdo en distinguir tres tipos neuronales (dos tipos de neuronas de relevo y un tipo de interneuronas), son muchos los autores que observan una situación más compleja. Así, Guillery (1966) expone que sólo el 60% de los elementos neuronales del NGLd del gato se ajustan a los tres tipos antedichos, las restantes neuronas presentan características intermedias. Famiglietti (1970), igualmente en gato, reconoce incluso una nueva clase de neurona, isodendrítica y cuyas dendritas sobrepasan los límites laminares. Del mismo modo Grossman y cols. (1973), en estudios realizados en la rata, apuntan la posibilidad de que algunas interneuronas posean axón mielinizado y que incluso proyecten fuera del NGLd. Más recientemente, Meyer y Albus (1981) identifican gran variedad de subtipos celulares en el NGLd del gato y Hitchcock y Hickey (1983), utilizando el método de Golgi registran cinco clases de neuronas en la lámina C del NGLd del gato.

El estudio de esta complejidad estructural dentro del Sistema Visual de Mamíferos, sobre el que se han realizado otras investigaciones en nuestro departamento, es el que nos ha movido en la presente investigación sobre el NGLd del conejo (*Oryctolagus cuniculus*), ya que a nuestro entender, los estudios anatómicos y fisiológicos están necesitados de un mejor análisis morfométrico. El NGLd del conejo, en opinión de algunos investigadores, resulta importante por cuanto que aun presentando una relativa simplicidad estructural próxima a roedores, guarda cierto parecido con el de mamíferos más evolucionados y en los que el sentido de la visión se encuentra más desarrollado. Así, Holcombe y Guillery (1984) destacan, salvando las evidentes diferencias, el paralelismo existente entre el NGLd del conejo y el de gato, pudiendo compararse los sectores α_E y α_I del NGLd del conejo con las láminas A y C, respectivamente, del NGLd del gato, las cuales cuentan entre otros caracteres: el que reciben aferencias cruzadas desde la retina, son distinguibles morfológicamente y se encuentran separadas en casi toda su extensión por la lámina A1 (de proyección ipsilateral). Esta última lámina es comparable con una zona de proyección ipsilateral y de reducidas dimensiones que se encuentra entre los sectores α_E y α_I en la región postero-medial del NGLd del conejo, no

constituyendo un sector propiamente dicho desde el punto de vista morfológico.

El objeto de nuestro trabajo, realizado en *Oryctolagus cuniculus*, va encaminado hacia la clarificación de aspectos citoarquitectónicos y morfométricos del NGLd y de los elementos neuronales que lo constituyen, como esclarecimiento y contribución a la comprensión del funcionamiento de las vías ópticas. En este sentido, el primer paso de nuestra investigación supone intentar un conocimiento de la situación estructural en el NGLd. Los estudios realizados hasta el presente carecen de análisis morfométrico suficiente y por ello para un conocimiento del núcleo, antes de cualquier otro tipo de estudios, necesitamos de forma general investigar con la mayor exactitud el volumen del núcleo, el volumen y tipos neuronales, el porcentaje de neuronas en cada caso y sus diversos sectores.

Estos aspectos nos han llevado a tener que desarrollar una metodología específica (nueva en buena parte) que, mediante la determinación y análisis de algunos parámetros morfométricos, nos ha permitido profundizar en el estudio de las poblaciones neuronales del núcleo en cuestión. Para lograr nuestros objetivos hemos utilizado distintas direcciones de corte (horizontal, frontal y sagital), lo cual es habitualmente obviado en la mayoría de los estudios de este tipo aunque resulta de capital importancia cuando como ocurre en el Sistema Nervioso, existen principios de orientación espacial de células y fibras (Droogleever Fortuyn, 1964).

En resumen, pretendemos con nuestro estudio, no sólo ampliar el campo de los conocimientos existentes acerca del Sistema Visual de Mamíferos, concretamente a nivel del NGLd, sino fundamentalmente desarrollar una metodología que permita caracterizar poblaciones celulares desde el punto de vista morfométrico y que pueda tomarse como pauta en otras investigaciones del mismo tipo.

II. SITUACION BIBLIOGRAFICA

1. ESTEREOLOGIA. METODOS ESTEREOLOGICOS.

La dificultad con la que se tropieza más frecuentemente en la interpretación de imágenes microscópicas es que, en general, se nos ofrece una imagen plana de una sección a través de una estructura y nos vemos obligados, a menudo sin demasiada información objetiva, a entrever su contexto espacial. Nuestra tendencia natural a interpretar cualquier imagen plana como una proyección, puede dar lugar a un análisis erróneo. Así un perfil circular, a primera vista, nos da la impresión de ser la imagen de un objeto esférico, pero perfectamente podría derivar también del corte de un cilindro (Elias, 1972).

La interpretación de imágenes en sección se complica mucho si además queremos obtener información, sobre las dimensiones de los objetos contenidos en la estructura. Evidentemente, si una estructura compuesta por objetos esféricos es cortada por un plano, sin duda, la mayor parte de las esferas no serán cortadas por sus centros, de manera que la mayoría de los perfiles tendrán un diámetro más pequeño que el real de las esferas. No obstante, puede conseguirse a partir de los perfiles información que permita establecer afirmaciones acerca del tamaño de las mismas (Weibel, 1979).

Si en la estructura en cuestión además de esferas hay algún otro cuerpo geométrico, por ejemplo elipsoides y si, por añadidura, podemos encontrar esferas y/o elipsoides de diferente tamaño, la catalogación de los distintos objetos a partir de secciones planas se hace aún más difícil.

En resumen, el problema que se nos plantea, con diferentes grados de complejidad, es la correcta interpretación espacial de secciones planas obtenidas a partir de una estructura; lo cual entra de lleno en el campo de la Estereología.

Aunque etimológicamente la palabra "Estereología" es mas bien amplia, su significado connotativo ha llegado a ser bastante específico: se

trata de un conjunto de métodos matemáticos que relacionan los parámetros tridimensionales que definen una estructura, con las medidas bidimensionales que se obtienen a partir de secciones de la estructura (Weibel, 1979).

De un modo más simple Williams (1977), define la Estereología como el conjunto de todos aquellos métodos que permiten obtener información acerca de las características tridimensionales de una estructura, a partir de imágenes bidimensionales (secciones) de la misma.

Williams (1977), clasifica los métodos estereológicos en dos grupos: métodos de reconstrucción y métodos estrictamente matemáticos. Los primeros se fundamentan básicamente en el empleo de secciones seriadas. Los segundos, en conjunto, constituyen lo que Underwood (1970) ha denominado "Estereología cuantitativa"; se trata de métodos puramente matemáticos, cuyo desarrollo ha sido impulsado por el interés de estimar determinados parámetros tridimensionales de la estructura, así como de las partículas u objetos en ella contenidos.

En líneas generales el desarrollo de los métodos estereológicos requiere un profundo conocimiento matemático en campos tan difíciles como son la teoría de la Probabilidad Geométrica (Kendall y Moran, 1963; Weibel y Paumgartner, 1978), la Geometría Integral (Hadwiger, 1957; Santaló, 1976) o la Estadística (Snedecor, 1956; Nicholson, 1978); no obstante, los resultados suelen ser bastante simples: fórmulas que pueden ser aplicadas sin demasiado conocimiento acerca de los procedimientos de los que se derivaron.

A continuación centraremos nuestra atención en los métodos estereológicos referentes a:

- Cálculo del volumen de la estructura contenedora.
- Reconstrucción tridimensional.
- Métodos para la determinación del número de neuronas.

- Parámetros que caracterizan a los objetos contenidos en una estructura.
- Métodos para el análisis de la organización espacial de los elementos celulares.

1.1. Cálculo del volumen de la estructura contenedora.

Sobre los diversos procedimientos que existen para el cálculo de volúmenes no faltan numerosas y exhaustivas revisiones (véase Elías y cols., 1971; Haug, 1970-1972; Weibel, 1979).

Fue el geólogo francés Delesse (1847) el primer investigador que atacó el problema de la determinación del volumen de sólidos, a partir de secciones seriadas de grosor conocido. Delesse consideraba sólidos de formas irregulares, que seccionó en una serie de cortes de grosor determinado; medía a continuación el área de cada corte y la multiplicaba por el grosor del mismo; sumando por último estos resultados parciales, hallaba el volumen del sólido en cuestión. Básicamente, los métodos que se desarrollaron posteriormente se apoyan todos en el proceder de Delesse.

El cálculo de volúmenes, puede llevarse a cabo mediante reconstrucciones plásticas. De este modo, además de obtener el volumen de la estructura, se nos proporciona un verdadero modelo tridimensional. El método fue introducido por Born en 1883 y básicamente consiste en recortar placas de cera, tomando como modelo las secciones obtenidas a partir de la estructura que se quiere reconstruir. A continuación las placas se apilan unas sobre otras, alisando luego las superficies. Por último, a partir del modelo en cera se prepara un vaciado en yeso. Sin embargo, esta forma de proceder es una tarea larga y laboriosa que, aunque proporciona resultados válidos, puede conducir en ocasiones a cometer considerables inexactitudes, por lo que ha sido escasamente empleada.

Mediante el sistema de integración lineal (Rosival, 1898), los cortes obtenidos a partir de una estructura son valorados de la siguiente forma: la imagen obtenida por la proyección de un corte se cubre con una lámina transparente sobre la que se representan una serie de líneas de muestreo; a continuación se mide la longitud de los segmentos de esas líneas incluidos en el perfil del corte. Dicha longitud será relacionada finalmente con un valor determinado de área para el corte en cuestión.

Un método todavía primitivo, es el introducido por Hammar (1914, 1926). Consiste en dibujar sobre una cartulina los contornos de la estructura que estudiamos, a partir de las diversas secciones donde está contenida; posteriormente las figuras son recortadas y pesadas. En la misma cartulina se dibuja un cuadrado que representa una superficie equivalente a $1 \mu\text{m}^2$ y se pesa igualmente. La relación entre los pesos de las figuras recortadas y el peso de la cartulina que representa la superficie equivalente a $1 \mu\text{m}^2$, nos ofrece la superficie total de las secciones valoradas, que al multiplicar por el grosor de dichas secciones se transforma en el volumen de la estructura que tratábamos de determinar. Con este método, Stephan (1967) consiguió determinar el volumen de cerebros.

Thomson (1930) y Glagolev (1933) fueron los primeros en demostrar que es posible estimar el volumen de una estructura a través de un procedimiento de recuento de puntos aleatorios. En Biología este método fue introducido independientemente por Chalkley (1943).

Un método más exacto que todos los descritos anteriormente consiste en determinar la superficie de los cortes histológicos mediante el planímetro. En los métodos de planimetría el primer paso consiste en dibujar sobre un papel el contorno ofrecido por las secciones histológicas de la estructura que se pretende valorar. Esto se puede conseguir de cuatro maneras diferentes:

1ª) A partir de la imagen ofrecida por fotografías aumentadas de las diferentes secciones. Así fue llevado a cabo por Daron (1960).

2ª) Utilizando una cámara clara. Esta manera de proceder fue empleada, entre otros, por Lassek y Rasmussen (1938) para determinaciones volumétricas en la sustancia gris de la médula espinal humana, así como por Dornfied y cols. (1942) para el cálculo del volumen ocupado por el núcleo del sexto par de nervios craneales en el hombre.

3ª) Proyectando, con aumentos suficientes, las secciones histológicas. Este es el método más extendido. Entre los autores que lo utilizan destacan Chacko (1948), Harman y Carpenter (1950) y Powell y cols. (1957).

4ª) Mediante los modernos procesadores semiautomáticos de imagen. En los sistemas antiguos una vez obtenidos los dibujos de las diferentes secciones, se determinan las superficies ocupadas por ellos, esto se lleva a cabo en cada dibujo moviendo el brazo de un planímetro a lo largo del contorno dibujado, a partir de un punto de dicho contorno. Así el dial del planímetro da una lectura que corresponde a la superficie encerrada en cada contorno. Se transforman a continuación las superficies obtenidas sobre los dibujos en superficies reales, teniendo en cuenta para ello los aumentos que hemos utilizado. La suma de las superficies reales obtenidas en los diferentes cortes histológicos multiplicada por el grosor de ellos, nos calcula el volumen total de la estructura estudiada.

La utilización de aparatos de dibujo auxiliados por ordenadores de gran capacidad, ha hecho posible métodos de trabajo mucho más precisos que los descritos hasta ahora.

El modo de proceder es básicamente similar al descrito en el método de planimetría, pero en este caso se utiliza un "tablero digitalizador" sobre el que se superpone la hoja de papel con el dibujo correspondiente a una sección de una estructura. Con la pluma adecuada, conectada al "tablero digitalizador", se traza el contorno del objeto; el microprocesador conectado al sistema registra entonces las coordenadas del trazado y computa, mediante integración, los algoritmos de diversos tipos de parámetros, tales como el área del perfil, el perímetro o longitud de su contorno, sus diámetros mayor y menor, la proyección de su diámetro en una determinada dirección, algunos factores de forma, etc. (estos parámetros adicionales resultan muy interesantes en otro tipo de estudios estereológicos). De este modo, con una sola operación de dibujo obtenemos diversos bloques de datos; con lo cual además de una mayor precisión, logramos más información acerca del dibujo en cuestión. Instrumentos de este tipo han sido ideados y utilizados por Rohr (1976) y Haug (1976) entre otros.

Los instrumentos semiautomáticos que acabamos de describir, han evolucionado en poco tiempo, transformándose en analizadores automáticos de imágenes.

Todos los analizadores de imágenes operan según el mismo principio (Hougardy, 1976). La imagen es recogida por una cámara videotape que la convierte en una ordenación paralela de líneas de exploración con la señal de video reflejando la intensidad de luz del espécimen línea por línea. Mediante muestreo de la señal análoga a intervalos regulares, la línea de exploración es "descompuesta" en líneas de puntos subdividiendo así la imagen en una nube densa de puntos discretos. Cada punto de esta "composición de puntos" lleva ahora dos piezas de información: su localización en el espécimen (coordenadas X, Y) y su intensidad luminosa (I) relacionada con el nivel de gris del espécimen en este punto.

Hay dos formas mediante las cuales puede procesarse posteriormente la imagen electrónica:

- la información total de la imagen (coordenadas y nivel gris de cada punto) es transferida a la memoria de un gran ordenador y la información es procesada por "software" (Rink, 1976);
- la evaluación posterior es realizada, al menos en parte, por algún "hardware" incorporado a un sistema ordenador especializado en el análisis de imágenes.

Recientemente, imágenes de video-tape procedentes de microscopios ópticos o electrónicos, se pueden obtener de forma digital con computadores personales, utilizando periféricos estándar o interfases (Russ y Russ, 1984). Previamente, se ha desarrollado el "software" apropiado para el uso de dichos microcomputadores (Russ y Huns, 1982; Hare y cols., 1982; Russ y Stewart, 1983).

La utilización de analizadores automáticos de imágenes, que duda cabe, presenta grandes ventajas, puesto que permiten tomar la imagen directamente del microscopio y determinar automáticamente la información de relevancia de la misma para un análisis estereológico. No obstante, el uso de estos sistemas también presenta graves inconvenientes. El punto capital es que la discriminación de los rasgos distintivos de la imagen, en primer lugar, depende de una discriminación de los niveles de gris, y esto introduce dos dificultades:

- el espécimen del cual procede la imagen debe estar uniformemente iluminado, lo cual no siempre es fácil con los microscopios;
- el nivel de gris no es siempre un criterio inequívoco de un determinado rasgo. Esta segunda dificultad presenta muchos problemas y es efectivamente, el mayor obstáculo para el uso de los analizadores automáticos de imágenes, especialmente en Biología.

Una de las soluciones ofrecidas por algunos instrumentos para solventar estas dificultades es dejar intervenir al observador. Esto puede realizarse, por ejemplo, mediante una "pluma de luz" que, a través de una operación de contorneado sobre la pantalla puede añadir rasgos a la imagen detectada, o bien borrar algunos otros (Serra, 1972, 1978). El analizador de imágenes se vuelve así, en cierto modo, semiautomático, lo cual lejos de ser un inconveniente, proporciona la posibilidad de utilizar estos potentes instrumentos incluso en casos en los que falla la discriminación automática de imagen.

1.2. Reconstrucción tridimensional.

Cuando además del volumen de una estructura nos interesa conocer su forma, hemos de recurrir a su reconstrucción.

Para poder reconstruir una estructura, es preciso que en cada corte tengamos al menos dos puntos de referencia, que nos permitan alinearlos fielmente con respecto a los cortes contiguos. El modo de conseguir puntos de referencia es muy diverso. Desde incluir, junto con la pieza, nervios osmificados, pasando por el uso de moldes de inclusión especiales provistos en su fondo de una serie de ranuras paralelas (Born, 1898), hasta la utilización de estructuras propias del material objeto de la reconstrucción, siempre y cuando éstas no varíen mucho de posición de un corte a otro.

En todas las técnicas de reconstrucción, el punto de partida son los dibujos o clichés fotográficos que reproducen los cortes seriados de la pieza objeto de investigación (revisiones de: Gabe, 1968 y Bracegirdle, 1983), y a partir de los cuales podemos reconstruir la estructura plástica o gráficamente.

El modo de proceder en la reconstrucción plástica; que desde su puesta a punto por Born (1883) no ha sufrido grandes modificaciones; ha

sido descrito en páginas anteriores. En cuanto a la reconstrucción gráfica, el resultado es una imagen bidimensional de la estructura, pero con perspectiva a partir del plano de obtención de los cortes; es decir se trata de una representación figurada a la cual se puede llegar por los siguientes procedimientos (Gabe, 1968; Yamada y Yoshida, 1972; Gaunt y Gaunt, 1978):

- Proyección. Proporciona una imagen bidimensional en un plano perpendicular al del corte.
- Aislamiento gráfico. Proporciona una representación de la estructura en curvas hipsométricas.
- Reconstrucción perspectiva. Conduce a la representación del objeto visto desde cualquier ángulo.

En la actualidad las reconstrucciones gráficas son llevadas a cabo mediante analizadores de imágenes que utilizan las coordenadas (X, Y) de cada uno de los puntos de los contornos, trazados a partir de secciones seriadas sobre el "tablero digitalizador" del analizador, y que posteriormente permiten ver al objeto bajo cualquier ángulo de observación, independientemente de la orientación del plano de corte. Programas sofisticados de computador, para el registro de cortes y visualización tridimensional de distintas estructuras, han sido desarrollados por Levinthal y cols. (1974), para el estudio de las redes nerviosas; Mazziotta y Hamilton (1977), para la reconstrucción y visualización de la estructura neuronal; Veen y Peachey (1977); Tipper (1977); y más recientemente por Dykes y Afshar (1982), Briarty y cols. (1982) o Briarty y Jenkins (1984).

Dornfield y cols. (1942) y Königsmark y cols. (1969) demostraron que no es necesario valorar la superficie de todas las secciones, obtenidas a lo largo de una estructura, para el cálculo de su volumen o para su reconstrucción; determinando la superficie de cortes elegidos periódicamente a partir del total y extrapolando los valores resultantes a los restantes cortes no medidos, se pueden llevar a cabo determinaciones con un mínimo error. El número de cortes a emplear para obtener resultados

fiables, dependerá de la irregularidad de la estructura a lo largo del eje perpendicular al plano de sección (en nuestro caso hemos observado que un 20% de los cortes, es suficiente para obtener resultados satisfactorios).

Por último, para aquellos casos en los que se haya perdido material, Sullivan (1972) propone marcar previamente una cara del bloque a cortar con dos surcos paralelos y otro en diagonal, utilizándose en la alineación de cada sección con respecto de su vecina los dos marcadores paralelos; la distancia entre cortes viene dada por la posición relativa del marcador diagonal con respecto a los marcadores paralelos.

1.3. Métodos para la determinación del número de neuronas.

En el campo de la Neurocitoarquitectura, han sido muchos los autores que han llevado a cabo investigaciones cuantitativas, encaminadas a determinar la densidad neuronal de las diversas regiones del Sistema Nervioso, empleando para ello una considerable variedad de métodos.

Uno de los primeros métodos utilizados fue el fotográfico (Von Economo y Koskinas, 1925; Bouman, 1928), que consiste en realizar secciones histológicas de un grosor determinado y fotografiarlas con un aumento conveniente; a continuación se cuentan las neuronas existentes en las fotografías. Teniendo en cuenta el grosor de los cortes se puede calcular la relación entre el número de neuronas contado y el volumen sobre el que se ha efectuado el recuento.

Este método conduce a notables inexactitudes, comprobadas por Agduhr (1941) o Rowland y Mettler (1949). En efecto, empleando fotografías no se valora el número total de células existentes en el corte, sino sólo las que están en el plano de sección que se encuentra enfocado. Además, debido a que no se pueden utilizar muchos aumentos, las células gliales se confunden con las neuronas de pequeño tamaño. Desde Agduhr son pocos los autores (Tower, 1954; Daron, 1960) que emplean este procedimiento.

Heller y Elliot (1954) desarrollaron un método de recuento de células, partiendo de homogenados de tejido, mediante la utilización de una cámara hemocitométrica.

Ryzen (1956) introdujo el uso del microfotómetro. Este aparato tiene en cuenta la densidad óptica ofrecida por los cortes histológicos, una vez teñidos, para el cálculo del número de neuronas por unidad de volumen. Al igual que el anterior, este procedimiento está hoy en desuso.

Los analizadores de imágenes también han sido utilizados desde la década de los años 50. Presentan la ventaja de su rapidez y poca laboriosidad. Causley y Young (1955) los emplean para estimaciones de neuronas en la corteza cerebral de la rata. Estos aparatos, como hemos indicado en el apartado correspondiente a cálculo de volúmenes, registran las diferencias de densidad óptica que ofrecen los distintos puntos de la imagen (distintos niveles de gris) y en base a ello realizan las determinaciones cuantitativas. Henderson y cols. (1975), en estudios efectuados sobre corteza cerebral humana, establecen que, por lo general, los recuentos realizados a partir de este tipo de aparatos ofrecen valores inferiores a los reales. Sin embargo, Wynford-Thomas y cols. (1982) describen un sistema automático de análisis de imagen, con el que logran resultados comparables a los obtenidos por métodos manuales, en estudios realizados sobre tiroides. Básicamente, el procedimiento empleado por Wynford-Thomas y cols. consiste en analizar varias veces la misma imagen, obtenida a partir de secciones de 3 μm de grosor, modificando el umbral de gris en cada análisis.

A pesar de todo, los métodos de recuento más exactos son aquéllos que se realizan directamente sobre la imagen, convenientemente aumentada, que ofrece el corte histológico.

Se pueden distinguir 2 procedimientos de recuento directo, según la forma de obtener la imagen: de proyección y micrométrico-oculares.

- Técnica de proyección. Los recuentos se realizan sobre la imagen proyectada del corte histológico mediante la utilización de un microproyector. La pantalla sobre la que se proyecta la imagen de la sección histológica ha de subdividirse en cuadrados, realizándose los recuentos sobre cada cuadro. Conociendo la superficie real, en el corte, con la que se corresponde cada cuadrado de recuento y multiplicándola por el grosor del corte se puede establecer el volumen en el que se contienen las neuronas contadas. Esta técnica ha sido utilizada por Bianchi (1942), Sullivan y cols. (1958) y Escobar y cols. (1968).

- Técnicas micrométrico-oculares. Desde que los investigadores sintieron la inquietud de conocer el número de neuronas contenidas en las diversas zonas del Sistema Nervioso (Hammarberg, 1895; Thompson, 1899) hasta nuestros días; estas técnicas, que aunque muy laboriosas son simples y de gran precisión, siguen siendo las más utilizadas. Con esta técnica los recuentos se llevan a cabo directamente mediante observación en el microscopio, utilizando una retícula interpuesta en el ocular que acota el campo de observación. Se determina entonces el número de neuronas que aparecen en cada uno de los cuadrados de la retícula y se calcula la superficie que corresponde a cada cuadrado. Con esto, y conociendo el grosor del corte, se puede establecer el número de neuronas por unidad de volumen. Esta técnica ha sido ampliamente estudiada y descrita por Königsmark (1970) y Haug (1970, 1972).

Cuando el número de elementos que constituyen una estructura es tan elevado que se hace muy laborioso o prácticamente imposible contarlos, se procede a elegir una muestra que sea representativa del total de la población, sobre la que se llevan a cabo los recuentos. Para que una muestra resulte representativa, debe reflejar fielmente la composición del material, dentro de límites estadísticos o intervalos de confianza que sean aceptables. En líneas generales se considera que una muestra es representativa si tiene un coeficiente de variación (raíz cuadrada de la varianza dividida por la media) que no sea superior al 10%-20%, o que el intervalo de confianza al 95% no exceda del 20%.

En la práctica, será preciso proceder a un estudio piloto en el cual los errores inherentes al muestreo, en los procedimientos estereológicos elegidos, sean evaluados empíricamente (Chalkley, 1943; Cochran, 1953).

En general, la muestra está constituida por los elementos contenidos en pequeñas áreas o cuadrados (en realidad si tenemos en cuenta que los cortes tienen siempre un grosor, se trataría de paralelepípedos), repartidos por el material. La distribución de los cuadrados puede hacerse de varias maneras, en virtud de lo cual podemos distinguir las siguientes formas de muestreo:

- Muestreo simple al azar.
- Muestreo sistemático.
- Muestreo aleatorio estratificado.

- Muestreo simple al azar. Se obtiene una muestra de este tipo, situando las cuadrículas de forma independiente por medio de números aleatorios. Esta forma de muestreo presenta algunos inconvenientes; en primer lugar, es claramente posible, y tanto más probable que ocurra cuanto mayor sea la muestra, que dos cuadrículas de muestreo estén muy próximas o incluso parcialmente solapadas; asimismo puede suceder que haya agrupación de cuadrículas en determinadas regiones, mientras que otras permanezcan sin muestrear.

- Muestreo sistemático. Los inconvenientes del muestreo al azar pueden soslayarse espaciando las muestras de forma más o menos regular, mediante un muestreo sistemático, de modo que la muestra sea más representativa. El espaciamiento se puede efectuar según una retícula regular preestablecida que luego es aplicada al material aleatoriamente. De este modo, la muestra aparece bastante dispersa por todo el material y se excluye la superposición de campos de muestreo. Se ha demostrado reiteradamente que un muestreo sistemático con un comienzo aleatorio es mejor que un muestreo aleatorio simple, ya que el primero origina menos errores. Esto

puede probarse mediante razonamientos teóricos (Cochran, 1953; Hilliard y Cahn, 1961; Hennig, 1967) o experimentalmente, tal y como hicieron Ebbeson y Tang (1967) al demostrar que el error estándar en la estimación del número de nucléolos, es casi diez veces mayor si se obtienen los campos microscópicos por muestreo simple. Königsmark y cols. (1969), en estudios realizados sobre el núcleo del sexto par de nervios craneales, también llegaron a la conclusión de que la elección de muestras sistemáticas ofrece mayor seguridad que la utilización de muestras al azar. Más recientemente, Haug (1982) descarta el uso del muestreo simple aleatorio en el caso concreto del cerebro debido a su complejidad estructural.

El principal peligro del muestreo sistemático, es que nos encontremos con una estructura que presente una cierta periodicidad coincidente con la de la retícula de prueba; entonces la varianza puede verse enormemente incrementada. Por tanto, es aconsejable evaluar cuidadosamente el material de estudio, con respecto a las periodicidades que pueda presentar, antes de proceder al muestreo sistemático.

- Muestreo aleatorio estratificado. Este método es intermedio entre el muestreo simple aleatorio y el sistemático. El material se divide primero en regiones o estratos de tamaño similar, cada uno de los cuales se estudia con cierta independencia y de la forma que se estima más apropiada. Se ha encontrado que el muestreo estratificado origina casi el mismo error estándar que el sistemático. Miles y Davy (1977) discutieron las ventajas del muestreo estratificado, particularmente para aquellos casos en los que la estructura del espécimen varía.

La precisión de los métodos de recuento depende en gran medida de dos factores fundamentales: el grosor de los cortes y la unidad de recuento elegida.

Normalmente se emplean secciones gruesas, entre 15 μm y 25 μm . No obstante, dependiendo de las características del material, el grosor puede ser mayor; así Haug (1982), recomienda cortes de 30 μm a 40 μm para

el córtex cerebral. Dos son las razones que hacen necesario el empleo de cortes gruesos:

- los límites de los diferentes núcleos y subnúcleos o capas de una zona determinada, pueden ser observados con fiabilidad solamente por la densidad celular elevada que aparece en las secciones gruesas;
- el error de recuento o efecto Holmes (Holmes, 1927) disminuye en secciones gruesas (Haug, 1967b; Königsmark, 1970; Aherne, 1975).

Sin embargo, aun utilizando cortes gruesos, en la mayoría de los casos el efecto Holmes es significativo; es decir, se produce una sobreestimación del número real de partículas, debido no sólo al grosor de la sección, sino también al tamaño de la estructura tomada como unidad de recuento.

Precisamente esta última consideración fue tenida en cuenta por Wicksell (1925, 1926), que propone, para una estimación más aproximada del número de partículas, el empleo de una fórmula que relaciona el número y tamaño de las mismas y el número de perfiles observados por unidad de área de sección, según la cual

$$N_v = N_A / \bar{D}$$

en donde N_A es la densidad numérica de perfiles por unidad de área de sección y \bar{D} es el diámetro medio de las partículas. Esta fórmula fue atribuida posteriormente a De Hoff y Rhines (1961).

Otras fórmulas similares, aunque de mayor complejidad, son las de De Hoff (1964), que hace uso de factores de forma, y las de Weibel y Gómez (1962), válida para partículas de forma constante y para cuya

aplicación es preciso conocer el volumen medio de las partículas y el área media de sus perfiles.

Asimismo, varios autores más, han propuesto diversos "factores de corrección" de los recuentos de los perfiles, con vistas a una evaluación más precisa del número de partículas (Agduhr, 1941; Floderus, 1944; Abercrombie, 1946; Marrable, 1962; Ebbeson y Tang, 1965; Haug, 1967a; González-Pareja y cols., 1975; Kakisnik-Pajer, 1983).

Hasta ahora nos hemos referido a la unidad de recuento, sin aludir a ninguna estructura concreta. Para el tejido nervioso se pueden utilizar tres elementos neuronales como unidad de recuento: el soma neuronal, el núcleo y el nucléolo.

Puesto que cada neurona posee un soma y un solo núcleo, estos pueden tomarse como representantes de la totalidad de la neurona; pero generalmente, resulta más ventajoso contar nucléolos, porque al ser el diámetro de estos últimos mucho más pequeño que el de los somas neuronales o el de los núcleos, se reduce considerablemente el error (Haug, 1967a; Königsmark, 1970).

En las primeras etapas del desarrollo, sin embargo, algunas células nerviosas pueden tener 2 o más nucléolos. Zilles y cols. (1976), han desarrollado un procedimiento matemático que permite no sólo la eliminación del error de recuento sino también una estimación del porcentaje de células mono-, bi-, o trinucleadas.

De todos modos, las tres estructuras mencionadas han sido muy utilizadas como unidad de recuento. Autores como Von Economo y Koskinas (1925), Lassek (1940), Silver (1942), Chacko (1948) o Sullivan y cols. (1958), han empleado el soma neuronal como unidad de recuento; Escobar y cols. (1968) también lo hacen, y además aplican factores de corrección. El núcleo es utilizado por Hammarberg (1895), Thompson (1899), Numberger (1958) o Irwing y Harrison (1967), sin aplicar factores de corrección; en

tanto que Guild y cols. (1931), Agduhr (1941), Floderus (1944) y Abercrombie (1946), sí que los aplican. Finalmente, de entre los autores que utilizan el nucléolo, Hatai (1902), Sheinin (1930), Jones (1937), Ebbeson (1963), Hall (1962, 1964), Altman (1966) o Moatamed (1966) lo hacen sin tener en cuenta corrección alguna; por el contrario Pakkenberg (1966), Haug (1967a) y Königsmark y cols. (1969) sí que emplean factores de corrección.

1.4. Parámetros que caracterizan a los objetos contenidos en una estructura.

Los parámetros que caracterizan a un objeto son: su tamaño , su superficie específica y su forma (Underwood, 1983).

1.4.1. Tamaño.

A menudo podemos encontrar un gran número de dificultades al analizar estereológicamente la distribución de tamaños de las partículas contenidas en una estructura. Por tanto, es importante evaluar en primer lugar, si el tamaño de las partículas es realmente el parámetro más informativo, y si el problema biológico no puede resolverse utilizando otros parámetros morfométricos que puedan obtenerse por alguno de los procedimientos estereológicos básicos (Weibel, 1979).

El tamaño de un perfil puede medirse por tres cantidades: su área, su "diámetro, o la distribución de las longitudes de sus intersecciones. El diámetro del perfil es el valor más práctico, pero es también problemático, ya que pueden darse definiciones diferentes en cuanto el perfil no sea circular. Los diámetros más comunes de figuras convexas planas y mediante los cuales se puede determinar el tamaño de las mismas son:

- diámetro calibrador máximo y mínimo,
- diámetro calibrador aleatorio o de Feret,
- longitud de la cuerda o intersección aleatoria,
- diámetro del círculo de área equivalente.

- Los diámetros calibradores de figuras planas se definen como la distancia entre dos líneas paralelas que son tangentes a la figura. Cualquiera de tales figuras puede caracterizarse por los diámetros calibradores mayor (d_{max}) y menor (d_{min}); vienen determinados por rotación del "calibrador" alrededor del perfil y anotación de sus valores mayor y menor. Los diámetros calibradores máximo y mínimo, en cierto modo, son descriptivos también de la forma de la partícula.

- Una medida del perfil de gran importancia es su diámetro calibrador aleatorio (d_c), también llamado "diámetro de Feret" (Feret, 1931); el calibrador es mantenido en una posición fija y se deja al perfil adoptar cualquier orientación. A partir del diámetro calibrador aleatorio (d_c), se puede obtener el diámetro calibrador medio (\bar{d}_c) (o diámetro medio de Feret) que es la cantidad que describe la probabilidad de que la línea de muestreo al azar corte el perfil. Se ha demostrado (Tomkeieff, 1945; Walton, 1948) que el diámetro calibrador medio, \bar{d}_c , es igual al diámetro de un círculo de perímetro equivalente.

- Otra medida lineal del tamaño del perfil es la longitud de la cuerda o intersección (l), medida a lo largo de una línea de muestreo aleatoria. Esta cantidad depende, evidentemente, de la distancia desde el centro del perfil a la línea de muestreo y de la orientación del perfil con respecto a dicha línea. Para cualquier orientación fija, la longitud media de intersección (\bar{l}), está relacionada directamente con el diámetro calibrador por:

$$\bar{l} = a / \bar{d}_c$$

en donde "a" es el área del perfil.

La longitud media de intersección está también relacionada, de modo muy general (Crofton, 1885; Tomkeieff, 1945; Underwood, 1968), con el área (a) y el perímetro o longitud del contorno (b) de la figura por

$$\bar{l} = \pi \times a / b$$

- Una medida práctica y muy útil del tamaño del perfil (Miles y Davy, 1977) es el diámetro de un círculo de igual área, denominado "diámetro de un área equivalente" (dae), que es

$$dae = 2 \times (a / \pi)^{1/2}$$

Su utilidad deriva del hecho de que el ojo humano es extraordinariamente efectivo en equiparar áreas de igual tamaño, incluso si una de ellas es un círculo y la otra una figura dentada y complicada.

Han sido tratadas otras muchas medidas del tamaño de los perfiles que son, sin embargo, de valor práctico muy limitado (Fischmeistes, 1968).

Los analizadores semiautomáticos y automáticos de imágenes (ver apartado referente a cálculo de volúmenes), han hecho más fácil la determinación y clasificación del tamaño de los perfiles contenidos en una estructura, ya que con una sola operación de medida, consistente en repasar el perfil con una pluma especial sobre el tablero digitalizador, podemos obtener multitud de parámetros estereológicos primarios como el diámetro calibrador aleatorio, diámetros calibradores mayor y menor, perímetro y área de los perfiles, longitudes de las cuerdas, etc. (Rohr, 1976; Haug, 1976; Hougardy, 1976).

1.4.2. Superficie específica.

La superficie específica se define para una partícula por:

$$S / V$$

en donde S es la superficie de la partícula y V se refiere al volumen de la misma.

Este parámetro, introducido por vez primera por Chalkley y cols. (1949), es de gran utilidad, dado que está directamente relacionado con el diámetro calibrador medio (\bar{d}_c), mediante una constante dependiente de la forma (K)

$$\bar{d}_c = K \times (V / S)$$

Cuando se trata de un sistema de partículas se necesita

$$\bar{S} / \bar{V}$$

siendo \bar{S} la superficie media de las partículas y \bar{V} el volumen medio de las mismas.

Si una serie de partículas aisladas son incluidas y seccionadas, se obtiene un análogo bidimensional a S / V , se trata de

$$\bar{L}_p / \bar{A}$$

siendo \bar{L}_p la longitud media de perímetro y \bar{A} el área seccionada media.

Estos dos cocientes se relacionan del modo siguiente

$$\bar{S} / \bar{V} = (4 / \pi) \times (\bar{L}_p / \bar{A})$$

(Underwood, 1980)

El cálculo de la superficie específica para un sistema de partículas incluidas aleatoriamente en una matriz, y posteriormente

seccionadas, puede obtenerse mediante recuentos combinados de puntos e intersecciones (Underwood, 1983).

Aunque la relación S / V se puede determinar fácilmente a través de otros parámetros como la longitud media de intersección o el número de intersecciones de partículas por unidad de longitud, es más difícil obtener los valores de S y V separadamente. No obstante, S puede determinarse a través del área media proyectada por las secciones de las partículas en el plano de proyección, mientras que V puede calcularse a través del diámetro medio o el número de partículas por unidad de volumen (Underwood, 1983).

1.4.3. Forma.

Muy raramente la forma de las partículas naturales podrá ser descrita fielmente por alguno de los sólidos regulares que habitualmente se utilizan en geometría. En la mayor parte de los casos debemos encontrar mediante una gran cantidad de conjeturas, la forma que mejor se ajuste, y describirla a través de algún factor de forma. Se han descrito gran cantidad de factores de forma (véase Medalia, 1970; Schwarz, 1980).

Un índice de forma ampliamente utilizado es el de circularidad (F), que viene definido por

$$F = (4\pi \times A) / Lp^2 \quad (0 < F \leq 1)$$

donde A es el área del perfil y Lp el perímetro del mismo.

Como este índice se obtiene a partir del perímetro y el área, puede ocurrir que perfiles muy diferentes en cuanto a forma, tengan igual área e igual perímetro, por lo que hay que utilizarlo con ciertas precauciones y siempre y cuando la comparación se lleve a cabo entre partículas más o menos similares (Schwarz, 1980).

La forma de las partículas también puede describirse a través de factores de elongación. Es muy utilizada en este sentido, como ya se apuntó anteriormente, la relación entre los diámetros calibradores mínimo (d_{\min}) y máximo (d_{\max})

$$d_{\min} / d_{\max} = E_1 \quad (0 < E_1 \leq 1)$$

Una variante de la relación anterior, también de gran utilidad, es la que se establece entre el diámetro calibrador máximo y el perpendicular a él, según

$$d (\perp d_{\max}) / d_{\max} = E_2 \quad (0 < E_2 \leq 1)$$

Obviamente, para la misma partícula, siempre $E_2 \geq E_1$.

Hausner (1966) sugiere como factor de elongación, la relación entre los dos diámetros de Feret perpendiculares que a su vez sean los lados del rectángulo circunscrito con el área mínima:

$$E_3 = dc_1 / dc_2 \quad (dc_1 \leq dc_2; 0 < E_3 \leq 1)$$

Con respecto a E_3 , Medalia (1970) ha señalado que existen situaciones en las que el rectángulo de Hausner, como también se conoce a este factor, da resultados que no son significativos.

Continuando con los factores de elongación, Medalia (1967) propuso caracterizar la forma mediante los momentos principales de inercia de las áreas de los perfiles. Exner (1978), por su parte, sugiere un factor de elongación basado en el momento polar de inercia de la partícula.

Indicadores de la forma que en ocasiones pueden ser interesantes son los factores de rugosidad. La rugosidad se puede definir como la cantidad de partes cóncavas del contorno de un objeto. Al igual que en el caso de la elongación, son muchos los autores que han descrito factores

de rugosidad (Mandelbrot, 1977; Chermant y Coster, 1978; Flook, 1978; Kaye, 1978; Underwood, 1983). Finalmente, Schwarz (1980), propone utilizar conjuntamente factores de elongación y rugosidad para la mejor caracterización de la forma de las partículas.

En el presente trabajo, nosotros emplearemos aquellos parámetros de objeto que vayan resultando de mayor utilidad o necesidad para la resolución de los problemas planteados y en relación con nuestro material de estudio.

1.5. Métodos para el análisis de la organización espacial de las estructuras celulares.

Se ha progresado considerablemente en la medición y recuento de estructuras subcelulares (De Hoff y Rhines, 1968; Underwood, 1970; Weibel y cols., 1972; Weibel y Bolender, 1972). Sin embargo, en relación a su localización, el progreso ha sido limitado.

En la mayoría de los casos, los datos disponibles para analizar la organización espacial de los orgánulos celulares, consisten en un conjunto de secciones bidimensionales obtenido a partir de una población de estructura tridimensional.

Como fue señalado por Cruz-Orive (1976a), los métodos desarrollados para el análisis de la relación espacial en el campo de las ciencias de los materiales (Matheron, 1972; Serra, 1972), no pueden aplicarse directamente al análisis de la estructura celular. Esto es debido a que la organización básica del material inerte, puede suponerse con toda seguridad que es estacionaria; dicha suposición no es válida para la altamente organizada estructura celular, la cual es además cambiante. Este es el porqué se han propuesto métodos específicos, para analizar la relación espacial entre estructuras subcelulares.

Un primer grupo de métodos, específicos para la cuantificación de la relación espacial entre estructuras subcelulares, consiste en la reconstrucción tridimensional de unas cuantas células individuales (elegidas al azar de entre todas las que constituyen la población), a partir de secciones seriadas y mediante la microscopía electrónica de transmisión (Moens, 1970; Bourgeois y cols., 1979), o bien a través del sombreado con metales pesados (Dubochet y cols., 1971; Griffith, 1973), o mediante análisis estereoscópico (Rambourg y cols., 1974; Glauret, 1979).

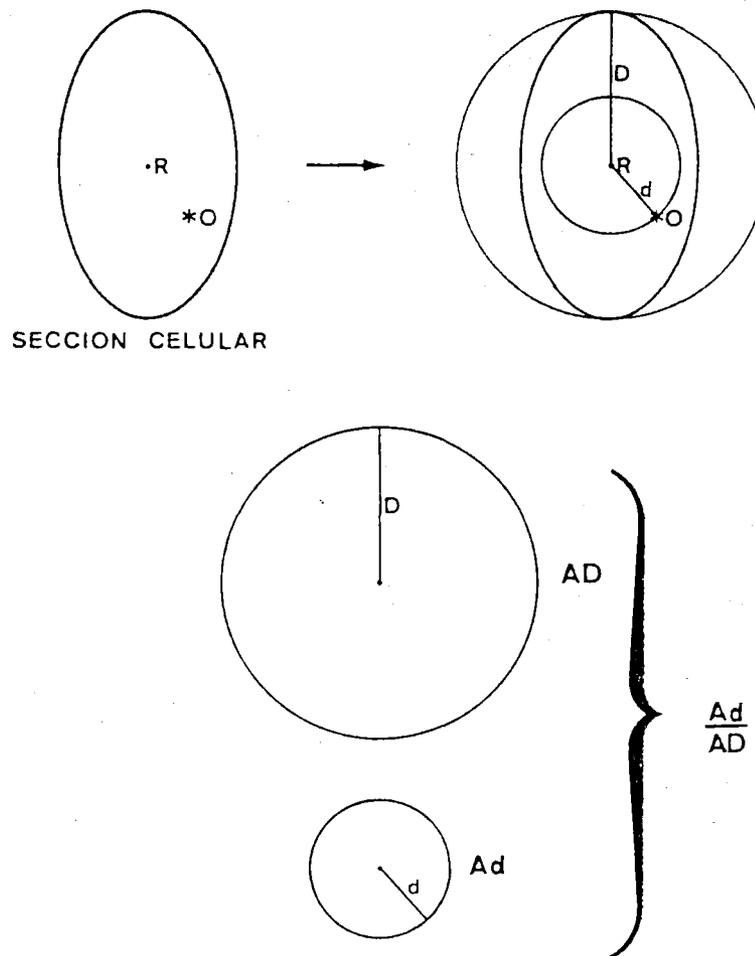
No obstante, el valor de la información obtenida a partir de unas cuantas células reconstruidas, puede cuestionarse cuando dicha información se hace extensiva al total de la población examinada. En efecto, la aproximación a la organización espacial de los orgánulos celulares debe hacerse por métodos estadísticos, para cuya aplicación es preciso analizar bastantes más células de las que permiten los métodos de reconstrucción tridimensional sin excesivo trabajo. Además estos métodos no son apropiados para el análisis de la localización de un punto único en relación a una estructura de referencia.

Precisamente para estos casos, en los que se pretende descubrir si la localización de un punto es al azar o si por el contrario se relaciona con la localización de otro punto en la célula, que es elegido como referencia, se requieren métodos que incluyan el análisis de la distribución estadística de la distancia entre el punto estudiado y el punto de referencia (Baudhuin y cols., 1979; Hemon y cols., 1981). Fundamentalmente estos métodos se aplican y tienen gran interés en estudios sobre la localización del centriolo (Bornens, 1979) y la del nucléolo (Beckman y Waterman, 1977; Bourgeois y cols., 1979; Hemon y cols., 1981).

Un problema inherente a la mayoría de estos métodos, que tratan de determinar la posición de estructuras subcelulares en base a la distribución estadística de la distancia entre la estructura estudiada y un punto de referencia, se refiere a la ausencia de cualquier suposición restrictiva, relativa a la heterogeneidad en tamaño y/o forma de la sección

muestreada. Para soslayar esta dificultad básica, es necesario estandarizar la medición de la distancia entre el punto estudiado y el de referencia. En algunos casos, la estandarización proporciona una prueba muy simple de la aleatoriedad de la localización de un orgánulo.

En esta línea está el método propuesto por Hemon y cols. (1981), válido en ausencia de cualquier presunción restrictiva relativa a la heterogeneidad en tamaño y/o forma del conjunto de secciones muestreadas y mediante el cual, de un modo muy simple, se puede revelar la no aleatoriedad de la localización de un orgánulo, dentro de un área dada, de una sección celular.



El método analiza (tal y como se observa en la figura adjunta) la distancia (d) entre el orgánulo (O) y un punto específico (R) considerado como punto de referencia, a través de la conversión de dicha distancia (d) en una relación entre dos áreas. Una de las áreas (Ad) sería la del círculo de radio igual a la distancia analizada (d), la otra (AD) sería la del círculo de radio igual a la distancia (D) entre el punto de referencia (R) y el punto más alejado del espacio contenedor del orgánulo, ya sea el núcleo o la célula, la relación aludida sería:

$$Ad / AD$$

Por último, la distribución estadística de los valores convertidos, se compara con la distribución uniforme.

1.6. Influencia de los procedimientos técnicos en los estudios estereológicos.

Para finalizar este capítulo, es necesario hacer mención de la importancia que tiene la preparación del material biológico a la hora de emprender un estudio estereológico sobre dicho material. Hay una regla básica que debe observarse: las dimensiones de las células y otros constituyentes tisulares deben ser preservadas o, si los cambios son inevitables, éstos deben ser cuantificados.

La fijación y demás procedimientos técnicos aplicados a estructuras tisulares para microscopía óptica, originan casi ineludiblemente retracciones del material (Stowell, 1941), siendo imprescindible a la hora de establecer determinaciones cuantitativas de cualquier tipo, la valoración exacta de dicha retracción. Durante la fijación los cambios dimensionales que concurren son muy difíciles de calcular y controlar. Se intentan reducir con soluciones tamponadas de fijadores, y mediante el ajuste de la osmolaridad a las presiones osmóticas en el interior de las células (Barnard, 1976; Mathieu y cols., 1978). Cragg (1967) determina un método que según sus comprobaciones, no retrae el tejido. Realiza cortes por

congelación, montando a continuación las secciones obtenidas en portas con gelatina, la cual es fijada en vapores de alcohol; no obstante, aún en este caso se producen retracciones (Navascués, 1976).

En resumen, el único modo de paliar las retracciones producidas durante la fijación es mantener estrictamente constante la composición del fijador, así como todas las soluciones subsiguientes, para un determinado conjunto de experimentos a fin de que sus datos morfométricos no resulten erróneos. Igualmente, los procedimientos de deshidratación e inclusión deben ser cuidadosamente escogidos, controlados y estandarizados. Por ejemplo, se ha demostrado que las células pueden dilatarse si la deshidratación se comienza con etanol del 50%, mientras que su tamaño no cambia con etanol del 70% (Weibel y Kniht, 1964).

Un punto adicional importante es que las secciones deben cortarse con una buena cuchilla con el objeto de reducir la compresión, y finalmente, si se trabaja con micrografías, ha de tenerse en cuenta que algunos papeles fotográficos pueden experimentar una considerable retracción durante el procesado, distorsionando así la imagen (Weibel, 1979).

Con todo y en relación con los extremados cuidados y modificaciones que puedan ocurrir en la preparación y análisis de los materiales objeto de estudio, nosotros pensamos que lo más importante es poner los máximos cuidados para que dichos materiales, al ser sometidos a procesos iguales ofrezcan, en todo caso, modificaciones equivalentes. Con ello los estudios posteriores serán equivalentes, pues aunque ocurran cambios estos no influirán en las conclusiones comparativas y sólo, si acaso, en los valores absolutos; pero esta última situación no resulta preocupante en la mayor parte de los estudios estereológicos, salvo que se quieran conocer valores absolutos.

2. NUCLEO GENICULADO LATERAL.

2.1. Sistema Visual de mamíferos. El Núcleo Geniculado Lateral (NGL).

El Sistema Visual de mamíferos consta de tres centros fundamentales: la retina o estación inicial, sensible a la luz; el cuerpo geniculado lateral o estación de relevo; la corteza visual o estación final. Cada una de estas estructuras nerviosas es doble, encontrándose representadas una en el hemisferio derecho y otra en el izquierdo.

En la retina se localizan las células fotorreceptoras (conos y bastones), en las que se origina el impulso cuando son estimuladas fóticamente. Los fotorreceptores se ponen en conexión, a través de las células bipolares, con las células ganglionares cuyos axones constituyen los nervios ópticos.

En la base anterior del diencefalo, los nervios ópticos se cruzan parcialmente, formando el quiasma óptico. El entrecruzamiento afecta en mayor o menor grado a las fibras procedentes de las mitades nasales; las fibras de las mitades temporales no se cruzan, sino que siguen su curso por el mismo lado.

A partir del quiasma, el fascículo de fibras camino del geniculado se denomina tracto óptico. El tracto derecho contiene, según hemos dicho, fibras de la mitad temporal del ojo derecho y las de la parte nasal del izquierdo; el tracto izquierdo contiene las fibras de la mitad temporal del ojo izquierdo y las de la mitad nasal del ojo derecho. Las fibras cruzadas y no cruzadas de los tractos ópticos llegan a distintas zonas del Núcleo Geniculado Lateral (NGL) homolateral, donde establecen conexiones sinápticas con las neuronas de dicho núcleo.

Según describe la bibliografía, la proyección desde la retina hacia el NGL está topográficamente organizada, queriendo expresar con esto

que los cuadrantes superiores de la retina se proyectan a la parte anterior del NGL y los cuadrantes inferiores de aquélla lo hacen a la parte posterior de éste (Lashley, 1934; Bishop y cols., 1962).

A partir de cada NGL se origina, al menos, un haz fibroso genículo-cortical o radiación óptica (Gratiolet, 1854), que como una placa fibrosa más o menos ancha por la que discurren los axones emitidos por neuronas del citado núcleo, finaliza en la corteza visual, donde las fibras establecen conexiones con las células corticales. De esta forma, cada núcleo se proyecta sobre las áreas visuales homolaterales (Minkowski, 1913; Putnam, 1926a; Waller y Barris, 1937; Wilson y Cragg, 1967).

Las proyecciones que desde el NGL llegan a la corteza visual también están organizadas de forma tópica, de manera que las partes anterior y posterior del NGL se proyectan, respectivamente, sobre las regiones anterior y posterior del área visual. Como, por otra parte, y ya hemos señalado, la proyección retiniana sobre el NGL también está topográficamente organizada, podemos concluir que los cuadrantes superiores de la retina tienen su representación en las partes anteriores de la corteza visual, mientras que los cuadrantes retinianos inferiores se proyectan a las partes posteriores de la corteza visual. Estas relaciones entre la retina y la corteza visual, apuntadas ya por Minkowski (1913), fueron demostradas en conejo y hombre, por Putnam (1926b) y Putnam y Putnam (1926), haciéndose extensivas posteriormente a otros mamíferos (Polyak, 1957; Garey y Powell, 1968). Por último, la descripción de una vía córtico-genicular (Nauta y Bucher, 1954; Beresford, 1961) pone de manifiesto la existencia de relaciones recíprocas entre el NGL y la corteza visual.

2.2. Aspectos morfológicos del Núcleo Geniculado Lateral.

Una vez tratadas las líneas generales del Sistema Visual de mamíferos, podemos concluir que el NGL y específicamente su porción dorsal o Núcleo Geniculado Lateral dorsal (NGLd), representa una estación de

relevo de las fibras nerviosas, que partiendo de la retina, van a alcanzar regiones de la corteza, en las áreas visuales. Sin embargo, Szentágothai (1963), y más recientemente Holcombe y Guillery (1984), imputan al núcleo otras funciones aparte de la de simple estación de relevo en la vía óptica.

El NGL está presente en la mayoría de los mamíferos (Kappers y cols., 1967), y sólo en monotremas no se ha encontrado una estructura homóloga (Campbell y Hayhow, 1971; Campbell, 1972). En la filogenia, vemos que a partir de roedores se organiza en una porción dorsal (NGLd) y otra ventral (NGLv) (Münzer y Wiener, 1902; Winkler y Potter, 1911, 1914; Brouwer, 1923; Gurdjian, 1927; Hayhow y cols., 1962; y otros), separadas por una pequeña lámina de células y neuropilo denominada lámina medular (Winkler y Potter, 1911, 1914) o lámina medular interganglionar (Gerhard, 1968) o también lámina intergeniculada (Hickey y Spear, 1976; Gonzalo y cols., 1985). El grupo de células de la lámina medular interganglionar fue descrito por Takahashi y cols. (1977); se trata de células pequeñas y de forma oval, que constituyen la hoja intergenicular.

La forma del núcleo varía dependiendo del grupo de mamíferos que se considere. En los roedores es alargado, en el gato tiene forma de "S" (Ramón y Cajal, 1911), en el conejo es similar a una pera invertida con su tercio inferior curvado y dirigido hacia la región anteromedial (Loepp, 1911; Chaudhury y Whitteridge, 1965). Por último, en los primates es ovalado; como muestran las reconstrucciones gráficas aportadas por Connoly y Van Essen (1984); y alcanza su mayor volumen, aunque proporcionalmente es más grande en otros mamíferos menos evolucionados, como los roedores y el conejo (Ramón y Cajal, 1911).

El NGLd es normalmente más grande que el NGLv, siendo en roedores donde se observan las mínimas diferencias de tamaño entre ambos. Concretamente Hayhow y cols. (1962) dan las siguientes medidas máximas para ambos núcleos en la rata:

NGLd

NGLv

anteroposterior.....	2,10 mm.....	1,85 mm.
dorsoventral.....	1,60 mm.....	0,60 mm.
mediolateral.....	1,20 mm.....	0,80 mm.

En el ratón, el núcleo ventral tiene casi el mismo diámetro rostrocaudal que el núcleo dorsal, aunque en secciones perpendiculares a la dirección rostrocaudal es menor el ventral (Peinado, 1980).

A partir de los roedores el NGLv se reduce con respecto al NGLd (Niimi y cols., 1963) e incluso en algunos primates ni tan siquiera puede reconocerse, tal es el caso de *Cercopithecus* (Vogt, 1909; Friedemann, 1912).

En el hombre, el Cuerpo Genuculado Externo se corresponde con el NGLd de los demás mamíferos, no reconociéndose el NGLv como tal (Kappers y cols., 1967). El Cuerpo Genuculado Externo se halla algo aislado en la cara ventrocaudal del Tálamo y constituye una formación relativamente independiente (Kahle y cols., 1977).

Tello (1904) considera que el NGLd y el NGLv no son dos estructuras diferentes, sino que constituyen dos partes de un núcleo único, separadas por unas pocas de fibras. Por el contrario, Ramón y Cajal (1911) en estudios realizados principalmente en gato, expone que se puede hablar de dos núcleos distintos, dadas las diferentes relaciones con otros centros, así como las distintas características morfológicas que presentan estas dos partes del NGL, a las que denomina respectivamente Lóbulo dorsal (NGLd) y Lóbulo reducido (NGLv).

Posteriormente, se ha demostrado que el NGLd y el NGLv tienen orígenes distintos en cuanto a su desarrollo. Mientras que el primero se desarrolla a partir del Tálamo dorsal, el segundo lo hace desde el Tálamo ventral (Rose, 1942). Además, en tanto que el NGLd puede considerarse

específicamente como una estación de relevo del Tálamo dorsal en el camino hacia la corteza visual, el NGLv se encuentra más estrechamente relacionado con el control del Sistema Motor Extrapiramidal, dada su conexión con núcleos característicos de este Sistema. En efecto, recientes evidencias han demostrado que llegan al NGLv fibras aferentes desde el núcleo vestibular (Magnin y Kennedy, 1979), núcleos cerebelosos profundos, núcleo pretectal y campos perirrubrales (Graybiel, 1974). En cuanto a las vías eferentes, este núcleo envía fibras, fundamentalmente, al colículo superior, al núcleo óptico accesorio, a la comisura gris, y al núcleo talámico intralaminar (Edwards y cols., 1974; Graybiel, 1974; Swanson y cols., 1974; Ribak y Peters, 1975; Kawamura y cols., 1978; Legg, 1979; Magnin y Kennedy, 1979).

En resumen, el NGLd y el NGLv parecen tener poco en común en cuanto a su función primordial (Holcombe y Guilleri, 1984). El primero se encuentra exclusivamente relacionado con las vías ópticas. El segundo, aunque también está implicado en el proceso visual, pues recibe aferencias desde la retina (Niimi y cols., 1963; Goodman y Horel, 1966; Giolli y Guthrie, 1969; Jordan y Holländer, 1972; Sanderson, 1975; Hickey y Spear, 1976; Holländer y Sanides, 1976; LeVere, 1978; y otros), está relacionado con la corteza visual (Giolli y Guthrie, 1971; Edwards y cols., 1974; Graybiel, 1974; Swanson y cols., 1974; Giolli y cols., 1978; Sefton y cols., 1981), y presenta una cierta organización retinotópica (Rose y Malis, 1965; Holcombe y Guilleri, 1984; Nagata y Hayashi, 1984); resulta ser más específicamente un núcleo de control motor.

2.3. Organización del Núcleo Genuculado Lateral dorsal.

El reconocimiento de las relaciones del NGL con otros centros, así como la demostración de que el NGLd es la estación de relevo fundamental del sistema visual de mamíferos, se ha determinado principalmente mediante técnicas de degeneración, autorradiografía e inmunofluorescencia.

La proyección visual primaria al NGLd ha sido estudiada en la mayoría de los mamíferos. En el conejo, ha sido descrita en varios estudios tanto con métodos de degeneración como con autorradiografía (Giolli y Guthrie, 1969; Sanderson, 1975; Takahashi y cols., 1977). Las variaciones en la proyección retinofugal ipsilateral en animales albinos ha sido bien estudiada (Guillery, 1974) y las diferencias de la proyección retinogeniculada en conejos albinos y pigmentados ha sido demostrada por varios autores (Sanderson, 1975; Takahashi y cols., 1977; Uchida y cols., 1982). El modelo expuesto para la proyección retinofugal en el conejo, es similar al que presenta esa misma proyección en otros mamíferos (Rodieck, 1979), incluyendo una pequeña porción de fibras que procedentes de la retina continúan más allá del NGL, dirigiéndose hacia el colículo superior (Giolli y Guthrie, 1969), zona pretectal (Giolli y Guthrie, 1969; Scalia, 1972) y núcleo del tracto óptico accesorio (Giolli, 1961; Hamasaki y Marg, 1962; Walley, 1967).

Por otra parte, hay evidencias por las que se ha llegado a la conclusión de que cada punto del campo visual corresponde a una línea en el NGLd y, por extensión, que un área pequeña se corresponde con un volumen columnar. Este concepto, apuntado por Lashley (1934), Polyak (1932, 1933) y Le Gros Clark (1941a) entre otros, fue introducido por Bishop y cols. (1962) mediante estudios electrofisiológicos en el gato. Estimulando eléctricamente pequeñas regiones de la retina observaron como se activaban "columnas celulares" en el NGLd. Bishop y cols. utilizan el concepto de "líneas de proyección" para referirse a las líneas geniculares de isorrepresentación de puntos del campo visual. La existencia de "líneas de proyección" se ha confirmado también electrofisiológicamente, en la rata (Montero y cols., 1968) y anatómicamente, mediante pruebas de degeneración retrógrada, en el conejo (Rose y Malis, 1965), en la rata (Montero y Guillery, 1968), en el gato (Garey y Powell, 1967; Guillery, 1967), así como en la mayoría de los mamíferos (Kaas y cols., 1973).

Tanto el concepto de "líneas de proyección" como el de "columnas celulares", definen una misma idea funcional y representan en su expresión

más sencilla puntos del campo visual en el NGLd. No obstante, no existe un soporte anatómico o morfológico claro sobre el cual se apoye este concepto, a lo sumo como ya hemos mencionado, pruebas morfológicas indirectas (Rose y Malis, 1965; Montero y Guillery, 1968). Más recientemente Holcombe y Guillery (1984) demuestran en el conejo, que las "líneas de proyección" corresponden a zonas situadas entre los bordes de degeneración fibrilar y marcaje después de una lesión en la retina o un marcaje autorradiográfico de las células ganglionares de ésta. Estos bordes de degeneración y marcaje, lógicamente delimitan bandas o "columnas celulares" sobre las cuales se elongan radialmente las neuronas del núcleo. Por otra parte, Caballero y cols. (1986) sugieren, en estudios realizados en el NGLd del conejo, con el método de Golgi, que las células se disponen en planos continuos y proponen el término de "planos de proyección" como ampliación de la idea de "líneas de proyección".

La mayoría de los autores que han estudiado las proyecciones ópticas primarias al NGLd han podido constatar también, que puntos adyacentes en el campo visual se corresponden con líneas de proyección contiguas en el NGLd, siendo el modelo básico similar en todos los mamíferos (Kaas y cols., 1972a).

En cuanto a las relaciones entre el NGLd y la corteza visual, mediante métodos de degeneración y marcaje con isótopos radiactivos o peroxidasa de rábano, se ha demostrado claramente la existencia y características de una vía genículo-estriada (Polyak, 1957; Rose y Malis, 1964; Lund y cols., 1974; Giolli y cols., 1978; Sefton y cols., 1981; Towns y cols., 1982; y otros); así como de una proyección desde el córtex hacia el NGLd (Montero y Guillery, 1968; Höllander, 1970, 1972, 1974; Guillery, 1966, 1971; Szentágothai, 1973; Rosenquist y cols., 1974; Hamori y cols., 1974; etc.). La vía genículo-estriada, siguiendo la pauta de la proyección retino-geniculada, proyecta tópicamente en la corteza visual. Las líneas de proyección del NGLd, pasan a estar representadas en el córtex visual por "columnas de proyección" que representan a su vez puntos del campo visual (Polyak, 1957; Bishop y cols., 1962; Rose y Malis, 1965; Tusa y cols., 1978;

Wagor y cols., 1980; Van Essen y cols., 1984). Algunos investigadores han sugerido que las proyecciones córtico-geniculadas también están organizadas de modo que cada punto en la corteza visual envía fibras, exactamente al lugar desde el cual recibe fibras aferentes. De todos modos, estos mismos autores exponen, que las evidencias que existen acerca de esta interconexión recíproca punto a punto, no son del todo concluyentes (Beresford, 1962; Garey y cols., 1968; Holländer y Martínez-Millán, 1975). Lo que sí resulta un hecho probado, es que la vía córtico-genicular ejerce una inhibición de tipo "feed-back" sobre el núcleo.

Una característica importante del NGLd es su laminación. Estudios en una amplia gama de mamíferos incluidos algunos miembros de los grupos menos evolucionados, como el erizo (Hall y Ebner, 1970; Campbell y cols., 1967) y la zarigüeya (Benevento y Ebner, 1970), demuestran que en el núcleo las proyecciones retinales ipsilaterales y contralaterales no se superponen, aunque no puede excluirse la posibilidad de que exista un cierto solapamiento en los límites de estas zonas. Por otra parte, estas zonas específicamente ipsilaterales o contralaterales son las responsables de la apariencia estratificada que ostenta el núcleo en muchos mamíferos. En algunos grupos, sin embargo, tal es el caso de los roedores, la apariencia del NGLd es homogénea; es decir, no se observa laminación, lo cual no excluye la segregación de las proyecciones ipsilaterales y contralaterales, que aunque se produzca no es claramente observable debido al modo particular de su organización. Debido a ello, Hayhow (1958) y Hayhow y cols. (1962), estudiando el NGLd de la rata, no encuentran ningún tipo de estratificación; aunque en algunos otros roedores detectan una cierta laminación encubierta. Guillery y cols. (1971) proporcionan evidencias que contradicen los resultados encontrados por Hayhow y cols. en la rata, al observar en este roedor la presencia de tres láminas, que en las ardillas se detectan más fácilmente, debido a que el sistema visual de este roedor está altamente desarrollado (Kaas y cols., 1972b). De estas tres capas la más medial (capa 1) recibe aferencias contralaterales, la intermedia (capa 2) recibe aferencias ipsilaterales y la capa lateral (capa 3) se puede subdividir en 3 sectores que aunque no

se distinguen morfológicamente, reciben proyecciones contra-, ipsi-, y contralaterales respectivamente.

En el gato y otros carnívoros, aunque en principio se identificaron tres láminas (Thuma, 1928), posteriormente se han descrito cuatro, que Guillery (1970) denomina A, A1, C y C1. De todos modos resulta más fácil el reconocimiento de esta laminación en el perro (Rioch, 1929) y en otros carnívoros. Las capas A y A1 tienen una apariencia similar, estando constituidas por células de diversos tamaños. La capa A recibe aferencias contralaterales y la A1 ipsilaterales. En cuanto a las capas C y C1, también reciben aferencias retinales contralaterales e ipsilaterales respectivamente, pero mientras que la lámina C está formada por grandes células y recibe fibras retinogenuculares relativamente gruesas, la C1 contiene células pequeñas y recibe fibras más delgadas.

La laminación del NGLd es clara en el hombre (Chacko, 1948; Kahle y cols., 1977) y en primates (Giolli y Tigges, 1970; Hassler, 1966), reconociéndose en general seis láminas o capas. En el hombre hay un gradiente regular de tamaño celular en 6 láminas en el área de visión central y en 4 láminas en el área de visión periférica. Las medidas indican que el rango de los diámetros de las células, es más pequeño en la zona periférica que en la central del área visual (Chacko, 1948).

Por lo que se refiere a la estructura del NGLd del conejo, resulta comparativamente simple. Es un núcleo no laminado, que recibe impulsos ópticos casi exclusivamente (90%-95%) desde el ojo contralateral (Giolli y Guthrie, 1969; Sanderson, 1975). A pesar de la ausencia de laminación, con la técnica de Nissl el NGLd del conejo fue subdividido por Rose (1935) en 4 sectores de los que Rose y Malis (1965) sólo reconocen dos de ellos (α y β), que se observan mucho mejor en preparaciones horizontales que en las frontales o sagitales. El sector α en secciones horizontales tiene forma de media luna y constituye la mayor parte del núcleo. Las células de este sector, densamente empaquetadas, se encuentran ordenadas y elongadas a lo largo de radios más o menos perpendiculares al

eje mayor del mismo; este eje que en su porción anterior sigue una dirección orocaudal, se va incurvando suavemente hasta adquirir una dirección lateromedial. Debido a esta curva compleja del sector α Droogleever Fortuyn (1964), tras de estudiar muchos planos de sección distintos en el NGLd del conejo, señalan que cualquier consideración acerca del tamaño o la forma de las células, no se puede hacer sin tener en cuenta la orientación de las mismas con respecto al plano de corte.

Holcombe y Guillery (1984) subdividen el sector α en dos porciones: una porción externa de células relativamente pequeñas y empaquetadas (α_E) y otra interna de células algo más grandes y espaciadas (α_I). El sector α rodea lateral y posteriormente un campo fibroso, que contiene grandes neuronas esparcidas y que se reconoce como el sector β . Tras la destrucción del área visual estriada, aparece gliosis en este sector, por lo que Rose y Malis (1965), consideran que las fibras que constituyen la proyección genículo-estriada lo atraviesan en su camino hacia la corteza. Schober y cols. (1985), opinan que en cobaya y conejo el sector β se constituye debido a que las fibras de la radiación óptica atraviesan la zona. En algunos roedores, donde la proyección genículo-estriada no atraviesa esta región medial del núcleo, sino que la bordea, el sector β no puede ser identificado.

Con respecto a la distribución de las proyecciones retinogenuculadas en el NGLd del conejo, los estudios de degeneración y autorradiografía ponen de manifiesto que la mayor parte del sector α recibe aferencias desde el ojo contralateral. Las aferencias ipsilaterales se concentran en la región posteromedial, justamente entre los sectores α_E y α_I , donde forman una zona, generalmente única, de aspecto oval o cuneiforme. Es interesante reseñar que esta zona aparece más intensamente marcada en conejos pigmentados que en albinos, cuando se utiliza marcaje anterógrado con peroxidasa de rábano o isótopos radiactivos (Giolli y Guthrie, 1969; Sanderson, 1975; Takahashi, 1977; Hocombe y Guillery, 1984). También se observa mediante el marcaje anterógrado con peroxidasa de rábano, que la zona ventrolateral del sector α tiene una densidad de

terminales contralaterales marcados, más baja que la que presenta el resto del sector α (Gonzalo y cols., 1985).

Debido a la dificultad de identificar el sector β (Rose y Malis, 1965) en secciones frontales y sagitales, así como a la gran cantidad de fibras que lo atraviesa, es difícil observar claramente si este sector recibe aferencias desde la retina y si éstas son cruzadas o no cruzadas. Por ello en la bibliografía consultada se encuentran confusas e incluso contradictorias afirmaciones al respecto de la proyección retinal hacia el citado sector (Giolli y Guthrie, 1969; Hughes, 1971; Sanderson, 1975; Takahashi, 1977). Recientes investigaciones apuntan que el sector β no parece recibir aferencias retinales ipsilaterales ni contralaterales (Holcombe y Guillery, 1984; Gonzalo y cols., 1985).

Un aspecto a destacar es el paralelismo entre el NGLd del conejo y el del gato (Holcombe y Guillery, 1984). Salvando las evidentes diferencias, los sectores α_E y α_I pueden compararse con las láminas A y C del gato, las cuales reciben aferencias cruzadas, son distinguibles morfológicamente y se encuentran separadas en casi toda su extensión por la capa A1, de proyección ipsilateral; esta última lámina es comparable con la zona de proyección ipsilateral encontrada en el sector α del NGLd del conejo.

Las líneas generales de organización del NGLd expuestas para los diferentes grupos de mamíferos, presentan numerosas excepciones. Así en primates poco evolucionados y de hábitos nocturnos, el NGLd presenta tan solo cuatro láminas (Le Gros Clarck, 1941b; Chacko, 1954; Hassler, 1966; Jones, 1966; Kaas y cols., 1972a). Entre los carnívoros también hay excepciones y algunos presentan un NGLd cuya organización se aproxima más a la de los roedores; tal es el caso del hurón (Jefferson, 1940). En el gato se ha descrito una quinta lámina, denominada C2, situada junto al tracto óptico y que aunque se distingue morfológicamente no puede ser considerada como una verdadera capa comparada con las demás, debido a que no recibe aferencias desde la retina (Guillery, 1970; Guillery y Scott,

1971). Esta lámina es similar al estrato "S" descrito en el conejo por Holcombe y Guillery (1984), y observado mucho antes por Cajal (1911), ya que como ella es subyacente al tracto óptico y además no recibe aferencias desde la retina. En opinión de Graham (1977) y Torrealba y cols. (1981), en el gato, esta lámina recibe aferencias desde los tubérculos cuadrigéminos anteriores y desde la corteza.

Por último, para distinguir las áreas o láminas morfológicamente observables, pero aparentemente sin significación funcional de las que sí la tienen, Kaas y cols. (1972a) proponen para designar a estas últimas el término de "lámina de relevo". Según estos autores una "lámina de relevo" ha de reunir las siguientes características:

- Ser morfológicamente distinguibles.
- Estar inervadas por un solo ojo.
- Ser aproximadamente perpendiculares a las líneas de proyección.
- Proyectar a la corteza visual.
- Llevar una representación completa de la mitad del campo visual contralateral, vía ojo contralateral; o bien del segmento binocular del hemicampo visual, vía ojo ipsilateral.

2.4. Estudio de los elementos estructurales del NGLd de mamíferos.

El estado actual de los conocimientos acerca de los elementos estructurales que constituyen el NGLd, nos permite afirmar que éstos son similares en todos los mamíferos y que corresponden genéricamente al neuropilo y fibras más dos tipos celulares que son funcional y morfológicamente diferentes.

Las primeras investigaciones sobre las células nerviosas que constituyen el NGLd datan del siglo pasado, cuando Ramón y Cajal describe su morfología en el conejo. Más tarde, Tello (1904) lleva a cabo un estudio

histológico del núcleo en el gato y en el conejo, mediante los métodos de Nissl y Golgi, diferenciando 3 tipos de neuronas según su tamaño:

	Eje mayor	Eje menor
grandes	30-40 μm	20-35 μm
medianas	17-30 μm	12-25 μm
pequeñas	8-17 μm	6-15 μm

Refiriéndose al conejo, apunta que aunque se observa la misma variedad en cuanto a tamaños celulares, las dimensiones disminuyen de tal modo que es rara la célula grande que pasa de los 24 μm , siendo, por regla general, la media de tamaño de estas células de 17 a 20 μm ; respecto a los otros dos tamaños la disminución no es tan grande y no bajan de las dimensiones mínimas dadas para el gato.

En cuanto a la forma de las células en gato, Tello advierte que mientras que las grandes son más o menos redondeadas, rectangulares o triangulares, las medianas son fusiformes y las pequeñas no muestran una forma predominante; puntualiza que en el conejo, las grandes son por lo general poliédricas. Por último, mediante el proceder de Golgi observa en el núcleo la coexistencia de los dos tipos celulares de Golgi, o células de axón largo y células de axón corto; e incluso dentro de estas últimas diferencia dos subtipos basándose en el tamaño somatodendrítico y en la forma.

Taboada (1927) en estudios realizados en macaco con los métodos de Nissl y Golgi-Cox, considera sin embargo, que aunque la forma de las células es variable, esto se debe más bien a su distinta orientación, pudiéndose considerar que todas constituyen un único tipo. No obstante, en trabajos posteriores otros investigadores confirman la tesis de que en el NGLd de mamíferos se pueden distinguir al menos dos poblaciones celulares, que se diferencian en base a características funcionales y morfológicas tales como la velocidad de reacción, el tamaño celular, su distribución en

el núcleo, ciertas peculiaridades de los procesos dendríticos, características de los axones, etc.

Grossman y cols. (1973) muestran en estudios con el método de Golgi que las neuronas del NGLd de la rata se pueden clasificar en:

- Células clase A.
- Células clase B.

Esta clasificación está basada en el tamaño del pericarion, organización dendrítica y naturaleza del árbol dendrítico.

Las células clase A son el tipo predominante, su pericarion tiene generalmente de 15 a 20 μm de diámetro. Las células clase B, aunque con alguna variabilidad morfológica, constituyen una segunda población aparente. Las neuronas de esta clase fueron caracterizadas con pericarion pequeño y elipsoidal. El pericarion de aproximadamente 10 μm de diámetro muestra comúnmente una apariencia bipolar con 2 largas dendritas emergiendo desde polos opuestos del cuerpo celular.

Rafols y Valverde (1973), en ratón, mediante el método de Golgi y la microscopía electrónica, aunque puntualizan que en el NGLd se observan formas neuronales muy variadas, reconocen exclusivamente dos tipos generales: las TSR o neuronas de relevo y las PA o neuronas de inervación intrínseca o pseudoamacrinas. Las situaciones intermedias, las imputan estos autores al resultado de una incompleta impregnación del soma, dendritas, apéndices e incluso del árbol axónico de los dos tipos generales.

Las células principales o tálamo-estriadas (TSR), muestran el soma redondeado u oval, y miden aproximadamente de 15 a 25 μm en su diámetro mayor. Son multipolares, con un núcleo grande redondeado o ligeramente oval y un prominente nucléolo. Estas células aparecen frecuentemente en grupos de 3 ó 4.

Las células PA o pseudoamacrinas tienen una forma oval o de huso y un diámetro mayor que oscila entre 10 y 20 μm . Su núcleo es proporcionalmente grande y también poseen un prominente nucléolo. Las células PA aparecen separadas unas de otras.

Schober y Brauer (1973), en rata distinguen de igual modo 2 tipos de neuronas en el NGLd utilizando el método de Golgi-Kopsch. El tipo I muestra una estructura muy regular en su arborización dendrítica. La superficie total ocupada por estas neuronas es de 10.316 a 27.060 μm^2 , únicamente del 4% al 9% de esta superficie pertenece al soma. En este tipo neuronal existe una correlación lineal positiva entre el diámetro del soma y el diámetro del campo dendrítico.

El tipo II muestra dendritas más largas y menos numerosas que el tipo I. Su modelo de arborización dendrítica no es regular y el soma representa el 12% de la superficie total de la neurona.

Los estudios de Werner y Krüger (1973) concuerdan con los de Schober y Brauer (1973). También ellos distinguen 2 tipos neuronales, pero en este caso utilizando el método de Nissl.

La distinción de los tipos neuronales se basa en características morfológicas y cuantitativas: diámetro medio del soma celular, tamaño de la heterocromatina asociada al nucléolo, tamaño nucleolar, etc.

El tipo I es considerado como células de relevo y el tipo II como interneuronas. Más recientemente, Rios y cols. (1981) investigan la parte dorsal del NGL del ratón y establecen 2 poblaciones neuronales, atendiendo al tamaño del soma celular, obteniendo resultados concordantes con lo anteriormente expuesto.

Guillery (1966, 1971) en estudios con el método de Golgi del NGLd del gato y a diferencia de otros investigadores, clasificó las neuronas en 3 clases.

Las células de la clase 1 (grandes) tienen un pericarion cuyo diámetro oscila entre 25 y 40 μm , son multipolares, con un modelo de ramificación dendrítica en penacho, como es característico de las células de relevo tálamo-corticales (Ramón-Moliner, 1962). En el gato, las células de esta clase son las más abundantes y se encuentran fundamentalmente en las láminas A y A1, donde tienden a ocupar los límites de dichas láminas.

Las células de la clase 2 (medianas), descritas anteriormente por Szentágothai (1963), también son de relevo genículo-cortical y tienen un pericarion de tamaño medio, con un diámetro entre 15 y 30 μm . Estas células son exclusivas de las láminas A y A1 y se caracterizan porque sus dendritas presentan agrupaciones de espinas bulbosas en las proximidades del cuerpo celular, particularmente en los puntos de ramificación de las dendritas secundarias y terciarias.

Las neuronas más pequeñas son las de la clase 3, con un diámetro que varía entre 10 y 20 μm . Se caracterizan por sus largos y peciolados apéndices dendríticos, además de las espinas bulbosas y porque su axón, que se ramifica en las proximidades del pericarion, es intrínseco; es decir no sale del núcleo. Se trata por tanto de neuronas de Golgi tipo II.

Kriebel (1975), al igual que Guillery, hace una clasificación de las neuronas del NGLd de la rata en 3 categorías basadas en localización, modelo dendrítico y organización de las ramificaciones dendríticas:

- Neuronas tipo 1.
- Neuronas tipo 2.
- Neuronas tipo 3.

Las neuronas de los tipos 1 y 2 son identificadas como de relevo tálamo-cortical, pero mientras que las de tipo 1 son más abundantes y se observan por todo el núcleo, las neuronas tipo 2 fueron encontradas únicamente en la zona superficial del tercio medio (anterior a posterior).

Las neuronas tipo 3 fueron encontradas en todas las regiones del NGLd y se corresponden con las células de control intrínseco o interneuronas observadas por otros autores.

En el NGLd del conejo, Caballero y cols. (1986) mediante estudios con el método de Golgi, establecieron igualmente una clasificación de las neuronas en tres tipos; dos de relevo (tipo 1 y tipo 2) y uno de interneuronas (tipo 3).

Las neuronas de relevo tálamo-cortical tipo 1 del conejo se corresponderían con el tipo 1 descrito por Kriebel (1975) en la rata; con la clase 1 de Guillery (1966) en el gato; así como con las neuronas tipo 1 descritas por Campos-Ortega y cols. (1968) y Wong-Riley (1972) en primates. Estas células se distribuyen por las regiones intermedias y por las más mediales del núcleo. Su pericarion es de forma apiramidada o más o menos elipsoidal, con un diámetro mayor que oscila entre 30 y 35 μm para las apiramidadas, y alrededor de las 27 μm para elipsoidales. El diámetro menor para las apiramidadas varía entre 16 y 20 μm , siendo éste alrededor de 20 μm en el caso de las elípticas. Los mayores tamaños se encuentran en las regiones más mediales del núcleo (sector β).

Con respecto al árbol dendrítico, este se expande en un radio de unas 135 μm y siguiendo el modelo planar descrito por Ramón-Moliner (1962). Presenta 4 ó 5 dendritas principales de superficie generalmente lisa, cada una de las cuales se ramifica en 3 ó 4 dendritas de segundo orden y de superficie rugosa, con apéndices aislados y cónicos o tallos lobulados; cada dendrita de segundo orden diverge en 2 ó 3 de tercer orden que raramente sufren nuevas ramificaciones y que presentan apéndices cónicos característicos. El modelo de ramificación dendrítica es "en penacho", típico de las neuronas de relevo tálamo-corticales (Ramón-Moliner, 1962).

Las neuronas tipo 2 descritas por Caballero y cols. (1986) en el conejo, se corresponden con el tipo 2 de Kriebel (1975) en la rata; con la

clase 2 de Guillery (1966) para el gato; así como con el tipo 2 descrito por Campos-Ortega y cols. (1968) y Wong-Riley (1972) en los primates.

Se distribuyen fundamentalmente en las regiones externas del sector α . Su pericarion tiene un diámetro medio que oscila alrededor de las 22 μm . El árbol dendrítico, que también se expande según el modelo planar, es más profuso que el de las neuronas tipo 1, aunque su extensión es menor que el de éstas últimas. Presenta 4 ó 5 dendritas principales de superficie lisa, que se ramifican en 2, 3 ó 4 dendritas de segundo orden que pueden o no ramificarse de nuevo. Lo más característico de este tipo neuronal son agrupamientos de apéndices existentes en lugares próximos a los puntos de ramificación de las dendritas y que también se observan en otros grupos de mamíferos. En el conejo, las neuronas tipo 2; que como ya hemos mencionado se distribuyen casi exclusivamente por las regiones más periféricas del núcleo; son menos abundantes que las tipo 1. Estos hechos también han sido observados en la rata (Kriebel, 1973, 1975) y en el gato (Guillery, 1966, 1971). Sin embargo en los primates, donde también se pueden identificar los dos tipos de neuronas de relevo que hemos descrito (Campos-Ortega y cols., 1968; Wong-Riley, 1972), Wong-Riley observan que el tipo 2 es más abundante que el tipo 1. A este respecto Kriebel (1975) apunta que el tipo 2 puede representar una neurona más especializada que la neurona tipo 1 y por esa razón en los primates es más abundante.

Con respecto al significado de los distintos tipos de apéndices, según Wong-Riley (1972) y Lund y Cunningham (1972) los apéndices dendríticos aislados formados por un tallo lobulado en su extremo, pertenecientes a las neuronas tipo 1, constituirían los sitios de terminación de los axones de las células ganglionares de la retina; aunque también pueden terminar estos axones en los agrupamientos varicosos que se encuentran, fundamentalmente, próximos a los puntos de ramificación de las dendritas de dichas células. Los apéndices cónicos característicos y especialmente abundantes en los segmentos terminales de las dendritas de tercer orden, constituirían los sitios de terminación de las fibras de proyección córtico-genicular (Guillery, 1969; Lund y Cunningham, 1972). Algo similar

se observa en roedores (Kriebel, 1975), aunque en este caso se trata de protusiones redondeadas y no de apéndices cónicos como en el conejo.

Los agrupamientos de apéndices de las células tipo 2, existentes en lugares próximos a los puntos de ramificación de las dendritas; característicos de estas células en la mayoría de los mamíferos; constituyen los elementos postsinápticos primarios de asociaciones sinápticas complejas que por primera vez fueran descritas por Szentágothai (1963), quien debido a su similitud con los complejos sinápticos cerebelares los denominó, igualmente, glomérulos. Estos aspectos han sido confirmados posteriormente por Guillery (1969) y Kriebel (1975).

Las neuronas tipo 3 reconocidas por Caballero y cols. (1986) en el NGLd del conejo, tienen un pericarion esferoidal, de unas 18 μm de diámetro, del que parten 6 u 8 dendritas principales de superficie lisa. Estas dendritas se ramifican en 2 ó 3 de segundo orden, muy largas si no están ramificadas, que siguen un camino a veces tortuoso aunque generalmente es recto. Las dendritas secundarias pueden ramificarse en otras de tercer orden. El conjunto del árbol dendrítico se expande radialmente entre los 125 μm y los 160 μm . Lo más característico de este tipo neuronal, son los relativamente grandes apéndices dendríticos y la forma variada de estos, que muestran las dendritas de segundo y tercer orden.

En algunas neuronas tipo 3 se observa un segmento inicial axónico comparable al de las neuronas tipo 1 y 2; si bien difiere del de éstas en que emerge de un tronco dendrítico y no del pericarion.

Las neuronas del tipo 3, son comparables a las de la clase 3 de Guillery (1966, 1971) en el gato; con el tipo 3 de Kriebel (1973, 1975) en roedores; tipo 3 de Campos-Ortega y cols. (1968) y Wong-Riley (1972) en primates; así como con las células de la clase B de Grossman y cols. (1973), células pseudoamacrinas de Rafols y Valverde (1973), tipo II de Schober y Brauer (1973), Werner y Krüger (1973), Rios y cols. (1981), así como con las neuronas de Golgi tipo II observadas en otros núcleos

talámicos por Morest (1964, 1971), Tömböl (1967), Ralston (1971), Famiglietti y Peters (1972), etc.

No obstante, existen algunas discrepancias entre los distintos autores. Así, Grossman y cols. (1973) apuntan la posibilidad de que algunas células de la clase B posean axón mielinizado y que incluso proyecten fuera del NGLd. De la misma opinión son Caballero y cols. (1986), que encuentran un segmento inicial axónico en algunas células del tipo 3, lo cual sugiere que al menos algunas de estas neuronas poseen un axón mielinizado que muy bien pudiera proyectar fuera del núcleo. Este hecho también lo apuntan Meyer y Albus (1981), que identifican en la lámina A del NGLd del gato un tipo celular, que siendo muy similar a las neuronas del tipo 3, proyecta sobre las áreas 17 y 18 de la corteza. Por el contrario, Lieberman (1973), en estudios de microscopía electrónica, al no identificar en secciones seriadas de neuronas de la clase B un segmento inicial axónico, admite que estas células puedan ser anaxónicas. Rafols y Valverde (1973), debido a esta misma eventualidad denominan a estas neuronas células pseudoamacrinas.

Otros autores, entre los que podemos citar a Hitchcock y Hickey (1983), describen en la lámina C del NGLd del gato un tipo celular perteneciente a la clase 3 que presenta un proceso axónico que se ramifica localmente en las proximidades de la célula. Todas estas circunstancias sugieren la existencia de distintos tipos de neuronas de control (interneuronas), en función de la morfología axónica, como ya propusieron O'Leary (1940) y Tömböl (1969), entre otros y que además no todas las neuronas identificadas como de la clase 3, sean interneuronas (Caballero y cols., 1986).

Por otra parte, aunque en líneas generales hay acuerdo en cuanto a distinguir en el NGLd de mamíferos los 3 tipos neuronales ya expuestos, hay investigadores que observan una situación más compleja. Guillery (1966) establece una cuarta clase, donde agrupa a células de características intermedias que no pueden incluirse en ninguno de los otros tres

tipos antedichos y a los que, por otra parte, sólo se ajustan satisfactoriamente el 60% de las neuronas del NGLd. Famiglietti (1970) reconoce incluso una quinta clase, constituida por células isodendríticas y cuyas dendritas sobrepasan los límites laminares. Del mismo modo, Meyer y Albus (1981) han identificado una gran variedad de subtipos celulares y Hitchcock y Hickey (1983), utilizando el método de Golgi, registran cinco clases de neuronas en la lámina C del NGLd del gato.

Los estudios fisiológicos del NGLd de mamíferos, están en concordancia con lo establecido morfológicamente.

Mediante estimulación fótica o bien mediante excitación eléctrica, las neuronas del NGLd se pueden clasificar en dos grupos: células Principales (P) o células de relevo tálamo-cortical y células I o interneuronas (Bishop y cols., 1953; Sakakura, 1968; Famiglietti y Peters, 1972; Cleland y cols., 1976; Ogawa y cols., 1981).

A su vez, las células Principales dependiendo del tipo de respuesta que muestren ante la estimulación eléctrica, se pueden dividir en células P-rápidas o células Y, de excitación rápida y células P-lentas o células X, de excitación lenta (Fukuda y cols., 1973; Stone y Dreher, 1973; Fukuda y Sugitani, 1974; Derrington y Fuchs, 1979; So y Shapley, 1979, 1981).

Algunos autores distinguen un tercer tipo de células Principales, las células W, cuyo umbral de estimulación es más bajo que el de las células X e Y. Estas células sólo han sido identificadas en las láminas C y C1 del gato (Wilson y Stone, 1975; Wilson y cols., 1976; Stanford y cols., 1981; Sur y cols., 1981; Sur y Sherman, 1982) y morfológicamente se corresponden con la clase 4 establecida por Guillery (1966) y que se observa exclusivamente en estas láminas (Hitchcock y cols., 1984).

Las células P-lentas y P-rápidas, se diferencian además en que proyectan a lugares específicos de la corteza, tal y como muestran los

trabajos de Stone y Dreher (1973), Fukuda y cols. (1973), y Meyer y Albus (1981); aunque no existe acuerdo en cuanto a los resultados obtenidos por estos investigadores en lo referente a los lugares de proyección. Además hay evidencias de que las células P-lentas y P-rápidas reciben impulsos desde células ganglionares diferentes (cuya existencia parece estar demostrada), que proyectarían sobre uno u otro tipo celular.

Un aspecto interesante es la correlación entre los tipos de células de relevo descritos morfológicamente y los descritos desde el punto de vista fisiológico. Friedlander y cols. (1979a,b), concluyen que las células tipo 2 descritas morfológicamente pueden tener propiedades de células-Y y de células-X, pero teniendo en cuenta que ninguna de ambas funciones puede ser atribuida inequívocamente a este tipo celular. Si esto es así, las neuronas tipo 1 deben ser identificadas funcionalmente como células que sólo responden de una manera, de forma lenta o de forma rápida, pero no de ambas. Para Stone y Dreher (1973) así como para Fukuda y cols. (1973), las células tipo 1 serían exclusivamente células P-lentas (células-X), mientras que para Meyer y Albus (1981), tales células serían únicamente rápidas (células-Y). Independientemente de los matices que introducen los distintos autores, resulta interesante que se pueda establecer un paralelismo entre la morfología y la función de los dos tipos de células de relevo del NGLd, pudiendo explicarse la existencia de ambos así como que el tipo 2 sea más evolucionado.

En cuanto a las células I o interneuronas, éstas han sido identificadas electrofisiológicamente por varios autores (Burke y Sefton, 1966; Noda e Iwama, 1967; Fukuda e Iwama, 1971; Sefton y Bruce, 1971). La función de las interneuronas es regular la actividad del núcleo, inhibiendo a las células de relevo cuando se produce una sobrecarga de estimulación.

Se han propuesto dos modelos mediante los cuales las células-I pueden ejercer su función de control. Uno de ellos es del tipo "feed-back", en el que las células de relevo emiten colaterales que sinaptan con las células-I, las cuales a su vez inhiben a las primeras (Fuster y cols.,

1965; Lo, 1981). Este modelo ha sido demostrado en el complejo ventro-basal del gato (Andersen y cols., 1964). El otro modelo que se propone es del tipo "feed-forward" en el que la inhibición ejercida sobre las neuronas de relevo está mediada por interneuronas que son excitadas monosinápticamente por células ganglionares de la retina (Famiglietti y Peters, 1972; Dubin y Cleland, 1977; Ahlsen y Lindström, 1978; Lindström, 1982).

En cuanto a los aspectos cuantitativos y citomorfométricos; ya se ha dicho que dentro de las neuronas de relevo, el tipo 1 es más abundante en los grupos de mamíferos menos evolucionados y a partir de primates es el tipo 2 el que predomina (Wong-Riley, 1972; Kriebel, 1975; Caballero y cols., 1986). Por otra parte, las neuronas de relevo son más abundantes que las interneuronas. Madarász (1976), determina en el NGL del gato, los siguientes porcentajes: células de relevo 66,2%; neuronas Golgi tipo II 29,7%; células no identificadas 4,1%.

Lin y cols. (1977) estiman, mediante la utilización de peroxidasa de rábano inyectada masivamente en el córtex visual, que el porcentaje de neuronas no marcadas, que lógicamente han de ser interneuronas, en el NGLd es sólo del 10%. Le Vay y Ferster (1979), mediante este mismo procedimiento estiman sin embargo que el tanto por ciento de interneuronas es del 25%; para Geisert (1980) las interneuronas constituyen el 20% del total de las neuronas del NGLd del gato, y Weber y Kalil (1983), en estudios realizados en la lámina A del NGLd del gato, estiman que las interneuronas suponen el 22% del total de las neuronas de esta lámina.

Fitzpatrick y cols. (1982), inmunquímicamente, obtienen resultados similares a los de estos últimos autores, encontrando en la lámina A del NGLd del gato, una población ácido decarboxiglutámico positivo (GAB+), que constituye entre un 19% y un 26% del total. Este autor examina también el área media de los somas de las células GAB+ y GAB-, encontrando que las primeras tienen una sección media de 142 μm^2 frente a

las 273 μm^2 de las GAB-. El GAB es un compuesto intermediario, importante en la síntesis del ácido γ -aminobutírico.

Dentro de este tipo de estudios Werner obtiene resultados que difieren de los anteriores (Werner y cols., 1984; Werner y Wilke, 1985). Con la técnica de Nissl, esta autora caracteriza a las neuronas de relevo y a las interneuronas basándose fundamentalmente en las diferencias del citoplasma. Según Werner, el citoplasma de las neuronas de relevo es más amplio y está ocupado por muchos grumos de Nissl, que le dan una "textura grosera"; las interneuronas por el contrario, presentan un citoplasma escaso y sin apenas grumos de Nissl, por lo que presentan una "textura fina". Posteriormente, utilizando también el proceder de Nissl, encuentra que el tanto por ciento de interneuronas en el sector α del NGLd de roedores es del 36%, aunque en el caso de animales albinos, este porcentaje se reduce hasta situarse en el 8%. También expone esta autora que, aunque el sector α del NGLd de los roedores y de otros mamíferos presente una apariencia homogénea, cuando se aplican métodos estadísticos es posible distinguir varias zonas de densidad celular diferente.

En esta línea está el objeto de nuestra Tesis y una vez reconstruido el NGLd del conejo, hemos estudiado la densidad neuronal en distintos sectores, profundizando por último en aspectos morfométricos de las células que constituyen el sector α_E , ya que el sector β se encuentra inmerso en otra problemática y el sector α_I sólo representaría una ampliación del proceso empleado. Con todo, en los estudios generales obtendremos los valores básicos para todo el núcleo, ya que es necesario para la delimitación exacta del sector α_E .

III. MATERIAL Y METODOS

1. MATERIAL DE ESTUDIO UTILIZADO Y PROCEDERES TECNICOS SEGUIDOS PARA LA
OBTENCION DE CORTES HISTOLOGICOS.

1. MATERIAL DE ESTUDIO UTILIZADO Y PROCEDERES TECNICOS SEGUIDOS PARA LA OBTENCION DE CORTES HISTOLOGICOS.

Para este trabajo se han utilizado conejos, cruce de raza californiana con neozelandesa. El peso de los ejemplares era de alrededor de 3 Kg., peso que alcanzan los animales hacia los cuatro meses de edad.

El proceder técnico seguido hasta la consecución de las secciones histológicas seriadas del NGLd, sobre las que se efectuaron las medidas requeridas para nuestro estudio, fue como se describe seguidamente.

1.1. Perfusión.

Los animales fueron perfundidos vía carotídea. Previamente se les administró por vía intravenosa (a través de la vena marginal de la oreja) 1 c.c. de heparina al 5% (anticoagulante) y 2 c.c. de dihidroergotoxina mesilato (vasodilatador).

Después de dejar transcurrir 5 minutos, los animales fueron anestesiados con una solución de uretano al 20% en agua destilada, utilizando 6 c.c. de dicha solución por Kg. de peso corporal.

A continuación se procedió a la perfusión haciendo pasar, en primer lugar, de 300 c.c. a 400 c.c. de una solución lavadora, seguidos de 400 c.c. a 500 c.c. del fijador adecuado. El flujo de perfusión, regulable por un sistema de goteo, fue de 60 gotas por minuto; la presión de perfusión, controlada en todo momento mediante un manómetro acoplado al sistema, se mantuvo entre 90 mm. Hg. y 100 mm. Hg. Los líquidos se perfundieron a una temperatura de 37°C.

Tanto la solución lavadora como los fijadores utilizados durante la perfusión y posterior fijación, fueron diferentes en función de que el

material se procesara según el método de Klüver-Barrera (Klüver y Barrera, 1953) o el método de Golgi en su variante Golgi-Adams (Adams, 1979).

Con el método de Klüver-Barrera la solución lavadora empleada fue solución salina al 0,9%. El fijador que se utilizó durante la perfusión fue formol salino al 10%.

Para el método de Golgi-Adams se perfundió, en primer lugar, con una solución salina (0,9% de ClNa) al 0,5% de nitrito sódico (NaNO_2); como fijador, se utilizó formol salino al 10% y posteriormente se perfundió un mordiente compuesto por una mezcla de formol-dicromato potásico-hidrato de cloral.

El material procesado mediante el método de Golgi-Adams, se utilizó para realizar estudios prospectivos, fundamentalmente encaminados a determinar la orientación preferente de las células. Mediante el material procesado con el método de Klüver-Barrera se realizaron las reconstrucciones gráficas del NGL, así como los estudios cuantitativos y citomorfométricos.

Las piezas de material utilizadas para las reconstrucciones gráficas, fueron marcadas convenientemente para garantizar la correcta orientación de los cortes. Para ello se utilizó "catgut"; con él se atravesó cada pieza de material, perpendicularmente al plano de sección, en dos lugares distintos; de este modo se disponía en cada corte de dos marcadores externos, junto con las referencias internas propias del material.

1.2. Método de Klüver-Barrera (Klüver y Barrera, 1953).

Finalizada la perfusión, se extrajeron los encéfalos y de ellos se disecó el diencéfalo, del que se aisló en un bloque la porción que contenía los Núcleos Genuculados Laterales. Tras lavar las piezas de material con solución salina se procedió a procesarlos.

1.2.1. Fijación.

Para fijar el material que iba a ser procesado por este método se utilizaron tres fijadores distintos, según el siguiente protocolo:

- 1) Formol salino al 10%, durante seis horas.
- 2) A.F.A. (Alcohol-Formol-Acético), durante seis horas.
- 3) CARNOY (Alcohol-Cloroformo-Acético), durante cuarenta y ocho horas.

La solución fijadora de Carnoy se cambió por otra recién hecha cada doce horas.

La preparación y composición de las distintas soluciones utilizadas durante la perfusión y posterior fijación se detallan a continuación.

Formol salino al 10%

- ClNa 9 gr.
- Completar hasta 1 litro con formol al 10%.

El formol al 10% se prepara a partir de formol comercial (40%), y antes de su utilización se neutraliza con carbonato magnésico ($MgCO_3$).

El PH del fijador debe estar comprendido entre 6 y 8.

A.F.A.

- Formol (40%) 5%
- Acido acético 5%
- Etanol 70° 90%

CARNOY

- Etanol 100°	60%
- Cloroformo	30%
- Acido acético	10%

1.2.2. Inclusión._

Una vez finalizada la fijación se procedió al lavado de los bloques de tejido cerebral, durante 3 horas, en una solución saturada de carbonato cálcico en alcohol absoluto. Este lavado constituye un paso previo a la inclusión y tiene como objeto eliminar la acidez producida por las soluciones fijadoras en el tejido.

La inclusión de los bloques cerebrales, llevada a cabo en paraplast, siguió el programa que detallamos a continuación:

- 1) Tres pasos consecutivos por etanol 100°, de seis horas cada uno.
- 2) Un paso por una mezcla de etanol 100°-benzol (1:1, v/v) durante una hora.
- 3) Tres pasos consecutivos por benzol, de dos horas cada uno de ellos. El tercer paso se inicia a temperatura ambiente, introduciendo el frasco en el que se realiza en una estufa a 59°C de forma que el tejido va alcanzando gradualmente dicha temperatura; con ello se evita que sufra daños por efecto de un cambio brusco de temperatura.
- 4) Un paso en una mezcla de benzol-paraplast (1:1, v/v) a temperatura de 59°C, durante dos horas.

- 5) Tres pasos en paraplast a 59°C, durante doce horas cada uno.
- 6) Finalmente se incluye el tejido, dejando enfriar el paraplast, y se procede a la confección del bloque. Es muy importante, en el momento de la inclusión, que el bloque del material quede perfectamente orientado.

1.2.3. Corte._

Después de pegar los bloques de paraplast a pequeños tacos de madera y una vez tallado un tronco de pirámide de base trapezoidal, se procedía a la consecución seriada de cortes histológicos de 15 μm en un microtomo de parafina.

De los diez bloques de material que se utilizaron para el método de Klüver-Barrera, cuatro fueron seccionados horizontalmente, tres frontalmente y los tres restantes se cortaron en secciones sagitales.

Los cortes se iban depositando ordenadamente en un baño a 45°C para su estiramiento y a continuación se "pescaban" mediante portaobjetos y con la ayuda de un pincel. Previamente sobre los portaobjetos se depositaba una gota de albúmina glicerizada de Mayer que, una vez extendida suficientemente, aseguraba la buena adhesión de los cortes.

Asimismo, en los portaobjetos, se iba anotando con una punta de diamante el número de orden correspondiente, que permitía la correcta ordenación de los mismos.

1.2.4. Tinción._

La desparafinación, la tinción y el tratamiento ulterior de los cortes montados en portaobjetos, se llevó a cabo en canastillas de vidrio,

provistas de ranuras laterales que sostienen en posición vertical, varias preparaciones a la vez, y que se pueden introducir en cristalizadores de Schiefferdecker; cada una de las soluciones necesarias para el proceso de tinción se colocó en uno de estos cristalizadores y se procedió a teñir "en batería".

El proceso de tinción y las soluciones colorantes se especifican a continuación.

1.2.4.a. Soluciones colorantes.

Solución A.

- Luxol Fast Blue 1 gr.
- Etanol 95° 1.000 c.c.
- Acido acético al 10% 5 c.c.

Mezclar y filtrar.

Solución B.

- Cresil-violeta 1 gr.
- Agua destilada 1.000 c.c.

Justamente antes de usar añadir 5 gotas de ácido acético al 10% por cada 30 c.c. de solución y filtrar.

1.2.4.b. Proceso de tinción.

- 1) Desparafinar los cortes.

- 2) Inmersión de los cortes en etanol 100° y seguidamente en etanol 95° durante 10 ó 15 minutos.
- 3) Teñir durante 16 a 24 horas en la solución A, a 57°C.
- 4) Sumergir los cortes en etanol 95° y quitar el exceso de colorante.
- 5) Aclarar en agua destilada.
- 6) Comenzar la diferenciación con rápida inmersión en una solución de carbonato de litio al 0,05%.
- 7) Continuar la diferenciación en etanol 70° hasta que se puedan distinguir la sustancia gris y blanca.
- 8) Lavar en agua destilada.
- 9) Terminar la diferenciación aclarando brevemente en la solución de carbonato de litio y entonces pasar por varios cambios de etanol 70° hasta que el azul verdoso de la sustancia blanca contraste netamente con la sustancia gris incolora.
- 10) Aclarar rápidamente en agua destilada.
- 11) Mantener las preparaciones sumergidas durante 6 minutos en la solución B.
- 12) Diferenciar en etanol de 95°. Dar varios cambios.
- 13) Deshidratar en etanol absoluto. Dar al menos dos cambios.
- 14) Aclarar en xilol, dando al menos dos cambios y montar.

Mediante esta técnica se obtiene una coloración muy limpia de las vainas de mielina en azul o azul verde, debida al luxol fast blue. El núcleo y los grumos de Nissl de las células nerviosas quedan teñidas en violeta por el cresil-violeta.

1.3. Método de Golgi-Adams (Adams, 1979).

Durante la perfusión se utilizaron 300 c.c de la siguiente solución lavadora:

- NaNO_2 5 gr.
- Completar hasta 1 litro con solución salina al 0,9%.

A continuación, como ya se ha dicho, se perfundió formol salino al 10% y posteriormente un mordiente compuesto por formol, dicromato potásico e hidrato de cloral.

Después de la perfusión se extrajeron los encéfalos y se diseccionó el diencéfalo, el cual se dividió sagitalmente en dos partes; de cada una de estas partes se aisló una pieza que contenía al geniculado lateral.

1.3.1. Fijación.

Las piezas de material obtenidas permanecieron durante tres días en la oscuridad, en una mezcla de formol-dicromato potásico-hidrato de cloral, de similares características a la que previamente se había utilizado para la segunda parte de la perfusión. El modo de preparar la mezcla es el siguiente:

- Hidrato de cloral 50 gr.
- Dicromato potásico 50 gr.
- Agua destilada 800 c.c.

Cuando esta solución está hecha, se añaden 100 c.c. de formol comercial y se completa el volumen hasta 1.000 c.c.

La solución fijadora se cambió por otra a las 24 horas. La solución sustituyente tenía un día de antigüedad y fue filtrada antes de usar.

1.3.2. Impregnación._

Se realizó en una solución de nitrato de plata al 1%, durante tres días y en la oscuridad. Previamente a la impregnación las piezas de material se lavaron durante unos minutos en una solución de nitrato de plata al 1%.

1.3.3. Inclusión y corte._

Posteriormente a la impregnación las piezas se lavaron durante media hora en agua destilada; después se procedió a una deshidratación superficial en etanol 95° durante diez minutos y a continuación las piezas se encastraron superficialmente en paraplast. Los bloques de paraplast obtenidos se cortaron con un microtomo de deslizamiento a 60 μ m. De los tres bloques utilizados, uno se cortó transversalmente, otro horizontalmente y el tercero sagitalmente.

1.3.4. Deshidratación y montaje._

Las secciones de 60 μ m se recogieron ordenadamente en pocillos individuales numerados, que contenían etanol 95°. Se completó la deshidratación sumergiendo los cortes en nuevos pocillos con etanol 95° y por último con etanol 100°. Previo paso por xilol y aclarado en carboxilol, se montaron con cubreobjetos utilizando un medio de secado rápido ("Entellan" de Merck).

2. CALCULO DE LA RETRACCION ORIGINADA POR EL PROCEDER TECNICO.

2. CALCULO DE LA RETRACCION ORIGINADA POR EL PROCEDER TECNICO.

La fijación y demás procederes técnicos seguidos para la obtención de cortes histológicos producen, indudablemente, una retracción del tejido (Stowell, 1941), esto es, una disminución en las dimensiones de los componentes tisulares, debida principalmente a la extracción de agua del tejido por parte de los diversos productos en los que es incluido.

La determinación del valor de dicha retracción es conveniente cuando se establecen determinaciones cuantitativas, ya que éstas se verán sensiblemente afectadas por la retracción, es decir, las medidas que efectuamos sobre el tejido retraído serán inferiores a su valor real en el tejido del organismo vivo.

Evidentemente, el valor de la retracción es variable y dependiente de la técnica empleada para procesar el material. En efecto, los diversos fijadores, los diferentes tipos de inclusión y las múltiples soluciones tintoriales actúan de forma diferente sobre el tejido. Por tanto, se nos plantea el problema de conocer qué retracción se produce concretamente en nuestro material, cuando se somete al proceso técnico descrito con anterioridad.

Para la determinación de la retracción tisular en nuestro material, procesado con la técnica de Klüver-Barrera, nos hemos apoyado en el método propuesto por Navascués y cols. (1979). Este autor demuestra que la retracción cerebral por causa de los procederes técnicos sigue unos patrones regulares y aplica para el cálculo de dicha retracción la fórmula

$$Rv = 100 \times [1 - (S_2 / S_1)^3]$$

en donde

Rv = Retracción en volumen.

S_2 = Longitud, área o volumen final (después de realizados los procederes técnicos).

S_1 = Longitud, área o volumen inicial (en el tejido "en fresco").

La pauta seguida para la determinación de la retracción en volumen de nuestro material, se resume a continuación:

- 1) Extracción del encéfalo.
- 2) Obtención del bloque correspondiente al diencéfalo.
- 3) Fotografiar el plano de sección anterior y calcular su superficie (S_1).
- 4) Realización de todos los procedimientos técnicos histológicos y determinar la superficie del primer corte obtenido (S_2).
- 5) Aplicar la fórmula de Navascués y cols. (1979), que nos ofrece la retracción en volumen, expresada en tanto por ciento del volumen inicial en el bloque no retraído.

3. TECNICA DE OBTENCION DE DIBUJOS PARA DETERMINACIONES VOLUMETRICAS Y RECONSTRUCCIONES.

3. TECNICA DE OBTENCION DE DIBUJOS PARA DETERMINACIONES VOLUMETRICAS Y RECONSTRUCCIONES.

Una vez concluidos los quehaceres técnicos, de las series de material correspondientes a los núcleos geniculados laterales procesados con el método de Klüver-Barrera, fueron seleccionadas las muestras sobre las que se obtuvieron los dibujos en los que se realizaron las determinaciones volumétricas y las reconstrucciones.

De cada uno de los cortes seleccionados además de trazar el contorno del NGL, se dibujó también el del diencéfalo, los marcadores externos introducidos previamente en el material y algunos detalles anatómicos tales como el perfil del tercer ventrículo y las columnas anteriores del fórnix; de este modo se conseguía que los cortes estuviesen alineados unos con respecto a otros, lo cual resultaba imprescindible para la doble finalidad de los dibujos: obtención de la reconstrucción tridimensional del NGL y delimitación de zonas de estudio en los cortes integrantes de las series.

Los dibujos se realizaron en papel vegetal mediante una cámara clara y utilizando el objetivo 1X. En primer lugar, se trazan en una serie de hojas de papel vegetal los ejes ortogonales de los que nos vamos a servir para la alineación de los cortes; de los tres pares de ejes ortogonales que vamos a dibujar en cada hoja, uno de ellos nos servirá para encuadrar el perfil del diencéfalo mientras que los otros dos pares encuadrarán, cada uno de ellos, un NGL (ver figura III-1).

En el caso de que nos interese solamente la reconstrucción de un NGL (izquierdo o derecho), obviamente, bastará con dos ejes, uno para el diencéfalo y otro para el NGL en cuestión.

Seguidamente, se fija una de estas hojas con los ejes ortogonales trazados en el tablero de dibujo, de modo que nos sirva de referencia para dibujar todos los cortes. Una vez realizada esta operación, mediante

Figura III-1. Dibujo de una sección frontal del diencéfalo de conejo realizada a nivel del complejo nuclear del NGL, empleado para la obtención de medidas y reconstrucciones tridimensionales. Concretamente, corresponde a la sección número (Nº) 106 del diencéfalo del conejo número uno de los cortados frontalmente (C1-F) y que dista 1590 μm (Z) del corte en el que aparece por primera vez un perfil del NGLd. (Sobre los ejes de abscisas se señala la longitud de referencia: 1000 μm).

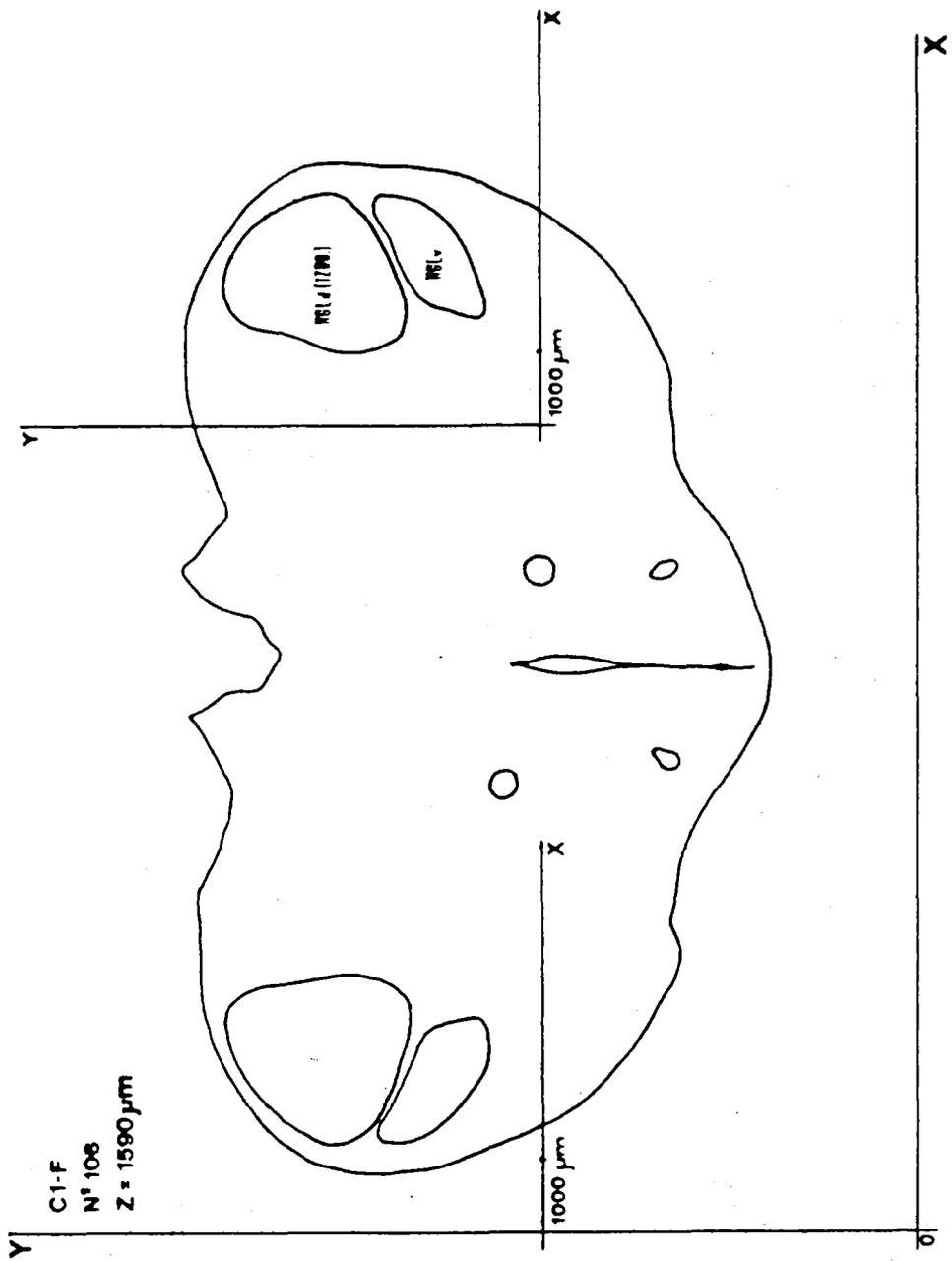


FIGURA III-1

la cámara clara, se proyecta el primer corte de la muestra en el que aparece NGL y se encuadra con respecto al sistema de ejes de coordenadas de la hoja de referencia. El paso siguiente es fijar una segunda hoja, con los ejes trazados, sobre la primera haciendo coincidir los ejes de ambas; entonces se procede a dibujar el corte incluyendo el perfil del diencéfalo, el de los núcleos geniculados laterales, los marcadores, así como los detalles anatómicos que nos sean de utilidad para la correcta alineación de los cortes (tercer ventrículo y columnas anteriores del fórnix). Una vez realizada esta operación, se proyecta el siguiente corte y se hace coincidir lo mejor posible con el dibujo que acabamos de confeccionar del corte anterior, para ello se hacen coincidir los dos marcadores externos, así como los demás detalles dibujados, de modo que los contornos se ajusten lo mejor posible. A continuación se retira la hoja sobre la que acabamos de dibujar, colocamos otra haciendo coincidir sus ejes con los de la hoja de referencia y dibujamos el contorno de este nuevo corte. Esta operación se repite con todos los cortes que comprenden la muestra.

En cada dibujo se consigna la identificación del conejo de que se trate y si pertenece al NGL derecho o izquierdo, el número de orden dentro del total de los cortes que componen la serie, la distancia en micras al primer corte de la serie y, por último, los aumentos a los que se ha obtenido, que vienen simbolizados por un segmento del eje de abscisas que representa una longitud de $10^3 \mu\text{m}$. El resultado final se muestra en la figura III-1.

Mediante una ampliación fotográfica de los dibujos que acabamos de describir se han realizado otros en los que se delimitaron los sectores α_E , α_I , y β del NGLd (Holcombe y Guillery, 1984) y sobre los que se señalaron las zonas superior (S), media (M) e inferior (I), en que fue dividido dicho núcleo para su estudio.

Una vez obtenidos, a partir de las ampliaciones fotográficas, los nuevos dibujos de los cortes de la muestra, mediante la cámara clara y un objetivo 2,5X, se procedió a proyectar sobre el tablero de dibujo los

cortes a los que pertenecían. Para esta operación se ajustaba la cámara clara de modo que la imagen proyectada coincidiera con el dibujo ampliado correspondiente.

Después de realizar todos los ajustes para que los dibujos ampliados coincidieran con las respectivas proyecciones, se procedió a delimitar en cada uno de ellos, los sectores α_E , α_I y β . El resultado final de este segundo tipo de dibujos se muestra en la figura III-2.

Tras la obtención de los dibujos, el paso siguiente fue la delimitación de las zonas de estudio, el cálculo de volúmenes y la reconstrucción tridimensional.



Figura III-2._ Dibujo del complejo nuclear del NGL de conejo, obtenido mediante ampliación. En él se han delimitado los perfiles correspondientes al núcleo geniculado lateral dorsal (NGLd), núcleo geniculado lateral ventral (NGLv), así como los sectores α externo (α_E), α interno (α_I) y β del NGLd. Mediante estos dibujos se procedió a la delimitación de las zonas de estudio, cálculo de volúmenes y reconstrucción tridimensional. (Sobre el eje de abscisas se señala la longitud de referencia: 1000 μm). D = dorsal; V = ventral; M = medial; L = lateral.

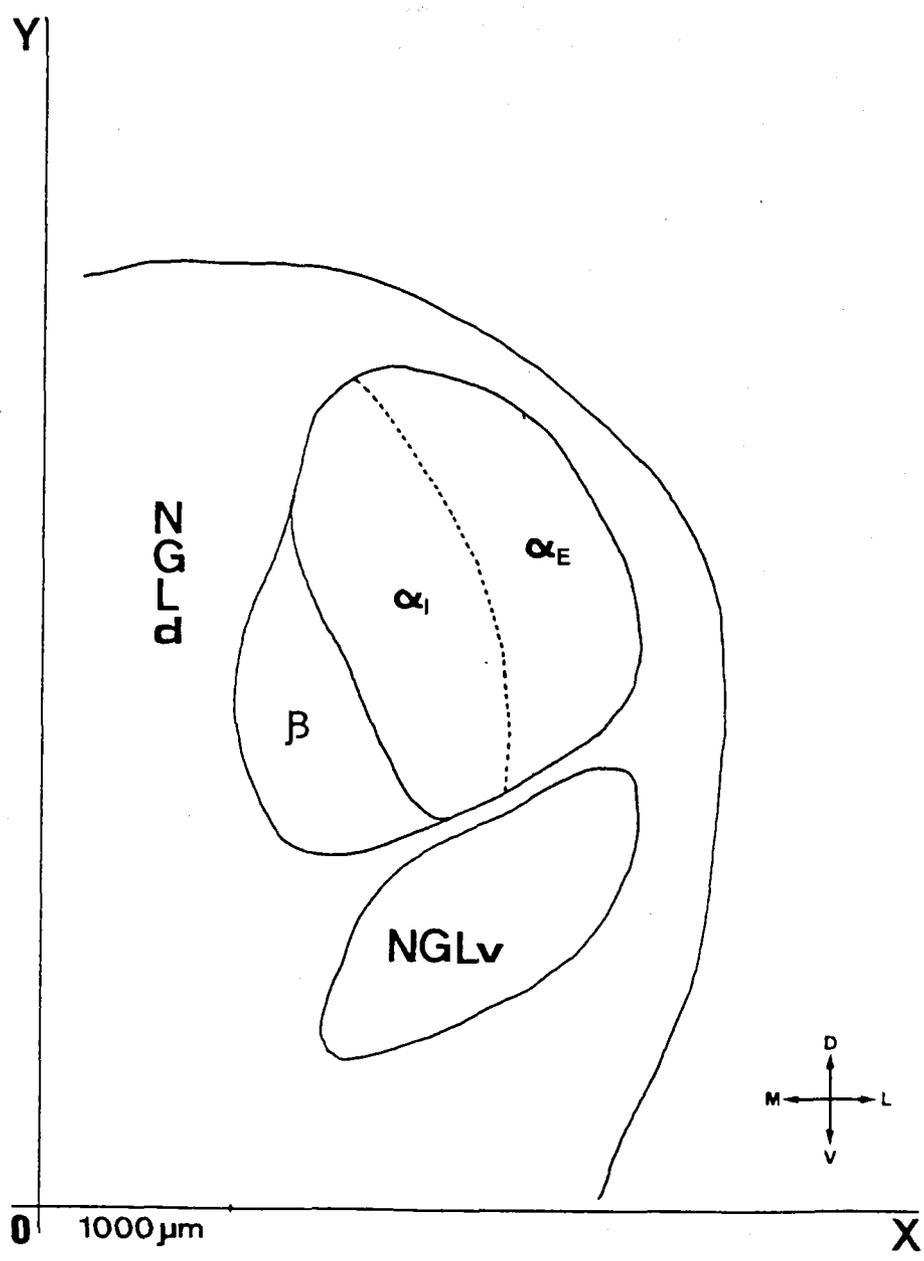


FIGURA III-2

4. DELIMITACION DE LAS ZONAS DE ESTUDIO.

4. DELIMITACION DE LAS ZONAS DE ESTUDIO.

Para llevar a cabo valoraciones de tipo cuantitativo es preciso, en primer lugar, obtener una clara imagen cualitativa (Haug, 1972). Es decir, toda determinación cuantitativa conlleva un paso previo e imprescindible, como es la delimitación precisa de la zona que vamos a valorar; en nuestro caso el NGLd del conejo.

Para ello, antes de efectuar las valoraciones cuantitativas, hemos procedido a un detallado estudio de los caracteres morfológicos del NGLd del conejo, tal como aparecen en las preparaciones de Klüver-Barrera. Este análisis morfológico nos permitió con posterioridad, una exacta delimitación topográfica de los sectores α_E , α_I y β de Holcombe y Guillery (1984).

En otro orden de cosas, cuando se realizan determinaciones cuantitativas en una estructura muy voluminosa, a no ser que se trabaje con una programación conveniente, será imposible conocer el grado de homogeneidad o heterogeneidad dentro de la misma; es decir, no podremos conocer si en las diferentes regiones de la estructura estudiada las medidas se mantienen constantes y coinciden con las determinaciones totales.

Atendiendo a estas consideraciones hemos estimado conveniente subdividir los sectores mayoritarios del núcleo, α_E y α_I , en varias zonas de estudio, en cada una de las cuales se realizarán, por separado, las determinaciones volumétricas y la densidad neuronal.

La subdivisión por zonas se mantuvo igualmente en el estudio pormenorizado de una serie de parámetros de las neuronas, que con posterioridad a las determinaciones densitométricas se realizó en el sector α_E .

Como ya hemos mencionado, el primer paso en la delimitación de las zonas de estudio, fue el análisis morfológico del núcleo, de manera que

quedaran perfectamente delimitados los sectores α_E , α_I y β . La situación topográfica de estos sectores es descrita e ilustrada convenientemente en el apartado correspondiente del capítulo de Observaciones y Resultados.

A continuación, después de obtener los dibujos correspondientes, mediante el método descrito en el apartado 2 de esta misma sección, se procedió a delimitar las zonas de estudio en los sectores α_E y α_I ; el sector β , de menor extensión, fue estudiado en su conjunto. El criterio utilizado para la delimitación de zonas de estudio en el sector α , fue el de dividir la proyección de dicho sector en el eje Y en tres partes iguales mediante dos planos perpendiculares. De este modo se distinguieron las zonas superior (S), media (M) e inferior (I) (figura III-3).

Lógicamente el procedimiento a seguir para efectuar la división, introducía una serie de modificaciones dependiendo de la orientación del corte.

Para los núcleos geniculados laterales dorsales seccionados horizontalmente la subdivisión resultó muy simple. Tan sólo era necesario dividir el total de los cortes que integran el NGLd (n), en tres lotes iguales, de modo que correspondan a cada uno de ellos n/3 cortes. Cada lote constituirá una zona de estudio; así el lote dorsal corresponderá a la zona superior, el lote intermedio a la zona media y el ventral a la inferior.

Para los núcleos que fueron seccionados frontal o sagitalmente, era necesario obtener, en primer lugar, la representación gráfica resultante del apilamiento de los cortes consecutivos, unos sobre otros, lo cual se lograba a través de los dibujos tipo 2. Seguidamente, a partir de la representación gráfica en el plano correspondiente, se obtenía la proyección del núcleo en el eje Y, que se dividía en tres partes iguales mediante dos perpendiculares, que posteriormente se utilizaban para delimitar por superposición el área correspondiente a cada zona de estudio en cada dibujo particular (figura III-4).

Figura III-3._ Dibujo en el que se representa gráficamente el criterio utilizado para la delimitación de las zonas de estudio en el sector α del NGLd de conejo. Dicho criterio fue el de dividir este sector en tres partes iguales mediante dos planos perpendiculares al eje dorso-ventral del núcleo. De este modo se distinguieron las zonas superior, media e inferior.

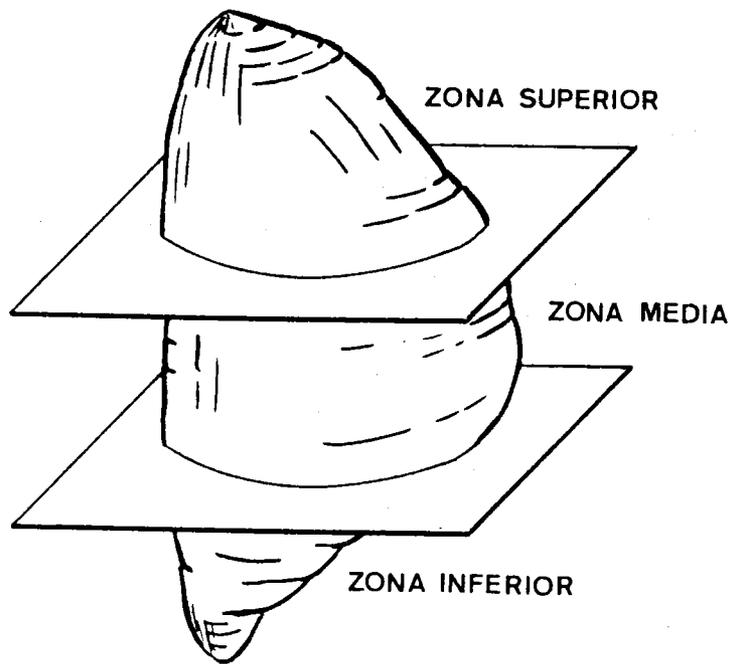


FIGURA III-3

Figura III-4._ En esta figura se muestra el procedimiento seguido para la delimitación de las zonas de estudio (superior, media e inferior) en los núcleos que fueron seccionados frontalmente. En primer lugar, se obtenían los dibujos correspondientes a cada una de las secciones del NGLd utilizadas en el proceso (a). A continuación, una vez obtenida la representación gráfica resultante del apilamiento de los cortes; a partir de sus correspondientes dibujos; ésta se proyectaba en el eje Y, y se dividía en tres partes iguales mediante dos líneas perpendiculares a dicho eje (b), que posteriormente se utilizaban para delimitar por superposición, el área correspondiente a cada zona de estudio en cada uno de los dibujos (c). En el caso de núcleos seccionados sagitalmente se procedió de igual manera.

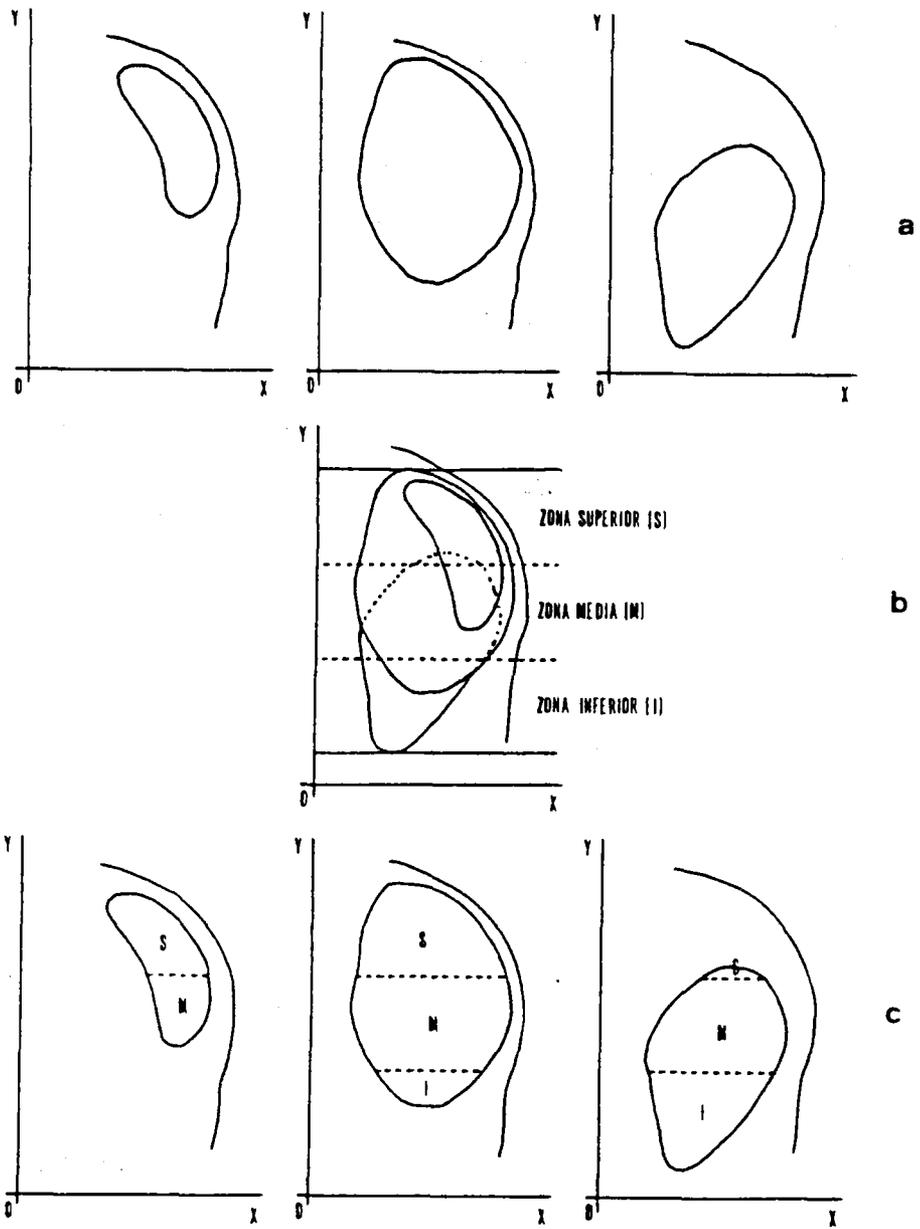


FIGURA III-4

En resumen, mediante el procedimiento expuesto se han delimitado a partir de cada NGLd las siguientes zonas de estudio:

Zona 1 : Sector α_E superior.

Zona 2 : Sector α_E media.

Zona 3 : Sector α_E inferior.

Zona 4 : Sector α_I superior.

Zona 5 : Sector α_I media.

Zona 6 : Sector α_I inferior.

Zona 7 : Sector β .

5. RECONSTRUCCION TRIDIMENSIONAL GRAFICA DEL NGL.

5. RECONSTRUCCION TRIDIMENSIONAL GRAFICA DEL NGL.

La reconstrucción tridimensional gráfica proporciona una imagen bidimensional con perspectiva de la estructura, en este caso el NGL. Dicha reconstrucción ha sido realizada mediante el empleo del programa de reconstrucción "3D" facilitado por la casa Kontron y ejecutado en un analizador de imágenes IBAS-Kontron.

La base de este programa radica en el almacenamiento en un fichero de las coordenadas (X,Y) de los puntos que constituyen los contornos de los dibujos. A tal fin, los dibujos son colocados sobre el tablero digitalizador del analizador de imágenes y repasado con una pluma eléctrica conectada a la unidad central del aparato.

Mediante un proceso de digitalización de impulsos eléctricos, generados por la pluma al contactar con los nudos del sistema de circuitos impresos del tablero digitalizador, se obtienen dichas coordenadas. Junto a ellas también se archiva el valor Z correspondiente a cada dibujo.

El registro de las coordenadas se lleva a cabo en las unidades de trabajo del usuario (en nuestro caso micras), tras el cálculo del correspondiente factor de escala al introducir el valor de la longitud de referencia y marcar ésta sobre el tablero digitalizador. Con esta operación, simultáneamente, se proporciona el sistema de referencia para dichas coordenadas y, aunque cabe la posibilidad de volver a fijar para cada dibujo la posición en el tablero de tal sistema (definida por el origen y dirección del eje de abscisas), la tarea se agiliza si sólo se establece una única vez, al principio, sobre una hoja de papel en la que están trazados los ejes ortogonales y que se mantiene fijada al tablero durante todo el tiempo que dure la labor de contorneado de los dibujos, cuyos ejes de coordenadas X, Y se harán coincidir con los de dicho papel.

Otro de los aspectos a tener en cuenta a la hora de ejecutar este programa, es el número de dibujos a emplear para obtener una recons-

trucción que sea lo más veraz posible, pero no demasiado cuantiosa en lo que se refiere al tiempo invertido en su realización. Este número dependerá de las irregularidades de la estructura a reconstruir a lo largo de eje Z, si éstas son numerosas, será necesario emplear muchos cortes, si por el contrario, la estructura es poco "accidentada", bastarán pocos cortes para obtener una reconstrucción tridimensional que se ajuste a la realidad.

En nuestro caso, hemos observado que con un 20%-25% de los cortes (de 15 μm de grosor), entresacados del total de los mismos a intervalos regulares, es suficiente para obtener reconstrucciones satisfactorias.

El procedimiento consiste esencialmente en ir colocando uno a uno los dibujos de los cortes sobre el tablero digitalizador y repasar los contornos de éstos con la pluma eléctrica, previa introducción para cada corte de su distancia (valor Z) al corte anterior en la serie. Una vez concluida esta operación y dada la orden de almacenamiento final de los datos en un fichero abierto en un disco, se procede a la reconstrucción propiamente dicha.

La representación gráfica (en la pantalla del monitor o en papel a través de la impresora) de las coordenadas de los puntos archivados, nos muestra la estructura sin ninguna perspectiva, con los cortes superpuestos unos encima de otros, apareciendo como corte más próximo al observador el primero que fue digitalizado. Obviamente, esta representación carece de interés, pues se obtendría la misma información dibujando por transparencia todos los cortes en una misma hoja de papel y utilizando los mismos ejes ortogonales. Por ello, es necesario recurrir a la "rotación" de la estructura, conseguida mediante un subprograma que se incluye en el programa general de reconstrucción 3D; la ejecución de este subprograma permite rotar uno a uno los cortes según tres ángulos principales de giro que se aplican consecutivamente, de manera que cada uno de ellos actúa sobre la imagen rotada por el anterior.

Estos tres giros se realizan:

Giro 1: Según un eje perpendicular a la pantalla del monitor (eje Z) y que decide qué lado de la estructura aparecerá en primer plano.

Giro 2: Alrededor del eje horizontal de la pantalla (eje X) y que tiene como resultado el levantamiento de la estructura.

Giro 3: Según un eje perpendicular a la pantalla del monitor (eje Z). Sólo cambia la orientación de la estructura en el plano de la pantalla sin modificar el punto de vista.

Existe un cuarto ángulo de giro, alrededor del eje Y, que permite visualizar las estructuras, una vez rotadas según los ángulos anteriores, por uno de sus lados (derecho o izquierdo).

Una vez aplicados estos giros y considerada satisfactoria la representación resultante hay que proceder a borrar aquellas líneas de los dibujos que por su posición quedarían ocultas al observador. El subprograma que lleva a cabo esta operación compara las coordenadas correspondientes a cada punto del contorno de los distintos dibujos, con las de los puntos de los contornos de cortes anteriores en la serie.

El último paso consiste en la impresión sobre papel de la figura resultante de todo el proceso de reconstrucción.

6. CALCULO DE VOLUMENES.

6. CALCULO DE VOLUMENES.

En nuestro estudio hemos realizado el cálculo de volúmenes correspondiente a las distintas zonas según el programa que se detalla a continuación.

6.1. Elección de la muestra.

Del total de secciones obtenidas a partir de cada NGLd procesado con el método de Klüver-Barrera, fue seleccionada una muestra de la que se obtuvieron los correspondientes dibujos sobre los que efectuar las medidas conducentes a la determinación de volúmenes, así como a la reconstrucción tridimensional.

Para la elección de la muestra, que según nuestras observaciones preliminares habría de incluir el 20% del total de los cortes, el conjunto ordenado de todos ellos fue distribuido en un número de series igual al número de cortes que constituyen el 20% del total. Así, por ejemplo, para un total de 230 cortes habría que hacer 46 series, ya que el 20% de 230 es igual a 46. Cada serie estaría formada por 5 cortes consecutivos. En aquellos casos en los que el 20% de los cortes no era un número entero, se procedía a eliminar cortes de los extremos hasta que se produjera dicha circunstancia. De modo que si, por ejemplo, el total de los cortes fuera 232, el 20% supondría 46,4 cortes. En este caso se eliminarían los cortes números 1 y 232 para que de este modo el 20% del total (230) fuese 46.

Una vez repartido el material en las series correspondientes, se procedía a elegir en la primera de ellas un corte al azar y el número de orden del corte elegido se mantenía en las demás series para componer la muestra. Por consiguiente, de acuerdo con el ejemplo que hemos propuesto, caso de que el corte obtenido al azar hubiera sido el número 3, la muestra estaría compuesta por los cortes 3, 8, 13, 18, 23, 28, etc...

6.2. Determinación de áreas.

El área correspondiente a cada una de las zonas de estudio en los dibujos de la muestra, se valoró en el IBAS-Kontron mediante el empleo del programa "YX". Este programa (proporcionado por la casa Kontron) permite obtener, entre otras, medidas de área y longitud así como la introducción de diversos factores numéricos por parte del usuario.

Tras inicializar el programa e identificar adecuadamente el fichero o archivo, en donde los datos van a ser almacenados, se procede a repasar con la pluma eléctrica y sobre el tablero digitalizador, el contorno de las zonas objeto de estudio en los dibujos de los cortes seleccionados. A continuación, se introduce como factor numérico para cada dibujo, el valor de la distancia "Z" del corte evaluado al primer corte de la serie.

Puesto que en cada animal se distinguieron siete zonas de estudio y éstas a su vez estaban descompuestas en cortes, los datos correspondientes a cada zona fueron almacenados en un "canal" (o columna de datos) del fichero, y cada fichero recogía los datos de cada uno de los animales estudiados.

La asignación de los canales fue la siguiente:

- Canal 1 : Sector α_E , Zona superior ($\alpha_E S$).
- Canal 2 : Sector α_E , Zona media ($\alpha_E M$).
- Canal 3 : Sector α_E , Zona inferior ($\alpha_E I$).
- Canal 4 : Sector α_I , Zona superior ($\alpha_I S$).
- Canal 5 : Sector α_I , Zona media ($\alpha_I M$).
- Canal 6 : Sector α_I , Zona inferior ($\alpha_I I$).
- Canal 7 : Sector β (β).

6.3. Obtención de volúmenes.

Una vez concluida la labor de almacenamiento de datos, fue necesario desarrollar un programa en lenguaje BASIC, cuyo diagrama de flujo se detalla en la figura III-5, que nos permitiera acceder a los ficheros creados con el programa "YX", y a partir de su información, determinar el volumen correspondiente a cada zona de estudio del NGLd; en cuanto a los volúmenes de los sectores α_E y α_I se obtenían fácilmente a partir de dichas zonas:

$$V(\alpha_E) = V(\alpha_E S) + V(\alpha_E M) + V(\alpha_E I)$$

$$V(\alpha_I) = V(\alpha_I S) + V(\alpha_I M) + V(\alpha_I I)$$

y lógicamente el volumen del sector α completo vendría dado por:

$$V(\alpha) = V(\alpha_E) + V(\alpha_I)$$

Los diversos volúmenes calculados (V_C), como ya hemos apuntado, corresponden al tejido cerebral que ha sufrido retracción por efecto de los procedimientos técnicos. Mediante la expresión:

$$V_R = \frac{(100 \times V_C)}{(100 - R_V)}$$

en donde R_V es la retracción en volumen del material expresada en tanto por ciento, V_C es el volumen calculado (ha sufrido retracción) y V_R es el volumen real del tejido (sin retracción); podemos estimar el verdadero valor en el tejido fresco de los distintos volúmenes.

Esta Tesis fue leida el día 15 de mayo de 1987 ante el
Tribunal constituido por:

Presidente: Dr. D. José Arcadio Roda Moreno.
Catedrático de esta Universidad.

Vocales: Dr. D. Antonio Rios Guadix.
Catedrático de esta Universidad.

Dr. D. Antonio M. Almendros Gallego.
Profesor Titular de esta Universidad.

Dr. D. José Vaquera Orte.
Catedrático de la Univ. de León.

Secretario: Dra. D^a M^a del Valle Ostos Garrido.
Profesora Titular de esta Universidad.

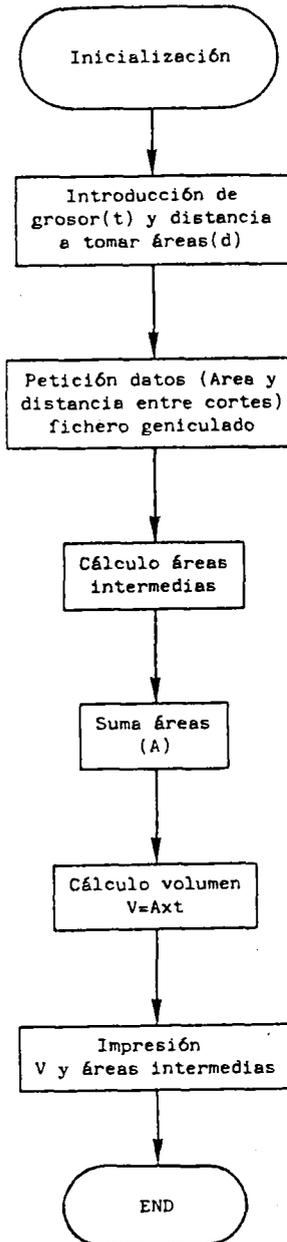


FIGURA III-5

7. DETERMINACION DEL NUMERO DE NEURONAS.

7. DETERMINACION DEL NUMERO DE NEURONAS.

7.1. Unidades muestrales.

Los recuentos de neuronas se realizaron por observación microscópica, con un objetivo de inmersión 40X y con la ayuda de una retícula ocular (técnica micrométrico-ocular), en las correspondientes zonas previamente señaladas en cada uno de los cortes sometidos a estudio.

La unidad volumétrica de recuento utilizada ha sido un paralelepípedo de $175 \mu\text{m} \times 175 \mu\text{m}$, delimitado con un micrómetro objetivo en la retícula ocular (grosor del corte $15 \mu\text{m}$).

Para la elección de los cortes sobre los que se ejecutaron los recuentos, en cada NGLd analizado, se realizó un muestreo de forma sistemática con principio aleatorio. Sin embargo, la elección de los paralelepípedos unidad dentro de cada corte de la muestra y para cada zona, se hizo mediante un muestreo aleatorio ponderado. Como unidad de recuento se tomó el nucléolo neuronal, teniendo en cuenta que de aquéllos que eran cortados por alguna de las caras del paralelepípedo, sólo se contaron los correspondientes a la superior y a la izquierda.

Para diferenciar entre células gliales y neuronas, nos hemos basado en que la heterocromatina nuclear de las células gliales se encuentra distribuida en varios pequeños grumos de forma irregular, en tanto que en los núcleos neuronales apenas si existe heterocromatina condensada (Cragg, 1967).

7.2. Determinación del tamaño de la muestra.

Una vez establecidas las premisas de los recuentos, se nos plantea el problema de establecer, en cada zona, el número de paralele-

pípedos que es necesario escoger para que el número de neuronas contenido sea suficientemente representativo de la población. Este número viene significado mediante la fórmula de Azorin Poch (1972), según la cual

$$n = \frac{N \times K^2 \times S^2}{N \times e^2 + K^2 \times S^2}$$

en donde

n = tamaño de la muestra (número de paralelepípedos del total que constituyen la muestra).

N = tamaño de la población (número total de paralelepípedos).

K = desviación para un nivel de significación dado; en este caso, para un nivel de confianza del 95%, $K = 1,96$.

e = error absoluto que se quiera conseguir (en nuestro caso, un 5% de la media).

S^2 = cuasivarianza de la población.

Según esto, en la expresión que nos calcula el tamaño de la muestra, en primer lugar hemos de conocer el tamaño de la población (número total de paralelepípedos que constituyen cada zona en concreto). Para este fin disponemos del volumen estimado para cada una, así como del volumen que ocupa cada paralelepípedo. Relacionando ambos valores obtendremos el número (N) de paralelepípedos que integran cada población.

$$N = \frac{\text{Volumen de la zona}}{\text{Volumen del paralelepípedo unidad}}$$

El valor que se tome para N , será el número entero más aproximado al valor obtenido.

En cuanto a S^2 y e , inicialmente vienen dados por los valores de \bar{x} y S^2 obtenidos a partir de una muestra piloto que se estudió a tal fin. De este modo se podía saber aproximadamente cual era el número de parale-

lepipedos a recontar en cada zona, los cuales una vez estudiados nos permitían calcular unos nuevos valores para \bar{x} y S^2 , que una vez aplicados en la fórmula de Azorin Poch, nos indicaban si el número de paralelepípedos estudiado era suficiente o si era necesario contar en algunos más.

7.3. Estimación del número total de neuronas.

El número total de neuronas en cada zona (X_t) se estima mediante el producto del número total de paralelepípedos (N) y el número medio (\bar{x}) de neuronas por paralelepípedo:

$$X_t = N \times \bar{x}$$

Como es lógico suponer, se toma como valor de X_t el número entero más próximo a la cifra obtenida. El valor obtenido de neuronas tiene un intervalo de confianza que viene dado por la expresión:

$$X_t = N \times \bar{x} \pm t \times N \times S_m$$

donde S_m es el error estándar de la media y t es el valor de la desviación normal correspondiente al nivel de confianza deseado; en nuestro caso hemos tomado un nivel de confianza del 95%, con lo cual $t_{0,95} = 1,96$. De esta forma hemos llegado a calcular el intervalo de confianza para el número total de neuronas en cada zona.

7.4. Efecto Holmes.

Cuando se llevan a cabo recuentos sobre cortes, en la mayoría de los casos el "efecto Holmes" (Holmes, 1927) es significativo; es decir, se produce una sobreestimación del número real de células, debido al efecto del grosor finito de la sección.

El fondo del problema que se nos plantea dependerá de la relación existente entre el diámetro de la unidad de recuento y el grosor del corte.

Como ya hemos indicado, nuestra unidad de recuento ha sido el nucléolo neuronal, cuyo diámetro medio se obtuvo a partir de mediciones realizadas sobre un número suficiente de nucléolos en el IBAS-Kontron.

7.5. Corrección del "efecto Holmes".

La bibliografía consultada ofrece una gran variedad de fórmulas para corregir los recuentos de perfiles realizados sobre secciones, de grosor t conocido, y así poder hallar con bastante aproximación el número real de unidades contenidas en el espacio analizado.

Entre las más utilizadas están las propuestas por Agdthur (1941), Floderus (1944), y Abercrombie (1946), aplicables en aquellos casos en los que el diámetro de la unidad de recuento es menor que el grosor del corte, tal es nuestro caso.

De estas tres fórmulas, nos hemos decidido por la de Floderus (1944), en base a que según estudios realizados por Calvente (1985) resulta ser la más fiable.

Dicha fórmula tiene la siguiente expresión:

$$N_a = n_a \frac{t}{t + \bar{D} - 2K}$$

en donde N_a y n_a son, respectivamente, el número real de nucléolos y el número de nucléolos contados mediante el recuento; t es el grosor del corte; \bar{D} es el diámetro medio del nucléolo y en cuanto al valor "K", más

comúnmente denominado "h", se puede calcular a partir del radio (r) del mínimo perfil observado y el radio (R) del nucléolo (Marrable, 1962)

$$h = R - (R^2 - r^2)^{1/2}$$

o también (González-Pareja, 1976)

$$h = R (1 - \cos W)$$

en donde "W" es el ángulo de corte, normalmente 45°.

En nuestros estudios, para la estimación del valor "h", hemos utilizado la fórmula de Marrable (1962).

En cuanto al modo de proceder, una vez medidos los diámetros de un número más que suficiente de perfiles nucleolares, de acuerdo con la fórmula de Azorín Poch, se observa que existe un perfil de tamaño mínimo por debajo del cual hemos sido incapaces de reconocer perfiles como correspondientes a la unidad en cuestión.

A partir del radio de dicho perfil y del radio medio calculado para la unidad de recuento, se ha hallado el valor de h, que junto al valor del radio se recoge en la siguiente tabla:

Nº nucléolos	R (µm)	r (µm)	h (µm)
500	1,305	1,081	0,57

Tabla III-1. Valores del radio medio (R) para la unidad de recuento, radio (r) del perfil más pequeño observado procedente de su sección y valor correspondiente a "h".

Por último, a efectos prácticos, denominaremos "factor de corrección" (f) a la parte de la fórmula de Floderus que modifica a "na", esto es:

$$f = \frac{t}{t + \bar{D} - 2K}$$

7.6. Cálculo de la densidad (δ).

Para el cálculo de la densidad, basta hallar el cociente entre el número real de células en la población (X_r); obtenido a partir del número total de neuronas (X_t) una vez efectuada la corrección debida al efecto Holmes; y el volumen real (V_R) de la zona, ocupado por dicha población

$$\delta = \frac{X_r}{V_R}$$

Como quiera que los volúmenes calculados para las distintas zonas vienen expresados en mm^3 , mientras que, normalmente, las densidades suelen expresarse en número de células por $10^6 \mu\text{m}^3$, es necesario modificar la expresión anterior del modo siguiente:

$$\delta = \frac{X_r}{10^3 \times V_R \text{ (en } \text{mm}^3\text{)}}$$

de este modo la δ queda expresada en número de células por $10^6 \mu\text{m}^3$.

El valor calculado para la densidad neuronal también viene afectado de su correspondiente error estándar.

8. METODOLOGIA PARA EL ANALISIS DE POBLACIONES CELULARES.

8. METODOLOGIA PARA EL ANALISIS DE POBLACIONES CELULARES.

Una vez efectuados los cálculos volumétricos y determinada la densidad neuronal para las distintas zonas del NGLd, se procedió al desarrollo de una metodología para el estudio de poblaciones neuronales. Dicha metodología se aplicó de modo exclusivo al sector α_E del NGLd.

El análisis poblacional comprendía la determinación, en un número suficiente de perfiles celulares, calculado según la fórmula de Azorín Poch, de una serie de parámetros a partir de los cuales esperábamos obtener las características del conjunto celular analizado, así como las clasificaciones que nos permitieran apreciar si nos encontrábamos ante una única población o bien si por el contrario había más de una.

8.1. Perfiles neuronales.

Una cuestión previa al análisis poblacional fue determinar qué perfiles debían de ser los sometidos a examen.

En un sentido amplio podemos definir un perfil como la imagen de un objeto en el plano de sección (Weibel, 1979). Como fácilmente puede entenderse el tratar de aplicar este concepto a un caso práctico, en el cual seccionamos multitud de objetos de diferente tamaño, contenidos en una estructura, resulta prácticamente inútil cuando lo que se pretende es evaluar de un modo global las características de la población o poblaciones contenidas en la estructura sometida a análisis.

El determinar a qué célula pertenece cada uno de los perfiles obtenidos en el seccionamiento seriado de una estructura, presupone examinar corte a corte y perfil a perfil el total de los mismos, con lo cual el trabajo realizado representa un esfuerzo desproporcionado con respecto a los resultados que se esperan obtener.

Este problema que hemos planteado se simplificó mediante la restricción del concepto inicial de perfil, introduciendo la condición selectiva de considerar como perfiles neuronales, sólo aquellos que incluían el perfil del nucléolo. En nuestro caso, debido al carácter del nucléolo, que únicamente puede aparecer en dos cortes sucesivos y con escasa probabilidad, podemos decir que prácticamente a cada célula corresponde un único perfil neuronal.

Estos perfiles neuronales a los que hemos aludido, han sido los utilizados en el análisis de poblaciones.

8.2. Parámetros analizados.

Para cada perfil se determinaron los siguientes parámetros:

Del perfil neuronal:

- Area.
- Diámetro máximo.
- Diámetro mínimo.
- Factor de forma elíptica.
- Angulo de inclinación.

Del núcleo del perfil neuronal:

- Area.
- Diámetro máximo.
- Diámetro mínimo.
- Factor de forma elíptica.

Además, se determinaron una serie de relaciones entre los parámetros de los perfiles neuronales y los de sus correspondientes núcleos.

Estos parámetros geométricos fueron medidos con un IBAS-Kontron, mediante el empleo del programa "IBAS II". Este programa (proporcionado por la casa Kontron) permite obtener medidas de área y longitud, directamente a partir de los cortes, así como la introducción de diversos factores numéricos por parte del usuario.

Una vez inicializado el programa e identificado adecuadamente el fichero o archivo, en donde los datos iban a ser almacenados, se procedió a repasar con la pluma eléctrica, sobre el tablero digitalizador, el contorno de los perfiles objeto del análisis, los cuales aparecían reproducidos en el monitor de IBAS II.

Dichos perfiles fueron captados directamente del microscopio mediante una cámara de televisión y transformados adecuadamente mediante el subprograma correspondiente, del programa general "IBAS II", cuyo diagrama de flujo se muestra en la figura III-6.

Para guardar constancia de los perfiles analizados y con el objeto de poder disponer de ellos de modo gráfico en cualquier momento, entre la pluma eléctrica y el tablero digitalizador se interponía una hoja de papel en donde se iban dibujando los perfiles de cada cuadrícula examinada, al mismo tiempo que se producía la medida y el almacenamiento automático de los parámetros.

8.3. Elección de la muestra.

Las determinaciones sobre los perfiles se realizaron por separado en tres planos de sección: horizontal, frontal y sagital. Este modo de proceder se debió a la observación de una orientación preferente de las células, puesta de manifiesto mediante el método de Golgi tal y como se expone en el capítulo correspondiente a Observaciones y Resultados. Se utilizaron en cada caso varios núcleos geniculados laterales (cuatro cortados horizontalmente, tres seccionados frontalmente y otros tres

Figura III-6._ Diagrama de flujo del subprograma (del programa general "IBAS II") utilizado en el análisis de poblaciones celulares del sector α_E del NGLd del conejo.

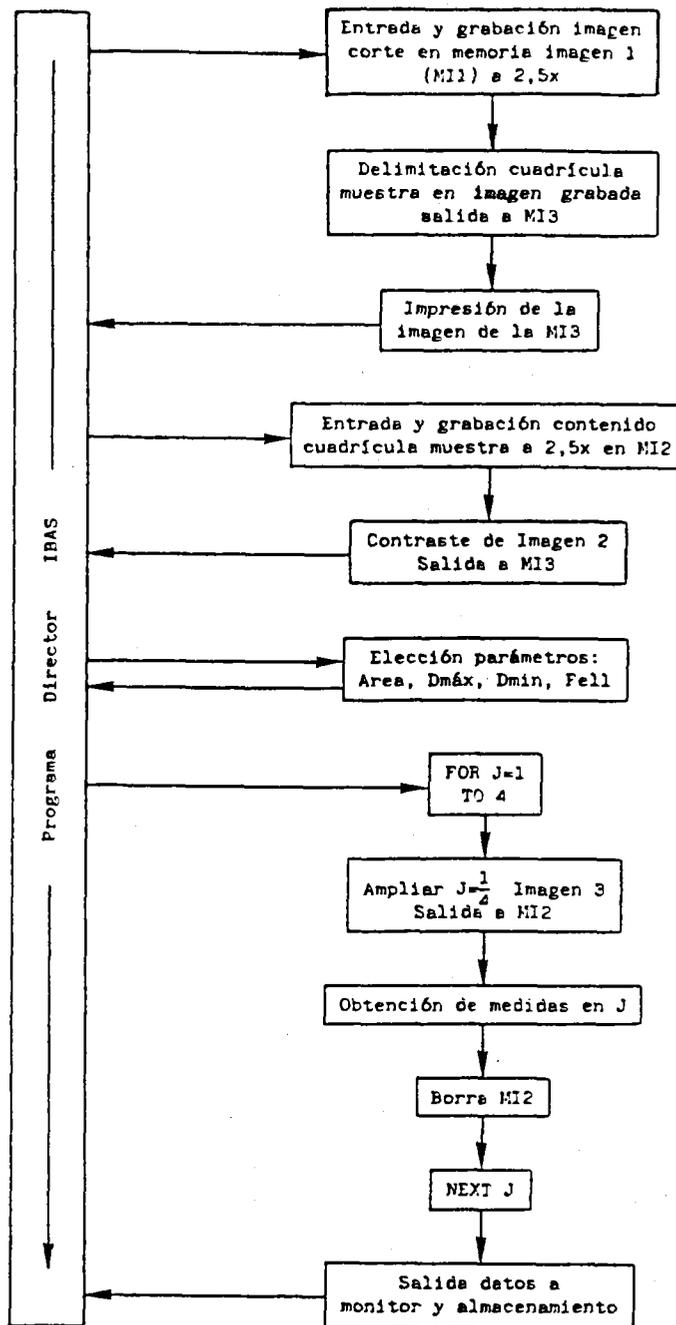


FIGURA III-6

para el plano sagital), ya que se gana en precisión total mediante el uso de más de una muestra unidad representativa (NGLd), que por el aumento del número de observaciones dentro de una única unidad (Nicholson, 1974; Weibel, 1979).

Además, para cada orientación se consideraron las tres zonas en que se había dividido el sector α_E :

Zona α_E Superior (α_E S).

Zona α_E Media (α_E M).

Zona α_E Inferior (α_E I).

Dentro de cada zona y para cada parámetro, la muestra representativa del total de los elementos analizados se determinó de acuerdo con la fórmula de Azorín Poch. Como solamente se analizaron los perfiles neuronales que incluían nucléolo, se consideró como número total de perfiles en cada caso, el número total de células obtenido para cada zona a partir de las determinaciones previas de densidad neuronal.

No obstante, dado que dichas determinaciones se realizaron sobre diez núcleos geniculados laterales dorsales diferentes, se ha utilizado como número total de neuronas para cada zona el más alto encontrado en cada caso, que es el más desfavorable para la fórmula de Azorín Poch. Si a esto añadimos que se ha analizado un número muy superior de perfiles al exigido por la fórmula, podemos estar seguros de que las muestras examinadas (horizontal, frontal y sagital) son representativas de la población celular.

El método que se siguió para determinar la muestra de perfiles a analizar fue el de distribuir de modo aleatorio ponderado una serie de cuadrículas de estudio (con las mismas dimensiones que las utilizadas para los recuentos celulares), dentro de las cuales se analizaban todos los perfiles neuronales que incluyeran el nucléolo.

Como en el caso de los perfiles neuronales, para guardar constancia de las cuadrículas analizadas y de su posición dentro del corte, el subprograma de IBAS II utilizado, incluía las ordenes que nos permitían obtener las impresiones (a través de la impresora del IBAS-Kontron) del perfil del NGLd de cada corte seleccionado, así como de la cuadrícula analizada en cada uno de ellos. Estas impresiones se archivaban junto con los correspondientes dibujos de los perfiles neuronales, tal y como se ilustra en la figura III-7, que corresponde a una de las cuadrículas analizadas en nuestro estudio.

8.4. Criterios de clasificación de los perfiles.

Con el fin de distinguir conjuntos celulares, se establecieron como criterios preferentes de clasificación el factor de forma elíptica y el área del perfil neuronal.

En función del factor de forma elíptica, los perfiles se agruparon en dos clases (figura III-8):

- Clase 1 (tendencia a forma elíptica).
Factor de forma $< 0,8$
- Clase 2 (tendencia a forma esférica).
Factor de forma $\geq 0,8$

Con respecto al área de los perfiles se establecieron las siguientes clases:

- Clase 1. Entre $100 \mu\text{m}^2$ y $180 \mu\text{m}^2$.
- Clase 2. Entre $180 \mu\text{m}^2$ y $260 \mu\text{m}^2$.
- Clase 3. Entre $260 \mu\text{m}^2$ y $340 \mu\text{m}^2$.
- Clase 4. Entre $340 \mu\text{m}^2$ y $420 \mu\text{m}^2$.

Figura III-7._ Esquema en el que se ilustra como se archivaron cada una de las cuadrículas analizadas así como los perfiles neuronales que contenían. Junto al perfil que presenta el NGLd en cada corte y en el que se encuentra localizada la cuadrícula analizada (recuadro blanco), se muestran los perfiles neuronales correspondientes a la misma. Concretamente se trata de la sección número (Nº) 102 del diencéfalo del conejo número tres de los cortados horizontalmente (G3-H) y que dista 1.530 μm (Z) del corte en el que aparece por primera vez un perfil del NGLd. La imagen del perfil de los cortes fue obtenida mediante ordenador.

G3-H
N° 102
Z = 1530

FIGURA III-7

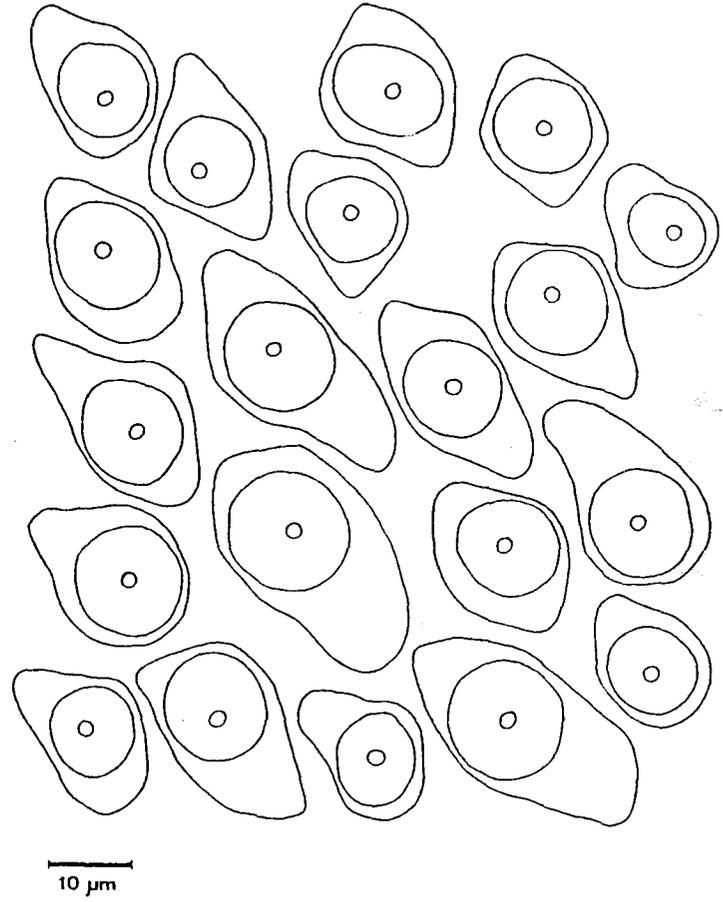
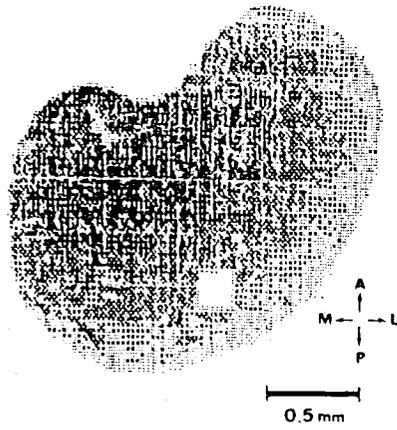
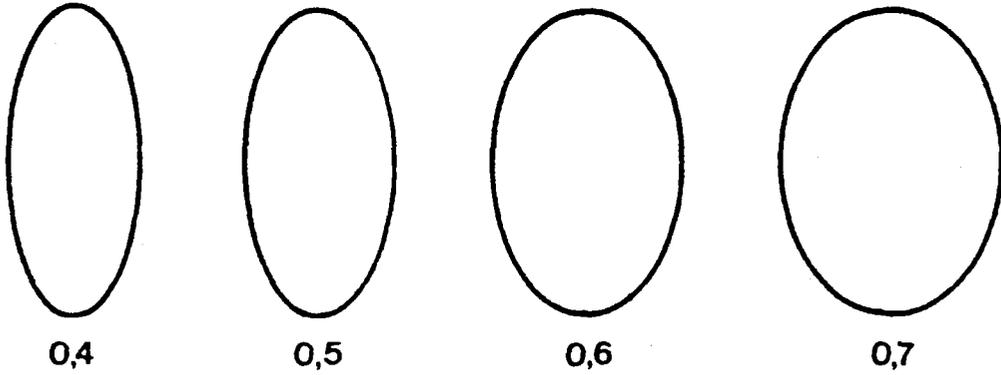


Figura III-8._ Representación gráfica de los perfiles correspondientes a distintos factores de forma elíptica, los cuales se encuentran agrupados en las dos clases utilizadas para su catalogación. F.F.e. = factor de forma.

FACTOR DE FORMA ELIPTICA $< 0,8$



FACTOR DE FORMA ELIPTICA $\geq 0,8$

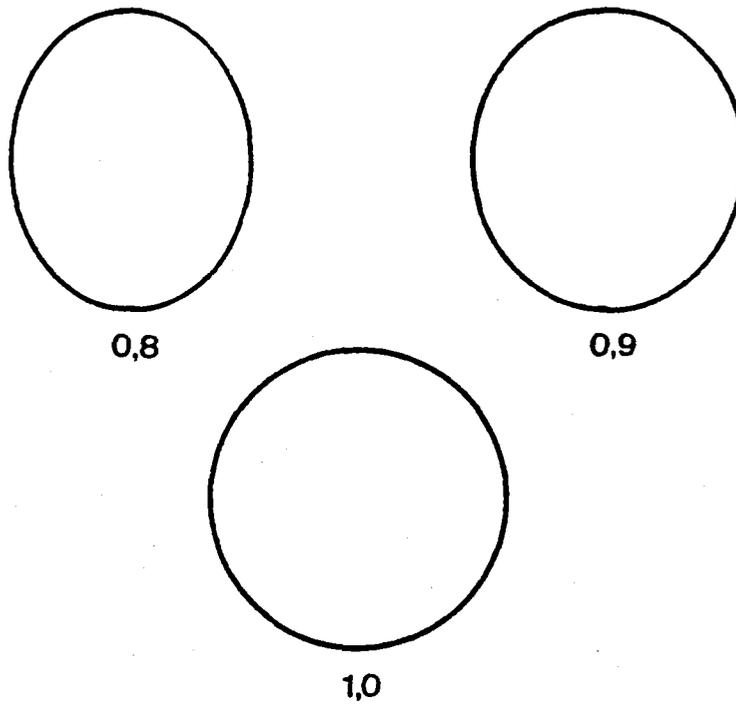


FIGURA III-8

De igual modo, el factor de forma elíptica y el área se utilizaron como criterios preferentes de clasificación a la hora de estudiar los perfiles correspondientes a los núcleos neuronales. Para el factor de forma elíptica se establecieron las mismas clases que en el caso de los perfiles de los somas neuronales; no obstante, dado el menor tamaño de los perfiles de los núcleos neuronales, éstos se distribuyeron en 7 clases comprendidas entre $40 \mu\text{m}^2$ y $180 \mu\text{m}^2$, siendo el intervalo de clase en este caso, de $20 \mu\text{m}^2$.

8.5. Análisis de la excentricidad del nucléolo.

Debido a que sólo se utilizaron para el análisis de poblaciones los perfiles neuronales que incluían el nucléolo, resultaba de gran interés determinar si la localización del mismo en la célula era al azar o si por el contrario ocupaba una posición fija, bien central o bien excéntrica.

El método empleado para analizar el grado de excentricidad del nucléolo ha sido, básicamente, el propuesto por Hemon y cols. (1981), válido en ausencia de cualquier presunción restrictiva relativa a la heterogeneidad en tamaño y/o forma del conjunto de secciones muestreadas. Este método; como ya se expuso en la sección 1.5 del capítulo correspondiente a la Revisión Bibliográfica; analiza la distancia (d) entre el orgánulo (en nuestro caso el nucléolo) y un punto específico considerado como punto de referencia (nosotros hemos utilizado como puntos de referencia, el centro geométrico del perfil neuronal y el centro geométrico del núcleo), convirtiendo dicha distancia (d) en una relación entre dos áreas:

$$\frac{Ad}{AD}$$

en donde Ad es el área del círculo de radio igual a la distancia (d) analizada, y AD sería el área del círculo de radio igual a la distancia (D)

entre el punto de referencia y el punto más alejado del espacio contenedor del orgánulo, ya sea el núcleo o el perfil celular.

Una vez determinados los valores de la relación mencionada en los perfiles analizados, se procede a realizar la distribución estadística de dichos valores, y se compara con las distintas situaciones que pueden presentarse y que se muestran en la figura III-9.

Siguiendo este procedimiento, del total de perfiles utilizados para el análisis global de la población neuronal del sector α_E del NGLd, se eligieron de modo aleatorio y ponderado, 250 perfiles de cada una de las tres orientaciones de corte (horizontal, frontal y sagital), que representan aproximadamente 1/3 del total de los mismos, y en los que se determinaron los siguientes parámetros, necesarios para el cálculo de la excentricidad del nucléolo, con respecto al perfil neuronal, así como con respecto al núcleo (ver la figura III-10):

- Coordenadas (x,y) del centro geométrico de cada perfil neuronal y de cada núcleo (x_1,y_1) .
- Coordenadas (x_2,y_2) del centro geométrico del nucléolo de cada perfil neuronal.
- Distancia (d_1) entre los puntos (x,y) y (x_2,y_2) .
- Distancia (d_2) entre los puntos (x_1,y_1) y (x_2,y_2) .
- Distancia (D_1) entre el centro geométrico del perfil (x,y) y el punto más alejado del mismo.
- Distancia (D_2) entre el centro geométrico del núcleo y el punto más alejado del mismo.

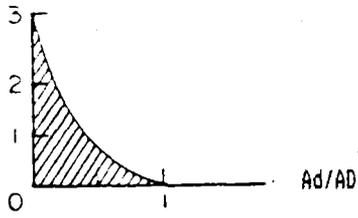
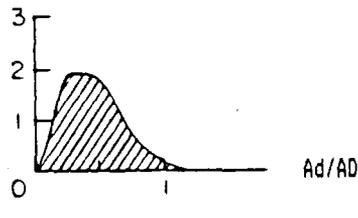
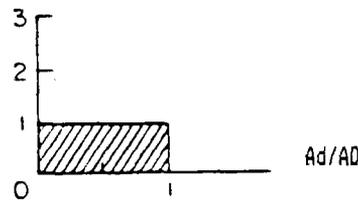
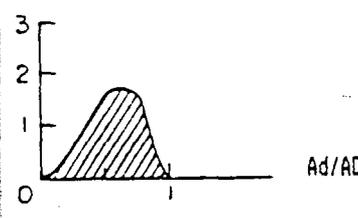
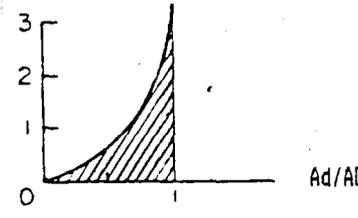
DISTRIBUCION ESTADISTICA DE: Ad/AD			Localización de un orgánulo (nucléolo), con respecto al centro de la célula.
CASO	Histograma de frecuencias	Media	
A		0.25	Se puede considerar que el orgánulo ocupa una posición central en la célula.
B		0.40	El orgánulo está en las proximidades del centro de la célula.
C		0.50	El orgánulo no ocupa una posición definida con respecto al centro de la célula.
D		0.60	El orgánulo está lejos del centro de la célula.
E		0.75	El orgánulo está muy lejos del centro de la célula.

FIGURA III-9

Figura III-10._ Representación gráfica de cada uno de los parámetros utilizados para el análisis de la excentricidad del nucléolo. Dichos parámetros son:

- 1) Coordenadas del centro geométrico de cada perfil neuronal (x,y) .
- 2) Coordenadas del centro geométrico de cada perfil nuclear (x_1,y_1) .
- 3) Coordenadas del centro geométrico de cada perfil nucleolar (x_2,y_2) .
- 4) Distancia (d_1) entre los puntos (x,y) y (x_2,y_2) .
- 5) Distancia (d_2) entre los puntos (x_1,y_1) y (x_2,y_2) .
- 6) Distancia (D_1) entre el punto (x,y) y el punto más alejado del perfil neuronal.
- 7) Distancia (D_2) entre el punto (x_1,y_1) y el punto más alejado de perfil nuclear.

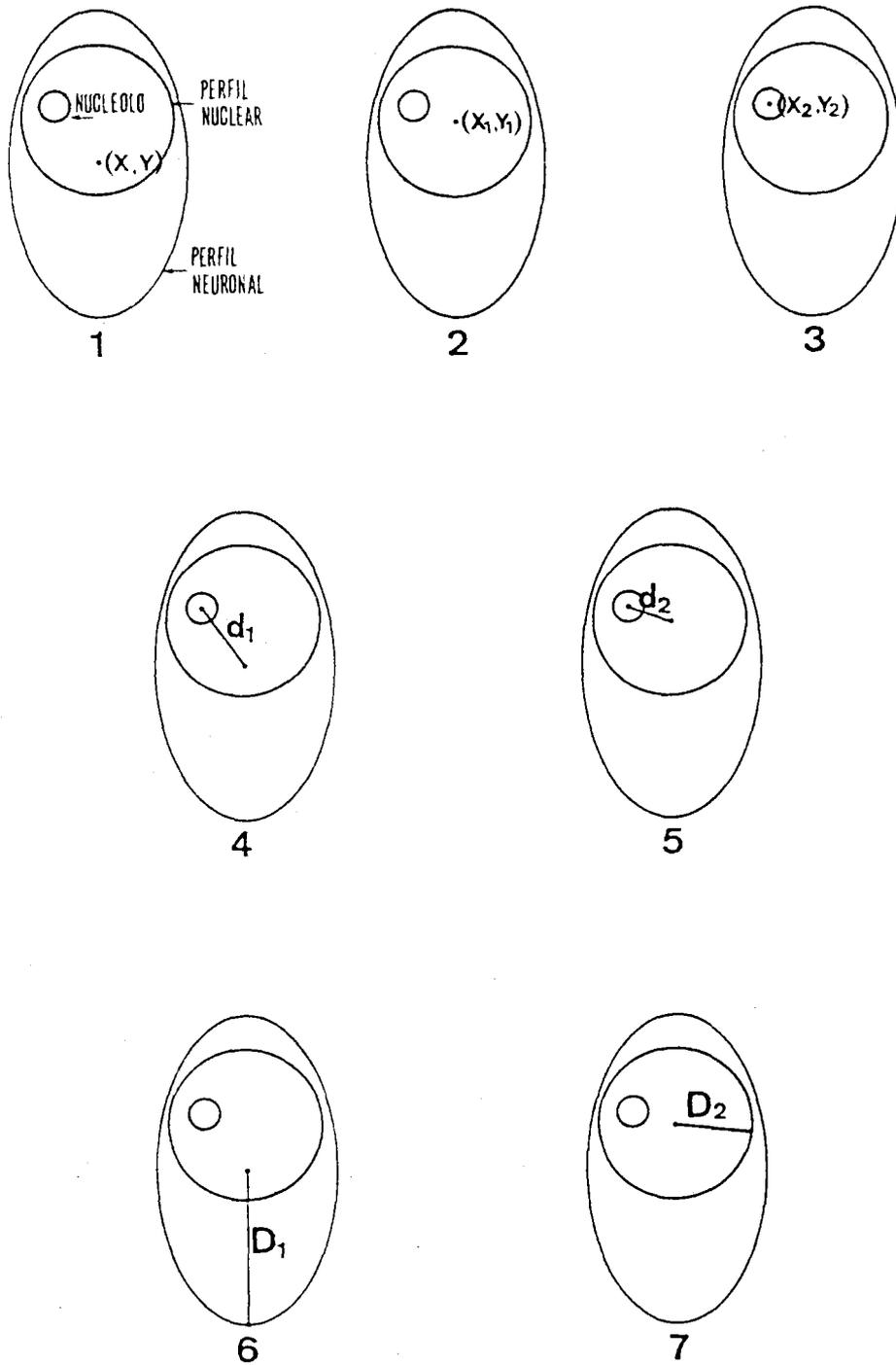


FIGURA III-10

A partir de estos parámetros se establecieron las siguientes relaciones entre áreas (A).

$$a) \quad \frac{Ad_1}{AD_1} \quad \left\{ \begin{array}{l} Ad_1 = \pi \times d_1^2 \\ AD_1 = \pi \times D_1^2 \end{array} \right.$$

$$b) \quad \frac{Ad_2}{AD_2} \quad \left\{ \begin{array}{l} Ad_2 = \pi \times d_2^2 \\ AD_2 = \pi \times D_2^2 \end{array} \right.$$

Estas medidas se realizaron con el IBAS-Kontron y el programa XY. Los datos fueron almacenados en los correspondientes ficheros, para su posterior tratamiento estadístico.

9. ESTADISTICA APLICADA.

9. ESTADISTICA APLICADA.

Además de los métodos y modos de proceder para la elección y determinación del tamaño de la muestra, el análisis de los valores medios calculados para los recuentos así como para los parámetros estudiados en las neuronas, fue realizado según la siguiente pauta:

- 1) Análisis de la varianza de Fischer.
 - 2) Contraste de diferencias entre medias a un nivel de significación del 0,05, mediante el test de Student, para aquellos casos en los que el análisis de la varianza no resulta significativo (varianzas iguales).
 - 3) Contraste de diferencias entre medias a un nivel de significación del 0,05, mediante el test de Cochran, para aquellos casos en los que las varianzas resultan significativamente diferentes.
 - 4) Prueba de la χ^2 para la comprobación de la distribución gaussiana de las variables analizadas en las poblaciones celulares.
-

IV. OBSERVACIONES Y RESULTADOS

1. MORFOLOGIA GENERAL Y ORGANIZACION CITOARQUITECTONICA DEL NGLd.

1. MORFOLOGIA GENERAL Y ORGANIZACION CITOARQUITECTONICA DEL NGLd.

El NGLd del conejo constituye la porción dorsal del complejo nuclear del NGL del tálamo. Está envuelto lateral y dorsalmente por el tracto óptico, limita caudalmente con el núcleo geniculado medial del tálamo y oralmente con el núcleo anterior del tálamo (figura IV-1a). Visto dorsalmente, el NGLd ocupa una posición lateral en el tálamo y se encuentra limitado medialmente por los núcleos anterior y pulvinar del mismo (figura IV-1b).

En posición ventral con respecto al NGLd, se encuentra el NGL ventral (NGLv), estando ambos separados por una lámina de células y neuropilo denominada lámina medular (Winkler y Potter, 1911) o lámina medular interganglionar (Gerhard, 1968), o también lámina intergenicular (Hickey y Spear, 1976; Gonzalo y cols., 1985) (figura IV-2).

Por lo que se refiere a la organización estructural del NGLd, a pesar de la ausencia de laminación, con la técnica de Klüver-Barrera puede subdividirse en dos regiones, α y β , que se observan mucho mejor en preparaciones horizontales y sagitales que en las frontales, en las que el sector β resulta difícil de visualizar con precisión dada su orientación contraria.

El sector α en secciones horizontales tiene forma de media luna y constituye la mayor parte del núcleo; rodea lateral y posteriormente un campo fibroso, que contiene neuronas grandes y espaciadas, que se reconoce como el sector β (figuras IV-3a,b,c y IV-4a,b,c). A su vez, el sector α puede subdividirse en dos porciones: una externa, en donde las fibras son poco abundantes y las células se encuentran relativamente empaquetadas, denominada sector " α externo" (α_E), y otra interna, donde las fibras son más abundantes y las células se encuentran más espaciadas, que recibe el nombre de sector " α interno" (α_I).

Cuando los cortes horizontales se realizan hacia el final del segundo tercio de la estructura, se observa como el perfil del NGLd se va redondeando y al mismo tiempo comienza a aparecer, en posición antero-lateral con respecto a él, el NGLv (figura IV-5a,b,c). A partir de aquí el NGLd se va reduciendo mientras que los perfiles del NGLv se hacen más grandes y van ocupando su lugar. La relación espacial de ambos núcleos (NGLd y NGLv), puede observarse particularmente bien cuando se reconstruyen a partir de cortes horizontales seriados, tal y como será expuesto en la sección correspondiente a Reconstrucción Tridimensional.

En secciones frontales también puede apreciarse claramente como el NGLd y el NGLv se encuentran solapados (que no confundidos) en, aproximadamente, un tercio de su estructura (figura IV-6). Con respecto a la forma del núcleo (en secciones frontales), se observa cómo al principio éste es ovalado y se encuentra curvado hacia afuera; sin embargo, a medida que el nivel de corte se aproxima a la parte media de la estructura se advierte un abombamiento progresivo de la misma hacia la región medial, en donde se localiza el sector β , el cual, aunque de límites poco claros; debido a la gran cantidad de fibras que lo atraviesan; presenta a este nivel su máxima extensión. A partir de aquí y tras la desaparición del sector β , el núcleo decrece paulatinamente hasta desaparecer.

En las figuras IV-7a y IV-7c se observan dos imágenes histológicas de una sección frontal de diencefalo de conejo a nivel medio del NGLd. En las figuras IV-8a y IV-8c se ofrecen dos imágenes histológicas correspondientes a secciones frontales del NGLd realizadas a nivel del tercio anterior de la estructura.

Finalmente, en los cortes sagitales, el NGLd en su tercio más lateral es lanceolado dirigiendo su punta hacia la región ventro-caudal, tal y como se observa en las figuras IV-9a y IV-9c. A este nivel, el núcleo está constituido exclusivamente por el sector α , el cual cuando el nivel de corte se acerca hacia la mitad latero-medial de la estructura, se alarga y se dobla hacia adelante para envolver caudal y dorsalmente al sector β ,

que alcanza en esta zona su máxima extensión (ver figuras IV-10a y IV-10c). Cuando los cortes sagitales se realizan a nivel del tercio medial del NGLd, se observa, en líneas generales, cómo el núcleo sufre un alargamiento y se estrecha en su parte ventral (figura IV-11a y IV-11c).

Las imágenes histológicas ofrecidas por los cortes sagitales y horizontales, son concluyentes con respecto a la relación estructural existente entre los sectores α y β ; el sector α constituye una envuelta en torno al sector β , pudiéndose considerar este último como la región por donde salen la mayoría de las proyecciones del NGLd y por donde entran las proyecciones córtico-geniculares que desde la corteza llegan al núcleo.

Otro aspecto que se pone de manifiesto en las secciones del NGLd procesadas mediante el método de Klüver-Barrera, es la presencia de los dos sistemas de fibras descritos por Giolli y Pope (1973). El primero de estos sistemas, denominado sistema transversal, representado por fibras de proyección córtico-tectal y córtico-pretectal, corre paralelo al tracto óptico por lo que resulta particularmente apreciable en los cortes frontales (figura IV-7a), así como en algunas secciones sagitales (sobre todo en el tercio más lateral de la estructura) (figuras IV-2; IV-9c y IV-12b). Consecuentemente con lo anterior, en los cortes horizontales, las fibras del sistema transversal aparecen seccionadas transversalmente (figuras IV-3b; IV-4a; IV-5b y IV-12a). El segundo sistema de fibras se denomina sistema longitudinal, y está constituido por colaterales de las fibras del sistema transversal, así como por fibras de proyección genículo-cortical y fibras de proyección retino-genicular; es perpendicular al sistema transversal y para su observación, particularmente buena en secciones horizontales, hemos de recurrir a mayor resolución (figuras IV-4a y IV-12a), debido a que la mayoría de las fibras que lo constituyen son, en general, más delgadas que las del primero y no forman haces demasiado gruesos.

La organización espacial que presentan las fibras es sólo uno de los aspectos de las propiedades geométricas de NGLd del conejo. En efecto, llama la atención al respecto cómo fundamentalmente en las secciones horizontales procesadas con el método de Klüver-Barrera, las células también presentan una orientación preferente en dirección lateroposterior-anteromedial (figura IV-12a). Dicha orientación no es observable en cortes frontales y por lo que se refiere a las secciones sagitales, mientras que en las más laterales puede distinguirse cómo las células se orientan en dirección posteroventral-anterodorsal (figuras IV-9c y IV-12b), a medida que nos adentramos hacia regiones más mediales del núcleo dicha orientación desaparece (figuras IV-10c y IV-11c).

No obstante, dado que en las preparaciones de Klüver-Barrera, contrariamente al Golgi, aparecen teñidas muchas células así como la gran cantidad de fibras; muchas de las cuales (sistema longitudinal) recorren además el núcleo en la misma dirección que las células; parece razonable plantearse la duda de si realmente la orientación celular existe o si sólo se trata de un efecto aparente debido fundamentalmente a la dirección que presentan las fibras.

Para confirmar la existencia de un principio de ordenación espacial de las células del NGLd del conejo, se realizó un estudio paralelo mediante la técnica de Golgi (Adams, 1979), tal y como se expone en el capítulo correspondiente a Material y Métodos. Debido a que este método impregna únicamente una porción relativamente baja del total de las células, podría resultar más fácil, en estas preparaciones, observar si existe alguna orientación preferente de las células.

Los cortes horizontales del NGLd procesado mediante el método de Golgi-Adams, confirman la existencia de una orientación preferente de las células en dirección lateral-anteromedial, tal y como se observa en las figuras IV-15a y IV-15c, aunque a mayores aumentos dicha orientación se pierde (figuras IV-13a, IV-13b y IV-14b). En los cortes frontales, al igual

que sucedía en los preparados de Klüver-Barrera, tampoco se aprecia ningún principio de ordenación espacial de las células (figura IV-16a y IV-16c).

El examen de las secciones sagitales también confirma nuestras observaciones realizadas previamente en preparaciones de Klüver-Barrera. Así, en las secciones más laterales de la estructura se puede apreciar como existe un principio de orientación que afecta tanto a las fibras como a las células (figura IV-17a y IV-17c), las cuales siguen preferentemente la dirección posteroventral-anterodorsal; a medida que las secciones son más mediales esta orientación se pierde (figura IV-18a), e incluso llega a invertirse cuando los cortes afectan a la mitad más posterior de la estructura (figura IV-18c), no obstante, en este caso dicha orientación es debida a las fibras que atraviesan el sector β , no pudiendo interpretarse como una verdadera inversión de la situación observada en las secciones más laterales.

Por último, la forma de las células también varía en función del plano de sección considerado. Así, en las secciones horizontales procesadas con el método de Klüver-Barrera, la forma de las células es mayoritariamente fusiforme (figura IV-12a), estando el núcleo situado en el tercio medio del eje mayor del cuerpo celular (figura IV-12a y IV-14a). En los planos sagital y frontal, sin embargo, las células ofrecen un porcentaje de formas redondeadas más elevado y el núcleo está situado hacia el centro del cuerpo celular (ver figura IV-12b).

En resumen, el estudio del NGLd en preparaciones de Klüver-Barrera y Golgi-Adams, nos proporciona, en primer lugar, la evidencia de que las células del mismo presentan una orientación espacial definida.

Esta orientación espacial de las células, que por otra parte puede reconocerse no sólo en el NGLd, sino en otras zonas del sistema nervioso central, hace imprescindible para cualquier consideración acerca del tamaño o la forma de las células, realizar estudios en varios planos de sección diferentes, comparando a continuación los resultados obtenidos

(Droogleever Fortuyn, 1964); en caso contrario podemos caer en el error de establecer distinciones morfológicas, en cuanto a esos parámetros se refiere, en regiones donde en realidad dichas distinciones no existen.

FIGURA IV- 1

a) Vista lateral del diencéfalo de conejo en la que puede observarse el complejo nuclear del núcleo geniculado lateral (NGL) del tálamo. NGM = núcleo geniculado medial; Na = núcleo anterior del tálamo. Aumentos $\times 3,75$.

b) Vista dorsal del diencéfalo y tubérculos cuadrigéminos anteriores (Tb) de conejo. NGLd = núcleo geniculado lateral dorsal; NGM = núcleo geniculado medial; Pul = núcleo pulvinar; Na = núcleo anterior del tálamo; tv = tercer ventrículo. Aumentos $\times 3$.

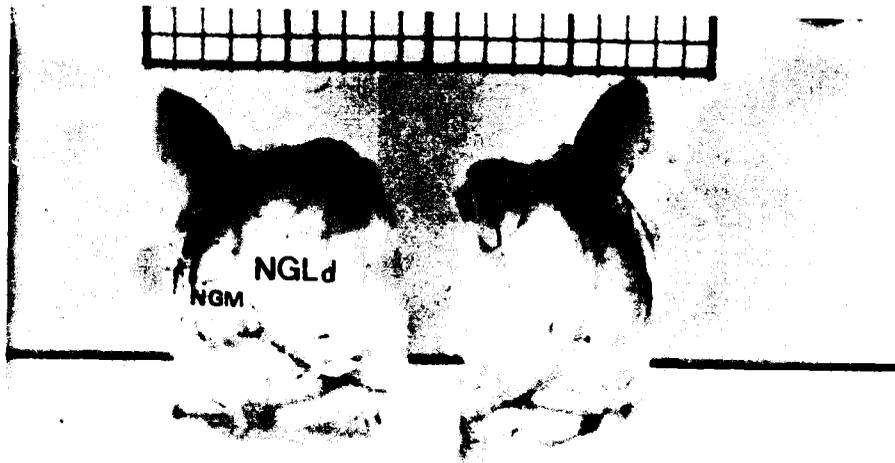


FIGURA IV-1a

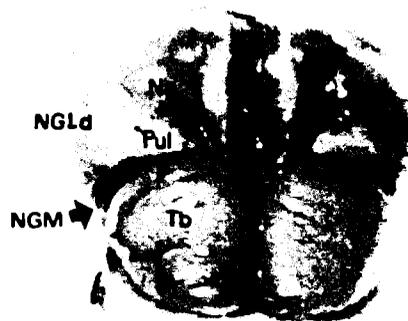


FIGURA IV-1b



FIGURA IV- 2

Imagen histológica correspondiente a un corte sagital del complejo nuclear del NGL del tálamo de conejo (Klüver-Barrera). El NGLd y el NGLv se encuentran separados por una lámina de células y neuropilo (LIG), que recibe el nombre de lámina medular (Winkler y Potter, 1911) o lámina medular interganglionar (Gerhard, 1968), o también lámina intergenicular (Hickey y Spear, 1976; Gonzalo y cols., 1985). Las flechas hacen referencia a los haces de fibras del sistema transverso. D = dorsal; V = ventral; A = anterior; P = posterior. Aumentos x 25.

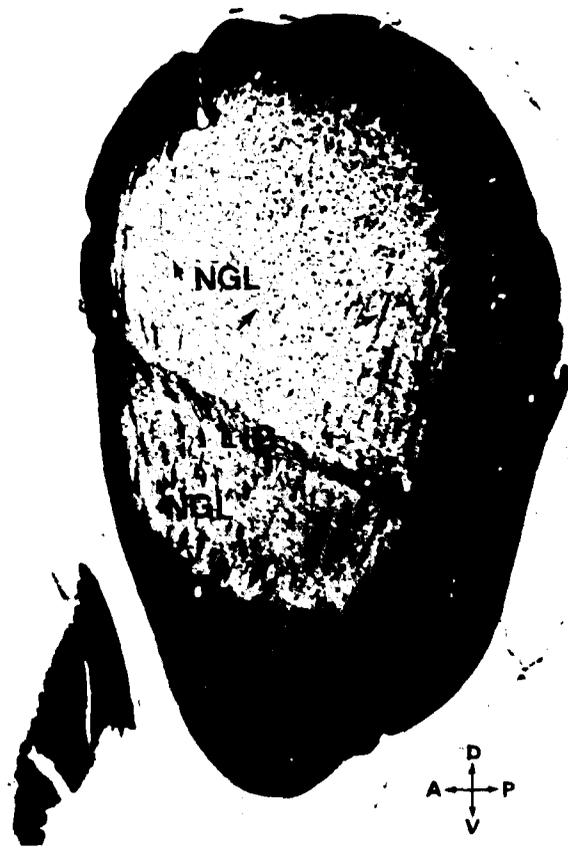


FIGURA IV-2

FIGURA IV- 3

a) Imagen histológica correspondiente a una sección horizontal de la mitad posterior del diencefalo de conejo, en la que pueden observarse ambos núcleos geniculados laterales (Klüver-Barrera). A = anterior; P = posterior; M = medial; L = lateral. Aumentos $\times 8$.

b) Detalle de la imagen histológica IV-3a, en el que se observa la zona correspondiente al NGLd derecho. Las flechas indican haces de fibras del sistema transverso. Aumentos $\times 25$.

c) Dibujo correspondiente a la imagen histológica de la figura IV-3b, en el que se ha representado el NGLd derecho (NGLd), así como sus sectores α externo (α_E), α interno (α_I) y el campo fibroso que se reconone como el sector β (β). TO = tracto óptico; Pul = núcleo pulvinar.



FIGURA IV-3a



FIGURA IV-3b

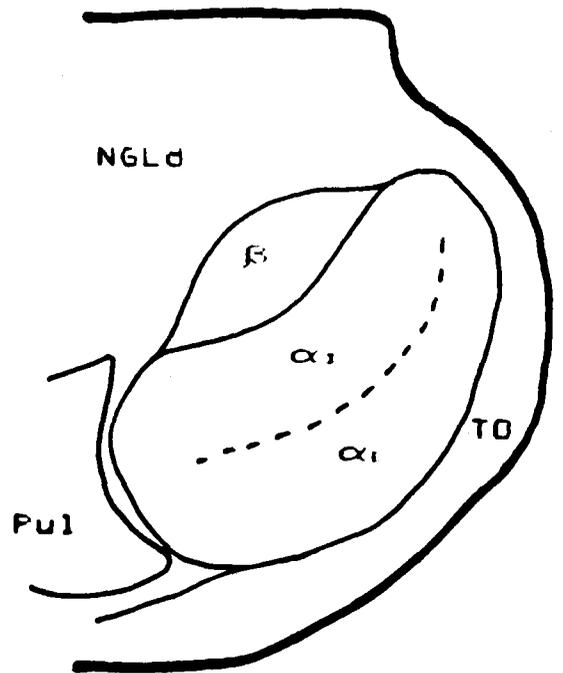


FIGURA IV-3c

FIGURA IV- 4

a) Detalle correspondiente al sector α del NGLd del conejo, en una sección horizontal (Klüver-Barrera). Obsérvese como existe una mayor abundancia de células con respecto al sector β (b). Además puede apreciarse claramente cómo las células se encuentran orientadas. Las flechas gruesas indican haces de fibras del sistema transverso; las flechas finas señalan fibras del sistema longitudinal. L = lateral; M = medial; P = posterior; A = anterior. Aumentos $\times 750$.

b) Detalle correspondiente al sector β del NGLd del conejo, en una sección horizontal (Klüver-Barrera). Las fibras son mucho más abundantes que las células. L = lateral; M = medial; P = posterior; A = anterior. Aumentos $\times 500$.

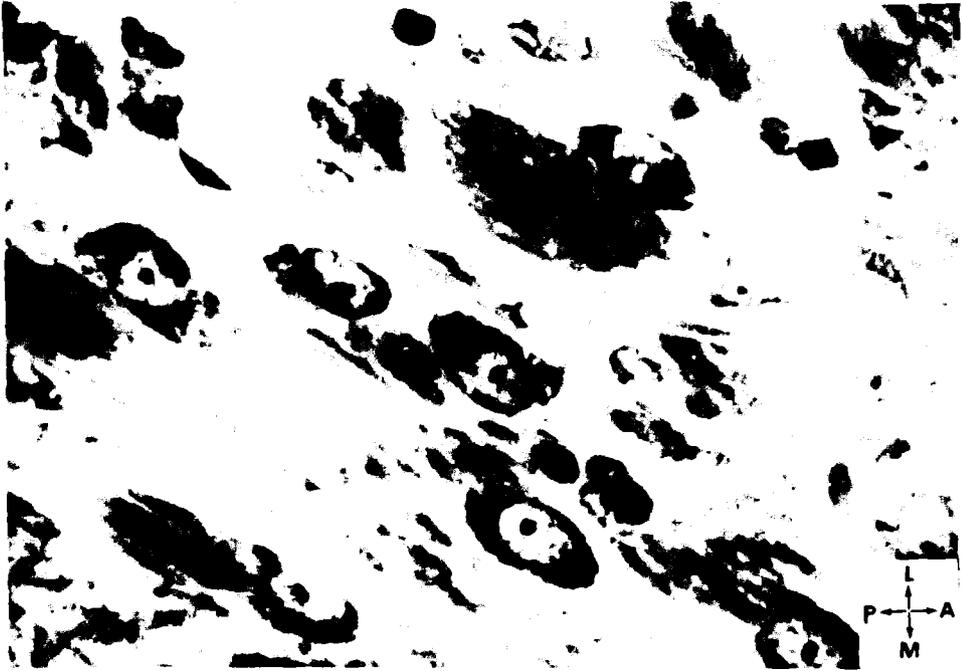


FIGURA IV-4a

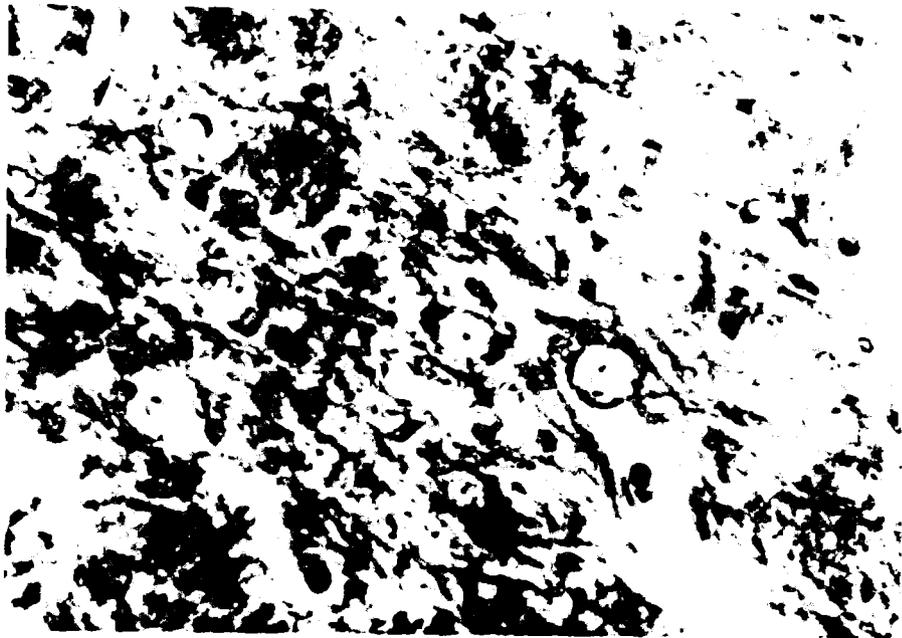


FIGURA IV-4b

FIGURA IV- 5

a) Imagen histológica correspondiente a una sección horizontal de la mitad posterior del diencefalo de conejo, realizada hacia el tercio medio dorso-ventral del NGLd (Klüver-Barrera). A = anterior; P = posterior; M = medial; L = lateral. Aumentos $\times 8$.

b) Detalle de la imagen histológica IV-5a, en el que se observa la zona correspondiente al NGLd derecho. Las flechas señalan haces de fibras del sistema transverso. Aumentos $\times 25$.

c) Dibujo correspondiente a la imagen histológica de la figura IV-5b, en el que se representa el NGLd derecho, así como sus sectores α_E , α_I y β . Obsérvese que el perfil del núcleo es más redondeado que en cortes más dorsales. A este nivel comienza a aparecer el NGLv, en posición anterolateral con respecto al NGLd. TO = tracto óptico; Pul = núcleo pulvinar.

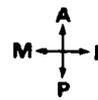


FIGURA IV-5a

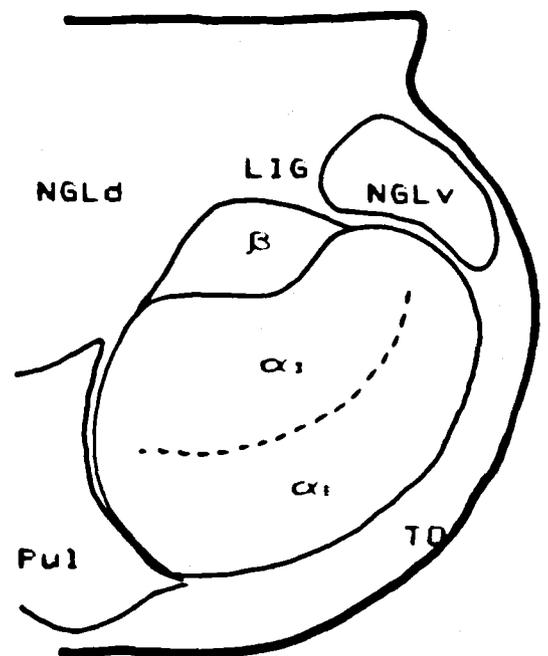


FIGURA IV-5b

FIGURA IV-5c

FIGURA IV- 6

a) Sección frontal del diencefalo de conejo a nivel del complejo nuclear del NGL (Klüver-Barrera). NGLd = núcleo geniculado lateral dorsal; NGLv = núcleo geniculado lateral ventral, LIG = lámina intergenicular; TO = tracto óptico; Pul = núcleo pulvinar; Nv = núcleo ventral del tálamo; Me = marcadores externos; D = dorsal; V = ventral; M = medial; L = lateral. Aumentos x 12.



FIGURA IV-6

FIGURA IV- 7

- a) Imagen histológica correspondiente a una sección frontal del complejo nuclear del NGL de conejo, realizada a nivel del principio del tercio medio antero-posterior de la estructura (Klüver-Barrera). Las flechas corresponden a haces de fibras del sistema transverso. Aumentos $\times 25$.
- b) Dibujo correspondiente a la imagen histológica IV-7a. NGLd = núcleo geniculado lateral dorsal; α_E , α_I , y β = sectores del NGLd; LIG = lámina intergenicular; NGLv = núcleo geniculado lateral ventral; TO = tracto óptico; D = dorsal; V = ventral; L = lateral; M = medial.
- c) Imagen histológica correspondiente a una sección frontal del complejo nuclear del NGL a nivel del final del tercio medio antero-posterior de la estructura (Klüver-Barrera). Aumentos $\times 25$.
- d) Dibujo correspondiente a la figura IV-7a. (Las abreviaturas como en la figura IV-7b).



FIGURA IV-7a

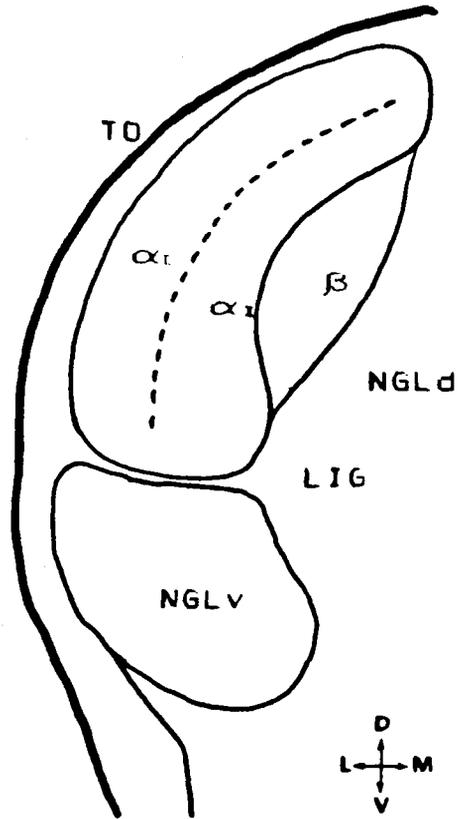


FIGURA IV-7b



FIGURA IV-7c

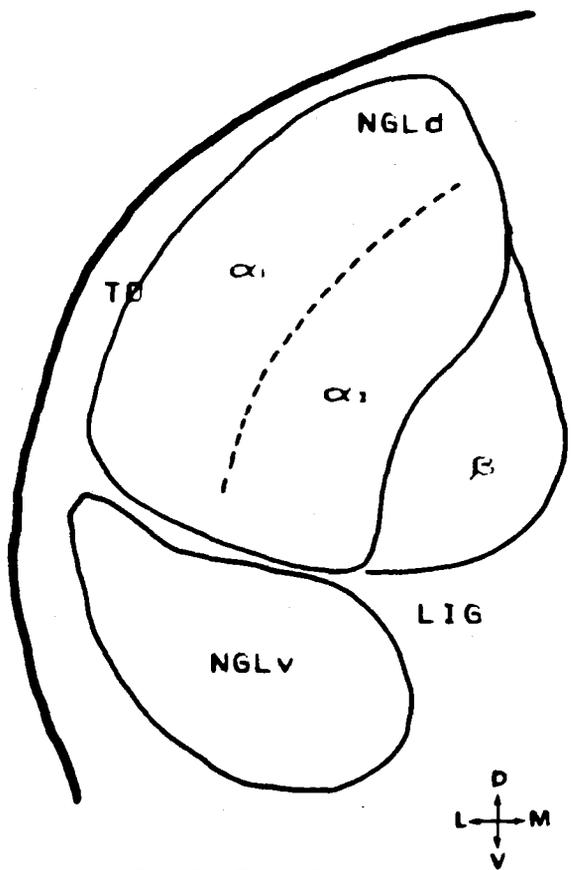


FIGURA IV-7d

FIGURA IV- 8

- a) Imagen histológica de una sección frontal del complejo nuclear del NGL, realizada a nivel del tercio anterior de la estructura (Klüver-Barrera). Aumentos $\times 25$.
- b) Dibujo correspondiente a la figura IV-8a. NGLd = núcleo geniculado lateral dorsal; α_E , α_I y β = sectores del NGLd; LIG = lámina intergenicular; NGLv = núcleo geniculado lateral ventral; TO = tracto óptico; D = dorsal; V = ventral; L = lateral; M = medial.
- c) Imagen histológica de una sección frontal del NGLd de conejo (Klüver-Barrera). Se trata de una sección muy anterior, casi al principio de la estructura, donde se observa como el sector β aún no ha comenzado a aparecer. Aumentos $\times 67,5$. (Las abreviaturas como en la figura IV-8b).



FIGURA IV-8a

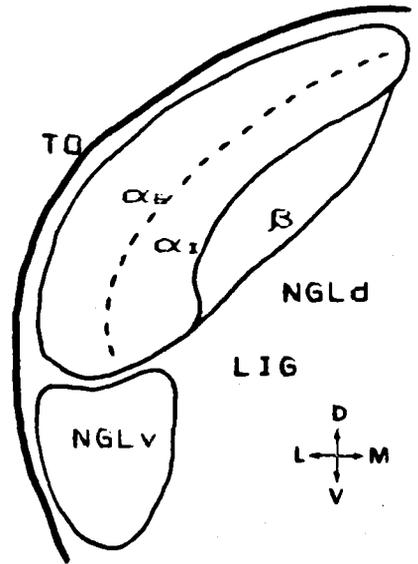


FIGURA IV-8b

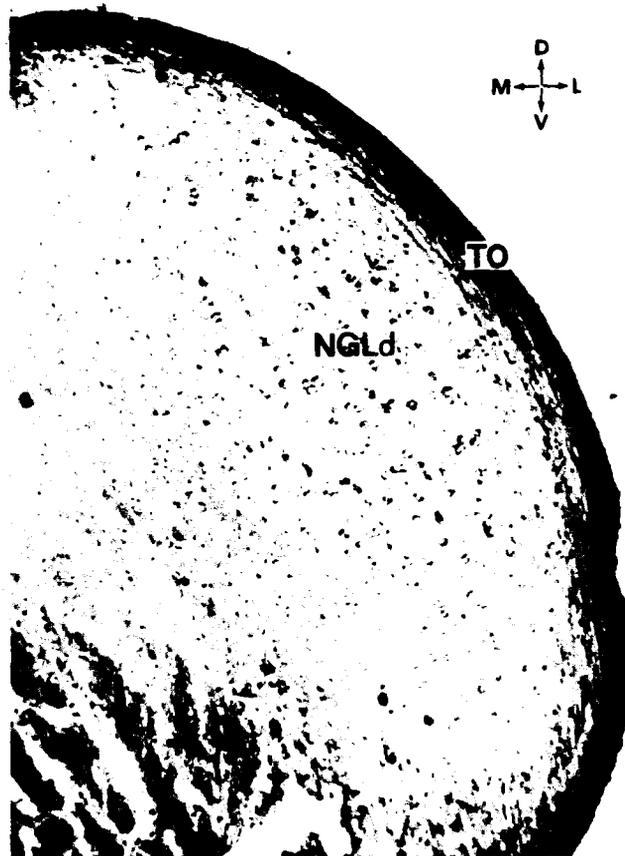


FIGURA IV-8c

FIGURA IV- 9

- a) Imagen histológica correspondiente a una sección sagital del complejo nuclear del NGL, realizada a nivel del tercio más lateral de la estructura (Klüver-Barrera). A este nivel, el NGLd está constituido exclusivamente por el sector α . Aumentos $\times 16$.
- b) Dibujo correspondiente a la figura IV-9a. NGLd = núcleo geniculado lateral dorsal; LIG = lámina intergenicular; NGLv = núcleo geniculado lateral ventral; TO = tracto óptico; NGM = núcleo geniculado medial; D = dorsal; V = ventral; A = anterior; P = posterior.
- c) Detalle a mayor aumento de la imagen histológica IV-9a. Obsérvese como en el NGLd, las células se orientan en dirección posteroventral-anterodorsal. Las flechas indican haces de fibras del sistema transversal. Aumentos $\times 33$.



FIGURA IV-9a

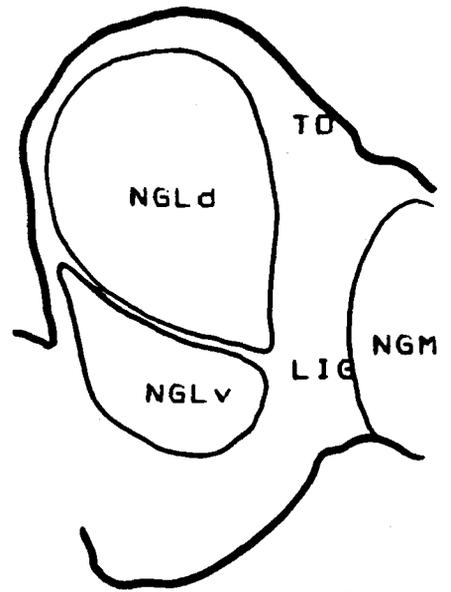


FIGURA IV-9b

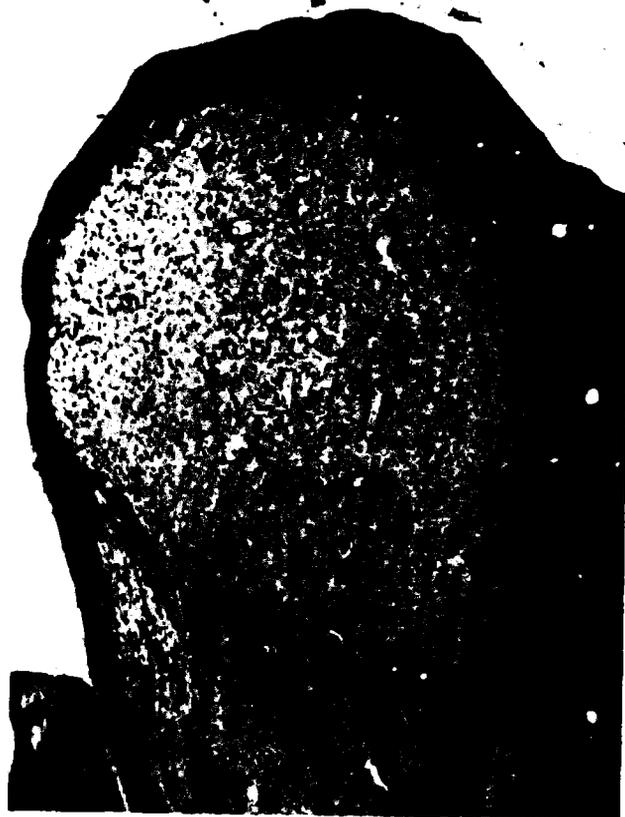


FIGURA IV-9c

FIGURA IV-10

- a) Imagen histológica correspondiente a una sección sagital del complejo nuclear del NGL, realizada a nivel del tercio medio latero-medial de la estructura (Klüver-Barrera). Obsérvese como el sector α se ha alargado e incurvado hacia adelante para envolver al sector β . Aumentos $\times 12,5$.
- b) Dibujo correspondiente a la figura IV-10a. NGLd = núcleo geniculado lateral dorsal; α_E , α_I , β = sectores del NGLd; NGM = núcleo geniculado medial; Tb = tubérculos cuadrigéminos anteriores; D = dorsal; V = ventral; A = anterior; P = posterior.
- c) Detalle de la imagen histológica de la figura IV-10a. Obsérvese como se ha perdido la orientación celular. Aumentos $\times 25$.



FIGURA IV-10a

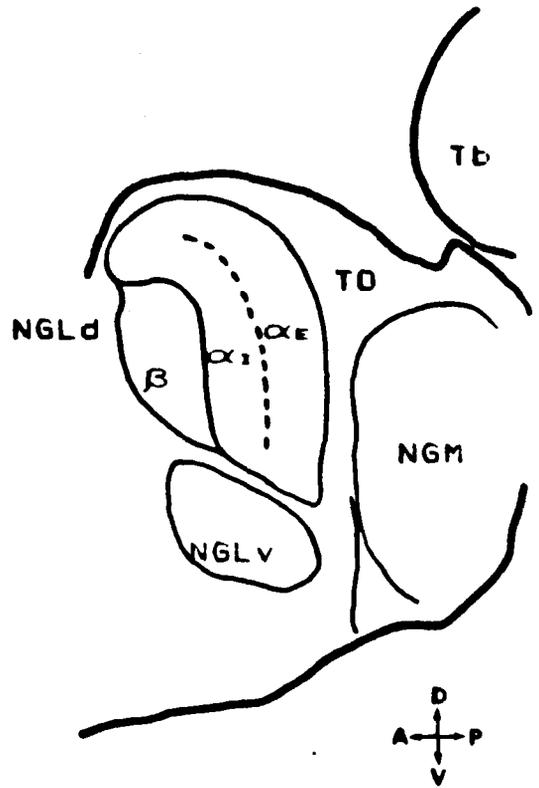


FIGURA IV 10b



FIGURA IV-10c

FIGURA IV-11

- a) Imagen histológica de una sección sagital del complejo nuclear del NGL, realizada hacia el tercio más medial de la estructura (Klüver-Barrera). Obsérvese como el NGLd se estrecha en su porción ventral. Aumentos $\times 12,5$.
- b) Dibujo correspondiente a la figura IV-11a. NGLd = núcleo geniculado lateral dorsal; α_E , α_I , β = sectores del NGLd. NGLv = núcleo geniculado lateral ventral. Tb = tubérculos cuadrigéminos anteriores; Pul = núcleo pulvinar; NGM = núcleo geniculado medial; D = dorsal; V = ventral; A = anterior; P = posterior.
- c) Detalle de la figura IV-11a. Aumentos $\times 25$.



FIGURA IV-11a

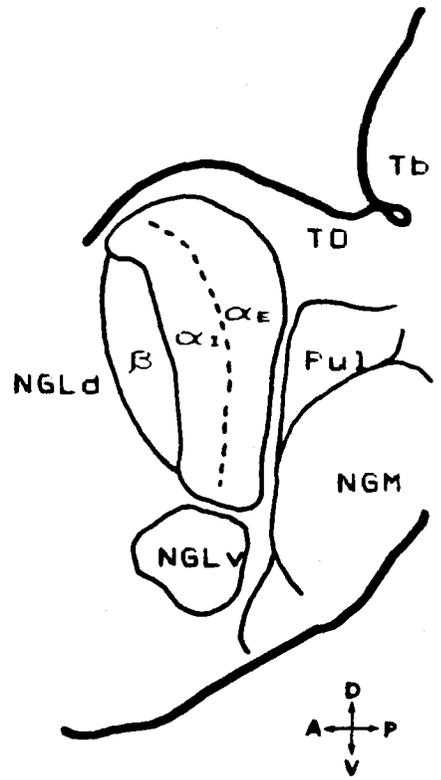


FIGURA IV-11b



FIGURA IV-11c

FIGURA IV-12

a) Detalle de una sección horizontal del NGLd de conejo en la que se observa la orientación preferente de las células en dirección lateroposterior-anteromedial (Klüver-Barrera). Las flechas gruesas indican haces de fibras del sistema transverso y las flechas finas se refieren a las fibras del sistema longitudinal. L = lateral; M = medial; P = posterior; A = anterior. Aumentos x 300.

b) Detalle de una sección sagital del NGLd de conejo, en la que se observa una cierta orientación en dirección posteroventral-anterodorsal (Klüver-Barrera). Compárese el perfil de las células (redondeado) con el que estas presentan en la figura IV-12a (elipsoidal). Las flechas indican haces de fibras del sistema transverso. D = dorsal; V = ventral; A = anterior; P = posterior. Aumentos x 125.

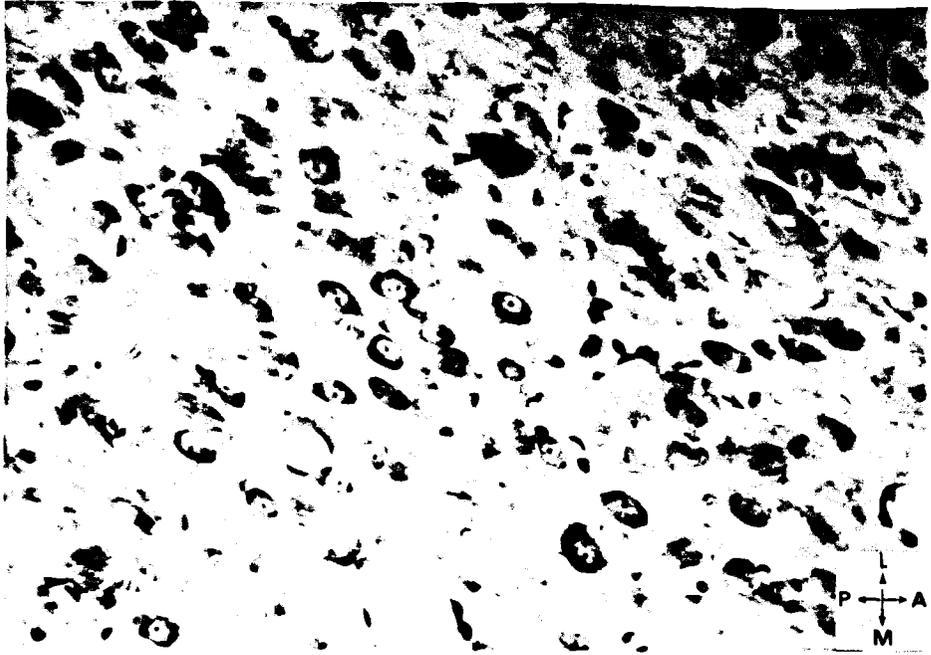


FIGURA IV-12a



FIGURA IV-12b

FIGURA IV-13

a) Imagen panorámica de una sección sagital del NGLd de conejo, realizada hacia la zona media dorso-ventral de la estructura (Golgi-Adams). Se aprecia la variedad de tamaños y formas neuronales. Aumentos $\times 250$.

b) Detalle de una neurona elíptica de tamaño medio, situada en el tercio superior dorso-ventral del NGLd de conejo (Golgi-Adams). Aumentos $\times 500$.

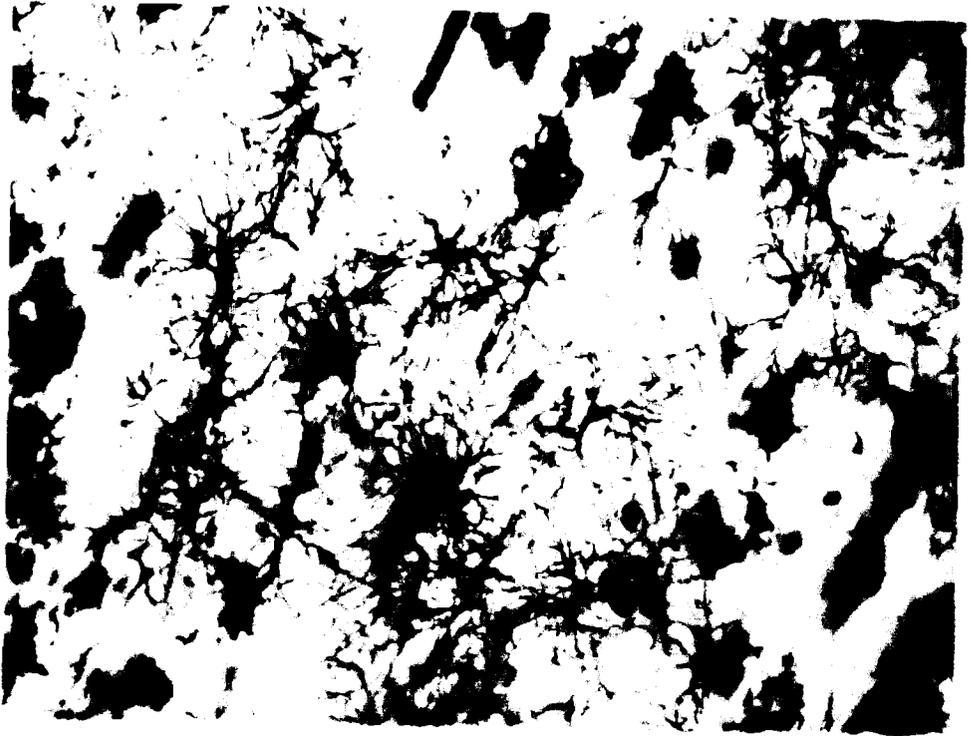


FIGURA IV-13a

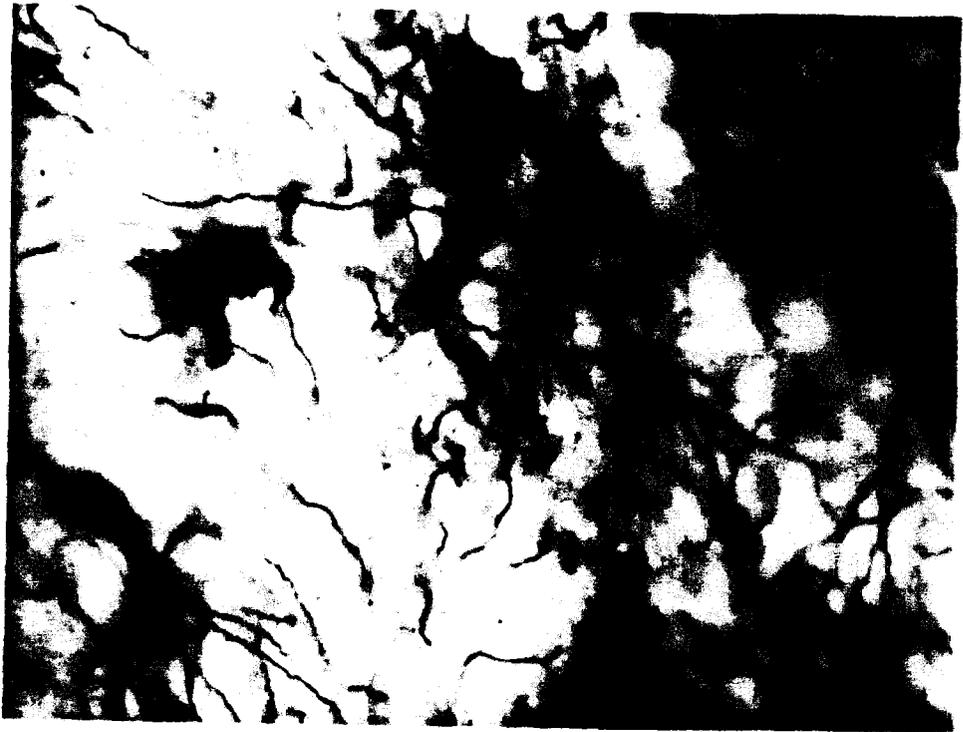


FIGURA IV-13b

FIGURA IV-14

a) Neuronas del tercio medio dorso-ventral del NGLd de conejo, mostrando formas elípticas y redondeadas (Klüver-Barrera). Zona media dorso-ventral. Aumentos $\times 850$.

b) Neuronas, impregnadas con el método de Golgi (Golgi-Adams), del tercio medio dorso-ventral del NGLd de conejo. Aumentos $\times 700$.

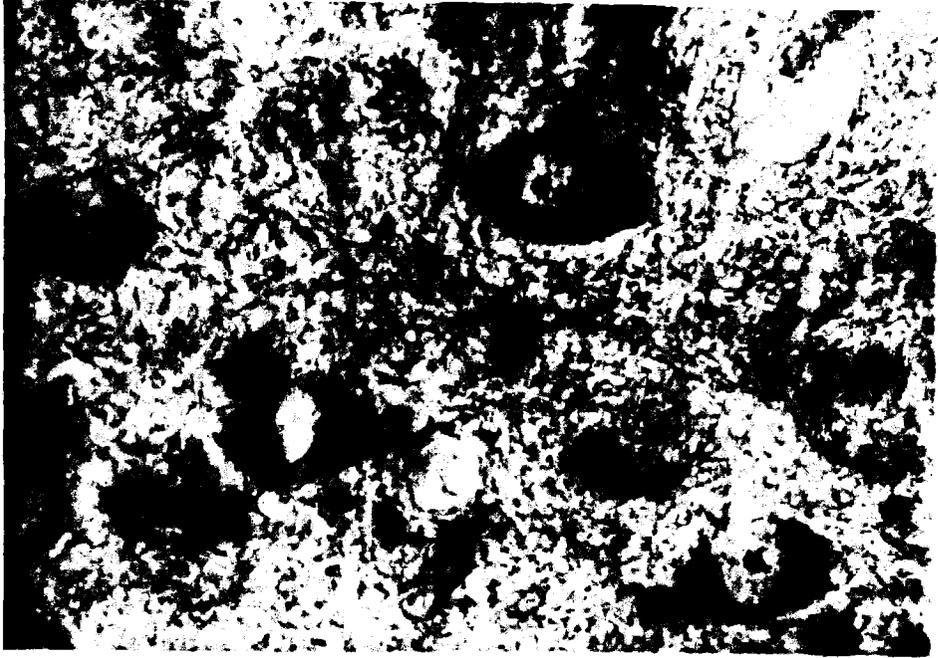


FIGURA IV-14a



FIGURA IV-14b

FIGURA IV-15

- a) Imagen histológica de una sección horizontal del NGLd de conejo, realizada hacia el tercio medio dorso-ventral de la estructura (Golgi-Adams). Aumentos $\times 15$.
- b) Dibujo del NGLd correspondiente a la figura IV-15a. α_E , α_I , β = sectores del NGLd. A = anterior; P= posterior; L = lateral; M = medial.
- c) Detalle de la figura IV-15a. Obsérvese la dirección preferente de las células así como de sus ramificaciones dendríticas (Golgi-Adams). A = anterior; P= posterior; L = lateral; M = medial. Aumentos $\times 50$.



FIGURA IV-15a

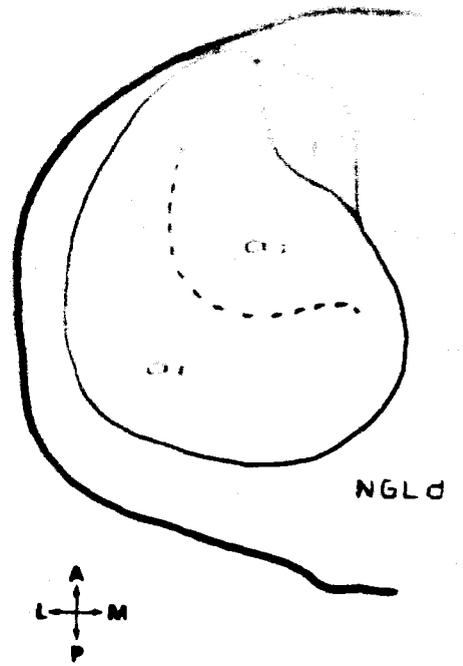


FIGURA IV-15b



FIGURA IV-15c

FIGURA IV-16

- a) Imagen histológica donde se muestra el aspecto general de una sección frontal del NGLd de conejo, procesada mediante la técnica de Golgi (Golgi-Adams). Aumentos $\times 31,5$.
- b) Dibujo correspondiente a la figura IV-16a. NGLd = núcleo geniculado lateral dorsal; α_E , α_I y β = sectores del NGLd; D = dorsal; V = ventral; M = medial; L = lateral.
- c) Detalle de una sección frontal del NGLd, procesado mediante la técnica de Golgi-Adams. En estas secciones, al igual que sucede en las preparaciones de Klüver-Barrera, no se aprecia ningún principio de ordenación espacial de las células. D = dorsal; V = ventral; M = medial; L = lateral. Aumentos $\times 55$.



FIGURA IV-16a

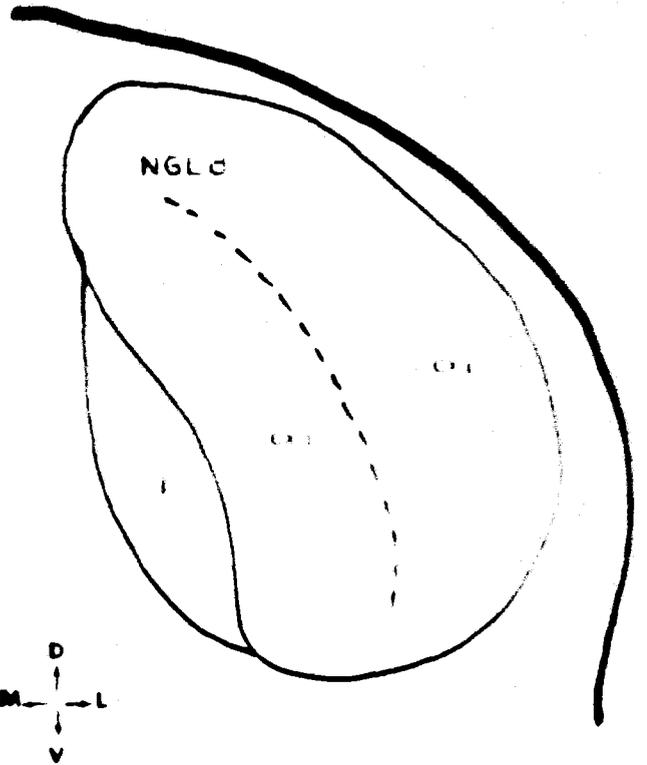


FIGURA IV-16b

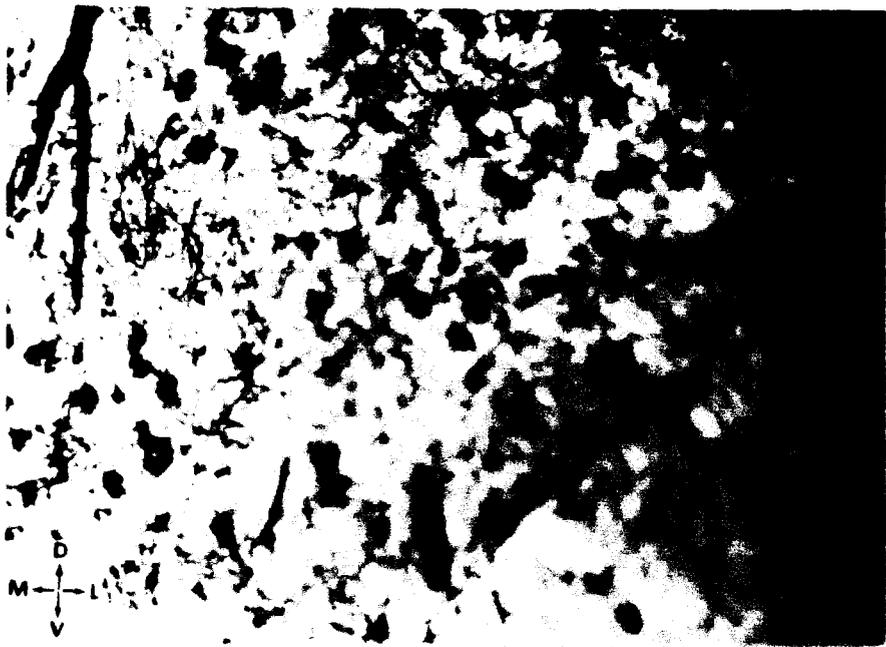


FIGURA IV-16c

FIGURA IV-17

- a) Imagen histológica de una sección sagital del complejo nuclear del NGL de conejo, realizada a nivel del tercio lateral de la estructura (Golgi-Adams). Se aprecia claramente la existencia de una ordenación espacial de las células. Aumentos $\times 20$.
- b) Dibujo de la figura IV-17a. NGLd = núcleo geniculado lateral dorsal; LIG = lámina intergenicular; NGLv = núcleo geniculado lateral ventral; D = dorsal; V = ventral; A = anterior; P = posterior.
- c) Detalle de la figura IV-17a. Se aprecia más claramente la orientación de células y fibras (Golgi-Adams). Aumentos $\times 50$.



FIGURA IV-17a

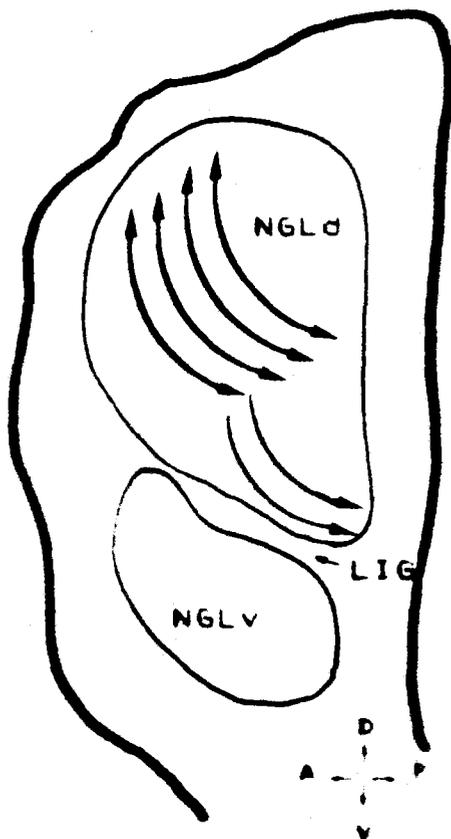


FIGURA IV-17b



FIGURA IV-17c

FIGURA IV-18

- a) Imagen histológica de una sección sagital del complejo nuclear del NGL de conejo, realizada a nivel del tercio medio latero-medial de la estructura (Golgi-Adams). Aumentos $\times 20$.
- b) Dibujo de la figura IV-18a. NGLd = núcleo geniculado lateral dorsal; α_E , α_I , β = sectores del NGLd; LIG = lámina intergenicular; NGLv = núcleo geniculado lateral ventral; D = dorsal; V = ventral; A = anterior; P = posterior.
- c) Imagen histológica de una sección sagital del complejo nuclear del NGL de conejo, realizada a nivel del tercio medial de la estructura (Golgi-Adams). Aumentos $\times 15$.
- d) Dibujo de la figura IV-18c. (Las abreviaturas como en la figura IV-18b).

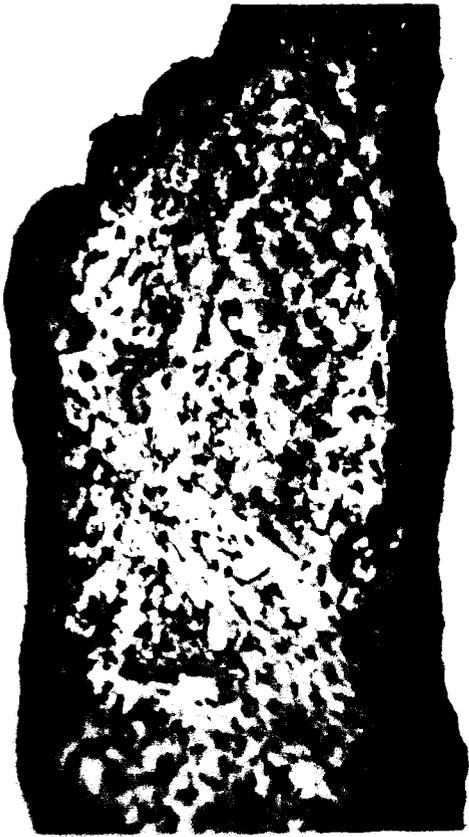


FIGURA IV-18a

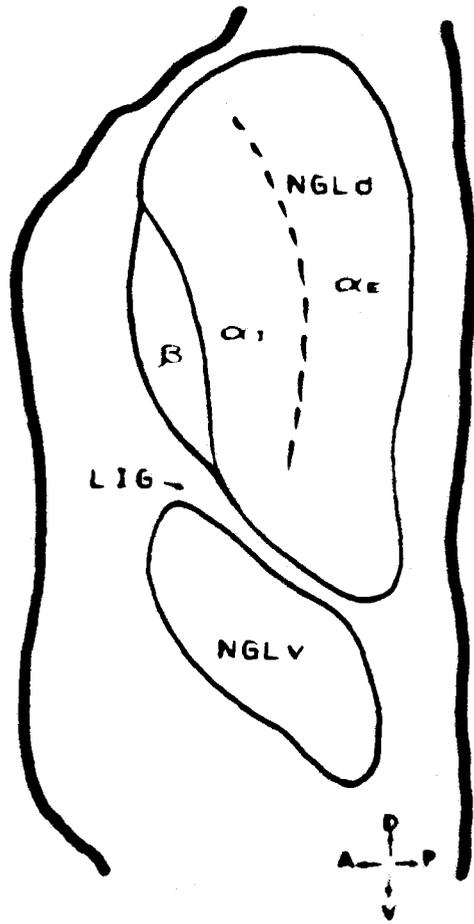


FIGURA IV-18b

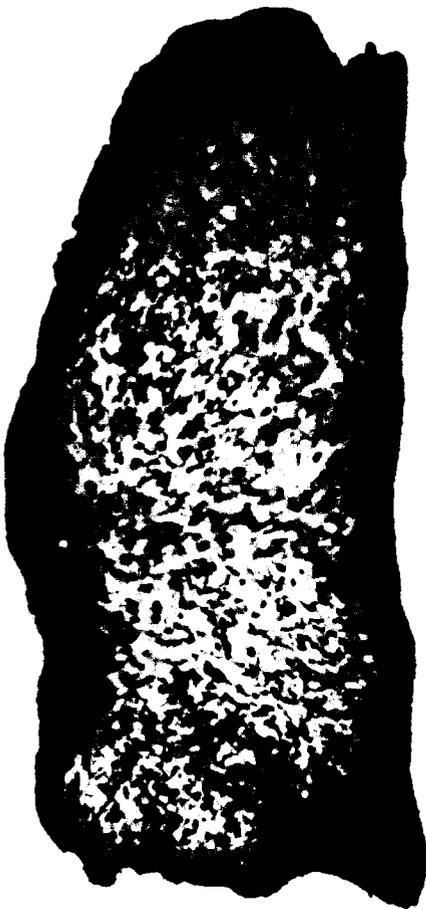


FIGURA IV-18c

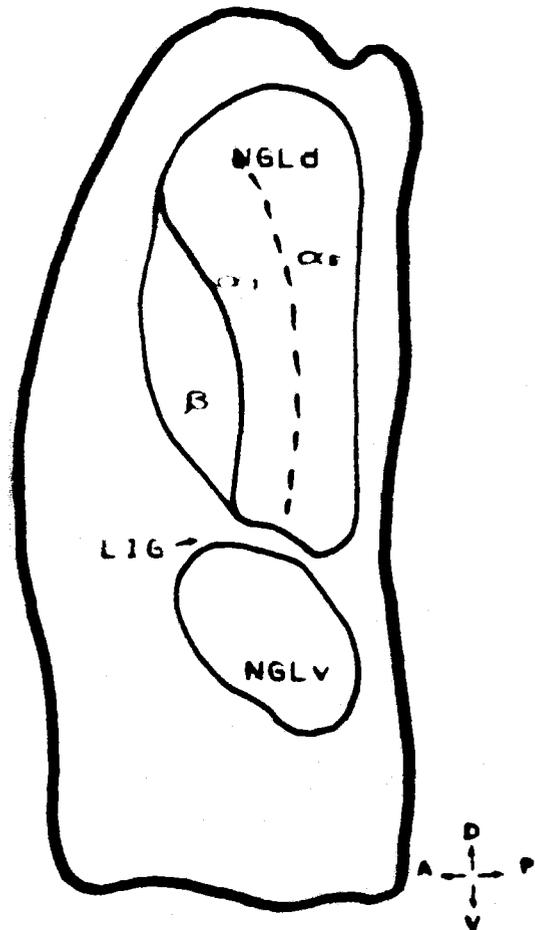


FIGURA IV-18d

2. RECONSTRUCCION TRIDIMENSIONAL DEL NGL.

2. RECONSTRUCCION TRIDIMENSIONAL GRAFICA DEL NGL.

El empleo del programa de reconstrucción tridimensional 3D, en el IBAS-KONTRON, nos ha permitido obtener reconstrucciones gráficas del NGLd.

En un primer paso, el programa 3D nos representa la estructura problema sin ninguna perspectiva, con los cortes superpuestos unos encima de otros, apareciendo como corte más próximo al observador el primero que fue digitalizado. Esta representación primaria, que se muestra en la figura IV-19, carece de interés, ya que la información que se obtiene a partir de ella es la misma que resultaría de apilar los dibujos de los cortes unos sobre otros, mirando a continuación el conjunto resultante según la normal al plano de sección. No obstante, dicha representación constituye el punto de partida para las representaciones con perspectiva, que se obtienen mediante un subprograma que se incluye en el programa general de reconstrucción 3D, el cual permite la rotación de los cortes uno a uno, según cuatro ángulos de giro que se aplican concatenadamente, a partir de la representación primaria.

En la figura IV-20 se ofrecen dos representaciones gráficas del NGL derecho del conejo; ambas se han conseguido a partir del mismo "fichero base", al igual que la representación de la figura IV-19, pero mientras que la primera (IV-20a) tan sólo ha sufrido una rotación de 285° (-75°) alrededor de eje "Y" de la pantalla, la segunda (IV-20b) ha sufrido las siguientes rotaciones consecutivas:

- 1º) 90° alrededor del eje "Z" de pantalla.
- 2º) 60° alrededor del eje "X" de pantalla.
- 3º) 90° alrededor del eje "Z" de pantalla.

Sin embargo, estas representaciones aún son confusas ya que en ellas están representados todos los puntos de los contornos de los dibujos; para que las representaciones sean satisfactorias es necesario

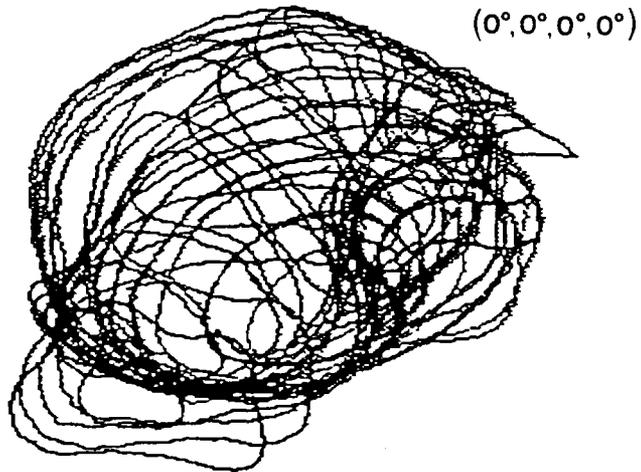


Figura IV-19._ Representación primaria del NGL obtenida mediante el programa de reconstrucción tridimensional 3D, facilitado por la casa Kontron. En un primer paso, el programa 3D nos representa la estructura problema sin ninguna perspectiva, con los cortes superpuestos unos encima de otros, apareciendo como corte más próximo al observador el primero que fue digitalizado. Asimismo, en este primer paso, quedan representados todos los puntos de los contornos dibujados.

Figura IV-20._ Representación gráfica del NGL derecho del conejo desde dos puntos de vista diferentes. Ambas se han obtenido mediante diversas rotaciones, a partir del mismo "fichero base" (cuya representación primaria se ofrece en la figura IV-19). La figura IV-20a ha sido rotada 285° alrededor del eje "Y" de pantalla, mientras que la figura IV-20b ha sufrido consecutivamente un giro de 90° alrededor del eje "Z" de pantalla, un giro de 60° alrededor del eje "X" de pantalla y un nuevo giro de 90° alrededor del eje "Z". Estas representaciones carecen de interés ya que no se ha procedido al borrado de los puntos que por su posición quedarían ocultos al observador.

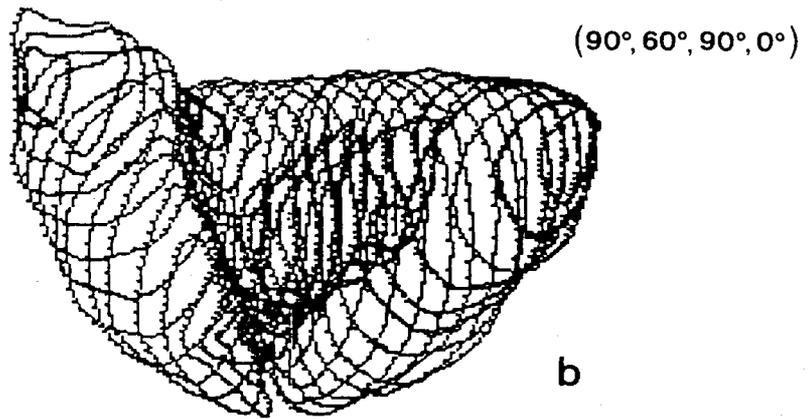
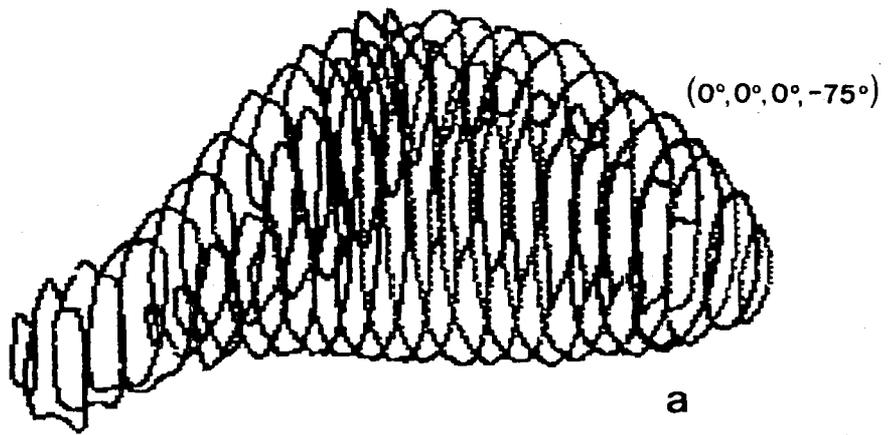


FIGURA IV-20

recurrir a un nuevo subprograma del programa general 3D, mediante el cual se borran las líneas superpuestas, es decir, aquéllas que por su posición quedarían ocultas al observador.

El resultado final se muestra en la figura IV-21. En ella podemos observar dos puntos de vista diferentes del NGL. La figura IV-21a nos ofrece una visión posterior del NGL, mientras que la IV-21b nos muestra una visión de la parte anterior.

Hemos de hacer notar que, según lo que acabamos de exponer, tanto la figura IV-21a como la IV-21b deberían de haberse mostrado "tumbadas" con respecto a su eje dorso-ventral (tal y como aparecen en las figuras IV-20a y IV-20b), pero para una mayor comodidad de observación se ha preferido presentarlas de acuerdo con la disposición del NGL en la realidad.

A través de las reconstrucciones gráficas con perspectiva hemos podido precisar la forma específica del NGLd y la localización exacta del sector β . También hemos podido conocer cual es la posición relativa del NGLd con respecto al NGLv, observándose que el complejo ventral se encuentra en situación anterior con respecto al dorsal, y cómo además estos dos núcleos están imbricados en aproximadamente un tercio de su extensión dorso-ventral.

Por último, decir que las reconstrucciones mostradas se han obtenido a partir de secciones seriadas horizontales debido a que en éstas, el NGLd así como sus regiones α y β se observan mucho mejor que en preparaciones frontales o sagitales, por lo que las reconstrucciones resultan más fidedignas.

Figura IV-21._ Reconstrucción tridimensional del NGL derecho del conejo a partir de secciones horizontales. (1) Núcleo Geniculado Lateral dorsal. (2) Núcleo Geniculado Lateral ventral. (3) Sector β del Núcleo Geniculado Lateral dorsal. En la figura IV-21a se observa la cara posterior del núcleo, mientras que la IV-21b nos ofrece la cara anterior del mismo. En ambos casos el eje mayor de la estructura es paralelo al eje dorso-ventral del diencefalo.

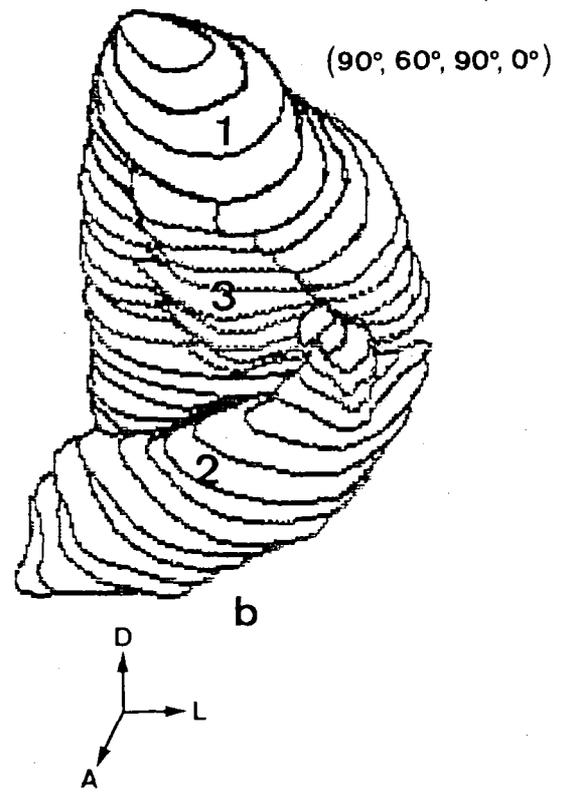
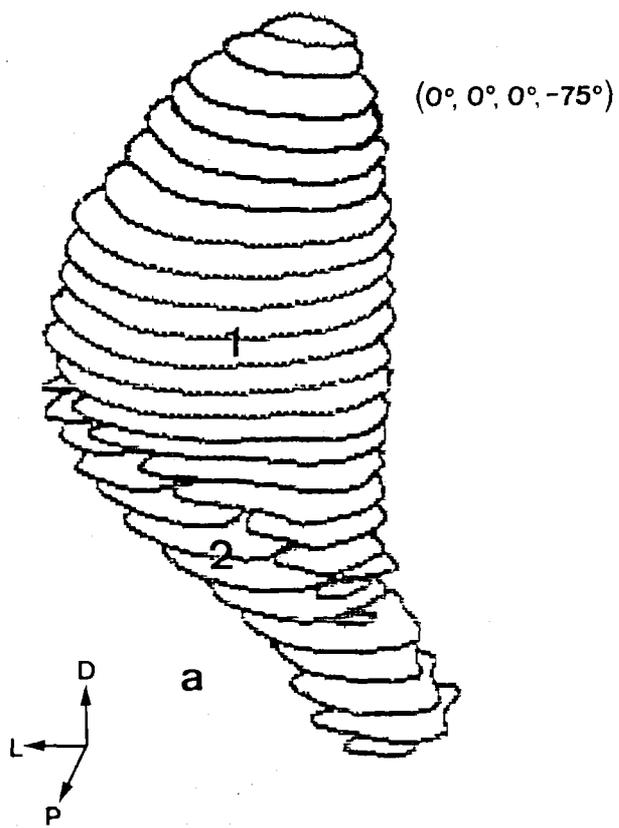


FIGURA IV-21

3. DETERMINACIONES VOLUMETRICAS EN EL NGLd DEL CONEJO.

3. DETERMINACIONES VOLUMETRICAS EN EL NGLd DEL CONEJO.

Como ya se expuso en el capítulo correspondiente a Material y Métodos, la determinación de volúmenes de las zonas de estudio, previamente delimitadas, se realizó mediante el IEAS-Kontron y utilizando consecutivamente el programa "XY", para la valoración de las áreas correspondientes, y un programa desarrollado en lenguaje BASIC (figura III-5 de Material y Métodos), para las determinaciones volumétricas propiamente dichas.

Sin embargo, antes de proceder a cualquier tipo de valoración de naturaleza cuantitativa, hemos realizado un estudio previo para determinar la retracción que origina la técnica empleada por nosotros sobre el tejido cerebral.

El valor de la retracción en volumen (R_v) ha sido determinado mediante el método propuesto por Navascués y cols. (1979), expuesto en la sección 2.1 correspondiente al capítulo de Material y Métodos. Mediante dicho método hemos obtenido un valor de retracción en volumen, en el cerebro de conejo previamente perfundido y sometido a la técnica de Klüver-Barrera, del 36,57%.

En los cuadros VOLUMENES-1 a VOLUMENES-10 se muestran, en mm^3 , los valores de los volúmenes de todas las zonas de estudio. En la primera columna (ZONA) se consigna el nombre de la zona estudiada. A continuación, en la segunda columna se muestran los valores de los volúmenes calculados (V. CALCULADO), sin considerar el efecto de la retracción. Asimismo, en los cuadros figuran los volúmenes hallados al efectuar corrección para compensar los efectos de la retracción (V.REAL); dichos volúmenes corresponden a los que aparecerían en el tejido antes de someterlo a cualquier tipo de proceder técnico. Los volúmenes reales se han calculado utilizando la expresión propuesta en el apartado 6.3 de Material y Métodos.

Por último, en la columna de la derecha de los cuadros (PORCENTAJES) quedan expuestos los tantos por ciento correspondientes a cada zona, en relación al sector considerado en cada apartado.

En relación a este último aspecto se aprecia que el sector α ocupa un volumen cuyo porcentaje oscila entre el 89,53% y el 91,87% del total del núcleo, correspondiendo el resto del mismo al sector β . También se observa que dentro del sector α , el sector α_E es mayoritario, ocupando un volumen que oscila entre 56,89% y 61,81% del total del sector α .

En cuanto a los volúmenes de las zonas $\alpha_E S$, $\alpha_E M$, $\alpha_E I$, $\alpha_I S$, $\alpha_I M$, $\alpha_I I$, podemos apreciar cómo la variación del porcentaje oscila entre 2,1% y 5,5% como máximo. Si tenemos en cuenta que para estos cálculos hemos utilizado núcleos cortados según tres planos de orientación diferentes (horizontal, frontal y sagital), podemos admitir que el método utilizado para la delimitación de las zonas de estudio, a partir de los dibujos confeccionados a tal efecto, es válido, siendo comparables los resultados obtenidos al respecto.

Finalmente, en los cuadros VOLUMENES-11 y VOLUMENES-12 se exponen a modo de resumen los volúmenes y porcentajes medios para cada zona del NGLd. Por otra parte, en la figura IV-22 se representan gráficamente los volúmenes medios de los sectores α (α_E y α_I) y β .

VOLUMENES 1

Volúmenes y porcentajes estimados para el NGLd: G1-Horizontal.

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E SUPERIOR	1,154730	1,820479	28,87
α_E MEDIO	2,023930	3,190809	50,59
α_E INFERIOR	0,821666	1,295390	20,54
α_E TOTAL	4,000326	6,306678	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_I SUPERIOR	0,776831	1,224706	27,49
α_I MEDIO	1,409230	2,221708	49,86
α_I INFERIOR	0,639992	1,008974	22,65
α_I TOTAL	2,826053	4,455388	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E TOTAL	4,000326	6,306678	58,60
α_I TOTAL	2,826053	4,455388	41,40
SECTOR α	6,826379	10,762066	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
SECTOR α	6,826379	10,762066	91,12
SECTOR β	0,665007	1,048412	8,88
V_T NUCLEO	7,491386	11,810478	100,00

† Todos los valores de volúmenes se expresan en mm³

VOLUMENES 2

Volúmenes y porcentajes estimados para el NGLd: G2-Horizontal.

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E SUPERIOR	1,061200	1,673025	27,54
α_E MEDIO	1,989700	3,136844	51,63
α_E INFERIOR	0,802502	1,265177	20,83
α_E TOTAL	3,853402	6,075046	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_I SUPERIOR	0,729499	1,150085	26,20
α_I MEDIO	1,385500	2,184297	49,75
α_I INFERIOR	0,669811	1,055985	24,05
α_I TOTAL	2,784810	4,390367	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E TOTAL	3,853402	6,075046	58,05
α_I TOTAL	2,784810	4,390367	41,95
SECTOR α	6,638212	10,465413	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
SECTOR α	6,638212	10,465413	91,08
SECTOR β	0,649883	1,024567	8,92
V_T NUCLEO	7,288095	11,489980	100,00

† Todos los valores de volúmenes se expresan en mm^3

VOLUMENES 3

Volúmenes y porcentajes estimados para el NGLd: G3-Horizontal.

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E SUPERIOR	1,225920	1,932713	28,34
α_E MEDIO	2,173930	3,427290	50,25
α_E INFERIOR	0,926521	1,460698	21,42
α_E TOTAL	4,326371	6,820701	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_I SUPERIOR	0,819591	1,292119	29,11
α_I MEDIO	1,354330	2,135157	48,11
α_I INFERIOR	0,641450	1,011272	22,78
α_I TOTAL	2,815371	4,438548	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E TOTAL	4,326371	6,820701	60,58
α_I TOTAL	2,815371	4,438548	39,42
SECTOR α	7,141742	11,259249	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
SECTOR α	7,141742	11,259249	90,67
SECTOR β	0,734587	1,158106	9,33
V_T NUCLEO	7,876329	12,417355	100,00

† Todos los valores de volúmenes se expresan en mm³

VOLUMENES 4

Volúmenes y porcentajes estimados para el NGLd: G4-Horizontal.

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E SUPERIOR	1,252560	1,974712	28,71
α_E MEDIO	2,226050	3,509459	51,03
α_E INFERIOR	0,883898	1,393502	20,26
α_E TOTAL	4,362508	6,877673	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_I SUPERIOR	0,740789	1,167884	24,62
α_I MEDIO	1,495970	2,358458	49,73
α_I INFERIOR	0,771588	1,216440	25,65
α_I TOTAL	3,008347	4,742782	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E TOTAL	4,362508	6,877673	59,19
α_I TOTAL	3,008347	4,742782	40,81
SECTOR α	7,370855	11,620455	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
SECTOR α	7,370855	11,620455	89,88
SECTOR β	0,829911	1,308389	10,12
V_T NUCLEO	8,200766	12,928844	100,00

† Todos los valores de volúmenes se expresan en mm³

VOLUMENES 5

Volúmenes y porcentajes estimados para el NGLd: G1-Frontal.

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E SUPERIOR	1,194910	1,883825	29,64
α_E MEDIO	2,056560	3,242251	51,01
α_E INFERIOR	0,779999	1,229700	19,35
α_E TOTAL	4,031469	6,355776	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_I SUPERIOR	0,920109	1,450589	30,12
α_I MEDIO	1,489200	2,347785	48,75
α_I INFERIOR	0,645340	1,017405	21,13
α_I TOTAL	3,054649	4,815779	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E TOTAL	4,031469	6,355776	56,89
α_I TOTAL	3,054649	4,815779	43,11
SECTOR α	7,086118	11,171555	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
SECTOR α	7,086118	11,171555	91,01
SECTOR β	0,700037	1,103637	8,99
V_T NUCLEO	7,786155	12,275192	100,00

† Todos los valores de volúmenes se expresan en mm^3

VOLUMENES 6

Volúmenes y porcentajes estimados para el NGLd: G2-Frontal.

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E SUPERIOR	1,339420	2,111651	29,51
α_E MEDIO	2,379620	3,751568	52,44
α_E INFERIOR	0,819073	1,291302	18,05
α_E TOTAL	4,538113	7,154521	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_I SUPERIOR	0,856082	1,349648	29,50
α_I MEDIO	1,376610	2,170282	47,43
α_I INFERIOR	0,669649	1,055729	23,07
α_I TOTAL	2,902341	4,575659	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E TOTAL	4,538113	7,154521	60,99
α_I TOTAL	2,902341	4,575659	39,01
SECTOR α	7,440454	11,730180	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
SECTOR α	7,440454	11,730180	90,62
SECTOR β	0,769988	1,213918	9,38
V_T NUCLEO	8,210442	12,944098	100,00

† Todos los valores de volúmenes se expresan en mm^3

VOLUMENES 7

Volúmenes y porcentajes estimados para el NGLd: G3-Frontal.

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E SUPERIOR	1,241000	1,956487	29,08
α_E MEDIO	2,110900	3,327920	49,46
α_E INFERIOR	0,916001	1,444113	21,46
α_E TOTAL	4,267901	6,728520	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_I SUPERIOR	0,790668	1,246521	27,86
α_I MEDIO	1,412080	2,226202	49,76
α_I INFERIOR	0,635225	1,001458	22,38
α_I TOTAL	2,837973	4,474181	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E TOTAL	4,267901	6,728520	60,06
α_I TOTAL	2,837973	4,474181	39,94
SECTOR α	7,105874	11,202701	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
SECTOR α	7,105874	11,202701	89,53
SECTOR β	0,831225	1,310460	10,47
V_T NUCLEO	7,937099	12,513161	100,00

† Todos los valores de volúmenes se expresan en mm^3

VOLUMENES 8

Volúmenes y porcentajes estimados para el NGLd: G1-Sagital.

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E SUPERIOR	1,137940	1,794009	28,32
α_E MEDIO	2,122800	3,346681	52,82
α_E INFERIOR	0,757803	1,194707	18,86
α_E TOTAL	4,018543	6,335397	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_I SUPERIOR	0,746928	1,177563	26,30
α_I MEDIO	1,423950	2,244916	50,13
α_I INFERIOR	0,669487	1,055474	23,57
α_I TOTAL	2,840365	4,477953	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E TOTAL	4,018543	6,335397	58,59
α_I TOTAL	2,840365	4,477953	41,41
SECTOR α	6,858908	10,813350	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
SECTOR α	6,858908	10,813350	90,23
SECTOR β	0,742386	1,170402	9,77
V_T NUCLEO	7,601294	11,983752	100,00

† Todos los valores de volúmenes se expresan en mm³

VOLUMENES 9

Volúmenes y porcentajes estimados para el NGLd: G2-Sagital.

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E SUPERIOR	1,238450	1,952467	28,12
α_E MEDIO	2,290900	3,611698	52,01
α_E INFERIOR	0,874985	1,379450	19,87
α_E TOTAL	4,404335	6,943615	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_I SUPERIOR	0,796980	1,256472	29,28
α_I MEDIO	1,284700	2,025382	47,20
α_I INFERIOR	0,639992	1,008973	23,52
α_I TOTAL	2,721672	4,290827	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E TOTAL	4,404335	6,943615	61,81
α_I TOTAL	2,721672	4,290827	38,19
SECTOR α	7,126007	11,234442	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
SECTOR α	7,126007	11,234442	91,47
SECTOR β	0,664151	1,047061	8,53
V_T NUCLEO	7,790158	12,281503	100,00

† Todos los valores de volúmenes se expresan en mm^3

VOLUMENES 10

Volúmenes y porcentajes estimados para el NGLd: G3-Sagital.

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E SUPERIOR	1,187600	1,872300	28,64
α_E MEDIO	2,080030	3,279253	50,15
α_E INFERIOR	0,879847	1,387115	21,21
α_E TOTAL	4,147477	6,538668	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_I SUPERIOR	0,778399	1,227178	29,71
α_I MEDIO	1,262370	1,990178	48,19
α_I INFERIOR	0,578941	0,912724	22,10
α_I TOTAL	2,619710	4,130080	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E TOTAL	4,147477	6,538668	61,29
α_I TOTAL	2,619710	4,130080	38,71
SECTOR α	6,767187	10,668748	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
SECTOR α	6,767187	10,668748	91,87
SECTOR β	0,598970	0,944301	8,13
V_T NUCLEO	7,366157	11,613049	100,00

† Todos los valores de volúmenes se expresan en mm^3

VOLUMENES 11

Volúmenes y porcentajes medios estimados para los sectores α_E y α_I del NGLd, así como para las zonas superior, media e inferior, establecidas en los mismos (intervalo de confianza del 95%).

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E SUPERIOR	1,203373 ± 0,046777	1,897167 ± 0,073750	28,68 ± 0,39
α_E MEDIO	2,145442 ± 0,076250	3,382377 ± 0,120213	51,14 ± 0,67
α_E INFERIOR	0,846230 ± 0,035874	1,334115 ± 0,056556	20,18 ± 0,71
α_E TOTAL	4,195045 ± 0,134989	6,613659 ± 0,212817	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_I SUPERIOR	0,795588 ± 0,035876	1,254277 ± 0,056560	28,02 ± 1,14
α_I MEDIO	1,389394 ± 0,047079	2,190437 ± 0,074221	48,89 ± 0,69
α_I INFERIOR	0,656148 ± 0,030029	1,034443 ± 0,047344	23,09 ± 0,76
α_I TOTAL	2,841130 ± 0,078582	4,479157 ± 0,123888	100,00

† Todos los valores de volúmenes se expresan en mm³

VOLUMENES 12

Volúmenes y porcentajes medios estimados para los sectores α_E , α_I y β del NGLd, así como para el total del núcleo (intervalo de confianza del 95%).

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
α_E TOTAL	4,195045 ± 0,134989	6,613659 ± 0,212817	59,61 ± 0,98
α_I TOTAL	2,841130 ± 0,078582	4,479157 ± 0,123888	40,39 ± 0,98
SECTOR α	7,036174 ± 0,161122	11,092816 ± 0,254014	100,00

ZONA	V. CALCULADO	V. REAL	PORCENTAJES
SECTOR α	7,036174 ± 0,161122	11,092816 ± 0,254014	90,75 ± 0,45
SECTOR β	0,718615 ± 0,047898	1,132925 ± 0,075515	9,25 ± 0,45
V_T NUCLEO	7,754789 ± 0,198009	12,225741 ± 0,312167	100,00

† Todos los valores de volúmenes se expresan en mm³

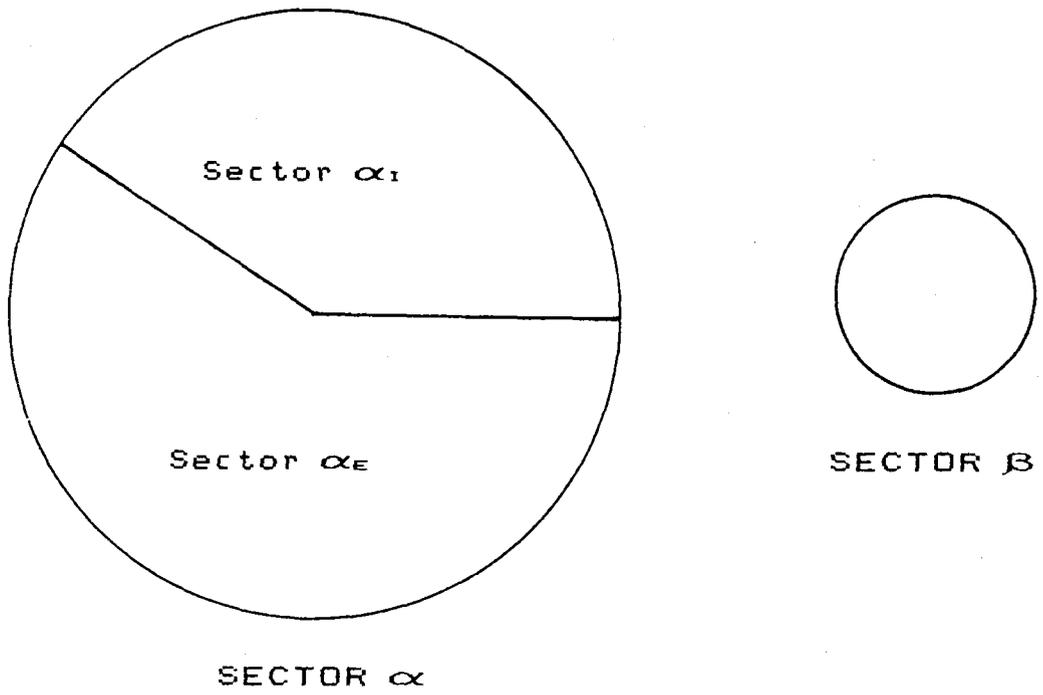


Figura IV-22._ Representación gráfica comparativa de los volúmenes medios ocupados por los sectores α ($\alpha_e + \alpha_i$) y β del NGLd del conejo.

4. DETERMINACION DEL NUMERO DE NEURONAS. CALCULO DE LA DENSIDAD NEURONAL.

4. DETERMINACION DEL NUMERO DE NEURONAS. CALCULO DE LA DENSIDAD NEURONAL.

Después de haber calculado los volúmenes ocupados por cada zona del NGLd, se procedió a determinar, en cada una de ellas, el número total de neuronas. Para tal fin se realizaron recuentos neuronales, en las diferentes zonas, en muestras constituidas por paralelepípedos de recuento, tal y como se explica en las secciones 7.1 y 7.2 de Material y Métodos. A partir de dichos recuentos neuronales se llega a calcular el número total de neuronas en cada una de las zonas de estudio.

En primer lugar, es preciso determinar en cada zona, qué número de paralelepípedos es necesario elegir para realizar los recuentos, de modo que los valores obtenidos sean representativos del total de la zona correspondiente. Para ello hemos de calcular previamente el número total de paralelepípedos (N) existente en cada zona; este cálculo se realizó, tal y como se detalla en el apartado 7.2 de Material y Métodos, mediante la expresión

$$N = \frac{\text{Volumen de la zona}}{\text{Volumen del paralelepípedo unidad}}$$

N deberá ser siempre un número entero, por lo cual, habremos de aproximar, ya sea por defecto o por exceso, los decimales obtenidos al aplicar la expresión anteriormente expuesta. Este modo de proceder es válido, puesto que una población estadística ha de contener un número entero de elementos, en nuestro caso paralelepípedos de recuento. Como es lógico y se deduce al observar la expresión que nos calcula N, el número total de paralelepípedos será mayor en aquellas zonas cuyo volumen sea superior.

Para determinar, en cada caso, el número (n) de paralelepípedos que han de componer la muestra donde se han de llevar a cabo los recuentos, hemos utilizado la fórmula de Azorín Poch (1972) expuesta igualmente en el apartado 7.2 de Material y Métodos. En esta expresión

figuran N (número total de paralelepípedos), una constante (K), así como la varianza de la población (S^2), y "e" o error máximo admisible para lo que se estima como número total de neuronas y que se obtiene a partir de la media de la población (\bar{x}). Para el cálculo aproximado de \bar{x} y S^2 , efectuamos previamente recuentos en un reducido número de paralelepípedos o muestras piloto de cada una de las zonas de estudio; los valores obtenidos en cada zona se aplicaron en la fórmula de Azorín Poch. De este modo calculamos el número de paralelepípedos (n) en los que se deben efectuar los recuentos para llegar a determinar el número total de neuronas y que éste sea significativamente exacto.

En todos los casos, el número de paralelepípedos que deben de escogerse para componer la muestra fue similar, con excepción del sector β en el cual, dicho número era mayor. Este hecho es debido a la baja densidad de neuronas por paralelepípedo que aparece en el sector β en relación con las demás zonas, pudiéndose afirmar que el número de paralelepípedos sobre los que se deben realizar los recuentos, para que el número total de neuronas sea significativo con respecto al total de la población, es tanto mayor cuanto menor es el número medio de neuronas contenido en cada paralelepípedo de recuento.

Una vez realizados los recuentos para cada zona de estudio, en cada uno de los diez NGLd empleados, se procedió a determinar el número medio de neuronas por paralelepípedo (\bar{x}), junto con su correspondiente error estándar para un nivel de significación del 95%:

$$\bar{x} \pm t \times S_m \quad (t_{0,95} = 1,96)$$

Estos valores se presentan en los cuadros RECUELTOS-1 a RECUELTOS-10 (cada cuadro corresponde a un NGLd distinto), y junto a ellos también se ofrece el número total de paralelepípedos (N) de cada zona. Este último dato resulta necesario para la estimación del número total de neuronas para cada zona, tal y como se indica en la expresión propuesta en la sección 7.3 de Material y Métodos.

No obstante, ya hemos mencionado que los valores del número total de neuronas (X_t) son inexactos ya que se produce una sobreestimación del número real de células, debido al efecto del grosor finito de la sección (efecto Holmes). Para paliar el "efecto Holmes", es necesario multiplicar cada uno de los valores del número total de neuronas por un factor de corrección (f). De este modo obtendremos los valores del número real de células (X_r) para cada zona, los cuales también se exponen en los cuadros RECUELTOS-1 a RECUELTOS-10, junto con sus respectivos intervalos de confianza para el 95%.

El factor de corrección (f) se calcula a partir del radio medio nucleolar (\bar{R}), obtenido midiendo los diámetros de una muestra suficiente de perfiles nucleolares (500 nucléolos) de acuerdo con la fórmula de Azorín Poch. Asimismo, es necesario hallar el valor del perfil nucleolar del radio más pequeño observado dentro de la muestra. Con estos datos, que pueden observarse en la tabla III-1, y aplicando las fórmulas de Floderus (1944) y Marrable (1962), tal y como quedó expuesto en la sección 7.5 del capítulo correspondiente a Material y Métodos, se obtiene el siguiente valor de f :

$$f = \frac{t}{t + \bar{D} - 2K} = 0,911$$

t = grosor del corte (15 μm)

\bar{D} = diámetro medio nucleolar (2,61 μm)

$K(h)$ = 0,57 μm

Junto al número medio de neuronas por paralelepípedo, número total de paralelepípedos por zona (N) y valores del número real de células (X_r) para cada zona, en cada cuadro se recogen los valores de la densidad neuronal media así como sus respectivos intervalos de confianza del 95%. Dichos valores se obtienen al relacionar el número real de neuronas (X_r), en las correspondientes zonas, con el volumen real o no retraído (V_R) ocupado por ellas.

Nótese que si efectuamos la suma algebraica del número real de células (X_r) de las zonas superior, media e inferior del sector α_E o del sector α_I , o bien, si sumamos el número real de células (X_r) de los sectores α y β , los resultados no se corresponden con los presentados en las tablas. Esto se debe a que en el cálculo del número medio de neuronas por paralelepípedo para los sectores α_E TOTAL, α_I TOTAL y α TOTAL se ha partido, tal y como recomiendan los tratados de Estadística consultados, del total de los recuentos efectuados en esos sectores, y no de las medias correspondientes a las diversas zonas de los mismos.

El número real de células (X_r) es un dato que resulta imprescindible no sólo para el cálculo de la densidad neuronal, sino también para el análisis de poblaciones celulares, ya que a la hora de determinar cual es el número de neuronas representativo del total de una población, y que por tanto hemos de analizar, es necesario saber cual es el tamaño de esa población.

Finalmente, resulta interesante destacar algunas conclusiones que a simple vista se desprenden de la observación de los cuadros. En primer lugar, puede observarse que existe una apreciable diferencia de densidad entre el sector α_E y el sector α_I , siendo ésta más alta en el primero de ellos en, aproximadamente, unas 10 células/ $10^6 \mu\text{m}^3$. En cuanto al sector β , su densidad neuronal es la más baja del NGLd, oscilando entre 8,6 y 6,8 células/ $10^6 \mu\text{m}^3$.

Además, dentro del sector α_E se da la circunstancia de que en todos los casos (es decir, en los diez NGLd estudiados), la zona inferior presenta valores de densidad algo más bajos (aproximadamente de 5 a 1 células/ $10^6 \mu\text{m}^3$) que la zona superior y la zona media; estas dos últimas por su parte presentan valores de densidad muy similares que oscilan entre 27,6 y 24,3 células/ $10^6 \mu\text{m}^3$.

Con respecto al sector α_I , los valores de densidad oscilan entre 17,3 y 13,3 células/ $10^6 \mu\text{m}^3$, y si bien dichos valores experimentan

una disminución desde la zona superior, donde se encuentran los más altos, hacia la zona inferior (lo cual se cumple en siete de los diez NGLd estudiados); dichas variaciones no son demasiado grandes por lo cual será necesario recurrir a un test de comparación de medias, para establecer si en este sector del núcleo, las variaciones observadas son producto del azar o, si por el contrario, tal y como parece ocurrir en el α_E , responden a un patrón definido según el cual existiría una mayor densidad neuronal en las zonas superior y media que en la inferior.

Todas estas consideraciones quedan reflejadas y resumidas en el cuadro RECUENTOS-11, en donde se exponen los valores medios de densidad estimados, en general, para el NGLd. Obsérvese como, en efecto, los valores de densidad neuronal decrecen desde la zona superior del núcleo hacia la inferior.

RECUENTOS 1

Valores estimados para el NGLd: G1-Horizontal
(Intervalo de confianza del 95%)

ZONA	Nº medio de neuronas por paralelepipedo	Nº total de paralelepipedos. (N)	Nº real de células (X _r) f = 0,911 (1)	Densidad media expresada en céls./10 ⁶ μm ³ (2)
α _E SUPERIOR	20,750 ± 0,688	2514	47523 ± 1576	26,105 ± 0,866
α _E MEDIO	20,863 ± 0,430	4407	83760 ± 1726	26,250 ± 0,541
α _E INFERIOR	19,250 ± 0,589	1789	31373 ± 960	24,219 ± 0,741
α _E TOTAL	20,505 ± 0,326	8710	162703 ± 2586	25,799 ± 0,410
α _I SUPERIOR	13,387 ± 0,461	1691	20623 ± 710	16,839 ± 0,580
α _I MEDIO	12,836 ± 0,546	3068	35876 ± 1526	16,148 ± 0,687
α _I INFERIOR	12,305 ± 0,297	1394	15627 ± 377	15,488 ± 0,374
α _I TOTAL	12,695 ± 0,233	6153	71160 ± 1306	15,972 ± 0,293
SECTOR α	16,804 ± 0,350	14863	227529 ± 4739	21,142 ± 0,440
SECTOR β	6,394 ± 0,323	1448	8435 ± 426	8,046 ± 0,406

(1). El número real de neuronas (X_r) resulta de multiplicar el número total de las mismas (X_t) por el factor de corrección calculado para el "efecto Holmes" y que en nuestro caso es f = 0,911.

(2). La densidad neuronal media para cada zona (δ) es el cociente entre el número real de células (X_r); obtenido a partir del número total de neuronas (X_t) una vez efectuada la corrección debida al efecto Holmes; y el volumen real (V_R) de la zona.



RECUENTOS 2

Valores estimados para el NGLd: G2-Horizontal
(Intervalo de confianza del 95%)

ZONA	Nº medio de neuronas por paralelepipedo	Nº total de paralelepipedos. (N)	Nº real de células (X _r) f = 0,911 (1)	Densidad media expresada en céls./10 ⁶ µm ³ (2)
α _E SUPERIOR	20,410 ± 0,460	2311	42970 ± 968	25,684 ± 0,579
α _E MEDIO	21,363 ± 0,394	4332	84308 ± 1555	26,877 ± 0,496
α _E INFERIOR	17,347 ± 0,503	1747	27608 ± 801	21,821 ± 0,633
α _E TOTAL	20,277 ± 0,306	8390	154983 ± 2339	25,511 ± 0,385
α _I SUPERIOR	13,819 ± 0,458	1588	19992 ± 663	17,383 ± 0,576
α _I MEDIO	13,291 ± 0,284	3017	36530 ± 781	16,724 ± 0,358
α _I INFERIOR	12,949 ± 0,435	1458	17199 ± 578	16,287 ± 0,547
α _I TOTAL	13,348 ± 0,214	6063	73726 ± 1182	16,793 ± 0,269
SECTOR α	17,042 ± 0,325	14453	224387 ± 4279	21,441 ± 0,409
SECTOR β	6,250 ± 0,299	1415	8844 ± 385	8,632 ± 0,376

(1). El número real de neuronas (X_r) resulta de multiplicar el número total de las mismas (X_t) por el factor de corrección calculado para el "efecto Holmes" y que en nuestro caso es f = 0,911.

(2). La densidad neuronal media para cada zona (δ) es el cociente entre el número real de células (X_r); obtenido a partir del número total de neuronas (X_t) una vez efectuada la corrección debida al efecto Holmes; y el volumen real (V_R) de la zona.

RECUENTOS 3

Valores estimados para el NGLd: G3-Horizontal
(Intervalo de confianza del 95%)

ZONA	Nº medio de neuronas por paralelepípedo	Nº total de paralelepípedos. (N)	Nº real de células (X _r) f = 0,911 (1)	Densidad media expresada en céls./10 ⁶ μm ³ (2)
α _E SUPERIOR	19,300 ± 0,820	2669	46927 ± 1994	24,280 ± 1,032
α _E MEDIO	19,800 ± 0,827	4733	85373 ± 3566	24,910 ± 1,040
α _E INFERIOR	17,280 ± 0,593	2017	31752 ± 1090	21,738 ± 0,746
α _E TOTAL	18,793 ± 0,467	9419	161257 ± 4007	23,642 ± 0,587
α _I SUPERIOR	11,460 ± 0,541	1784	18625 ± 879	14,414 ± 0,680
α _I MEDIO	11,222 ± 0,550	2949	30148 ± 1478	14,120 ± 0,692
α _I INFERIOR	10,532 ± 0,509	1397	13404 ± 648	13,255 ± 0,641
α _I TOTAL	11,036 ± 0,312	6130	61630 ± 1743	13,885 ± 0,393
SECTOR α	14,718 ± 0,509	15549	208483 ± 7210	18,517 ± 0,640
SECTOR β	5,025 ± 0,255	1599	8035 ± 371	6,938 ± 0,320

(1). El número real de neuronas (X_r) resulta de multiplicar el número total de las mismas (X_t) por el factor de corrección calculado para el "efecto Holmes" y que en nuestro caso es f = 0,911.

(2). La densidad neuronal media para cada zona (δ) es el cociente entre el número real de células (X_r); obtenido a partir del número total de neuronas (X_t) una vez efectuada la corrección debida al efecto Holmes; y el volumen real (V_R) de la zona.

RECUENTOS 4

Valores estimados para el NGLd: G4-Horizontal
(Intervalo de confianza del 95%)

ZONA	Nº medio de neuronas por paralelepipedo	Nº total de paralelepipedos. (N)	Nº real de células (X _r) f = 0,911 (1)	Densidad media expresada en céls./10 ⁶ μm ³ (2)
α _E SUPERIOR	19,880 ± 0,819	2727	49388 ± 2035	25,010 ± 1,031
α _E MEDIO	19,820 ± 0,771	4847	87518 ± 3404	24,938 ± 0,970
α _E INFERIOR	18,000 ± 0,878	1924	31550 ± 1539	22,641 ± 1,104
α _E TOTAL	19,233 ± 0,493	9498	166417 ± 4266	24,197 ± 0,620
α _I SUPERIOR	11,400 ± 0,488	1613	16751 ± 717	14,343 ± 0,614
α _I MEDIO	11,800 ± 0,543	3257	35012 ± 1611	14,845 ± 0,683
α _I INFERIOR	11,060 ± 0,460	1680	16927 ± 704	13,915 ± 0,579
α _I TOTAL	11,420 ± 0,290	6550	68144 ± 1730	14,368 ± 0,365
SECTOR α	15,327 ± 0,527	16048	224077 ± 7705	19,283 ± 0,663
SECTOR β	5,432 ± 0,269	1807	8942 ± 443	6,834 ± 0,339

(1). _ El número real de neuronas (X_r) resulta de multiplicar el número total de la mismas (X_t) por el factor de corrección calculado para el "efecto Holmes" y que en nuestro caso es f = 0,911.

(2). _ La densidad neuronal media para cada zona (δ) es el cociente entre el número real de células (X_r); obtenido a partir del número total de neuronas (X_t) una vez efectuada la corrección debida al efecto Holmes; y el volumen real (V_R) de la zona.

RECUENTOS 5

Valores estimados para el NGLd: G1-Frontal
(Intervalo de confianza del 95%)

ZONA	Nº medio de neuronas por paralelepipedo	Nº total de paralelepipedos. (N)	Nº real de células (X_r) $f = 0,911$ (1)	Densidad media expresada en céls./ $10^6 \mu m^3$ (2)
α_E SUPERIOR	21,922 ± 0,772	2601	51944 ± 1829	27,574 ± 0,971
α_E MEDIO	21,280 ± 0,778	4478	86811 ± 3174	26,775 ± 0,979
α_E INFERIOR	19,960 ± 0,800	1698	30876 ± 1238	25,109 ± 1,007
α_E TOTAL	21,060 ± 0,468	8777	168393 ± 3742	26,494 ± 0,589
α_I SUPERIOR	13,580 ± 0,577	2003	24780 ± 1053	17,083 ± 0,730
α_I MEDIO	12,860 ± 0,537	3243	37993 ± 1586	16,182 ± 0,676
α_I INFERIOR	12,640 ± 0,548	1405	16178 ± 701	15,901 ± 0,689
α_I TOTAL	13,027 ± 0,324	6651	78931 ± 1963	16,390 ± 0,408
SECTOR α	17,057 ± 0,536	15428	239735 ± 7533	21,459 ± 0,674
SECTOR β	5,985 ± 0,292	1524	9121 ± 405	8,264 ± 0,367

(1)._ El número real de neuronas (X_r) resulta de multiplicar el número total de las mismas (X_t) por el factor de corrección calculado para el "efecto Holmes" y que en nuestro caso es $f = 0,911$.

(2)._ La densidad neuronal media para cada zona (δ) es el cociente entre el número real de células (X_r); obtenido a partir del número total de neuronas (X_t) una vez efectuada la corrección debida al efecto Holmes; y el volumen real (V_R) de la zona.

RECUENTOS 6

Valores estimados para el NGLd: G2-Frontal
(Intervalo de confianza del 95%)

ZONA	Nº medio de neuronas por paralelepípedo	Nº total de paralelepípedos. (N)	Nº real de células (X _r) f = 0,911 (1)	Densidad media expresada en céls./10 ⁶ μm ³ (2)
α _E SUPERIOR	20,880 ± 0,881	2916	55467 ± 2340	26,267 ± 1,108
α _E MEDIO	20,580 ± 0,720	5181	97135 ± 3398	25,892 ± 0,906
α _E INFERIOR	18,760 ± 0,576	1783	30472 ± 936	23,598 ± 0,725
α _E TOTAL	20,073 ± 0,448	9880	180671 ± 4032	25,253 ± 0,564
α _I SUPERIOR	11,540 ± 0,508	1864	19597 ± 863	14,520 ± 0,639
α _I MEDIO	11,220 ± 0,502	2997	30633 ± 1371	14,115 ± 0,632
α _I INFERIOR	11,018 ± 0,548	1458	14635 ± 728	13,862 ± 0,690
α _I TOTAL	11,250 ± 0,302	6319	64762 ± 1738	14,154 ± 0,380
SECTOR α	15,575 ± 0,563	16199	229845 ± 8308	19,594 ± 0,708
SECTOR β	5,735 ± 0,269	1676	8757 ± 411	7,214 ± 0,339

(1). El número real de neuronas (X_r) resulta de multiplicar el número total de las mismas (X_t) por el factor de corrección calculado para el "efecto Holmes" y que en nuestro caso es f = 0,911.

(2). La densidad neuronal media para cada zona (δ) es el cociente entre el número real de células (X_r); obtenido a partir del número total de neuronas (X_t) una vez efectuada la corrección debida al efecto Holmes; y el volumen real (V_R) de la zona.

RECUENTOS 7

Valores estimados para el NGLd: G3-Frontal
(Intervalo de confianza del 95%)

ZONA	Nº medio de neuronas por paralelepipedo	Nº total de paralelepipedos. (N)	Nº real de células (X _r) f = 0,911 (1)	Densidad media expresada en céls./10 ⁶ μm ³ (2)
α _E SUPERIOR	20,960 ± 0,790	2702	51594 ± 1944	26,371 ± 0,994
α _E MEDIO	20,320 ± 0,742	4596	85079 ± 3107	25,565 ± 0,934
α _E INFERIOR	18,860 ± 0,849	1994	34260 ± 1542	23,724 ± 1,068
α _E TOTAL	20,047 ± 0,477	9292	169698 ± 4038	25,221 ± 0,600
α _I SUPERIOR	12,160 ± 0,508	1722	19076 ± 797	15,303 ± 0,639
α _I MEDIO	11,520 ± 0,552	3074	32260 ± 1546	14,491 ± 0,694
α _I INFERIOR	11,400 ± 0,554	1383	14363 ± 698	14,342 ± 0,697
α _I TOTAL	11,693 ± 0,314	6179	66012 ± 1768	14,754 ± 0,395
SECTOR α	15,870 ± 0,553	15471	223673 ± 7794	19,966 ± 0,696
SECTOR β	5,815 ± 0,274	1810	9588 ± 452	7,317 ± 0,345

(1). El número real de neuronas (X_r) resulta de multiplicar el número total de las mismas (X_t) por el factor de corrección calculado para el "efecto Holmes" y que en nuestro caso es f = 0,911.

(2). La densidad neuronal media para cada zona (δ) es el cociente entre el número real de células (X_r); obtenido a partir del número total de neuronas (X_t) una vez efectuada la corrección debida al efecto Holmes; y el volumen real (V_R) de la zona.

RECUENTOS 8

Valores estimados para el NGLd: G1-Sagital
(Intervalo de confianza del 95%)

ZONA	Nº medio de neuronas por paralelepipedo	Nº total de paralelepipedos. (N)	Nº real de células (X_r) $f = 0,911$ (1)	Densidad media expresada en céls./ $10^6 \mu m^3$ (2)
α_E SUPERIOR	20,540 ± 0,673	2477	46350 ± 1519	25,836 ± 0,847
α_E MEDIO	20,902 ± 0,727	4622	88011 ± 3061	26,298 ± 0,915
α_E INFERIOR	19,431 ± 0,824	1650	29208 ± 1239	24,448 ± 1,037
α_E TOTAL	20,290 ± 0,439	8749	161718 ± 3499	25,526 ± 0,552
α_I SUPERIOR	12,600 ± 0,537	1626	18665 ± 795	15,851 ± 0,675
α_I MEDIO	11,980 ± 0,528	3100	33833 ± 1491	15,071 ± 0,664
α_I INFERIOR	11,540 ± 0,563	1458	16825 ± 748	15,941 ± 0,709
α_I TOTAL	12,040 ± 0,319	6184	67827 ± 1797	15,147 ± 0,401
SECTOR α	16,178 ± 0,538	14993	220085 ± 7319	20,353 ± 0,677
SECTOR β	5,926 ± 0,282	1616	8724 ± 415	7,454 ± 0,355

(1)._ El número real de neuronas (X_r) resulta de multiplicar el número total de las mismas (X_t) por el factor de corrección calculado para el "efecto Holmes" y que en nuestro caso es $f = 0,911$.

(2)._ La densidad neuronal media para cada zona (δ) es el cociente entre el número real de células (X_r); obtenido a partir del número total de neuronas (X_t) una vez efectuada la corrección debida al efecto Holmes; y el volumen real (V_R) de la zona.

RECUENTOS 9

Valores estimados para el NGLd: G2-Sagital
(Intervalo de confianza del 95%)

ZONA	Nº medio de neuronas por paralelepípedo	Nº total de paralelepípedos. (N)	Nº real de células (X_r) f = 0,911 (1)	Densidad media expresada en céls./10 ⁶ μ m ³ (2)
α_E SUPERIOR	20,560 ± 0,748	2696	50497 ± 1837	25,863 ± 0,941
α_E MEDIO	20,640 ± 0,678	4988	93789 ± 3081	25,968 ± 0,853
α_E INFERIOR	19,020 ± 0,703	1905	33008 ± 1220	23,928 ± 0,884
α_E TOTAL	20,073 ± 0,425	9589	175349 ± 3713	25,253 ± 0,535
α_I SUPERIOR	12,240 ± 0,496	1735	19346 ± 784	15,397 ± 0,624
α_I MEDIO	11,980 ± 0,483	2797	30526 ± 1231	15,072 ± 0,608
α_I INFERIOR	11,180 ± 0,484	1394	14198 ± 615	14,072 ± 0,610
α_I TOTAL	11,800 ± 0,289	5926	63703 ± 1560	14,846 ± 0,364
SECTOR α	15,937 ± 0,534	15515	225256 ± 7548	20,050 ± 0,672
SECTOR β	6,088 ± 0,301	1446	8020 ± 397	7,660 ± 0,379

(1). El número real de neuronas (X_r) resulta de multiplicar el número total de las mismas (X_t) por el factor de corrección calculado para el "efecto Holmes" y que en nuestro caso es f = 0,911.

(2). La densidad neuronal media para cada zona (δ) es el cociente entre el número real de células (X_r); obtenido a partir del número total de neuronas (X_t) una vez efectuada la corrección debida al efecto Holmes; y el volumen real (V_R) de la zona.

RECUENTOS 10

Valores estimados para el NGLd: G3-Sagital
(Intervalo de confianza del 95%)

ZONA	Nº medio de neuronas por paralelepípedo	Nº total de paralelepípedos. (N)	Nº real de células (X_r) $f = 0,911$ (1)	Densidad media expresada en céls./ $10^6 \mu m^3$ (2)
α_E SUPERIOR	20,880 ± 0,865	2586	49190 ± 2038	26,272 ± 1,089
α_E MEDIO	20,940 ± 0,727	4529	86397 ± 3000	26,347 ± 0,915
α_E INFERIOR	18,120 ± 0,570	1915	31612 ± 994	22,790 ± 0,717
α_E TOTAL	19,980 ± 0,469	9030	164362 ± 3858	25,137 ± 0,590
α_I SUPERIOR	13,140 ± 0,478	1695	20290 ± 738	16,534 ± 0,601
α_I MEDIO	12,320 ± 0,453	2748	30842 ± 1134	15,497 ± 0,570
α_I INFERIOR	11,940 ± 0,505	1261	15056 ± 580	16,496 ± 0,635
α_I TOTAL	12,467 ± 0,286	5704	64783 ± 1486	15,686 ± 0,360
SECTOR α	16,223 ± 0,507	14722	217579 ± 6800	20,394 ± 0,637
SECTOR β	6,187 ± 0,298	1304	7350 ± 354	7,784 ± 0,375

(1). El número real de neuronas (X_r) resulta de multiplicar el número total de las mismas (X_t) por el factor de corrección calculado para el "efecto Holmes" y que en nuestro caso es $f = 0,911$.

(2). La densidad neuronal media para cada zona (δ) es el cociente entre el número real de células (X_r); obtenido a partir del número total de neuronas (X_t) una vez efectuada la corrección debida al efecto Holmes; y el volumen real (V_R) de la zona.

5. COMPARACION DE LOS VALORES DE DENSIDAD NEURONAL OBTENIDOS EN LAS
DIFERENTES ZONAS DE LOS SECTORES α_E Y α_I .

5. COMPARACION DE LOS VALORES DE DENSIDAD NEURONAL OBTENIDOS EN LAS DIFERENTES ZONAS DE LOS SECTORES α_E Y α_I .

Como se desprende de la descripción de los cuadros de densidad neuronal y ya ha sido dicho en la sección 4 de este mismo capítulo, existe una apreciable diferencia de densidad entre los tres sectores que constituyen el NGLd del conejo (α_E , α_I y β), siendo esta más alta en el sector α_E ($25,203 \pm 0,599$ cels/ $10^6 \mu m^3$) que en el sector α_I ($15,200 \pm 0,738$ cels/ $10^6 \mu m^3$), encontrándose el valor más bajo de densidad neuronal en el sector β ($7,614 \pm 0,436$ cels/ $10^6 \mu m^3$). Por otra parte, dentro de los sectores α_E y α_I , también se aprecian diferencias de densidad neuronal dependiendo de la zona considerada (superior, media e inferior); ahora bien, dado que en este caso dichas variaciones no resultan demasiado considerables, hemos de establecer con toda precisión si son producto del azar, pudiéndose en este caso considerar que no hay variaciones reales, o si, por el contrario, son debidas a una auténtica heterogeneidad existente dentro de cada sector (α_E y α_I) considerado.

Con este objeto se realizó, tanto para el sector α_E como para el sector α_I , la comparación de las medias obtenidas en las diferentes zonas de cada sector. Para ello, en primer lugar, se recurrió a un análisis de la varianza mediante el estadígrafo F de Snedecor y dado que dicho análisis en ningún caso resultó significativo, a continuación, se contrastaron dos a dos las medias de las diferentes zonas de cada sector (a un nivel de significación del 0,05) mediante el test de Student (t_d).

Los valores obtenidos para el test de Student en cada comparación, se exponen en los cuadros de doble entrada T-1 y T-2. Las cifras que resultan ser significativas de una verdadera variabilidad se resaltan con un asterisco.

De una simple observación de estos cuadros se saca la impresión de que el sector α_I , dado que las variaciones para cada zona no resultan ser significativas, es bastante homogéneo. En el sector α_E la densidad

neuronal de la zona inferior resulta ser significativamente diferente de la de las zonas superior y media, con lo que se puede pensar que en dicha zona existe realmente una densidad neuronal más baja que en el resto del sector α_E .

Una más profunda discusión de estos resultados se efectuará en el comentario.

TEST-1

Valores de t_a obtenidos al comparar, en el sector α_E , las densidades neuronales medias para cada zona.

ZONA	α_E SUPERIOR	α_E MEDIA	α_E INFERIOR
α_E SUPERIOR	-----	0,160	5,625*
α_E MEDIA	0,160	-----	6,222*
α_E INFERIOR	5,625*	6,222*	-----

TEST-2

Valores de t_a obtenidos al comparar, en el sector α_I , las densidades neuronales medias para cada zona.

ZONA	α_I SUPERIOR	α_I MEDIA	α_I INFERIOR
α_I SUPERIOR	-----	1,171	1,555
α_I MEDIA	1,171	-----	0,576
α_I INFERIOR	1,555	0,576	-----

6. ANALISIS DE LAS CARACTERISTICAS MORFOMETRICAS DE LAS POBLACIONES NEURONALES EN EL SECTOR α_E DEL NGLd DEL CONEJO.

6. ANALISIS DE LAS CARACTERISTICAS MORFOMETRICAS DE LAS POBLACIONES NEURONALES EN EL SECTOR α_E DEL NGLd DEL CONEJO.

Realizados los estudios anteriormente descritos y ya en condiciones de poder abordar el análisis de poblaciones neuronales, escogimos de las distintas regiones sometidas a estudio aquella correspondiente al sector α_E .

Nos hemos limitado a estudiar los detalles celulares de esta parte del geniculado, en primer lugar porque nuestra intención fundamental es la de sentar las bases para lo que pueda ser un procedimiento correcto de distinción de poblaciones, evitando el que al estudiar varios sectores estemos únicamente repitiendo el proceso, no aportando con ello nada nuevo al sistema de análisis y sí acaso, complicando o haciendo reiterativos los resultados. Por otra parte, en cuanto a geniculado se refiere, quisimos ceñirnos al sector α_E únicamente, porque el conjunto de los estudios programados había de suponer un tiempo y trabajo cuantitativamente superior a lo que es una tesis ya de por sí amplia. Se realizaron por tanto en el material objeto (NGLd), aquellos estudios generales que suponían una base necesaria para plantear la situación de la zona, y luego, a efectos del análisis poblacional, nos restringimos al sector α_E una vez delimitado y comparado en su situación con respecto a los sectores α_I y β .

6.1. Análisis de la excentricidad del nucléolo.

Una vez obtenidas las muestras de perfiles neuronales para el estudio de características morfométricas; en cada una de las tres direcciones de corte examinadas; el primer paso consistió en analizar cual era la posición que ocupaba el nucléolo dentro de la célula, tanto con respecto al soma neuronal, como con respecto al núcleo de la célula.

Evidentemente, dado que sólo se han considerado los perfiles que incluyen el nucléolo, dependiendo de la posición que ocupe este organulo en

la célula el tratamiento de los resultados sobre los demás parámetros analizados habrá de ser diferente.

Como ya se expuso en la sección 8.5 del capítulo correspondiente a Material y Métodos, para estudiar el carácter de la excentricidad del nucléolo se analizaron 250 perfiles neuronales en cada orientación de corte (horizontal, frontal y sagital). En ellos se determinó, mediante el método de Hemon y cols. (1981), la excentricidad del nucléolo con respecto al soma así como con respecto al núcleo celular.

Los resultados de nuestro análisis se ofrecen en las gráficas IV-1 a IV-6, en ellas se muestran las distribuciones estadísticas de los valores de la relación Ad/AD , en los perfiles analizados, para cada una de las tres orientaciones de corte. Recuérdese que Ad es el área del círculo cuyo radio es igual a la distancia comprendida entre el centro geométrico del nucléolo y un punto de referencia (en nuestro caso el centro geométrico del perfil neuronal o nuclear). En cuanto a AD , sería el área del círculo cuyo radio comprende la distancia entre el punto de referencia (centro geométrico del perfil neuronal o nuclear) y el punto más alejado del espacio contenedor del orgánulo, ya sea el perfil del soma o el del núcleo neuronal.

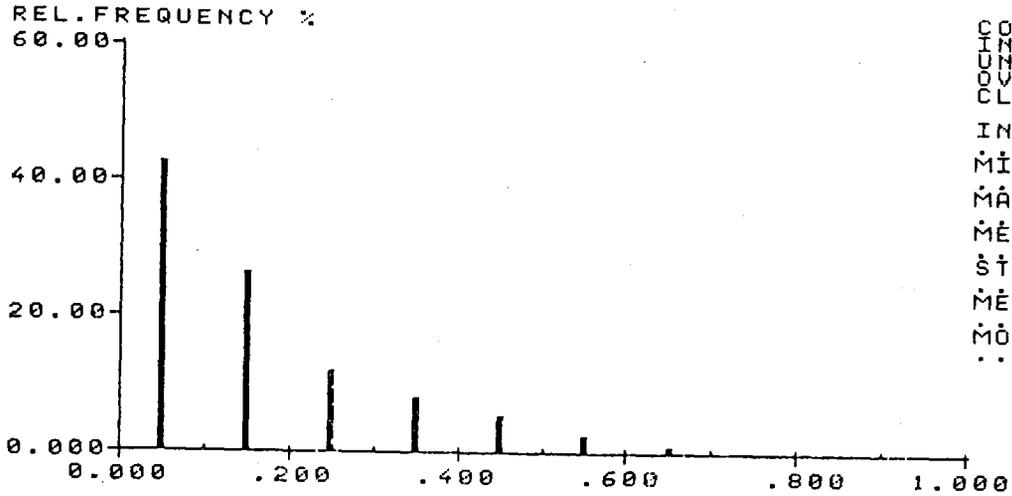
Las gráficas IV-1, IV-2 y IV-3, se refieren a la excentricidad del nucléolo con respecto al perfil del soma neuronal (EX.NLO-S) en los cortes horizontales, frontales y sagitales respectivamente. Comparando los resultados que se muestran en estas figuras con los histogramas de la figura III-9 (ver página 110), podemos concluir que dichos resultados se ajustan al CASO A, en el que se puede considerar que el nucléolo ocupa una posición central en la célula.

Otro tanto se puede deducir de las gráficas IV-4, IV-5, y IV-6, correspondientes a la excentricidad del nucléolo con respecto al núcleo neuronal (EX.NLO-N) en los cortes horizontales, frontales y sagitales respectivamente. Obsérvese que las distribuciones de frecuencias de

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
EXCENT 00 19 ??????

A) CHANNELGROUP 2



COUNTS
CLASS
INTERVAL
MINIMUM
MAXIMUM
MEAN
ST. DEV.
MEDIAN
MODE
.....0.500000E-01

100000
100000
100000
100000
100000
100000
100000
100000
100000
100000

EX.NLO-S

ID.NR. TR SA EXT.1
EXCENT 00 19 ??????

B) CLASSIFICATION LIST FOR EX.NLO-S IN CHANNELS 2

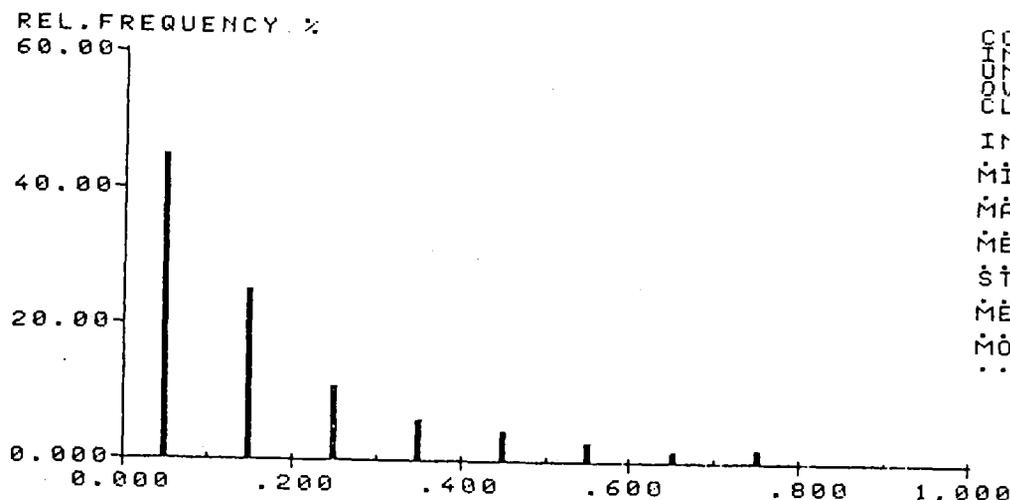
CLASS	FROM	TO	ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	0.0000	.10000	106.	42.40 %	106.	42.40 %
2	.10000	.20000	67.	26.80 %	173.	69.20 %
3	.20000	.30000	30.	12.00 %	203.	81.20 %
4	.30000	.40000	21.	8.40 %	224.	89.60 %
5	.40000	.50000	14.	5.60 %	238.	95.20 %
6	.50000	.60000	7.	2.80 %	245.	98.00 %
7	.60000	.70000	2.	.80 %	247.	98.80 %
8	.70000	.80000	1.	.40 %	248.	99.20 %
9	.80000	.90000	1.	.40 %	249.	99.60 %
10	.90000	1.0000	1.	.40 %	250.	100.00 %

GRAFICA IV-2

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS CORRESPONDIENTE A LA EXCENTRICIDAD DEL NUCLEOLO CON RESPECTO AL SOMA NEURONAL (EX,NLO-S), EN LOS CORTES FRONTALES, (RELACION Ad/AD),
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP
 ID.NR. TR SA EXT.1
 EXCENT 00 19 ??????

A) CHANNELGROUP 1



COUNTS
 MINIMUM 0.00000
 MAXIMUM 1.00000
 MEAN 0.175200
 ST. DEV. 0.182940
 MEDIAN 0.119048
 MODE 0.500000E-01

EX.NLO-S

ID.NR. TR SA EXT.1
 EXCENT 00 19 ??????

B) CLASSIFICATION LIST FOR EX.NLO-S IN CHANNELS 1

CLASS	FROM	TO	ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	0.0000	.10000	113.	45.20 %	113.	45.20 %
2	.10000	.20000	63.	25.20 %	176.	70.40 %
3	.20000	.30000	28.	11.20 %	204.	81.60 %
4	.30000	.40000	16.	6.40 %	220.	88.00 %
5	.40000	.50000	11.	4.40 %	231.	92.40 %
6	.50000	.60000	8.	3.20 %	239.	95.60 %
7	.60000	.70000	5.	2.00 %	244.	97.60 %
8	.70000	.80000	5.	2.00 %	249.	99.60 %
9	.80000	.90000	0.	0.00 %	249.	99.60 %
10	.90000	1.0000	1.	.40 %	250.	100.00 %

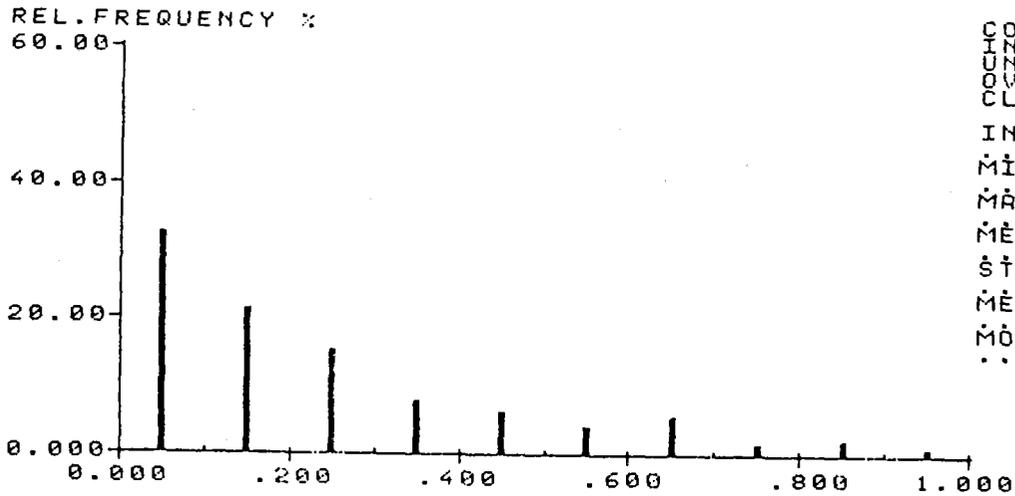
GRAFICA IV-3

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS CORRESPONDIENTE A LA EXCENTRICIDAD DEL NUCLEOLO CON RESPECTO AL SOMA NEURONAL (EX,NLO-S), EN LOS CORTES SAGITALES, (RELACION Ad/AD).
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
EXCENT 00 19 ??????

A) CHANNELGROUP 3



COUNTS 1000000
 UNITS 1
 CHANNELS 1
 INT. INT. 1
 INTERVAL 100000
 MINIMUM 0.00000
 MAXIMUM 1.00000
 MEAN 1.000000
 ST. DEV. 249242
 MEDIAN 228757
 MODE 0.181481
0.500000E-01

EX.NLO-N

ID.NR. TR SA EXT.1
EXCENT 00 19 ??????

B) CLASSIFICATION LIST FOR EX.NLO-N IN CHANNELS 3

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	0.0000	.10000	81.	32.40 %	81.	32.40 %
2	.10000	.20000	54.	21.60 %	135.	54.00 %
3	.20000	.30000	38.	15.20 %	173.	69.20 %
4	.30000	.40000	21.	8.40 %	194.	77.60 %
5	.40000	.50000	17.	6.80 %	211.	84.40 %
6	.50000	.60000	11.	4.40 %	222.	88.80 %
7	.60000	.70000	14.	5.60 %	236.	94.40 %
8	.70000	.80000	5.	2.00 %	241.	96.40 %
9	.80000	.90000	6.	2.40 %	247.	98.80 %
10	.90000	1.0000	3.	1.20 %	250.	100.00 %

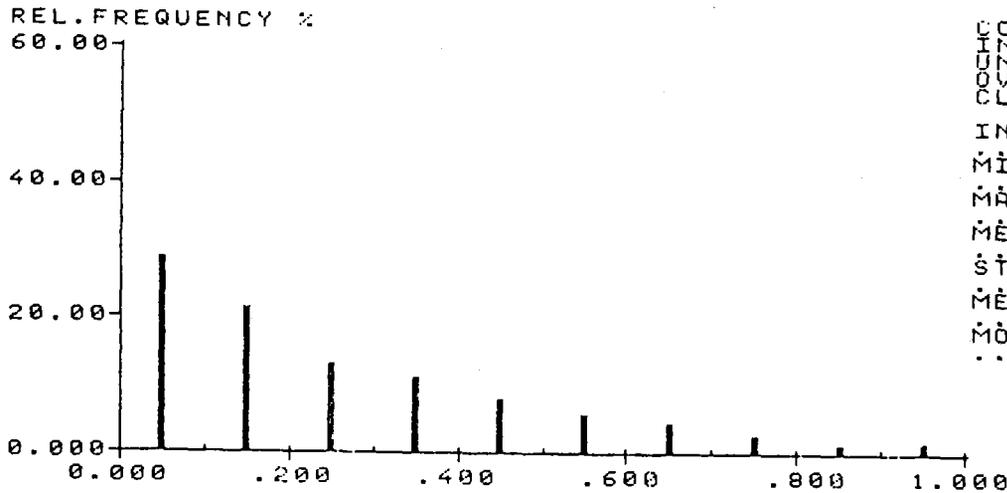
GRAFICA IV-4

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS CORRESPONDIENTE A LA EXCENTRICIDAD DEL NUCLEOLO CON RESPECTO AL NUCLEO NEURONAL (EX.NLO-N), EN LOS CORTES HORIZONTALES. (RELACION Ad/AD).
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
EXCENT 00 19 ??????

A) CHANNELGROUP 2



COUNTS
MINIMUM 100000
MAXIMUM 100000
MEAN 1.000000
ST. DEV. 271050
MEDIAN 232124
MODE 0.200000
.....0.500000E-01

EX.NLD-N

ID.NR. TR SA EXT.1
EXCENT 00 19 ??????

B) CLASSIFICATION LIST FOR EX.NLD-N IN CHANNELS 2

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	0.0000	.10000	72.	28.80 %	72.	28.80 %
2	.10000	.20000	53.	21.20 %	125.	50.00 %
3	.20000	.30000	33.	13.20 %	158.	63.20 %
4	.30000	.40000	28.	11.20 %	186.	74.40 %
5	.40000	.50000	21.	8.40 %	207.	82.80 %
6	.50000	.60000	15.	6.00 %	222.	88.80 %
7	.60000	.70000	12.	4.80 %	234.	93.60 %
8	.70000	.80000	7.	2.80 %	241.	96.40 %
9	.80000	.90000	4.	1.60 %	245.	98.00 %
10	.90000	1.0000	5.	2.00 %	250.	100.00 %

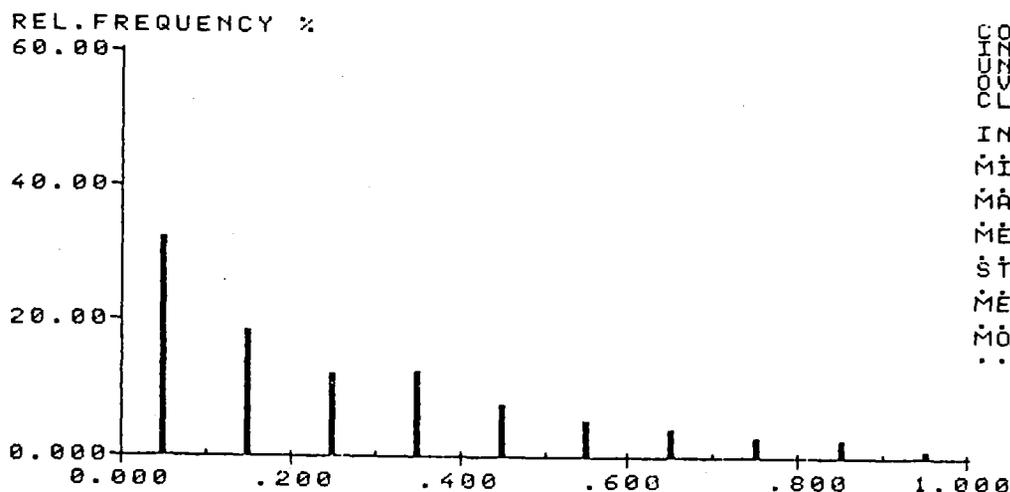
GRAFICA IV-5

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS CORRESPONDIENTE A LA EXCENTRICIDAD DEL NUCLEOLO CON RESPECTO AL NUCLEO NEURONAL (EX,NLD-N), EN LOS CORTES FRONTALES, (RELACION Ad/AD),
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS,

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
EXCENT 00 19 ??????

A) CHANNELGROUP 1



COUNTS
MINIMUM 0.00000
MAXIMUM 1.00000
MEAN 0.262574
ST. DEV. 0.34165
MODE 0.195745
.....0.500000E-01

EX.NLO-N

ID.NR. TR SA EXT.1
EXCENT 00 19 ??????

B) CLASSIFICATION LIST FOR EX.NLO-N IN CHANNELS 1

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	0.0000	.10000	80.	32.00 %	80.	32.00 %
2	.10000	.20000	47.	18.80 %	127.	50.80 %
3	.20000	.30000	31.	12.40 %	158.	63.20 %
4	.30000	.40000	31.	12.40 %	189.	75.60 %
5	.40000	.50000	20.	8.00 %	209.	83.60 %
6	.50000	.60000	14.	5.60 %	223.	89.20 %
7	.60000	.70000	11.	4.40 %	234.	93.60 %
8	.70000	.80000	7.	2.80 %	241.	96.40 %
9	.80000	.90000	6.	2.40 %	247.	98.80 %
10	.90000	1.0000	3.	1.20 %	250.	100.00 %

GRAFICA IV-6

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS CORRESPONDIENTE A LA EXCENTRICIDAD DEL NUCLEO CON RESPECTO AL NUCLEO NEURONAL (EX.NLO-N), EN LOS CORTES SAGITALES, (RELACION Ad/AD),
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS,

los valores de la relación Ad/AD, en los perfiles analizados en cada una de las tres direcciones de corte, se corresponden igualmente con el tipo de distribución que supone considerar al nucléolo en el centro geométrico del espacio contenedor, en este caso el núcleo celular.

Por último, el hecho de que los valores medios obtenidos para la excentricidad del nucléolo con respecto al núcleo sean más altos que los correspondientes a la excentricidad con respecto al soma neuronal; como se observa en la tabla IV-1; se debe, tal y como apuntan Hemon y cols. (1981), a la influencia del tamaño de la estructura contenedora del orgánulo en cuestión. Esta es la razón de por qué en el caso del núcleo los valores medios son más altos.

	HORIZONTAL	FRONTAL	SAGITAL
SOMA	0,147	0,170	0,175
NUCLEO	0,249	0,271	0,263

TABLA IV-1. Valores medios de las distribuciones estadísticas de la relación Ad/Ad, en cada una de las tres direcciones de corte utilizadas (horizontal, frontal, y sagital), tanto para el soma como para el núcleo neuronal.

6.2. Consideraciones generales sobre el análisis poblacional.

Cuando en un conjunto celular o neuronal se miden las áreas de sus perfiles, se obtienen valores que distribuidos en clases proporcionan curvas de frecuencias para los valores hallados. Los diversos tamaños de perfiles se pueden deber, tanto a la posibilidad de existencia de neuronas de tamaños diferentes como a la diversa sección que puede ofrecer una

misma neurona de acuerdo con su tamaño y los distintos planos en que puede ser seccionada.

En el conjunto variado de perfiles pueden aparecer entremezclados valores de áreas que pertenecen al perfil mayor de una determinada población, con valores que, siendo iguales, pertenecen a secciones no centrales de células o neuronas de tamaños superiores. Esta circunstancia entorpece la posibilidad de catalogar sin más a las neuronas, a través de esos perfiles que se originan a partir de sus tamaños. Debemos contar sin embargo con algunas consideraciones.

En primer lugar, contemplar el que a partir de la relación entre el tamaño real de un elemento y el grosor de los cortes histológicos, existe una probabilidad de obtener el perfil mayor y otra distinta de obtener los perfiles menores. La mayor probabilidad corresponde siempre al perfil mayor porque lo que siempre apreciamos al observar es la proyección del objeto, con lo que siempre se dará lugar a la observación del perfil de mayor tamaño que cubrirá a los menores contenidos en el grosor del corte. Sólo cuando los fragmentos no contengan al perfil mayor, podrán dar lugar a la observación de perfiles de menor diámetro o tamaño. Imaginemos, por un momento, que tenemos una población de esferas del mismo tamaño; a partir del diámetro de esas esferas y del grosor de las secciones, se podría construir un histograma de frecuencias para los distintos tamaños de los perfiles que obtendríamos al seccionar dichas esferas; la frecuencia máxima correspondería a la clase del diámetro de perfil mayor de las esferas. Pero el problema suele ser el inverso, tenemos una serie de perfiles que derivan de seccionar un conjunto de esferas de diversos tamaños, los cuales nos son desconocidos. Si al construir el histograma de frecuencias, para el tamaño de los perfiles obtenemos más de un "pico", ello nos está indicando que existe más de una población de esferas que inciden en cada uno de los "picos", en los que se encontrarán tanto los perfiles de una población cortada por su diámetro mayor como perfiles menores de poblaciones de mayor tamaño, pero aquí seccionados según planos secantes. Evidentemente, esta situación no afectará a aquella población que

pertenezca al caso del nivel correspondiente a la clase de mayor tamaño. Según esto, el análisis de los histogramas obtenidos experimentalmente, conducirá aproximadamente a conocer cuantos tipos de posibles poblaciones hay, así como valores relativos a su proporción y dimensiones. Para ello debemos fijarnos, en primer lugar, en la clase de mayor tamaño, ya que ésta nos indica que a su nivel existe una población cuyo diámetro coincide con el diámetro de los perfiles de dicha clase. Conociendo este diámetro es posible calcular la probabilidad de obtener, a partir de una fase, el porcentaje de su perfil mayor y los distintos perfiles menores derivados de esa fase. A continuación, a partir de la frecuencia real obtenida para ese perfil mayor y las probabilidades anteriormente calculadas, es posible construir el histograma teórico que correspondería a dicha población y restarlo del histograma experimental. Este proceso deberá ser repetido tantas veces como "picos" haya en el mencionado histograma experimental, con lo cual, como ya hemos mencionado, llegaríamos a conocer cuantos tipos de esferas hay, así como su proporción y dimensiones (Weibel, 1979).

Sin embargo, en la práctica ocurrirá que, dependiendo del espécimen estudiado, los elementos contenidos no sean esféricos sino que se asemejen a figuras geométricas diversas. En el caso de las neuronas, estas pueden adscribirse, fundamentalmente, a tres formas tridimensionales: esferas, elipsoides y conos. Por consiguiente, lo primero que tendremos que hacer en cada caso es realizar un análisis de los perfiles posibles que puedan aparecer en la zona concreta de estudio, así como sus proporciones según el elemento de partida.

Otra consideración a tener en cuenta es que este análisis de perfiles se puede simplificar si en vez de considerar todos los perfiles generados a partir de las neuronas, sólo medimos y analizamos aquéllos que contengan nucléolo, pues con ello habremos conseguido eliminar muchos perfiles, al considerar únicamente aquéllos que derivan de seccionar la neurona según planos que contienen el centro de los mismos. Esto es posible más útilmente en casos como el nuestro, ya que el nucléolo (como se vió en la sección 6.1 de este mismo capítulo de Observaciones y

Resultados) ocupa una posición central en las células de nuestro estudio. Por tanto, se entiende que una tarea inicial, al emprender este enfoque de análisis, es la de determinar en el material de estudio la ubicación general de nucléolo siguiendo la pauta que se describe detalladamente en la sección 8.5 del capítulo correspondiente a Material y Métodos.

Una vez que ya se ha determinado la posición del nucléolo se puede pasar a analizar detenidamente la forma de los perfiles derivados de nuestro material de estudio, que resultaron ser exclusivamente elípticos o circulares, entendiéndose que dichos perfiles provienen o bien de seccionar una única población de neuronas elipsoidales, o bien de una población en la que coexisten tanto neuronas elipsoidales como esferoidales. Este es el problema de análisis poblacional al que nos enfrentamos.

Por todo ello y para acometer nuestro estudio, programamos en primer lugar, obtener secciones histológicas de cada una de las orientaciones de corte (horizontal, frontal y sagital) y en ellas medir los parámetros de: área de los perfiles neuronales y nucleares, diámetros calibradores, factor de forma elíptica derivado de los mismos, relación núcleo/citoplasma, y ángulo de inclinación de los perfiles neuronales. A partir de aquí y una vez efectuadas las correspondientes clasificaciones, contaríamos ya con un material debidamente agrupado sobre el que abordar el análisis de poblaciones.

6.3. Análisis del área de los perfiles de los somas neuronales.

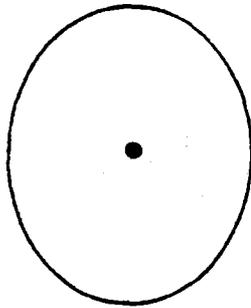
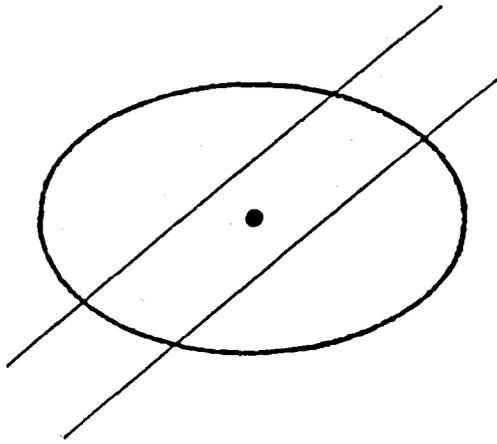
Las gráficas comprendidas entre los números IV-7 al IV-18, ofrecen los histogramas de distribución de frecuencias relativas correspondientes a las áreas de los perfiles que contenían nucléolo (en las tres direcciones de corte: horizontal, frontal y sagital).

Inicialmente se pensó clasificar a partir de dos intervalos de clase: de $40 \mu\text{m}^2$ en $40 \mu\text{m}^2$, y de $80 \mu\text{m}^2$ en $80 \mu\text{m}^2$. Los límites inferior y

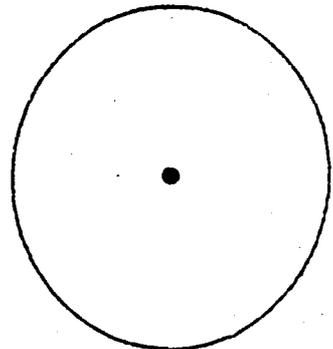
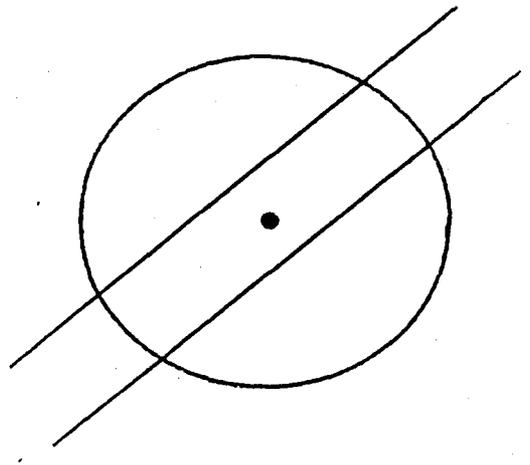
superior de la distribución fueron $100 \mu\text{m}^2$ y $420 \mu\text{m}^2$. Estos valores coincidieron con los respectivos valores de área, menor y mayor, encontrados en el análisis morfométrico de nuestro estudio. Conviene aquí indicar que, en relación con esta situación antedicha, ocurrió ya en la práctica que a partir de dos perfiles conteniendo nucléolo y con un factor de forma elíptica semejante, uno con $400 \mu\text{m}^2$ de área y otro con $140 \mu\text{m}^2$ de área, pudimos morfométricamente comprobar que deben provenir de neuronas distintas, porque de una neurona que produce un perfil de $400 \mu\text{m}^2$, si el nucléolo está centrado (tal es nuestro caso), raramente puede derivarse un perfil de $140 \mu\text{m}^2$ (que contenga nucléolo); salvo en elipsoides seccionados transversalmente a su eje mayor y con factores de forma elíptica muy bajos; pero ya hemos dicho que en la mayoría de nuestros casos nos referimos a perfiles elipsoidales cuyos factores de forma son próximos.

Contrariamente a lo expuesto en el párrafo anterior el problema se puede presentar entre perfiles de áreas más próximas. Así, por ejemplo, un perfil de $220 \mu\text{m}^2$ de área, puede corresponder a una sección oblicua de una neurona con un perfil central de $270 \mu\text{m}^2$ de área. No obstante, las secciones presentan unos límites si han de contener nucléolo y sólo pueden ser ligeramente oblicuas porque (para evitar otras contaminaciones) hemos hecho simultáneamente un estudio y clasificación de los perfiles según su factor de forma elíptica, y eliminado en el análisis la posibilidad de confundir áreas transversales de secciones elípticas con otras que fueran circulares (figura IV-23); posteriormente volveremos sobre este aspecto. Por otra parte, hemos de entender que, por ejemplo, para un perfil de forma elíptica de $21 \mu\text{m}$ de diámetro mayor y $11 \mu\text{m}$ de diámetro menor, su área sería de $181,43 \mu\text{m}^2$. Si ahora incrementamos su diámetro mayor en $1,5 \mu\text{m}$ y su diámetro menor en $1 \mu\text{m}$, su área pasaría a ser de $212,06 \mu\text{m}^2$; la diferencia de áreas entre los dos perfiles mencionados es de unas $31 \mu\text{m}^2$, que como fácilmente se comprende no puede deberse a una desviación cometida al dibujar el perfil sobre el tablero digitalizador del analizador de imágenes; el posible error no es pues imputable a las mínimas deficiencias de dibujo (ver figura IV-24a). Sí resulta cierto, sin embargo, que en

Figura IV-23._ Se muestra gráficamente como las secciones oblicuas de una neurona elipsoidal (A), con un factor de forma elíptica de 0,65, aunque pueden dar lugar a perfiles más pequeños, éstos si contienen nucléolo tendrán un factor de forma elíptica mucho mayor (por encima de 0,8). Del mismo modo una neurona de factor de forma elíptica por encima de 0,8 (tendente a la esfericidad), tal y como se muestra en B, da lugar cuando se la secciona oblicuamente a perfiles que si contienen nucléolo son similares a su perfil máximo.



A

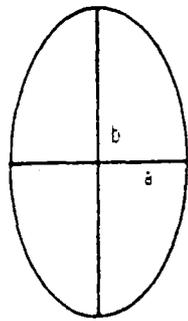


B

FIGURA IV-23

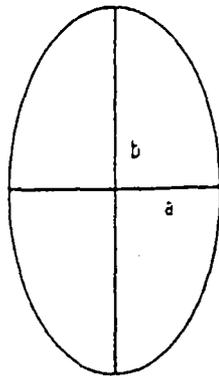
Figura IV-24a._ Si para un perfil de forma elíptica de 21 μm de diámetro mayor y 11 μm de diámetro menor (área = 181,43 μm^2), incrementamos sus diámetros respectivamente en 1,5 μm y 1 μm , su área pasaría a ser de 212,06 μm^2 ; la diferencia de áreas entre los dos perfiles mencionados sería entonces de unas 31 μm^2 , que como se observa en la figura es una diferencia que no puede deberse a errores imputables a las mínimas deficiencias de dibujo.

Figura IV-24b._ Véase texto.



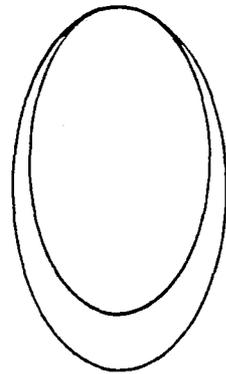
$b = 21 \mu\text{m}$
 $a = 11 \mu\text{m}$
 $\text{AREA A} = 181,43 \mu\text{m}^2$

A



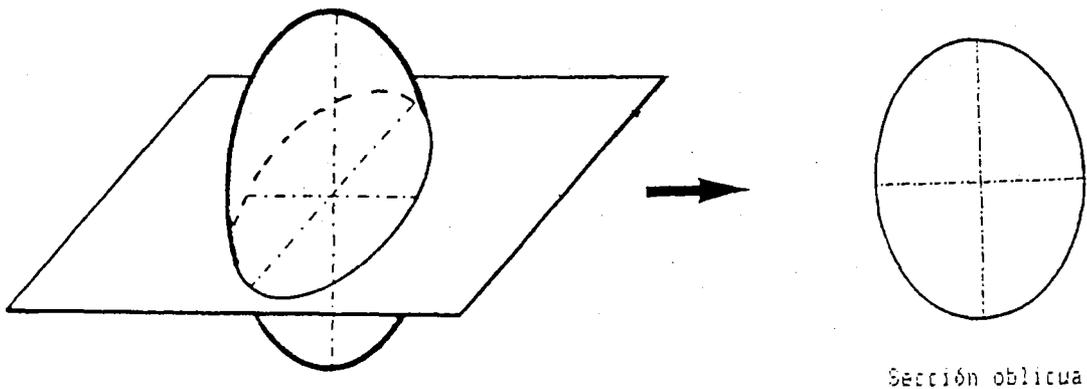
$b = 22,5 \mu\text{m}$
 $a = 12 \mu\text{m}$
 $\text{AREA B} = 212,06 \mu\text{m}^2$

B



$\text{AREA A} - \text{AREA B} = 30,63 \mu\text{m}^2$

FIGURA IV-24a



Sección oblicua

FIGURA IV-24b

el preparado histológico una variación de sólo 1 μm a 1,5 μm podría deberse a una pequeña retracción o a ligeras variaciones tintoriales, y entonces observando la imagen comparativa de los dos perfiles (181,43 μm^2 y 212,06 μm^2) se comprende que sólo por el perfil, sería prematuro clasificarlos en grupos distintos. Por consiguiente, en la realidad sería aventurado diferenciar las neuronas desde el punto de vista morfométrico basándonos en que (a partir de sus perfiles) se toman en consideración variaciones por debajo de 40 μm^2 . Así las cosas y como veremos posteriormente, se tomó el valor de 80 μm^2 como intervalo seguro de clase (posibilidad de error tintorial + diferencias debidas a ligera inclinación en el plano de corte). En este sentido es de describir que si consideramos una sección oblicua proveniente de una neurona con un perfil mayor de 181,43 μm^2 , tal y como se representa en la figura IV-24b, y calculamos la disminución de su diámetro mayor (13,2 μm), su área sería 114,04 μm^2 , que como vemos implica una diferencia de unas 67 μm^2 con respecto al perfil mayor que podemos obtener de la mencionada neurona. Esta es la razón de que se realizara la clasificación, como se ha dicho, tomando como intervalo de clase 80 μm^2 , lo cual estaba más acorde con estas posibilidades y consideraciones prácticas argumentadas. Con todo, recordemos lo expuesto en párrafos anteriores de que el factor de forma elíptica impide secciones superiores a 80 μm^2 si han de contener nucléolo y mantener su factor de forma elíptica. Por ello, mayores diferencias no tienen sentido en nuestro caso pues, o bien los perfiles no contendrían nucléolo, o bien corresponderían a perfiles de los catalogados como pertenecientes a un factor de forma circular y serán entonces clasificados en otra población. En resumen, vistas las razones y conveniencias de utilizar el intervalo de clase de 80 μm^2 , clasificaremos pues nuestro material siguiendo este criterio.

6.3.1. Resultados obtenidos para el sector α_E total.

En primer lugar, veamos los resultados obtenidos a partir del total de perfiles muestreados para cada una de las tres direcciones de corte, sin tener en cuenta la división en zonas superior, media e inferior;

y que se muestran en la tabla IV-2, así como en las gráficas IV-7 (horizontales), IV-8 (frontales) y IV-9 (sagitales).

CLASES (*)	% HORIZONTALES	% FRONTALES	% SAGITALES
1ª (100 - 180)	38,26	32,28	49,10
2ª (180 - 260)	51,49	56,41	47,57
3ª (260 - 340)	8,56	11,15	3,33
4ª (340 - 420)	1,69	0,17	0,00

(*)El valor de los límites de clase viene consignado en μm^2 .

TABLA IV-2._ Porcentaje de cada una de las clases de AREA, sobre el total de los perfiles para cada una de las tres direcciones de corte. Los perfiles se encuentran agrupados en clases con un intervalo de $80 \mu\text{m}^2$.

A partir de las áreas de los perfiles de los somas de secciones horizontales, vemos que se obtienen para cada una de las clases morfométricas establecidas, unos porcentajes distintos y significativos. Ninguna de las clases puede proceder, como tal clase, de la sección de neuronas cuyos perfiles se agrupan en cualquiera de las demás, porque ni su porcentaje, ni sus tamaños, ni la orientación que ofrecen las neuronas (que será discutida posteriormente) lo permiten. La única duda que se presenta es si la clase de mayor tamaño ($340 \mu\text{m}^2 - 420 \mu\text{m}^2$), cuyo porcentaje es 1,69%, al ser tan pequeña, no serán unas pocas neuronas que crecieron algo más pero que en realidad constituyen parte de aquella población de neuronas que da lugar a la clase 3ª.

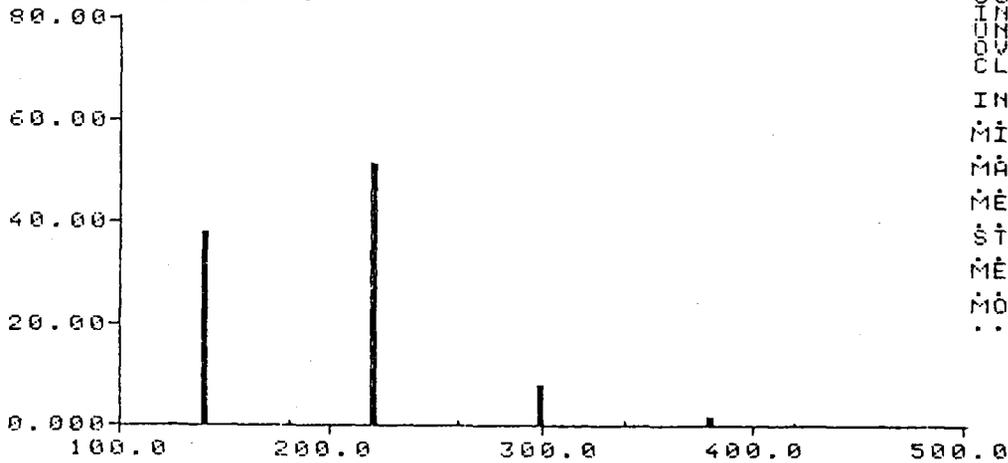
Podemos proponer a la vista de estos resultados obtenidos a partir de secciones horizontales del sector α_E del NGLd del conejo, que existen como mínimo, tres nítidas poblaciones diferentes de neuronas en función de su tamaño. Si ahora comparamos estos hallazgos con los

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

CHANNELGROUP 1 4 7

A) REL. FREQUENCY %



COUNTS
 UNO 295
 DOS 692
 TRES 758
 CUATRO 771
 INTERVAL
 MINIM 100.0000
 MAXIM 420.0000
 MEAN 197.897
 ST. DEV 80.7940
 MEDIAN 198.237
 MODE 195.831

ZZ1
 77
 1001
 4

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 1 4 7

B) UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	100.000	180.00	295.	38.26 %	295.	38.26 %
2	180.00	260.00	692.	51.49 %	692.	89.75 %
3	260.00	340.00	66.	8.56 %	758.	98.31 %
4	340.00	420.00	13.	1.69 %	771.	100.00 %

GRAFICA IV-7

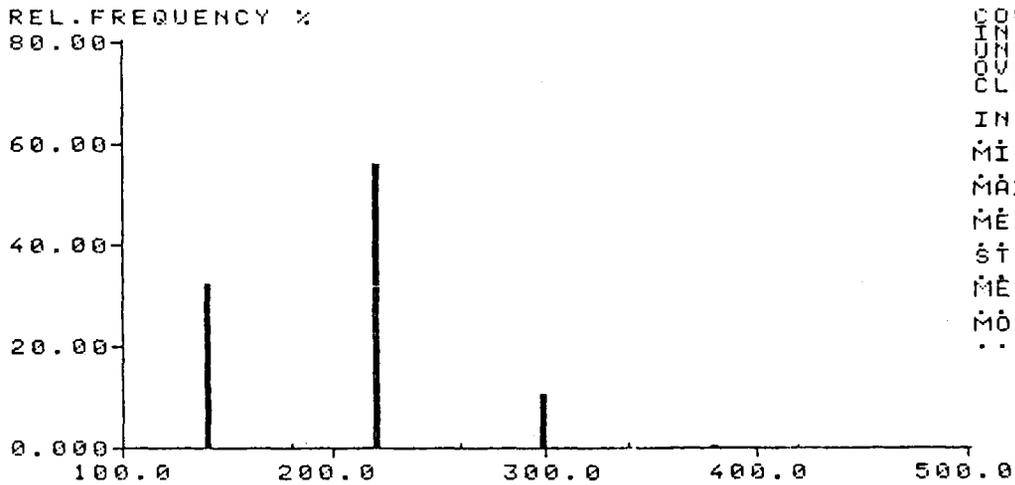
- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA EL SECTOR α_e TOTAL.
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM. ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM. REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 38 ??????

CHANNELGROUP 1 4 7

A)



COUNT 1
 UNITS 00
 COVERED 00
 CLASS 00
 INTERVAL 203.067
 MINIMUM 100.000
 MAXIMUM 420.000
 MEAN 202.033
 ST. DEV. 7.1673
 MEDIA 203.067
 MODE 203.067

1000
000
000

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 38 ??????

B) CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 1 4 7

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	100.000	180.00	194.	32.28 %	194.	32.28 %
2	180.00	260.00	339.	56.41 %	533.	88.69 %
3	260.00	340.00	67.	11.15 %	600.	99.83 %
4	340.00	420.00	1.	.17 %	601.	100.00 %

GRAFICA IV-8

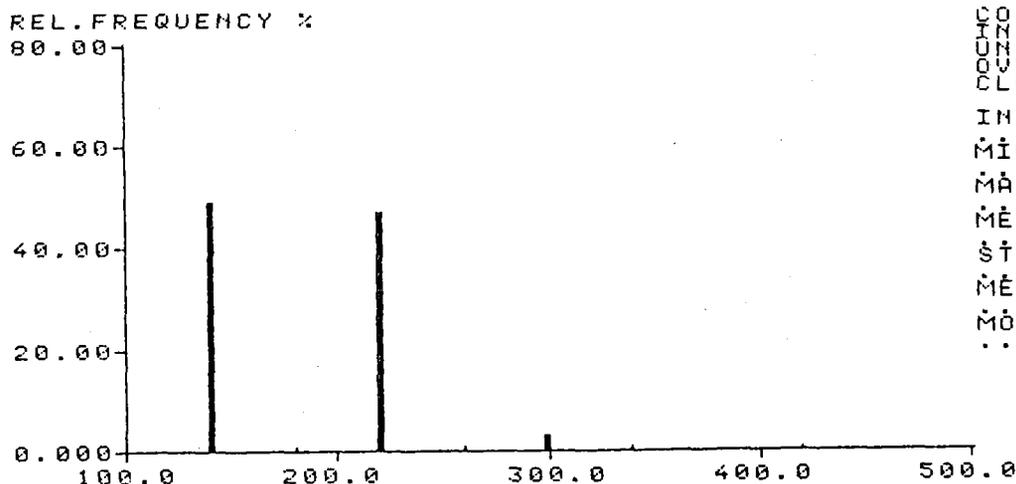
- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES FRONTALES, PARA EL SECTOR α_e TOTAL.
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ??????

CHANNELGROUP 1 4 7

A)



COUNT 721
 UNDERFLOW 0
 OVERFLOW 0
 CLASSES 3
 INTERVAL 80.0000
 MINIMUM 100.0000
 MAXIMUM 340.0000
 MEAN 183.915
 ST. DEV 36.3155
 MEDIAN 181.516
 MODE 140.000

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ??????

B)

CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 1 4 7

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	100.000	180.00	354.	49.10 %	354.	49.10 %
2	180.00	260.00	343.	47.57 %	697.	96.67 %
3	260.00	340.00	24.	3.33 %	721.	100.00 %

GRAFICA IV-9

A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES SAGITALES, PARA EL SECTOR α_e TOTAL ,

B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

ofrecidos por los cortes frontales y sagitales (tabla IV-2), podemos ver que están en concordancia. En efecto, se observa como se mantienen nítidamente las tres clases de tamaños establecidas, y además aquellas pocas células de mayor tamaño que encontrábamos en las secciones horizontales parecen haberse incorporado a la clase anterior, debido a la diferente orientación del plano de sección. Por otra parte, los cortes frontales dan porcentajes y tamaños muy parecidos a los valores obtenidos en las secciones horizontales, lo cual sólo puede explicarse a través de una orientación oblicua de las neuronas en dirección intero-externa y en la externo-interior; tal orientación se corresponde en líneas generales con la ofrecida por las imágenes histológicas que se presentan y comentan en la sección 1 de este mismo capítulo. En cuanto a las secciones sagitales, los porcentajes de las clases de mayor tamaño es lógico que disminuyan, puesto que debido a la orientación de las neuronas los perfiles serán en este caso, oblicuos al diámetro mayor de las mismas y por consiguiente de menor tamaño.

Concluimos pues, a partir de las tres direcciones de corte, que no se puede negar que al menos en el sector α_E se distinguen tres poblaciones de perfiles neuronales de tamaños diferentes.

Analicemos ahora en cada caso los resultados obtenidos para las zonas superior, media e inferior, en cada una de las tres direcciones de corte utilizadas (horizontal, frontal y sagital).

6.3.2. Resultados obtenidos para la zona superior del sector α_E ($\alpha_E S$).

Los resultados obtenidos para la zona $\alpha_E S$ se presentan en la tabla IV-3, así como en las gráficas IV-10 (horizontal), IV-11 (frontal), y IV-12 (sagital).

CLASES (*)	% HORIZONTALES	% FRONTALES	% SAGITALES
1ª (100 - 180)	29,62	23,44	45,00
2ª (180 - 260)	55,38	67,46	51,25
3ª (260 - 340)	11,92	9,09	3,75
4ª (340 - 420)	3,08	0,00	0,00

(*) El valor de los límites de clase viene consignado en μm^2 .

TABLA IV-3. Porcentaje de cada una de las clases de AREA, sobre los perfiles de la zona α_E S, para cada una de las tres direcciones de corte. Los perfiles se encuentran agrupados en clases con un intervalo de $80 \mu\text{m}^2$.

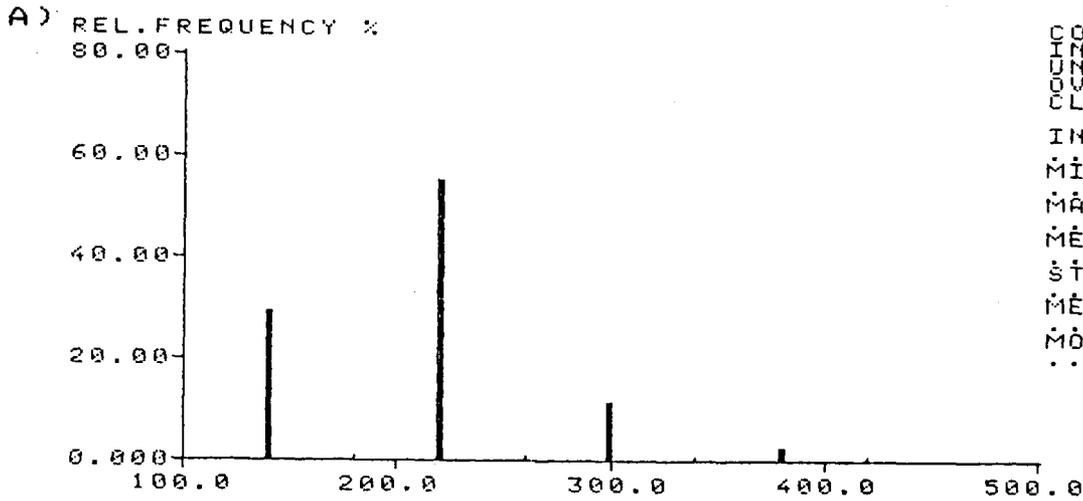
Se observa que, con algunas variaciones, el patrón de distribución es semejante al obtenido para el sector α_E total, siendo los porcentajes de las distintas clases muy similares tanto para las secciones horizontales como para las frontales; en cuanto a las secciones sagitales, los valores obtenidos difieren nuevamente de los hallados en los cortes horizontales y frontales, ofreciendo mayor porcentaje la clase de menor tamaño, debido a que, como ocurría en los análisis totales, la orientación de las neuronas hace que en los cortes sagitales éstas sean seccionadas en la dirección de algún diámetro menor de sus formas elipsoidales (relativamente perpendiculares al diámetro mayor) ofreciendo con ello perfiles menores.

En resumen y a la vista de los datos, podemos asegurar que la zona α_E S ofrece unas poblaciones o categorías de perfiles neuronales, siempre desde el punto de vista morfométrico, coincidentes con las supuestas para el sector α_E considerado de modo global.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

CHANNELGROUP 1



COUNT 5
 IN 100
 UNDERFLOW 0
 OVERFLOW 0
 CLASS 5
 INTERVAL 80
 MINIMUM 100.0000
 MAXIMUM 420.0000
 MEAN 207.702
 ST. DEV 52.1421
 MEDIA 209.444
 MODE 205.397

000004
 006
 206

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

B) CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 1

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	100.000	180.00	77.	29.62 %	77.	29.62 %
2	180.00	260.00	144.	55.38 %	221.	85.00 %
3	260.00	340.00	31.	11.92 %	252.	96.92 %
4	340.00	420.00	8.	3.08 %	260.	100.00 %

GRAFICA IV-10

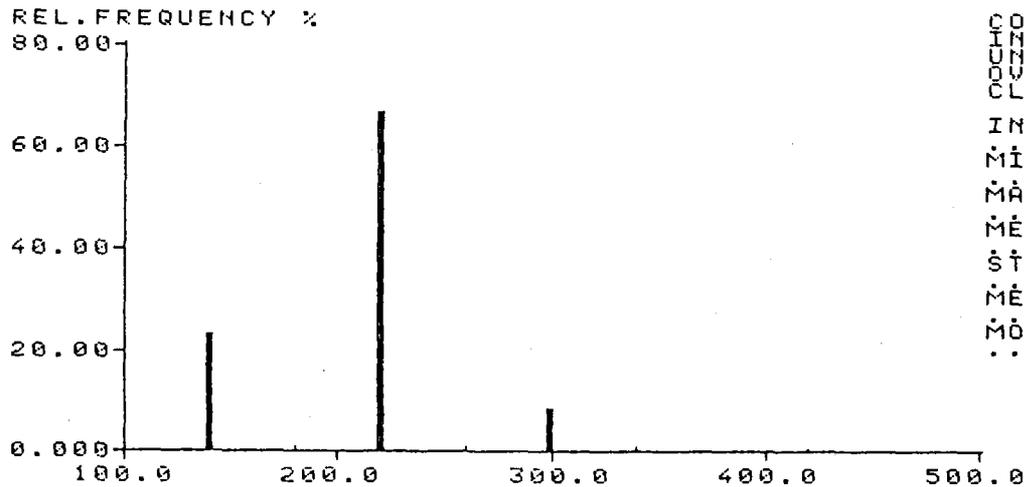
- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA LA ZONA SUPERIOR DEL SECTOR α_E ($\alpha_E S$).
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVA (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 38 ??????

CHANNELGROUP 1

A)



COUNT
MIN
OVER
CLASS
INTERVAL
MINIMUM
MAXIMUM
MEAN
ST. DEV.
MEDIAN
MODE
.....

23.44
67.46
9.09
209.00
100.0000
180.0000
340.0000
207.131
42.4754
211.489
208.517

000000
00
450000

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 38 ??????

B) CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 1

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	100.000	180.00	49.	23.44 %	49.	23.44 %
2	180.00	260.00	141.	67.46 %	190.	90.91 %
3	260.00	340.00	19.	9.09 %	209.	100.00 %

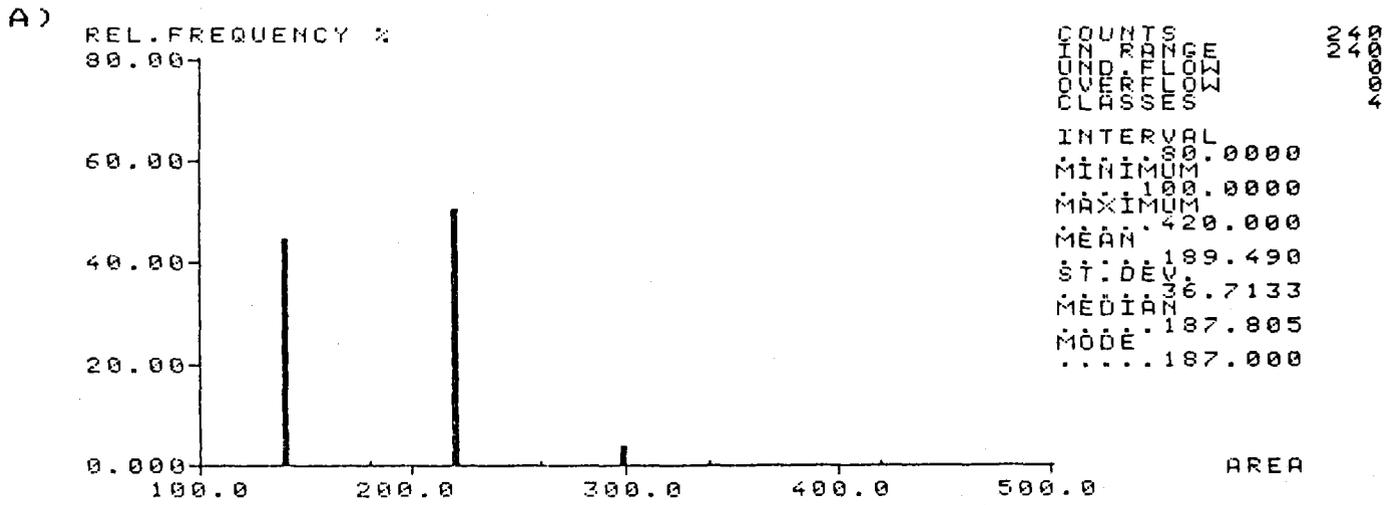
GRAFICA IV-11

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES FRONTALES, PARA LA ZONA SUPERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e S$),
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVA (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS,

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ??????

CHANNELGROUP 1



ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ??????

B) CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 1
UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	100.000	180.00	108.	45.00 %	108.	45.00 %
2	180.00	260.00	123.	51.25 %	231.	96.25 %
3	260.00	340.00	9.	3.75 %	240.	100.00 %

GRAFICA IV-12

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES SAGITALES, PARA LA ZONA SUPERIOR DEL SECTOR α_e (α_e S),
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVA (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM. ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM. REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS,

6.3.3. Resultados obtenidos para la zona media del sector α_E ($\alpha_E M$).

Los valores obtenidos, referentes a la zona media del sector α_E , pueden observarse en la tabla IV-4, así como en las gráficas IV-13 (horizontales), IV-14 (frontales) y IV-15 (sagitales).

La distribución de los valores de los perfiles, al repetir la tendencia aparecida en la zona $\alpha_E S$, indica la semejanza de disposición de las poblaciones en relación a sus tamaños en estas dos zonas; como por otra parte al observar el cuadro "RECUENTOS 11" (página 179), referente a las densidades neuronales, vemos que la zona $\alpha_E S$ ofrece una densidad neuronal de $25,926 \pm 0,655$ cels./ $10^6 \mu m^3$, mientras que en la zona $\alpha_E M$ la densidad neuronal es de $25,982 \pm 0,512$ cels./ $10^6 \mu m^3$, quiere esto indicar que estas dos zonas no sólo son análogas en cuanto a los tamaños neuronales, sino también en cuanto a su relación neuronas/neuropilo. Dicho de otro modo, desde estos análisis no se puede decir que la zona superior y la media sean diferentes.

CLASES (*)	% HORIZONTALES	% FRONTALES	% SAGITALES
1ª (100 - 180)	31,18	28,36	37,34
2ª (180 - 260)	54,75	53,23	56,85
3ª (260 - 340)	12,17	17,91	5,81
4ª (340 - 420)	1,90	0,50	0,00

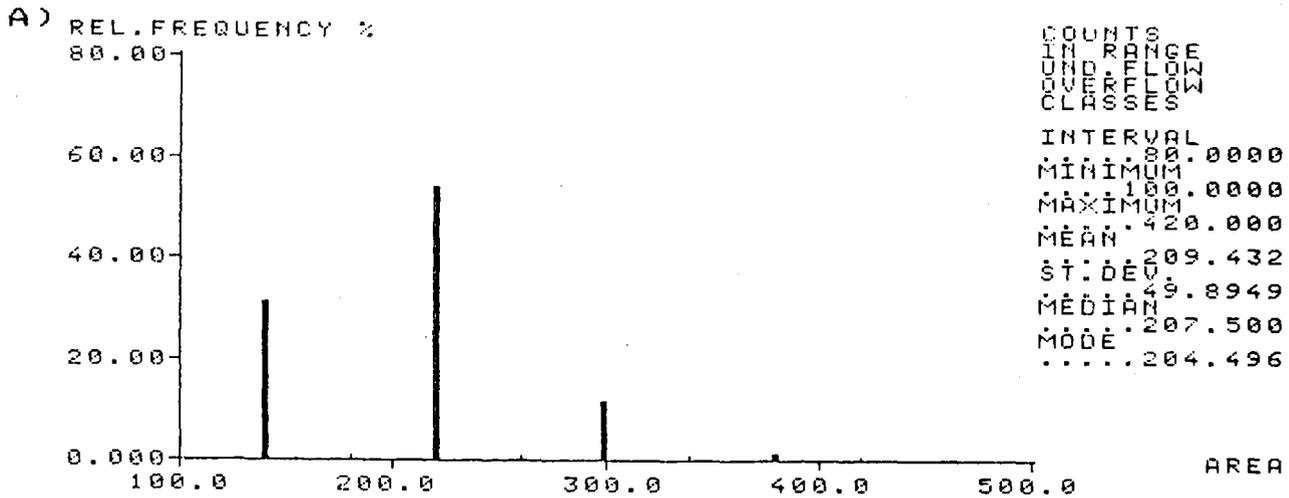
(*) El valor de los límites de clase viene consignado en μm^2 .

TABLA IV-4. Porcentaje de cada una de las clases de AREA, sobre los perfiles de la zona $\alpha_E M$, para cada una de las tres direcciones de corte. Los perfiles se encuentran agrupados en clases con un intervalo de $80 \mu m^2$.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

CHANNELGROUP 4



ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

B) CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 4

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	100.000	180.00	82.	31.18 %	82.	31.18 %
2	180.00	260.00	144.	54.75 %	226.	85.93 %
3	260.00	340.00	32.	12.17 %	258.	98.10 %
4	340.00	420.00	5.	1.90 %	263.	100.00 %

GRAFICA IV-13

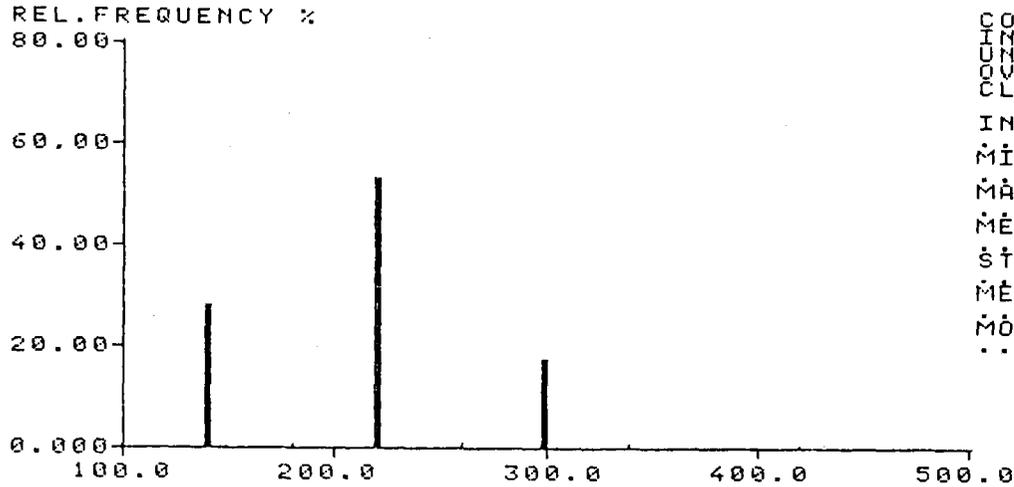
- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA LA ZONA MEDIA DEL SECTOR α_E ($\alpha_E M$),
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS,

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 38 ??????

CHANNELGROUP 4

A)



COUNTS
LINES 80
COVERED 80
CLASS 80
STRT 0
STP 80
EFF 80
UNIT 1
% 1
INTERVAL 80.0000
MINIMUM 100.0000
MAXIMUM 420.0000
MEAN 211.147
ST. DEV 50.1453
MEDIAN 212.523
MODE 211.600

NO
00
4

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 38 ??????

B) CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 4

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	100.000	180.00	57.	28.36 %	57.	28.36 %
2	180.00	260.00	107.	53.23 %	164.	81.59 %
3	260.00	340.00	36.	17.91 %	200.	99.50 %
4	340.00	420.00	1.	.50 %	201.	100.00 %

GRAFICA IV-14

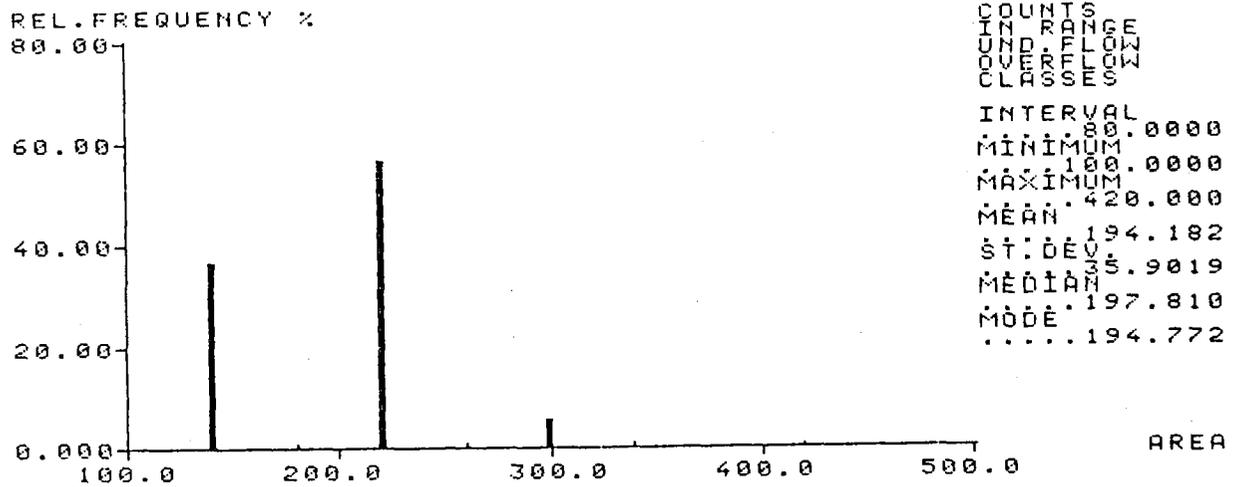
- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES FRONTALES, PARA LA ZONA MEDIA DEL SECTOR α_e ($\alpha_e M$).
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS,

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ??????

CHANNELGROUP 4

A)



ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ??????

B)

CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 4

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	100.000	180.00	90.	37.34 %	90.	37.34 %
2	180.00	260.00	137.	56.85 %	227.	94.19 %
3	260.00	340.00	14.	5.81 %	241.	100.00 %

GRAFICA IV-15

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES SAGITALES, PARA LA ZONA MEDIA DEL SECTOR α_e ($\alpha_e M$).
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM. ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM. REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

6.3.4. Resultados obtenidos para la zona inferior del sector α_E (α_E I).

La medida de las áreas de los perfiles neuronales en la zona α_E I, ofreció los resultados que se consignan en la tabla IV-5, así como en las gráficas IV-16, IV-17 y IV-18.

En esta zona y en las tres direcciones de corte, aparece un elevado porcentaje de perfiles de pequeño tamaño y por el contrario escasa cantidad de los de mayor tamaño. Tal situación indica que en este caso sólo podremos hablar con seguridad de dos poblaciones de perfiles neuronales, y dentro de ellas hemos de considerar un notable incremento de células pequeñas, sobre todo porque, tal y como se aprecia en la tabla y gráficas correspondientes, el incremento de perfiles menores aparece en las tres direcciones de corte consideradas.

CLASES (*)	% HORIZONTALES	% FRONTALES	% SAGITALES
1ª (100 - 180)	54,84	46,07	65,00
2ª (180 - 260)	43,95	47,64	34,58
3ª (260 - 340)	1,21	6,28	0,42
4ª (340 - 420)	0,00	0,00	0,00

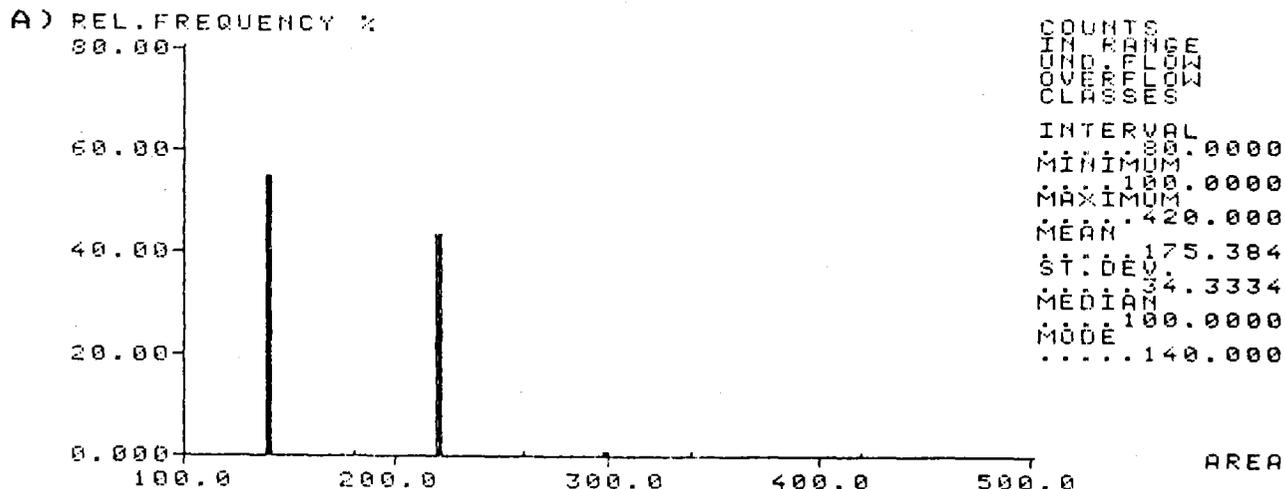
(*) El valor de los límites de clase viene consignado en μm^2 .

TABLA IV-5. Porcentaje de cada una de las clases de AREA, sobre los perfiles de la zona α_E I, para cada una de las tres direcciones de corte. Los perfiles se encuentran agrupados en clases con un intervalo de $80 \mu\text{m}^2$.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

CHANNELGROUP 7



ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

B) CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 7

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	100.000	180.00	136.	54.84 %	136.	54.84 %
2	180.00	260.00	109.	43.95 %	245.	98.79 %
3	260.00	340.00	3.	1.21 %	248.	100.00 %

GRAFICA IV-16

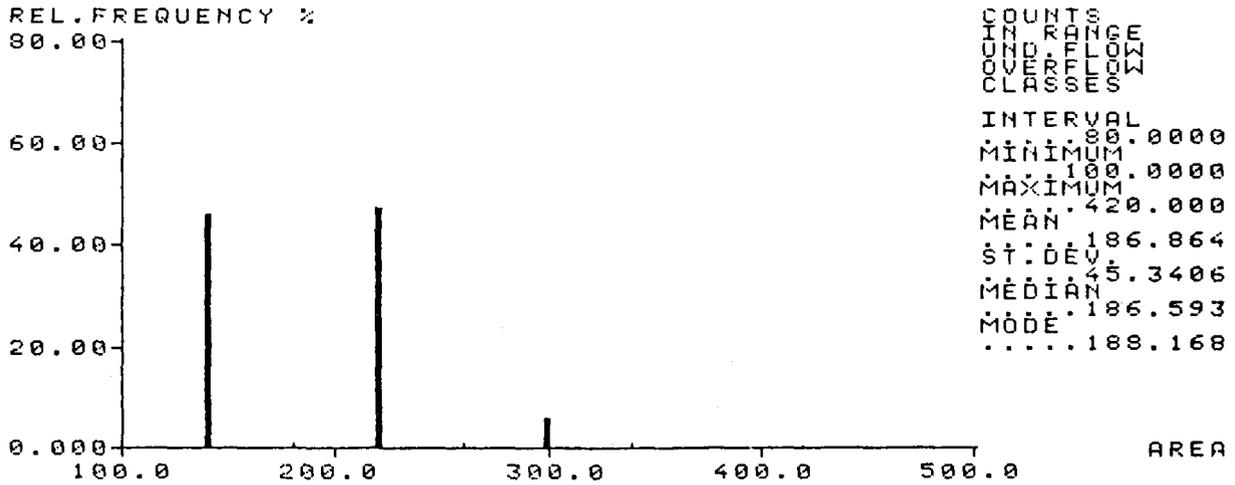
- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA LA ZONA INFERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e I$),
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS,

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 38 ??????

CHANNELGROUP 7

A)



ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 38 ??????

B) CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 7

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	100.000	180.00	88.	46.07 %	88.	46.07 %
2	180.00	260.00	91.	47.64 %	179.	93.72 %
3	260.00	340.00	12.	6.28 %	191.	100.00 %

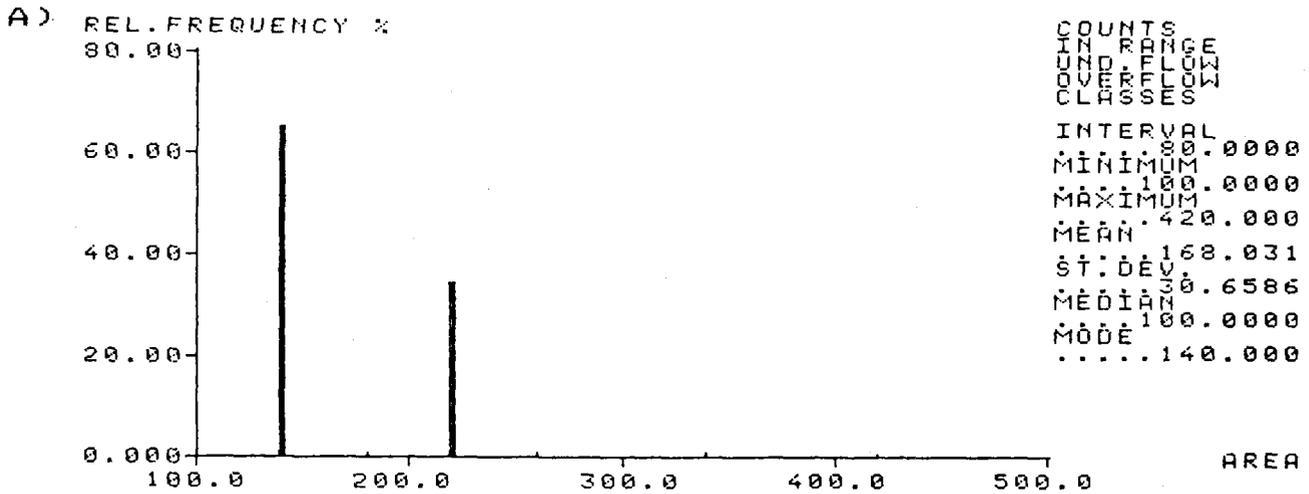
GRAFICA IV-17

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES FRONTALES, PARA LA ZONA INFERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e I$),
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 TOTAL 00 04 ???????

CHANNELGROUP 7



ID.NR. TR SA EXT.1
 TOTAL 00 04 ???????

B) CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 7
 UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	100.000	180.00	156.	65.00 %	156.	65.00 %
2	180.00	260.00	83.	34.58 %	239.	99.58 %
3	260.00	340.00	1.	.42 %	240.	100.00 %

GRAFICA IV-18

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES SAGITALES, PARA LA ZONA INFERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e I$),
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS,

6.4. Análisis del área de los perfiles de los núcleos neuronales.

Una vez realizadas las clasificaciones anteriores y prosiguiendo con el análisis de los parámetros de objeto, consideramos de interés analizar la situación de los núcleos neuronales, estudiando el área de los mismos en cada perfil neuronal. En este sentido es importante destacar que para el grosor de corte utilizado (15 μm), al considerar perfiles que contenían nucléolo y teniendo en cuenta que dicho orgánulo ocupa una posición central tanto con respecto al soma neuronal como con respecto al núcleo, buena parte de los núcleos podrán ofrecer su perfil mayor por estar sus proyecciones (y generalmente el núcleo entero) contenidas completamente en el corte.

Por otra parte, hemos de destacar que el intervalo de clase utilizado a la hora de clasificar los perfiles nucleares con respecto a su área ha sido de 40 μm^2 , ya que el rango de áreas encontrado varía entre unas 40 μm^2 (para los perfiles nucleares más pequeños) y unas 190 μm^2 (para los más grandes), de modo que utilizar un intervalo mayor, obviamente, nos hubiera dado una distribución demasiado artificial. Por lo demás, como quiera que en este caso sólo nos interesa determinar la tendencia de los tamaños de los perfiles, tampoco hemos de ser excesivamente restrictivos a la hora de clasificarlos.

Del análisis de los resultados obtenidos para el área de los perfiles nucleares, que se recogen en las tablas comprendidas entre los números IV-6 y IV-9, así como en las gráficas comprendidas entre los números IV-19 y IV-30, se desprende que las distribuciones son análogas en las tres direcciones de corte y mayormente para las dos clases menores en las secciones frontales y sagitales, lo cual indica que la orientación de estos núcleos no es completamente paralela a la ofrecida por el soma y son seccionados por perfiles menores en los cortes frontales y sagitales (orientación algo perpendicular al soma neuronal).

Se aprecia también que las clases de núcleos ofrecen menos variedad que los somas (ver gráficas IV-19 a IV-30) y una acusada tendencia a presentar perfiles entre $80 \mu\text{m}^2$ y $120 \mu\text{m}^2$. Estas circunstancias podrán muy posiblemente ofrecer peculiaridades cuando se analice la relación núcleo/citoplasma.

Por último, resaltar que al igual que ocurría en el caso de los perfiles neuronales, en la zona α_E I el porcentaje de perfiles nucleares de menor tamaño se ve considerablemente incrementado, lo cual está en concordancia con la idea de que en esta zona se observa un importante incremento de células pequeñas.

CLASES (*)	% HORIZONTALES	% FRONTALES	% SAGITALES
1ª (40 - 80)	18,42	24,46	24,96
2ª (80 - 120)	65,24	66,39	69,90
3ª (120 - 160)	15,69	8,82	5,13
4ª (160 - 200)	0,65	0,33	0,00

(*) El valor de los límites de clase viene consignado en μm^2 .

TABLA IV-6. Porcentaje de cada una de las clases de AREA, sobre el total de los perfiles nucleares, para cada una de las tres direcciones de corte. Los perfiles se encuentran agrupados en clases con un intervalo de $40 \mu\text{m}^2$.

CLASES (*)	% HORIZONTALES	% FRONTALES	% SAGITALES
1ª (40 - 80)	15,38	18,66	17,50
2ª (80 - 120)	62,69	75,60	75,00
3ª (120 - 160)	21,15	5,74	7,50
4ª (160 - 200)	0,77	0,00	0,00

(*)El valor de los límites de clase viene consignado en μm^2 .

TABLA IV-7._ Porcentaje de cada una de las clases de AREA, sobre los perfiles nucleares de la zona $\alpha_E S$, para cada una de las tres direcciones de corte. Los perfiles se encuentran agrupados en clases con un intervalo de $40 \mu\text{m}^2$.

CLASES (*)	% HORIZONTALES	% FRONTALES	% SAGITALES
1ª (40 - 80)	11,41	18,91	15,35
2ª (80 - 120)	65,78	64,18	78,01
3ª (120 - 160)	21,67	15,92	6,64
4ª (160 - 200)	1,14	1,00	0,00

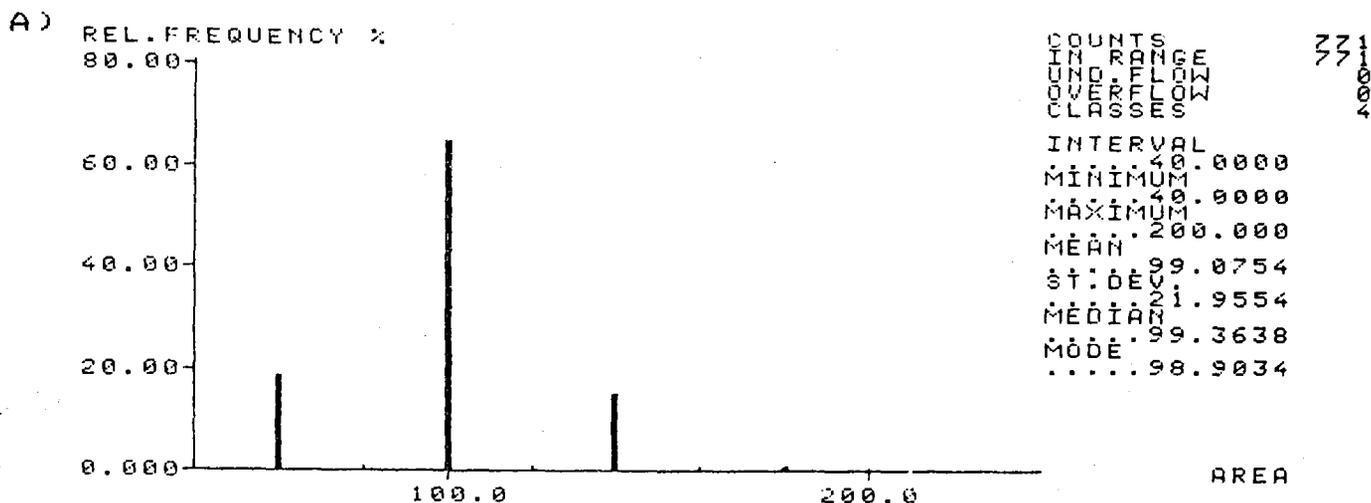
(*)El valor de los límites de clase viene consignado en μm^2 .

TABLA IV-8._ Porcentaje de cada una de las clases de AREA, sobre los perfiles nucleares de la zona $\alpha_E M$, para cada una de las tres direcciones de corte. Los perfiles se encuentran agrupados en clases con un intervalo de $40 \mu\text{m}^2$.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

CHANNELGROUP 2 5 8



ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

B) CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 2 5 8

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	40.000	80.000	142.	18.42 %	142.	18.42 %
2	80.000	120.00	503.	65.24 %	645.	83.66 %
3	120.00	160.00	121.	15.69 %	766.	99.35 %
4	160.00	200.00	5.	.65 %	771.	100.00 %

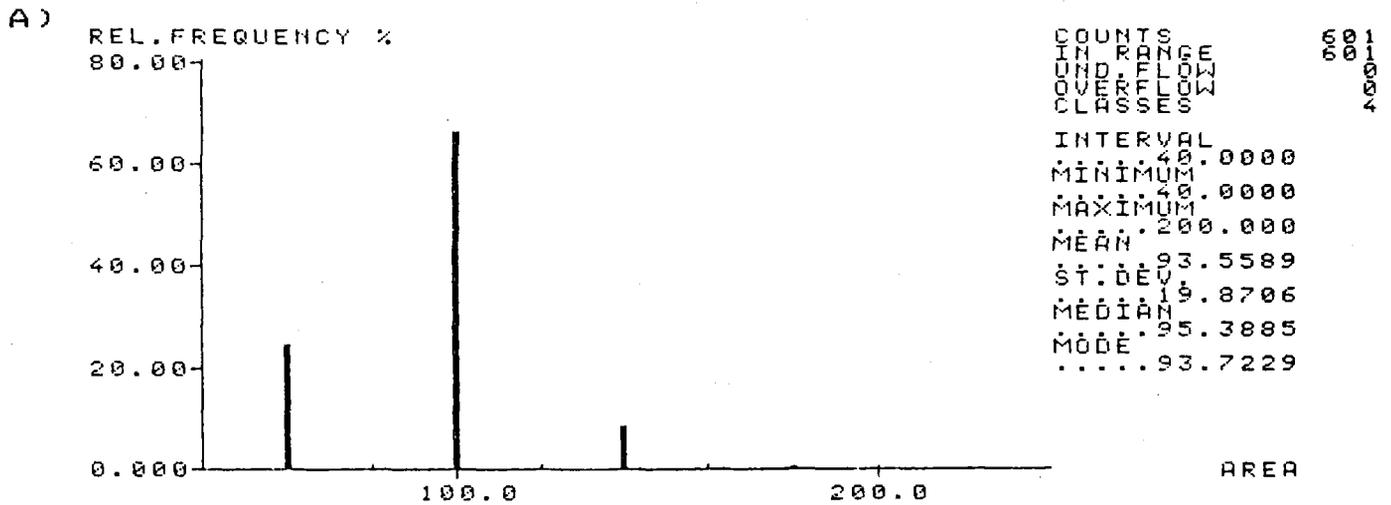
GRAFICA IV-19

- A) HISTOGRAMA DE DISTRUBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA EL SECTOR α_e TOTAL.
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 67 ??????

CHANNELGROUP 2 5 8



ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 67 ??????

B) CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 2 5 8
 UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	40.000	80.000	147.	24.46 %	147.	24.46 %
2	80.000	120.00	399.	66.39 %	546.	90.85 %
3	120.00	160.00	53.	8.82 %	599.	99.67 %
4	160.00	200.00	2.	.33 %	601.	100.00 %

GRAFICA IV-20

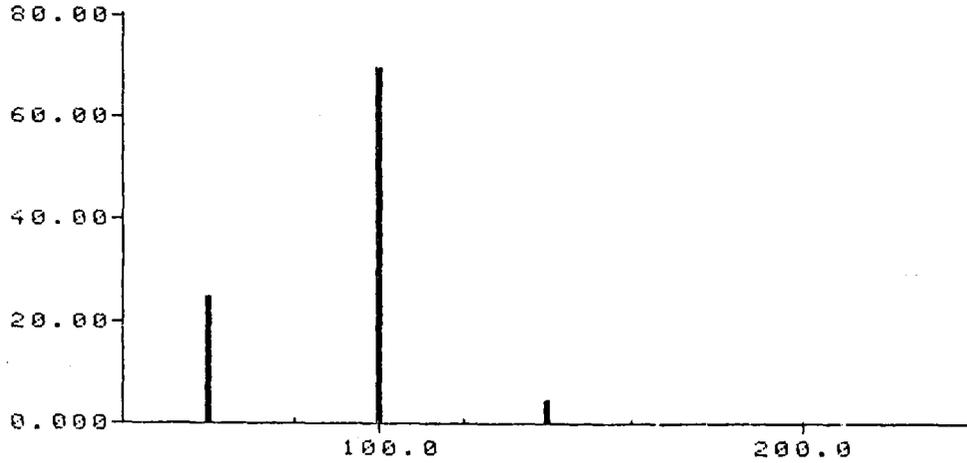
- A) HISTOGRAMA DE DISTRUBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES FRONTALES, PARA EL SECTOR α_e TOTAL,
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ??????

CHANNELGROUP 2 5 8

A) REL. FREQUENCY %



COUNT 221
UNDERFLOW 0
OVERFLOW 0
INTERVAL 40.0000
MINIMUM 40.0000
MAXIMUM 160.0000
MEAN 121.63017
ST. DEV. 4.3254
MODE 92.0666

221
0
400

AREA

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ??????

CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 2 5 8

B) UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	40.000	80.000	180.	24.97 %	180.	24.97 %
2	80.000	120.00	504.	69.90 %	684.	94.87 %
3	120.00	160.00	37.	5.13 %	721.	100.00 %

GRAFICA IV-21

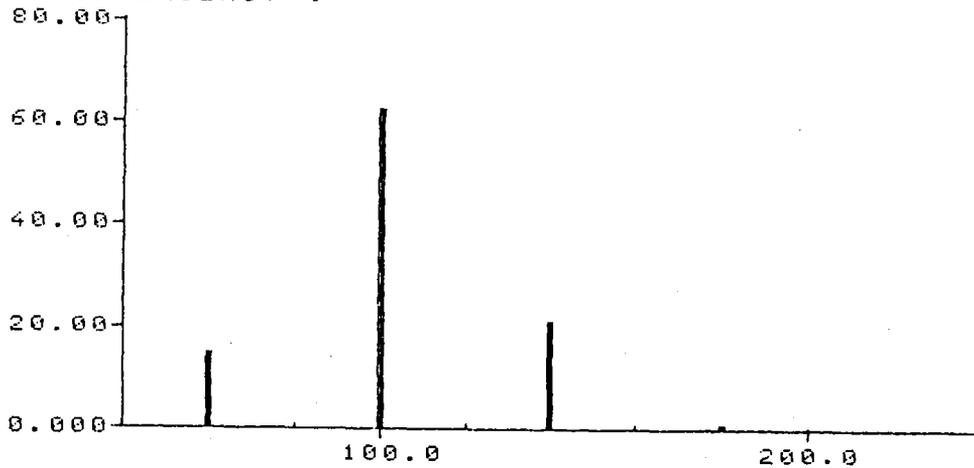
- A) HISTOGRAMA DE DISTRUBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES SAGITALES, PARA EL SECTOR α_e TOTAL.
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

CHANNELGROUP 2

A) REL. FREQUENCY %



COUNTS
 UNDERFLOW 40
 OVERFLOW 203
 CLASS 258
 INTERVAL 40.0000
 MINIMUM 40.0000
 MAXIMUM 200.0000
 MEAN 103.732
 ST. DEV 23.0478
 MEDIAN 102.086
 MODE 102.326

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

B) CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 2
 UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	40.000	80.000	40.	15.38 %	40.	15.38 %
2	80.000	120.00	163.	62.69 %	203.	78.08 %
3	120.00	160.00	55.	21.15 %	258.	99.23 %
4	160.00	200.00	2.	.77 %	260.	100.00 %

GRAFICA IV-22

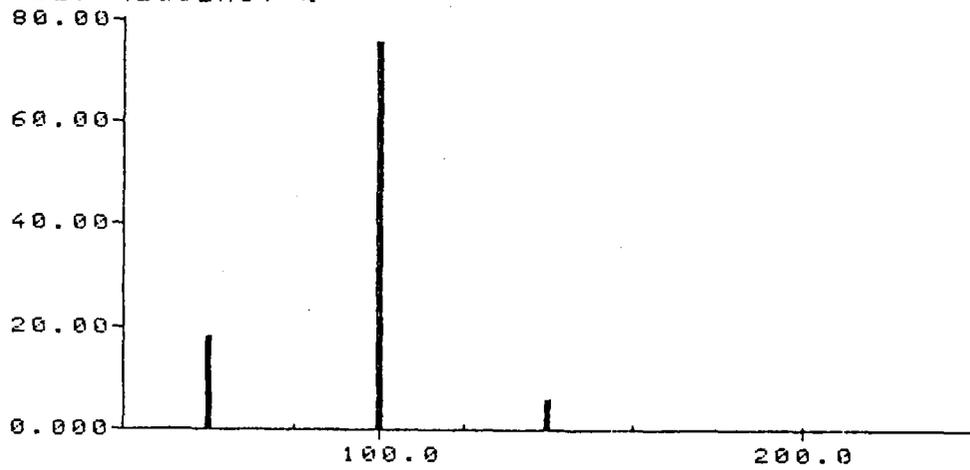
- A) HISTOGRAMA DE DISTRUBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA LA ZONA SUPERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e S$),
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 67 ??????

CHANNELGROUP 2

A) REL. FREQUENCY %



COUNTS
 UNDERFLOW 000000
 OVERFLOW 000000
 CLASSES 3
 INTERVAL 40.0000
 MINIMUM 40.0000
 MAXIMUM 160.0000
 MEAN 94.1780
 ST. DEV 17.9622
 MEDIAN 96.5823
 MODE 94.8325

AREA

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 67 ??????

B) CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 2

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	40.000	80.000	39.	18.66 %	39.	18.66 %
2	80.000	120.00	158.	75.60 %	197.	94.26 %
3	120.00	160.00	12.	5.74 %	209.	100.00 %

GRAFICA IV-23

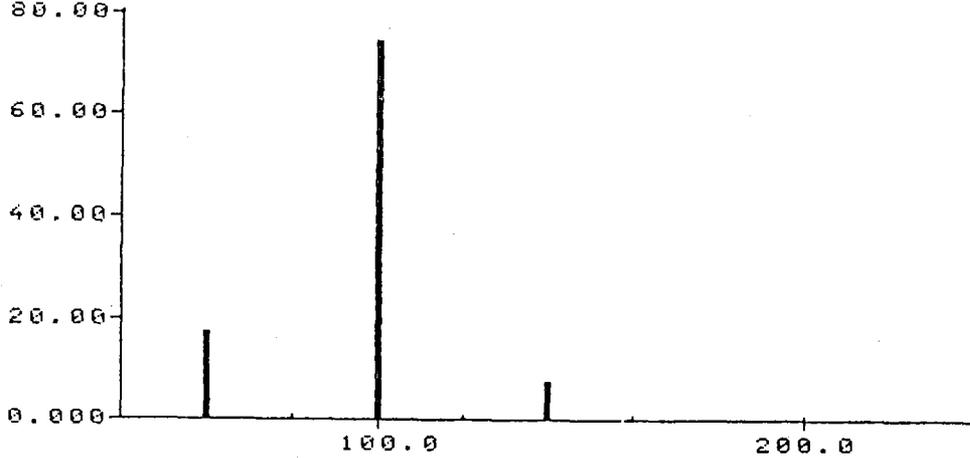
- A) HISTOGRAMA DE DISTRUBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES FRONTALES, PARA LA ZONA SUPERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e S$).
- B) VALDRES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 TOTAL 00 04 ??????

CHANNELGROUP 2

A) REL. FREQUENCY %



CHANNEL GROUP 2
 COUNT 42
 CLAMP 0
 INTERVAL 80.000
 MINIMUM 40.000
 MAXIMUM 160.000
 MEAN 96.000
 ST. DEV. 5.8545
 MEDIAN 96.6891
 MODE 96.0000

00000
 47
 4

AREA

ID.NR. TR SA EXT.1
 TOTAL 00 04 ??????

CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 2

B) UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	40.000	80.000	42.	17.50 %	42.	17.50 %
2	80.000	120.000	180.	75.00 %	222.	92.50 %
3	120.000	160.000	18.	7.50 %	240.	100.00 %

GRAFICA IV-24

A) HISTOGRAMA DE DISTRUBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES SAGITALES, PARA LA ZONA SUPERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e S$).

B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM. ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM. REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

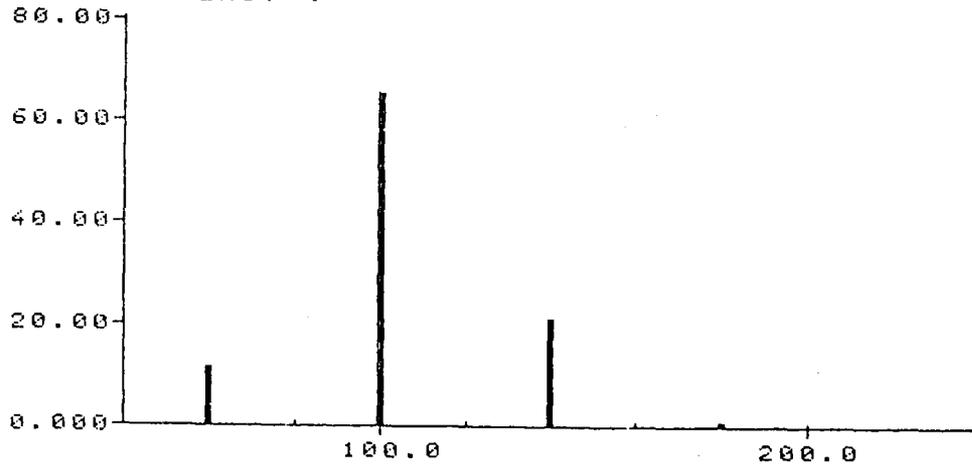


SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ???????

CHANNELGROUP 5

A) REL. FREQUENCY %



COUNT 4
 UNDERFLOW 0
 CL. 4
 INTERVAL 40.0000
 MINIMUM 40.0000
 MAXIMUM 200.0000
 MEAN 103.569
 ST. DEV 41.6714
 MEDIAN 103.468
 MODE 104.154

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ???????

B) CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 5

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	40.000	80.000	30.	11.41 %	30.	11.41 %
2	80.000	120.00	173.	65.78 %	203.	77.19 %
3	120.00	160.00	57.	21.67 %	260.	98.86 %
4	160.00	200.00	3.	1.14 %	263.	100.00 %

GRAFICA IV-25

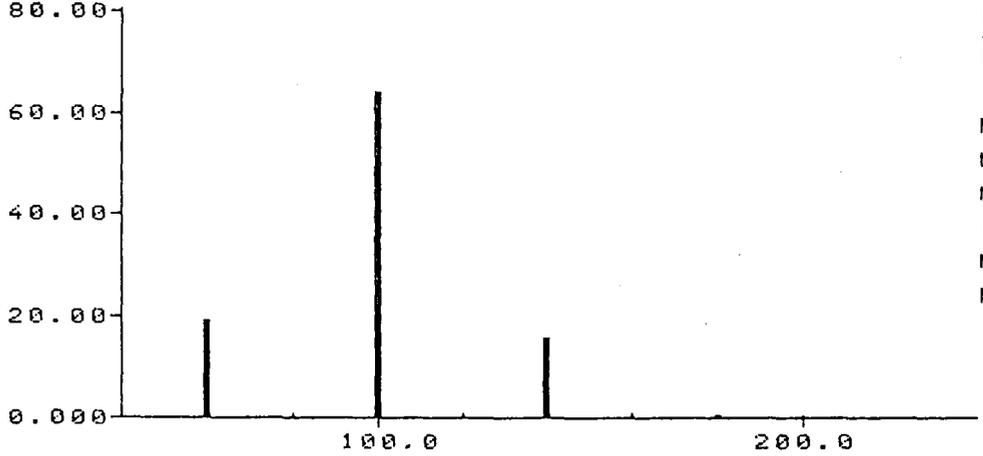
- A) HISTOGRAMA DE DISTRUBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA LA ZONA MEDIA DEL SECTOR α_E ($\alpha_E M$).
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS,

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
PERFIL 00 67 ???????

CHANNELGROUP 5

A) REL. FREQUENCY %



11000
 00
 4

COUNT	0000
MINIMUM	00.0000
MAXIMUM	00.0000
MEAN	88.6414
ST. DEV.	88.7749
MEDIA	98.3798
MODE	98.7940

AREA

ID.NR. TR SA EXT.1
PERFIL 00 67 ???????

CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 5

B)

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	40.000	80.000	38.	18.91 %	38.	18.91 %
2	80.000	120.00	129.	64.18 %	167.	83.08 %
3	120.00	160.00	32.	15.92 %	199.	99.00 %
4	160.00	200.00	2.	1.00 %	201.	100.00 %

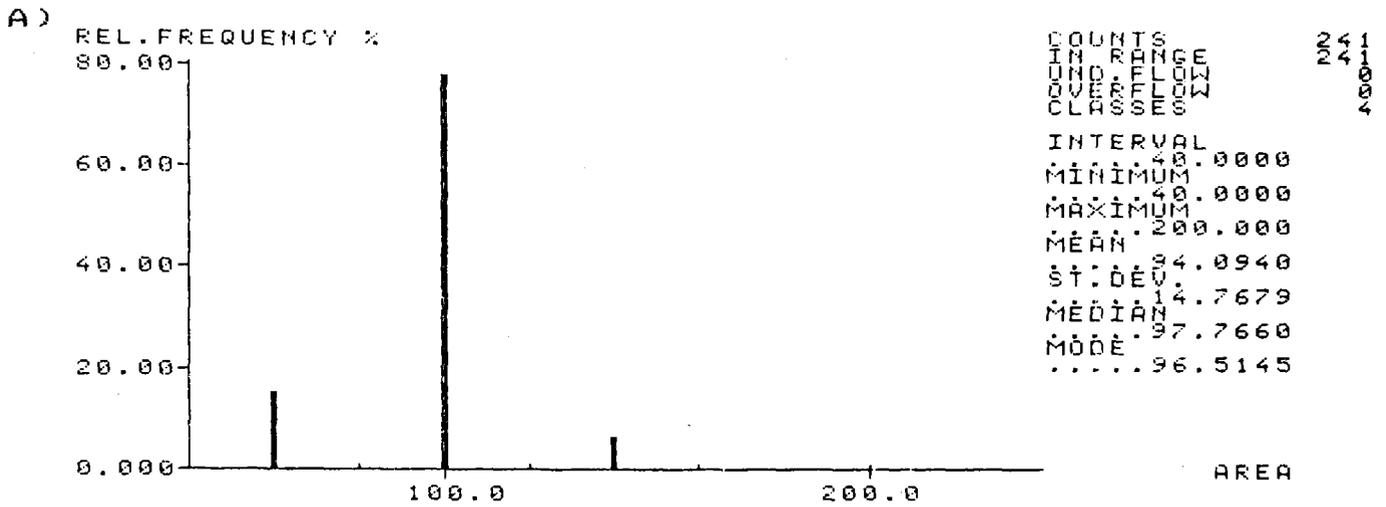
GRAFICA IV-26

- A) HISTOGRAMA DE DISTRUBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES FRONTALES, PARA LA ZONA MEDIA DEL SECTOR α_e ($\alpha_e M$),
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ??????

CHANNELGROUP 5



ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ??????

B) CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 5
UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	40.000	80.000	37.	15.35 %	37.	15.35 %
2	80.000	120.00	188.	78.01 %	225.	93.36 %
3	120.00	160.00	16.	6.64 %	241.	100.00 %

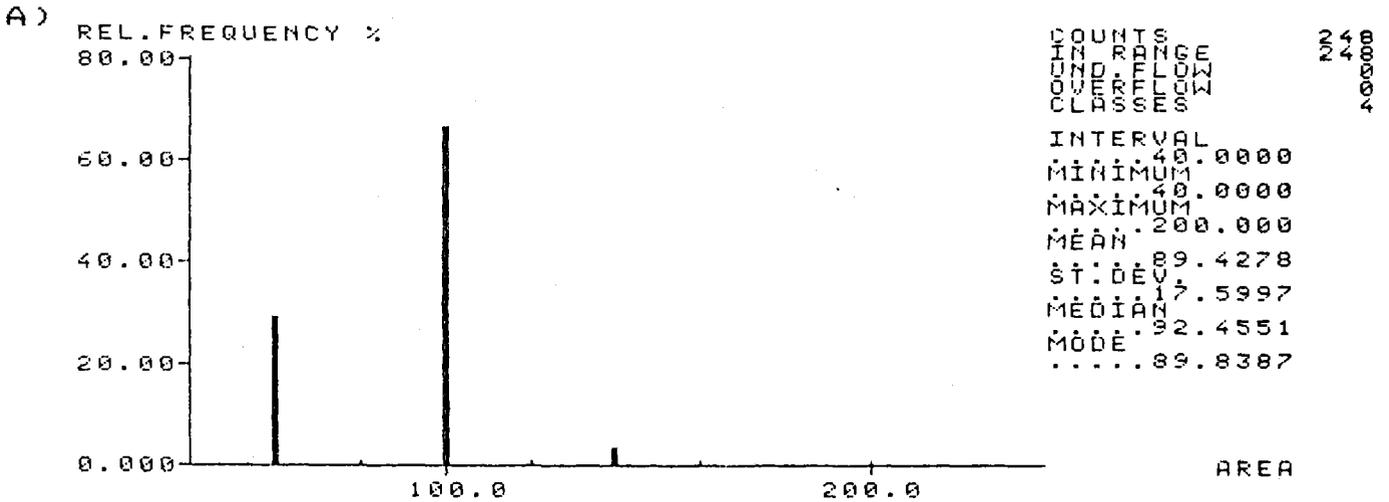
GRAFICA IV-27

- A) HISTOGRAMA DE DISTRUBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES SAGITALES, PARA LA ZONA MEDIA DEL SECTOR α_E ($\alpha_E M$),
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

CHANNELGROUP 8



ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

B) CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 8

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	40.000	80.000	72.	29.03 %	72.	29.03 %
2	80.000	120.00	167.	67.34 %	239.	96.37 %
3	120.00	160.00	9.	3.63 %	248.	100.00 %

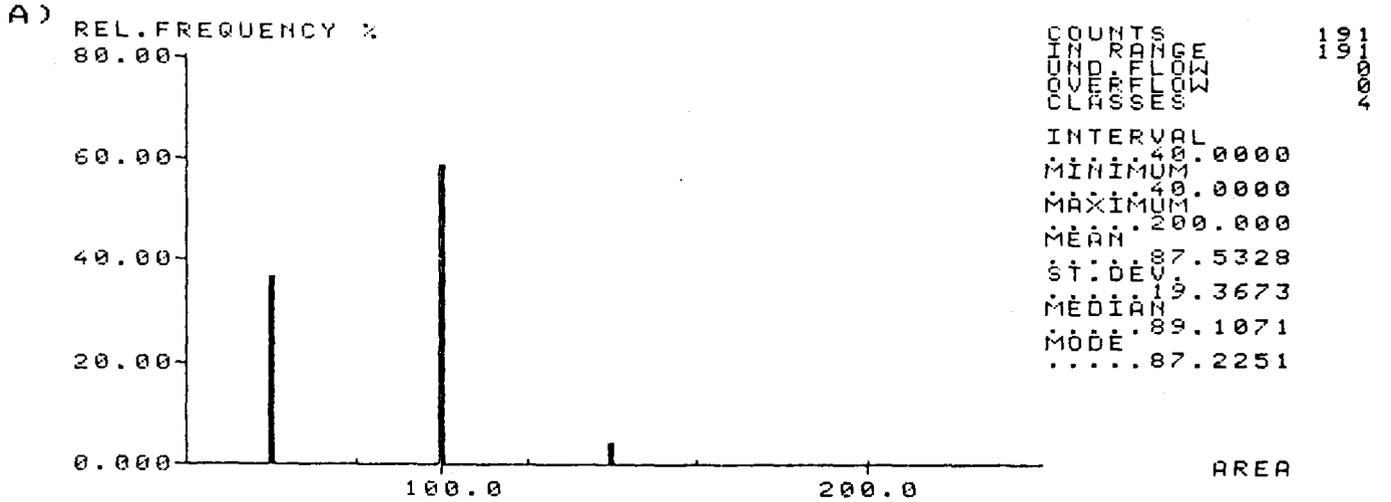
GRAFICA IV-28

- A) HISTOGRAMA DE DISTRUBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA LA ZONA INFERIOR DEL SECTOR α_E ($\alpha_E I$),
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS,

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 67 ??????

CHANNELGROUP 8



ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 67 ??????

B) CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 8

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	40.000	80.000	70.	36.65 %	70.	36.65 %
2	80.000	120.00	112.	58.64 %	182.	95.29 %
3	120.00	160.00	9.	4.71 %	191.	100.00 %

GRAFICA IV-29

- A) HISTOGRAMA DE DISTRUBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES FRONIALES, PARA LA ZONA INFERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e I$).
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

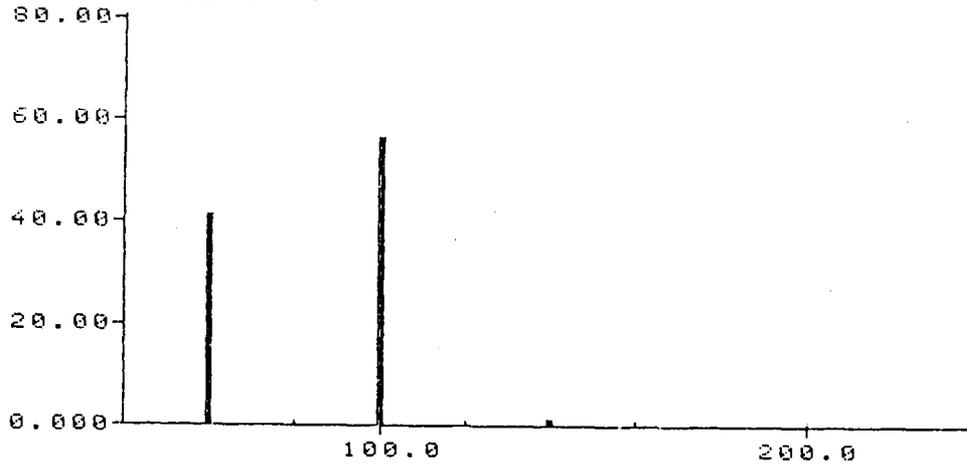
SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ??????

CHANNELGROUP 8

A)

REL. FREQUENCY %



COUNTS
IN RANGE
UNDERFLOW
OVERFLOW
CLASSES
INTERVAL
MINIMUM
MAXIMUM
MEAN
ST. DEV.
MEDIAN
MODE
.....

40.000
80.000
120.000
160.000
200.000
240.000
280.000
320.000
360.000
400.000
440.000
480.000
520.000
560.000
600.000
640.000
680.000
720.000
760.000
800.000
840.000
880.000
920.000
960.000
1000.000

NR 44
44
40000

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ??????

B) CLASSIFICATION LIST FOR AREA IN CHANNELS 8

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	40.000	80.000	101.	42.08 %	101.	42.08 %
2	80.000	120.00	136.	56.67 %	237.	98.75 %
3	120.00	160.00	3.	1.25 %	240.	100.00 %

GRAFICA IV-30

- A) HISTOGRAMA DE DISTRUBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL AREA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES SAGITALES, PARA LA ZONA INFERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e I$).
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM. ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM. REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

CLASES (*)	% HORIZONTALES	% FRONTALES	% SAGITALES
1ª (40 - 80)	29,04	36,65	42,08
2ª (80 - 120)	67,33	58,64	56,67
3ª (120 - 160)	3,63	4,71	1,25
4ª (160 - 200)	0,00	0,00	0,00

(*)El valor de los límites de clase viene consignado en μm^2 .

TABLA IV-9._ Porcentaje de cada una de las clases de AREA, sobre los perfiles nucleares de la zona α_E I, para cada una de las tres direcciones de corte. Los perfiles se encuentran agrupados en clases con un intervalo de 40 μm^2 .

6.5. Análisis del factor de forma elíptica de los perfiles neuronales.

El factor de forma elíptica (F.F.e.) que hemos considerado en este análisis, tal y como se expone en la sección 8 del capítulo correspondiente a Material y Métodos, ha sido la relación entre los diámetros calibradores mínimo (d_{min}) y máximo (d_{max}) de cada perfil neuronal:

$$\text{F.F.e.} = d_{\text{min}}/d_{\text{max}}$$

Tenemos así un modo sencillo mediante el que describir la forma de cada perfil y que se refiere fundamentalmente a la mayor o menor elongación del mismo. Este factor oscilará entre los valores 0 y 1. A partir de un factor de forma elíptica mayor o igual a 0,8 consideraremos que la tendencia es circular, mientras que para factores de forma inferiores a 0,8 la tendencia se puede considerar como elipsoidal; con este criterio clasificamos los perfiles de los somas neuronales. Podemos entonces construir las gráficas comprendidas entre los números IV-31 y IV-42, que quedan resumidas en la tabla IV-10.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
PERFIL 00 18 ??????

A) CHANNELGROUP 1 4 7

REL. FREQUENCY %



COU...
 UN...
 CL...
 INT...
 MIN...
 MAX...
 MEAN...
 ST...
 MED...
 MOD...

FORM ELL

B) ID.NR. TR SA EXT.1
PERFIL 00 18 ??????

CLASSIFICATION LIST FOR FORM ELL IN CHANNELS 1 4 7

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	.40000	.50000	30.	3.89 %	30.	3.89 %
2	.50000	.60000	180.	23.35 %	210.	27.24 %
3	.60000	.70000	260.	33.72 %	470.	60.96 %
4	.70000	.80000	207.	26.85 %	677.	87.81 %
5	.80000	.90000	83.	10.77 %	760.	98.57 %
6	.90000	1.00000	11.	1.43 %	771.	100.00 %

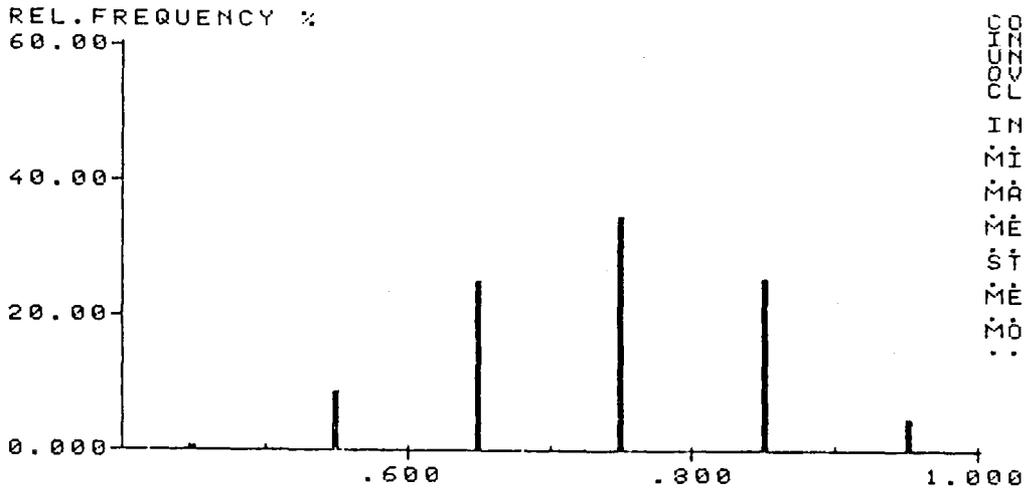
GRAFICA IV-31

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA EL SECTOR α_e TOTAL,
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS,

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 67 ??????

A) CHANNELGROUP 1 4 7



COUNT 601
 UNDFLOW 0
 OVFLOW 0
 CLASSES 6
 INTERVAL 0.100000
 MINIMUM 0.400000
 MAXIMUM 1.000000
 MEAN 0.739767
 ST. DEV. 0.1984474E-01
 MEDIAN 0.743510
 MODE 0.750000

FELL

B) ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 67 ??????

CLASSIFICATION LIST FOR FELL IN CHANNELS 1 4 7

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	.40000	.50000	6.	1.00 %	6.	1.00 %
2	.50000	.60000	51.	8.49 %	57.	9.48 %
3	.60000	.70000	153.	25.46 %	210.	34.94 %
4	.70000	.80000	208.	34.61 %	418.	69.55 %
5	.80000	.90000	153.	25.46 %	571.	95.01 %
6	.90000	1.0000	30.	4.99 %	601.	100.00 %

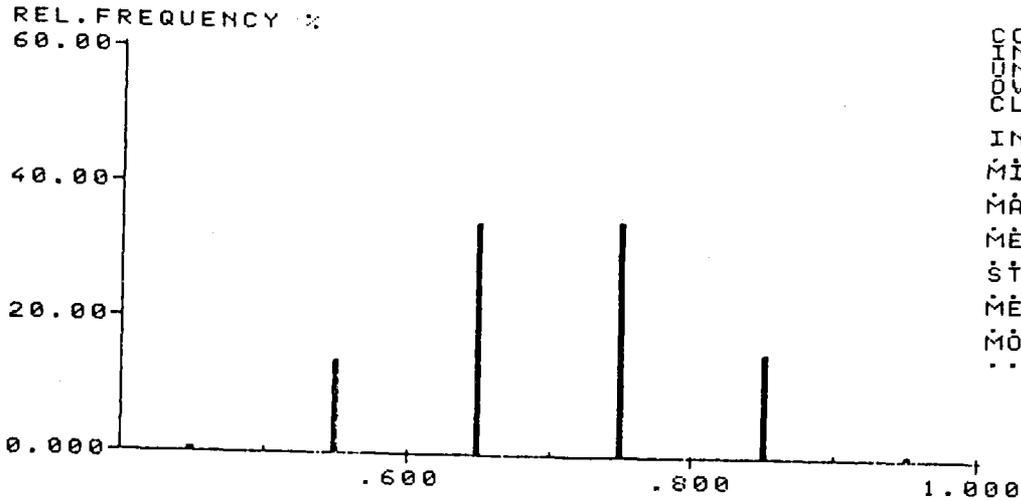
GRAFICA IV-32

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES FRONTALES, PARA EL SECTOR α_e TOTAL.
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM. ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM. REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ???????

A) CHANNELGROUP 1 4 7



ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ???????

B)

CLASSIFICATION LIST FOR FORM ELL IN CHANNELS 1 4 7

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	.40000	.50000	5.	.69 %	5.	.69 %
2	.50000	.60000	99.	13.73 %	104.	14.42 %
3	.60000	.70000	247.	34.26 %	351.	48.68 %
4	.70000	.80000	250.	34.67 %	601.	83.36 %
5	.80000	.90000	112.	15.53 %	713.	98.89 %
6	.90000	1.0000	8.	1.11 %	721.	100.00 %

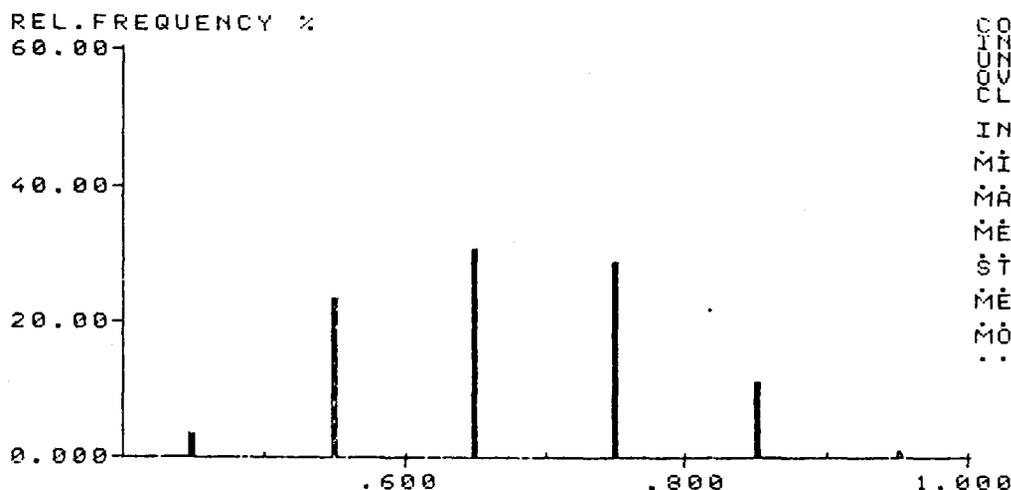
GRAFICA IV-33

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES SAGITALES, PARA EL SECTOR α_e TOTAL,
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS,

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

A) CHANNELGROUP 1



FORM ELL

FORM ELL

B) ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

CLASSIFICATION LIST FOR FORM ELL IN CHANNELS 1

CLASS	FROM	TO	ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	.40000	.50000	10.	3.85 %	10.	3.85 %
2	.50000	.60000	61.	23.46 %	71.	27.31 %
3	.60000	.70000	81.	31.15 %	152.	58.46 %
4	.70000	.80000	75.	28.85 %	227.	87.31 %
5	.80000	.90000	30.	11.54 %	257.	98.85 %
6	.90000	1.0000	3.	1.15 %	260.	100.00 %

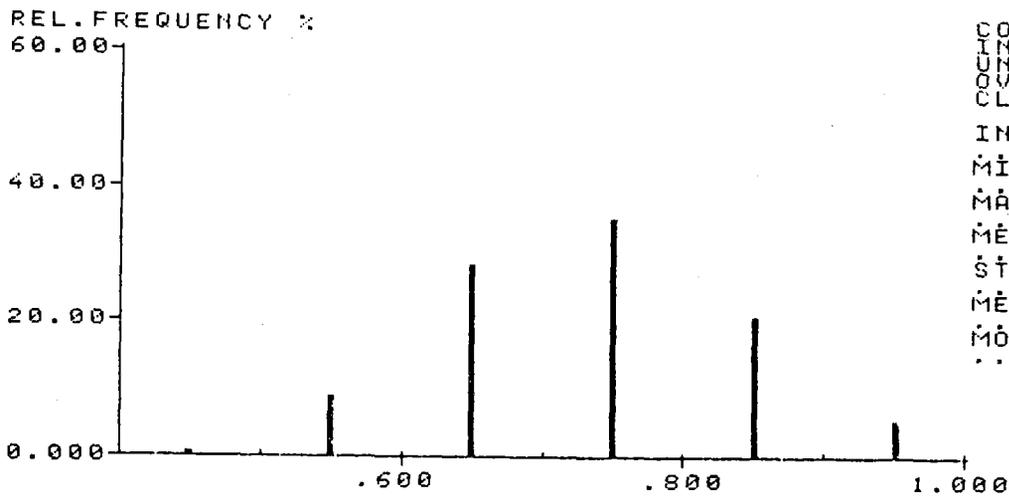
GRAFICA IV-34

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA LA ZONA SUPERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e S$).
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 67 ??????

A) CHANNELGROUP 1



COUNTS
 IN. 000
 UN. 000
 OVER. 000
 CLASS. 000
 FROM 000
 TO 000
 INTERVAL 0.100000
 MINIMUM 0.400000
 MAXIMUM 1.000000
 MEAN 0.731169
 ST. DEV. 0.743333E-01
 MEDIAN 0.733108
 MODE 0.741525

FELL

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 67 ??????

B)

CLASSIFICATION LIST FOR FELL IN CHANNELS 1

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	.40000	.50000	2.	.96 %	2.	.96 %
2	.50000	.60000	19.	9.09 %	21.	10.05 %
3	.60000	.70000	59.	28.23 %	80.	38.28 %
4	.70000	.80000	74.	35.41 %	154.	73.68 %
5	.80000	.90000	44.	21.05 %	198.	94.74 %
6	.90000	1.00000	11.	5.26 %	209.	100.00 %

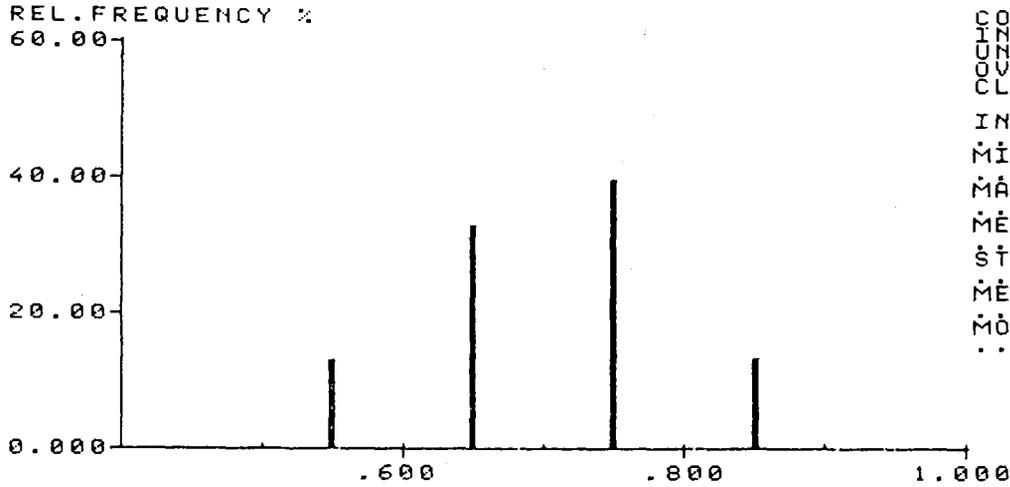
GRAFICA IV-35

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES FRONTALES, PARA LA ZONA SUPERIOR DEL SECTOR α_E ($\alpha_E S$).
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 TOTAL 00 04 ??????

A) CHANNELGROUP 1



COCHC UNZ
 LVZCO UNZ
 RMO UNZ
 SR UNZ
 SRTDIT UNZ
 FILLS UNZ
 S UNZ
 UNZ
 UNZ
 UNZ

INTERVAL 1.00000
 MINIMUM 0.40000
 MAXIMUM 1.00000
 MEAN 0.704770
 ST. DEV. 0.1875152E-01
 MEDIAN 0.700421
 MODE 0.727404

RUN 44
 0100000

FORM ELL

B) ID.NR. TR SA EXT.1
 TOTAL 00 04 ??????

CLASSIFICATION LIST FOR FORM ELL IN CHANNELS 1

UNDERFLOW 0		OVERFLOW 0					
CLASS	FROM	TO	ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL	
1	.40000	.50000	1.	.42 %	1.	.42 %	
2	.50000	.60000	31.	12.92 %	32.	13.33 %	
3	.60000	.70000	80.	33.33 %	112.	46.67 %	
4	.70000	.80000	95.	39.58 %	207.	86.25 %	
5	.80000	.90000	33.	13.75 %	240.	100.00 %	

GRAFICA IV-36

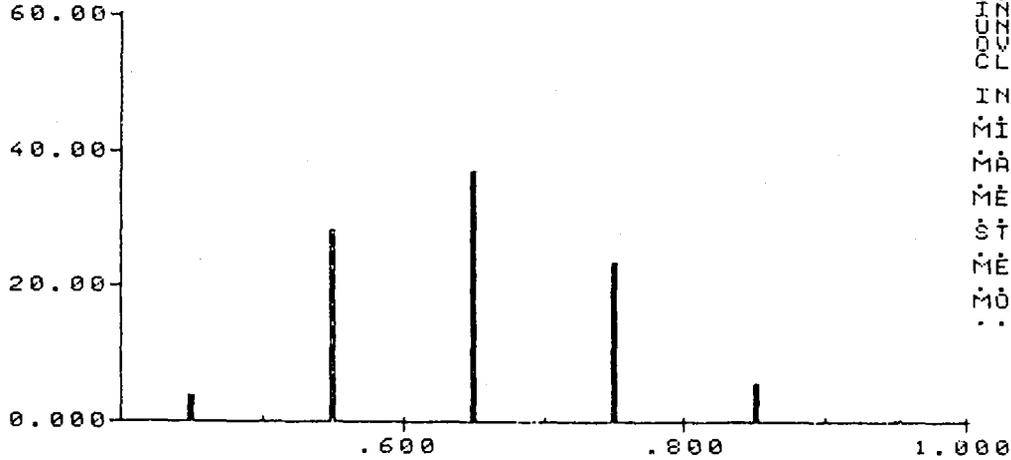
- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES SAGITALES, PARA LA ZONA SUPERIOR DEL SECTOR α_E ($\alpha_{E S}$).
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS,

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
PERFIL 00 18 ??????

A) CHANNELGROUP 4

REL. FREQUENCY %



INTERVIEW
MINIMUM 000000
MAXIMUM 000000
MEAN 1.000000
ST. DEV. 6551824
MEDIAN 952149E-01
MODE 648469
... 645319

FORM ELL

B) ID.NR. TR SA EXT.1
PERFIL 00 18 ??????

CLASSIFICATION LIST FOR FORM ELL IN CHANNELS 4

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	.40000	.50000	10.	3.80 %	10.	3.80 %
2	.50000	.60000	74.	28.14 %	84.	31.94 %
3	.60000	.70000	98.	37.26 %	182.	69.20 %
4	.70000	.80000	63.	23.95 %	245.	93.16 %
5	.80000	.90000	16.	6.08 %	261.	99.24 %
6	.90000	1.0000	2.	.76 %	263.	100.00 %

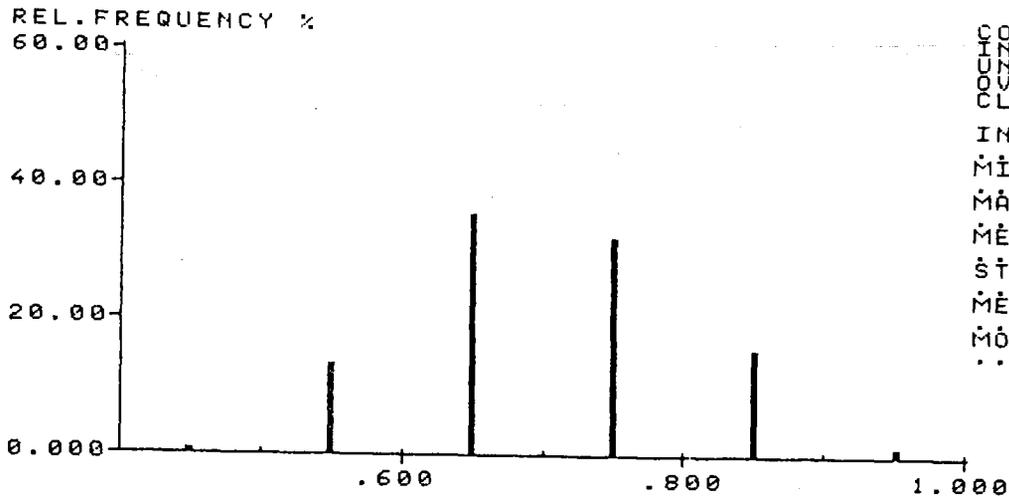
GRAFICA IV-37

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA LA ZONA MEDIA DEL SECTOR α_e ($\alpha_e M$).
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ??????

A) CHANNELGROUP 4



COUCHO UNITS
COUNTS
CLASS. STRENGTHS
STRENGTHS
INTERVAL
MINIMUM 1.00000
MAXIMUM 4.00000
MEAN 1.000000
ST. DEV. .702141
MEDIAN .956004E-01
MODE .699419
.....0.672843

NOV 44 11:00 AM

FORM ELL

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ??????

B)

CLASSIFICATION LIST FOR FORM ELL IN CHANNELS 4

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	.40000	.50000	2.	.83 %	2.	.83 %
2	.50000	.60000	33.	13.69 %	35.	14.52 %
3	.60000	.70000	86.	35.68 %	121.	50.21 %
4	.70000	.80000	78.	32.37 %	199.	82.57 %
5	.80000	.90000	38.	15.77 %	237.	98.34 %
6	.90000	1.0000	4.	1.66 %	241.	100.00 %

GRAFICA IV-39

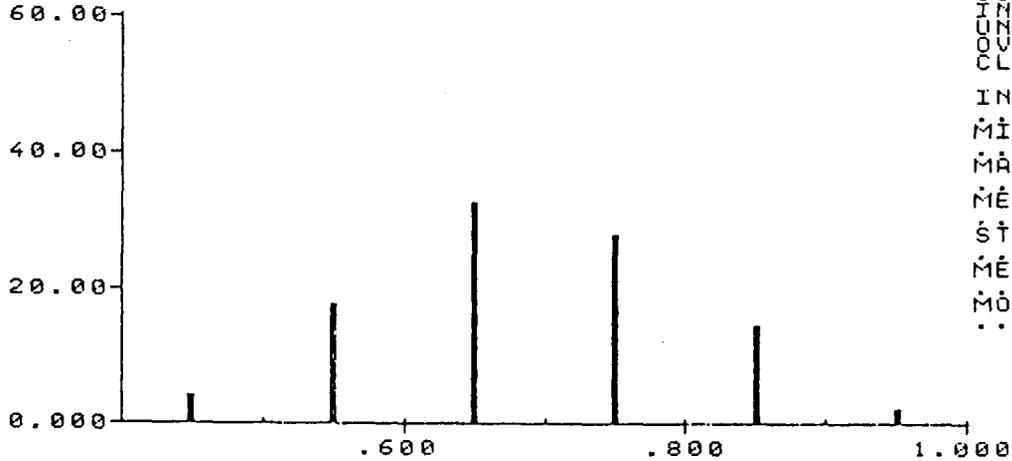
- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES SAGITALES, PARA LA ZONA MEDIA DEL SECTOR α_e ($\alpha_e M$),
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

A) CHANNELGROUP 7

REL. FREQUENCY %



COUNTS
 UNDERFLOW 0
 OVERFLOW 0
 CLASSES 6
 INTERVAL 0.100000
 MINIMUM 0.400000
 MAXIMUM 1.000000
 MEAN 0.689662
 ST. DEV 0.109353
 MEDIAN 0.685185
 MODE 0.662308

000000
 44
 6

FORM ELL

B) ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

CLASSIFICATION LIST FOR FORM ELL IN CHANNELS 7

CLASS	FROM	TO	ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	.40000	.50000	10.	4.03 %	10.	4.03 %
2	.50000	.60000	45.	18.15 %	55.	22.18 %
3	.60000	.70000	81.	32.66 %	136.	54.84 %
4	.70000	.80000	69.	27.82 %	205.	82.66 %
5	.80000	.90000	37.	14.92 %	242.	97.58 %
6	.90000	1.0000	6.	2.42 %	248.	100.00 %

GRAFICA IV-40

A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA LA ZONA INFERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e I$).

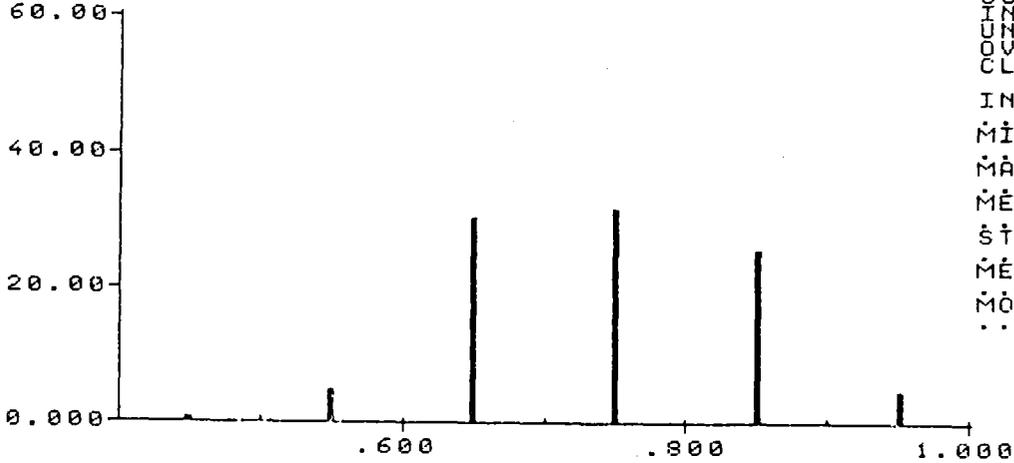
B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 67 ??????

A) CHANNELGROUP 7

REL.FREQUENCY %



COUNTS 191
 UNDERFLOW 0
 OVERFLOW 0
 CLASSES 6
 INTERVAL 0.100000
 MINIMUM 0.400000
 MAXIMUM 0.900000
 MEAN 0.742929
 ST. DEV 0.229745E-01
 MEDIAN 0.741803
 MODE 0.744706

FELL

B) ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 67 ??????

CLASSIFICATION LIST FOR FELL IN CHANNELS 7

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	.40000	.50000	2.	1.05 %	2.	1.05 %
2	.50000	.60000	9.	4.71 %	11.	5.76 %
3	.60000	.70000	59.	30.89 %	70.	36.65 %
4	.70000	.80000	61.	31.94 %	131.	68.59 %
5	.80000	.90000	50.	26.18 %	181.	94.76 %
6	.90000	1.00000	10.	5.24 %	191.	100.00 %

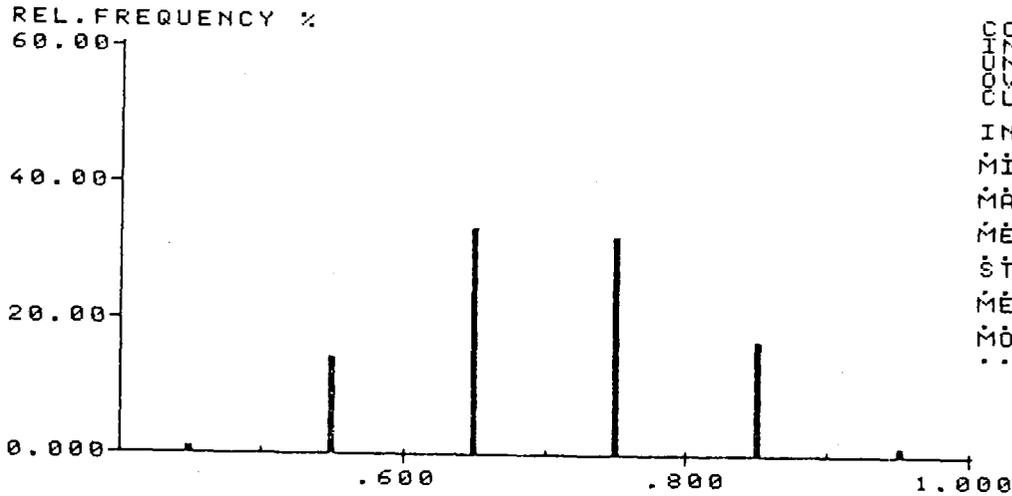
GRAFICA IV-41

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES FRONTALES, PARA LA ZONA INFERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e I$).
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ??????

A) CHANNELGROUP 7



COUNTS RANGE 240
UNDERFLOW 400
OVERFLOW 00000
CLASSES 6
INTERVAL 0.100000
MINIMUM 0.400000
MAXIMUM 1.000000
MEAN 0.704301
ST. DEV. 0.1980535E-01
MEDIAN 0.702597
MODE 0.671762

FORM ELL

B) ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ??????

CLASSIFICATION LIST FOR FORM ELL IN CHANNELS 7

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	.40000	.50000	2.	.83 %	2.	.83 %
2	.50000	.60000	35.	14.58 %	37.	15.42 %
3	.60000	.70000	81.	33.75 %	118.	49.17 %
4	.70000	.80000	77.	32.08 %	195.	81.25 %
5	.80000	.90000	41.	17.08 %	236.	98.33 %
6	.90000	1.0000	4.	1.67 %	240.	100.00 %

GRAFICA IV-42

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES SAGITALES, PARA LA ZONA INFERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e I$),
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

ZONA	F.F.e.	HORIZONTALES	FRONTALES	SAGITALES
α_E SUPERIOR	% < 0,8	87,31	73,68	86,25
	% \geq 0,8	12,69	26,32	13,75
α_E MEDIA	% < 0,8	93,16	66,17	82,57
	% \geq 0,8	6,84	33,83	17,43
α_E INFERIOR	% < 0,8	82,66	68,59	81,25
	% \geq 0,8	17,34	31,41	18,75
α_E TOTAL	% < 0,8	87,81	69,55	83,36
	% \geq 0,8	12,19	30,45	16,64

TABLA IV-10._ Porcentajes correspondientes a las dos clases de perfiles neuronales clasificados según el factor de forma elíptica (F.F.e): F.F.e. < 0,8 = clase 1; F.F.e. \geq 0,8 = clase 2. Dichos porcentajes se encuentran pormenorizados para cada una de las tres direcciones de corte en cada una de las zonas en las que se dividió el sector α_E del NGLd del conejo para su estudio.

De la observación de la tabla IV-10 así como de las gráficas IV-31 a IV-42 se desprende que, en líneas generales, la mayoría de las células del sector α_E presentan una forma elipsoidal debido al elevado porcentaje, en las zonas analizadas, de perfiles neuronales con valores de factor de forma elíptica inferiores a 0,8 y de entre tales valores resultan mayoritariamente comprendidos, aquellos que ofrecen factor de forma entre 0,8 - 0,6. También se puede apreciar que hay una mayor coincidencia entre los valores obtenidos para los cortes horizontales y sagitales que con respecto a los frontales.

Las diferencias apreciadas en cuanto a los porcentajes de estos factores de forma, avalan la existencia de un principio de ordenación

espacial de las neuronas en el NGLd, o al menos en el sector que estamos estudiando. Evidentemente, si la ordenación espacial de los elementos fuera sólo aparente, estas diferencias complementarias en cuanto a porcentajes, no habrían existido. Este aspecto nos permite resaltar la utilidad de seccionar una estructura desde varios ángulos de corte, contrastando los resultados obtenidos en cada caso de sección para determinar con certeza si en dicha estructura existe o no algún tipo de ordenación espacial.

Otro aspecto que queremos exponer aquí es como, al comparar los datos procedentes del estudio en cada zona, se comprende que de los tres porcentajes de valores obtenidos (horizontal, frontal y sagital) referentes al factor de forma elíptica (F.F.e. = $< 0,8$), el más próximo a la realidad será aquel cuyo valor esté por encima de los otros dos, ya que los perfiles elípticos no pueden provenir de células esferoidales; sino solamente de elipsoides; y aquel porcentaje de perfiles elípticos más alto, será mejor reflejo de tal existencia. Por el contrario, para las otras dos direcciones (de porcentajes más bajos) el descenso será debido a su diferente orientación celular, ya que a medida que la dirección de corte aparece más perpendicular con respecto al diámetro mayor de la célula, el valor del factor de forma se incrementa (tendencia a 1). Con tal situación, es evidente que el porcentaje de perfiles más circulares aumente y el de perfiles elípticos disminuya. De lo dicho, se desprende y comprueba como el corte horizontal es el que produce y sorprende a las neuronas del NGLd del conejo según la dirección más favorable a su diámetro mayor y por ello es el que ofrece disposiciones o perfiles elípticos de factor de forma elíptica (F.F.e. $< 0,8$) más acusado.

Puede llamar la atención el hecho de que se obtenga mayor porcentaje de perfiles elípticos a partir de los cortes sagitales que en los frontales, a pesar de que ofrecen áreas menores (ver tablas IV-2 a IV-5 y gráficas IV-7 a IV-18). Ello solamente puede explicarse entendiendo que es la orientación de las células pequeñas y forma elíptica, la que se presenta a favor de los cortes sagitales. Según esto, conjugando los datos acerca del tamaño y forma de los perfiles neuronales seguimos viendo como

sirven estos datos para obtener información sobre la orientación de las células. Podemos así saber cual es la dirección preferente en la que se ofrecen los perfiles mayores y, a través de la forma elíptica, el interés de los ángulos de desviación necesarios para explicar lo obtenido en cada dirección de corte.

Como consecuencia de lo anteriormente expuesto, presentamos a continuación los valores medios ofrecidos por las áreas de los perfiles neuronales obtenidos desde cada dirección de corte, así como los correspondientes porcentajes de perfiles con un factor de forma elíptica menor de 0,8:

	<u>Area media</u>	<u>% F.F.e. < 0.8</u>
Horizontales	197,897 ± 3,444	87,81%
Frontales	202,033 ± 3,771	69,55%
Sagittales	183,915 ± 2,651	83,36%

Como se ve los valores de área media para las direcciones horizontal y frontal, resultan semejantes (no existen diferencias significativas a un nivel de significación del 0,05%); ¿cómo pueden dar entonces porcentajes tan diferentes en cuanto a la forma elíptica?. Porque, en primer lugar, el mayor número de orientaciones elípticas lo están en la dirección horizontal y porque además aquellas elípticas de un valor de tamaño medio lo están más preferentemente en la dirección frontal que en la sagital. Pongamos un ejemplo, sea la figura IV-25, en la que tres células aparecen orientadas preferentemente en dirección A y seis preferentemente en dirección B (contraria); las secciones provenientes de la dirección A darán mayor número de perfiles elípticos que las provenientes de la dirección B, pero la suma de las áreas de los nueve perfiles podrán dar valores parecidos. De este modo la información conjunta de valores o

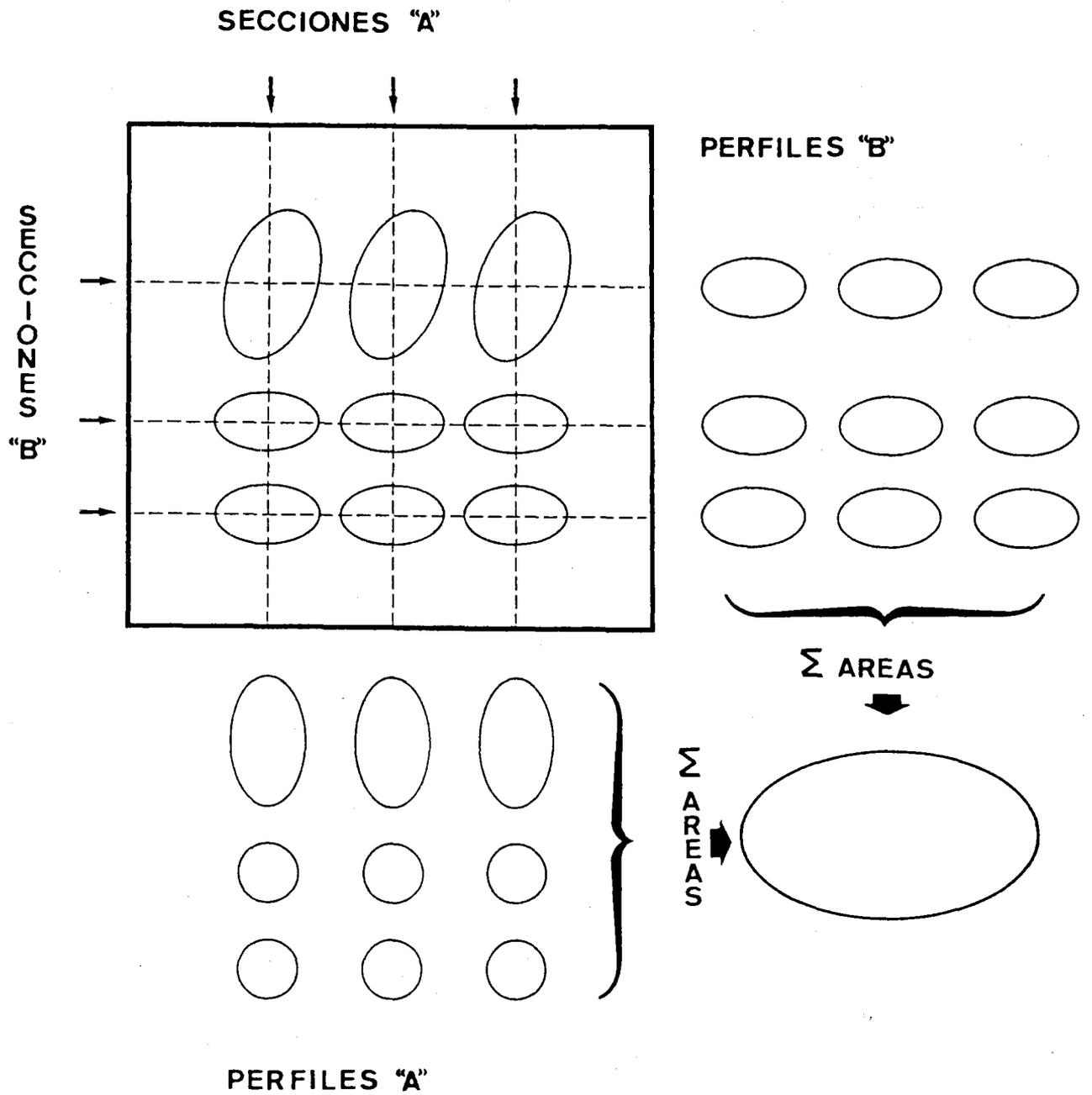


FIGURA IV-25

clases por tamaños y de porcentajes de forma elíptica resultan convenientes para obtener información sobre la orientación celular.

Siguiendo este mismo proceder se puede entender que el alto número de perfiles elípticos en los cortes sagitales se debe a una orientación favorable para ese tipo de sección. Pero como vemos que la media del área de sus perfiles da un valor bastante menor que el obtenido en frontales, quiere ello decir que muy probablemente son células pequeñas las que ofrecen esa orientación favorable.

Del análisis final de las gráficas y cuadros de valores antedichos se desprende que:

- El mayor número de neuronas del sector α_E del NGLd del conejo tiene una forma tendente a la elipsoide.
- Existe más de un tamaño fundamental correspondiente a diferentes tipos neuronales.
- Las neuronas elipsoidales mayores ofrecen su orientación tendente a la horizontalidad extero-interna e intero-externa dando sus mayores perfiles al corte frontal y horizontal.
- Los perfiles neuronales elipsoidales menores (que son más abundantes) ofrecen una orientación más antero-posterior (o no tan oblicua) en relación al eje extero-interno, con perfiles de dirección preferente al corte sagital y horizontal.
- Podrían existir según el caso pequeños porcentajes de células esféricas.

Estas afirmaciones están en concordancia y pueden comprobarse al estudiar las preparaciones histológicas.

6.6. Análisis del factor de forma elíptica de los perfiles de los núcleos neuronales.

Analicemos ahora, con respecto al factor de forma elíptica (F.F.e.) de los perfiles de los núcleos neuronales, los resultados obtenidos para cada una de las zonas del sector α_E del NGLd del conejo y en cada una de las tres direcciones de corte estudiadas (horizontal, frontal y sagital). Detallamos el conjunto de datos en las gráficas comprendidas entre los números IV-43 y IV-54. A partir de ellas hemos confeccionado, a modo de resumen, la tabla IV-11.

Si comparamos los valores de los porcentajes referentes al factor de forma elíptica de los núcleos (tabla IV-11) con los valores medios de las áreas de estos mismos (estos últimos valores medios, se pueden encontrar en las gráficas correspondientes a las áreas de los perfiles nucleares, pero para mayor comodidad se han recogido en la tabla IV-12, que se expone en esta sección), vemos que a pesar de que las secciones horizontales son las que mayores perfiles de áreas nucleares han producido, resulta que en cada uno de sus sectores el número de perfiles tendentes a forma circular es muy acusado en cualquiera de las direcciones de corte horizontal y sagital; así por ejemplo, para la zona superior del sector α_E en los cortes horizontales, encontramos un 74,23% de perfiles nucleares con un factor de forma mayor o igual a 0,8, mientras que el 25,77% restante presenta un factor de forma elíptica menor de 0,8. Por el contrario, en los cortes frontales tales valores aparecen invertidos, ¿por qué esta circunstancia?. La única explicación posible es que la forma de los núcleos sea discoidal, con una orientación de sus diámetros mayores a favor de los cortes horizontales y sagitales, y una orientación de sus diámetros menores (o grosor del disco) en los cortes frontales. Tales circunstancias deberán ser tenidas en cuenta cuando analicemos los caracteres de las poblaciones celulares concretas a partir de los tamaños de soma y forma elíptica de sus perfiles.

ZONA	F. F. e.	HORIZONTALES	FRONTALES	SAGITALES
α_E SUPERIOR	% < 0,8	25,77	77,51	45,83
	% \geq 0,8	74,23	22,49	54,17
α_E MEDIO	% < 0,8	20,53	61,69	43,98
	% \geq 0,8	79,47	38,31	56,02
α_E INFERIOR	% < 0,8	31,85	63,87	63,33
	% \geq 0,8	68,15	36,13	36,67
α_E TOTAL	% < 0,8	25,94	67,89	51,04
	% \geq 0,8	74,06	32,11	48,96

TABLA IV-11._ Porcentajes correspondientes a las dos clases de perfiles nucleares clasificados según el factor de forma elíptica (F.F.e.): F.F.e. < 0,8 = clase 1; F.F.e. \geq 0,8 = clase 2. Dichos porcentajes se encuentran pormenorizados para cada una de las tres direcciones de corte así como en cada una de las zonas del sector α_E del NGLd del conejo.

ZONA	HORIZONTALES	FRONTALES	SAGITALES
α_E SUPERIOR	103,732 \pm 2,802	94,178 \pm 2,435	95,855 \pm 2,275
α_E MEDIA	103,569 \pm 2,619	98,641 \pm 2,872	94,094 \pm 1,865
α_E INFERIOR	89,428 \pm 2,191	87,533 \pm 2,747	82,982 \pm 1,812
α_E TOTAL	99,075 \pm 1,550	93,559 \pm 1,589	90,981 \pm 1,190

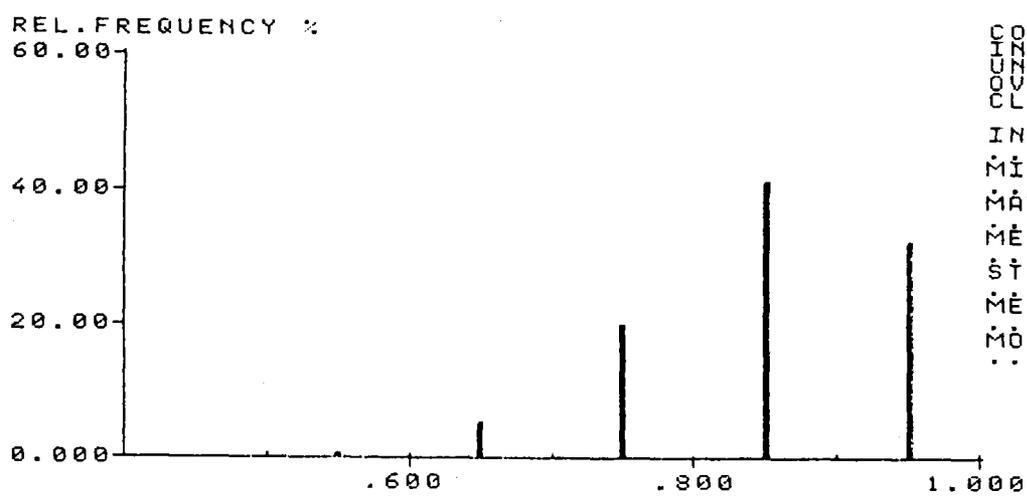
(Intervalo de confianza del 95%)

TABLA IV-12._ Valores medios estimados para el área de los perfiles nucleares, en cada zona de estudio y para cada orientación.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ???????

A) CHANNELGROUP 2 5 8



COUNTS 771
 UNDERFLOW 771
 OVERFLOW 0
 CLASSES 6
 INTERVAL 0.100000
 MINIMUM 0.400000
 MAXIMUM 1.000000
 MEAN 0.848746
 ST. DEV 0.14168E-01
 MEDIAN 0.858150
 MODE 0.863517

FORM ELL

B) ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ???????

CLASSIFICATION LIST FOR FORM ELL IN CHANNELS 2 5 8

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
2	.50000	.60000	4.	.52 %	4.	.52 %
3	.60000	.70000	42.	5.45 %	46.	5.97 %
4	.70000	.80000	154.	19.97 %	200.	25.94 %
5	.80000	.90000	319.	41.37 %	519.	67.32 %
6	.90000	1.00000	252.	32.68 %	771.	100.00 %

GRAFICA IV-43

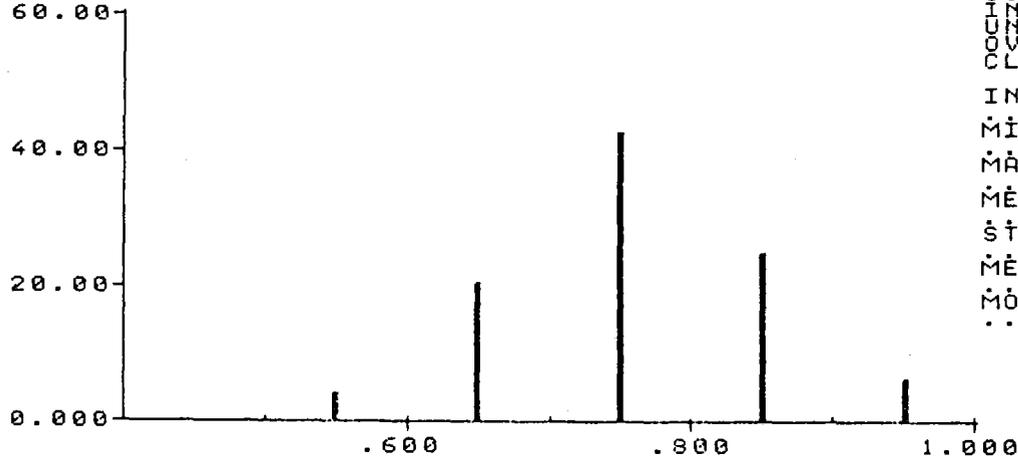
- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA EL SECTOR α_e TOTAL.
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 67 ??????

A) CHANNELGROUP 2 5 8

REL. FREQUENCY %



COUCHO 000
 LUNO 000
 ANO 000
 SEX 000
 ESTAD 000
 FILIZ 000
 SOD 000
 LIN 000
 INTER VAL 00000
 MINIMUM 00000
 MAXIMUM 00000
 MEAN 1.000000
 ST. DEV. 0.756934
 MEDIAN 0.92187E-01
 MODE 0.758333
 ... 0.755421

FELL

B) ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 67 ??????

CLASSIFICATION LIST FOR FELL IN CHANNELS 2 5 8

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	.40000	.50000	2.	.33 %	2.	.33 %
2	.50000	.60000	24.	3.99 %	26.	4.33 %
3	.60000	.70000	124.	20.63 %	150.	24.96 %
4	.70000	.80000	258.	42.93 %	408.	67.89 %
5	.80000	.90000	153.	25.46 %	561.	93.34 %
6	.90000	1.0000	40.	6.66 %	601.	100.00 %

GRAFICA IV-44

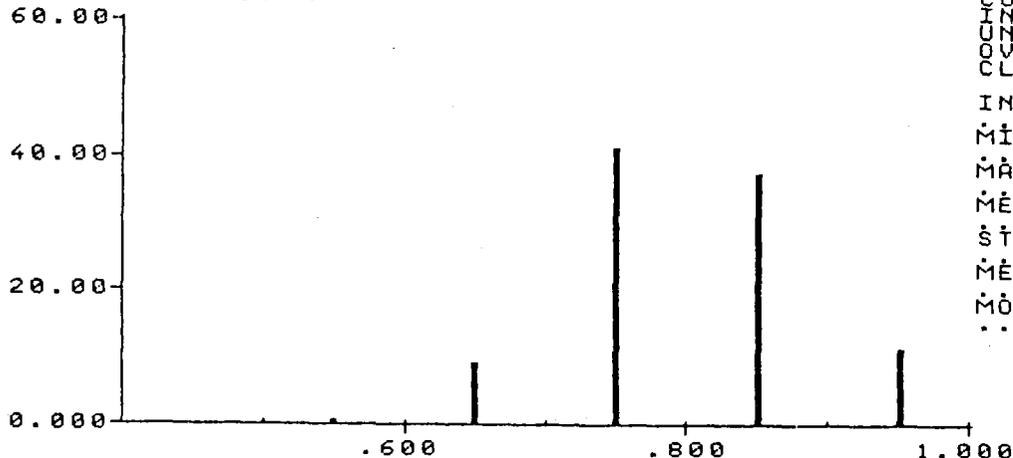
- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES FRONTALES, PARA EL SECTOR α_e TOTAL.
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ??????

A) CHANNELGROUP 2 5 8

REL. FREQUENCY %



COUNT 10000
OVERFLOW 0
CLASS 5
INTERVAL 0.10000
MINIMUM 0.40000
MAXIMUM 1.00000
MEAN 0.797296
STANDARD DEV 0.163723E-01
MEDIAN 0.797475
MODE 0.782019

FORM ELL

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ??????

B)

CLASSIFICATION LIST FOR FORM ELL IN CHANNELS 2 5 8

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
2	.50000	.60000	4.	.55 %	4.	.55 %
3	.60000	.70000	67.	9.29 %	71.	9.85 %
4	.70000	.80000	297.	41.19 %	368.	51.04 %
5	.80000	.90000	270.	37.45 %	638.	88.49 %
6	.90000	1.0000	83.	11.51 %	721.	100.00 %

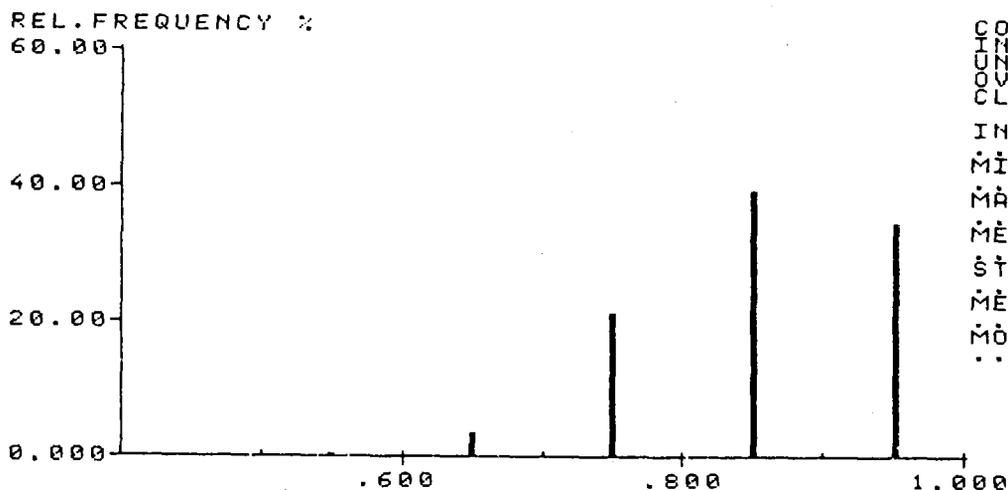
GRAFICA IV-45

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES SAGITALES, PARA EL SECTOR α_e TOTAL,
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS,

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

A) CHANNELGROUP 2



COUNTS 5000
 UNDERFLOW 5
 OVERFLOW 5
 INTERVAL 0.100000
 MINIMUM 0.400000
 MAXIMUM 1.000000
 MEAN 0.853272
 ST. DEV. 0.0792032E-01
 MEDIAN 0.861765
 MODE 0.864056

FORM ELL

B) ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

CLASSIFICATION LIST FOR FORM ELL IN CHANNELS 2

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
2	.50000	.60000	1.	.38 %	1.	.38 %
3	.60000	.70000	10.	3.85 %	11.	4.23 %
4	.70000	.80000	56.	21.54 %	67.	25.77 %
5	.80000	.90000	102.	39.23 %	169.	65.00 %
6	.90000	1.0000	91.	35.00 %	260.	100.00 %

GRAFICA IV-46

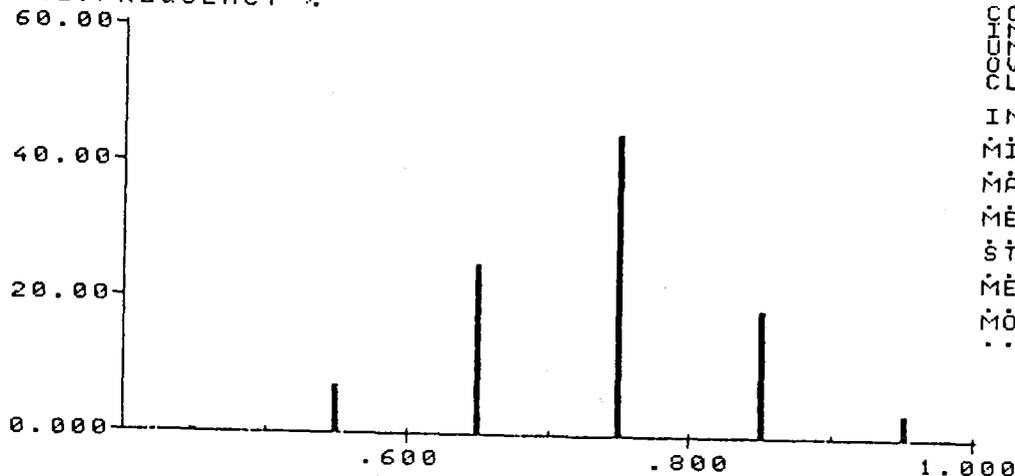
- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA LA ZONA SUPERIOR DEL SECTOR α_E ($\alpha_{E S}$).
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM. ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM. REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 67 ??????

A) CHANNELGROUP 2

REL. FREQUENCY %



COUNTS
 IN RANGE 000000
 UNDERFLOW 00
 OVERFLOW 000000
 CLASSES 6
 INTERVAL 0.100000
 MINIMUM 0.400000
 MAXIMUM 0.900000
 MEAN 0.730691
 ST. DEV 0.184006E-01
 MEDIAN 0.738172
 MODE 0.742432

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 67 ??????

B)

CLASSIFICATION LIST FOR FELL IN CHANNELS 2

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	.40000	.50000	1.	.48 %	1.	.48 %
2	.50000	.60000	15.	7.18 %	16.	7.66 %
3	.60000	.70000	53.	25.36 %	69.	33.01 %
4	.70000	.80000	93.	44.50 %	162.	77.51 %
5	.80000	.90000	39.	18.66 %	201.	96.17 %
6	.90000	1.0000	8.	3.83 %	209.	100.00 %

GRAFICA IV-47

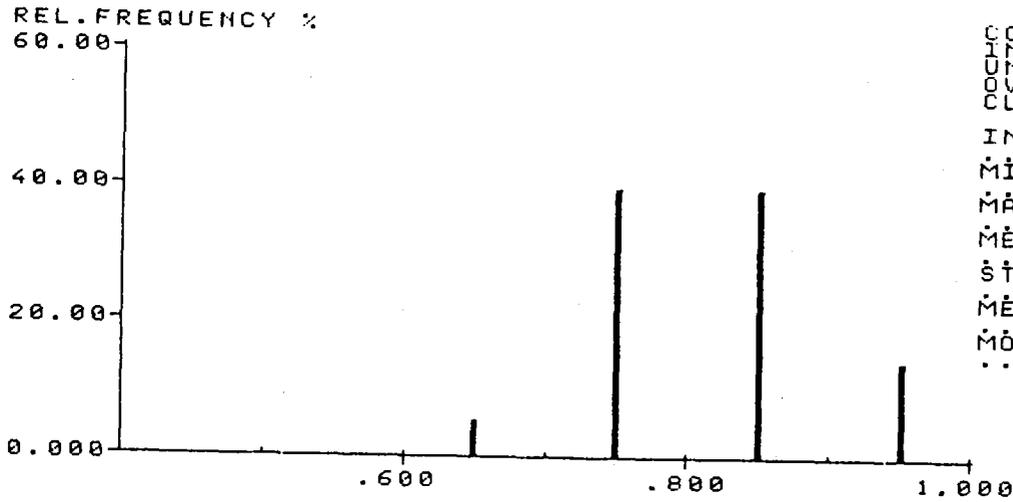
A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES ERONTALES, PARA LA ZONA SUPERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e S$).

B) VALDRES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ???????

A) CHANNELGROUP 2



COUNT 100000
COVERED 44
CLASSES 100000
INTERVAL 0.100000
MINIMUM 0.400000
MAXIMUM 1.000000
MEAN 0.806549
ST. DEV. 0.263170E-01
MEDIAN 0.810526
MODE 0.823333

FORM ELL

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ???????

B)

CLASSIFICATION LIST FOR FORM ELL IN CHANNELS 2

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
2	.50000	.60000	1.	.42 %	1.	.42 %
3	.60000	.70000	14.	5.83 %	15.	6.25 %
4	.70000	.80000	95.	39.58 %	110.	45.83 %
5	.80000	.90000	95.	39.58 %	205.	85.42 %
6	.90000	1.00000	35.	14.58 %	240.	100.00 %

GRAFICA IV-48

A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES SAGITALES, PARA LA ZONA SUPERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e S$),

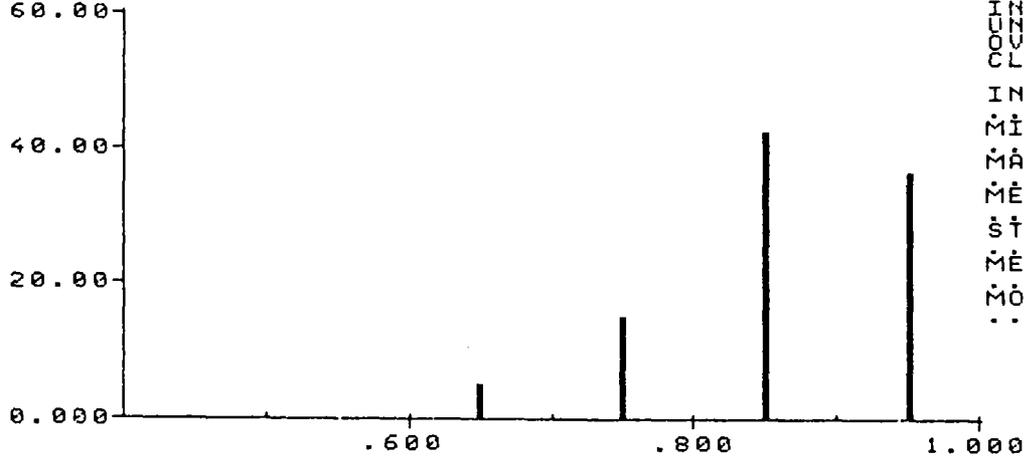
B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS,

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ???????

A) CHANNELGROUP 5

REL. FREQUENCY %



CHOUN
 CLAS
 INTER
 MINIM
 MAXIM
 MEAN
 ST. DE
 MEDI
 MODE

UN
 RN
 ST
 REL
 SOG
 LLE

INTERVAL
 1.00000
 4.00000
 1.00000
 859163
 757474E-01
 0.868584
 0.872490

FORM ELL

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ???????

B)

CLASSIFICATION LIST FOR FORM ELL IN CHANNELS 5

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
3	.60000	.70000	14.	5.32 %	14.	5.32 %
4	.70000	.80000	40.	15.21 %	54.	20.53 %
5	.80000	.90000	113.	42.97 %	167.	63.50 %
6	.90000	1.00000	96.	36.50 %	263.	100.00 %

GRAFICA IV-49

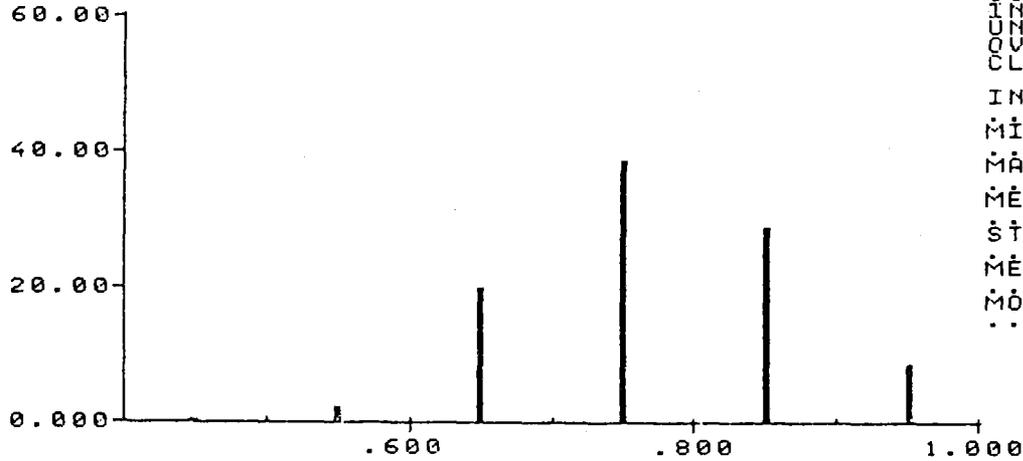
- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA LA ZONA MEDIA DEL SECTOR α_E ($\alpha_E M$).
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS,

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 67 ??????

A) CHANNELGROUP 5

REL. FREQUENCY %



COUNTS 1000
 IN UNDEF. R. 000
 OVERFLOW 000
 CLASSES 5
 INTERVAL 0.100000
 MINIMUM 0.400000
 MAXIMUM 1.000000
 MEAN 0.770022
 ST. DEV. 0.12946E-01
 MEDIAN 0.769872
 MODE 0.760734

FELL

B) ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 67 ??????

CLASSIFICATION LIST FOR FELL IN CHANNELS 5

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
1	.40000	.50000	1.	.50 %	1.	.50 %
2	.50000	.60000	5.	2.49 %	6.	2.99 %
3	.60000	.70000	40.	19.90 %	46.	22.89 %
4	.70000	.80000	78.	38.81 %	124.	61.69 %
5	.80000	.90000	59.	29.35 %	183.	91.04 %
6	.90000	1.0000	18.	8.96 %	201.	100.00 %

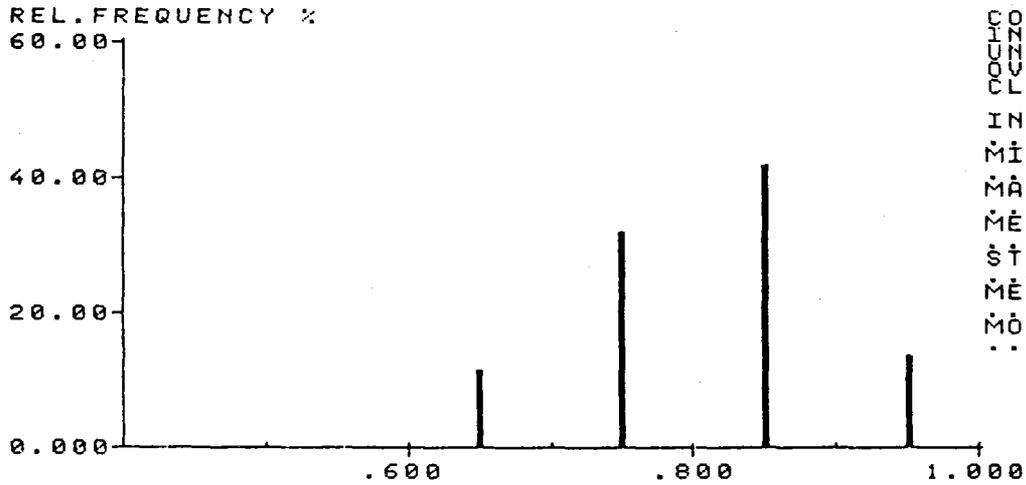
GRAFICA IV-50

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES FRONTALES, PARA LA ZONA MEDIA DEL SECTOR α_E ($\alpha_E M$).
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM. ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM. REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ??????

A) CHANNELGROUP 5



COUNT 441
NO. OF 241
CLASS 6
INTERVAL 1.00000
MINIMUM 0.40000
MAXIMUM 1.00000
MEAN 0.805003
ST. DEV. 0.171734E-01
MEDIAN 0.814216
MODE 0.829245

FORM ELL

B) ID.NR. TR SA EXT.1
TOTAL 00 04 ??????

CLASSIFICATION LIST FOR FORM ELL IN CHANNELS 5

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
2	.50000	.60000	1.	.41 %	1.	.41 %
3	.60000	.70000	28.	11.62 %	29.	12.03 %
4	.70000	.80000	77.	31.95 %	106.	43.98 %
5	.80000	.90000	102.	42.32 %	208.	86.31 %
6	.90000	1.00000	33.	13.69 %	241.	100.00 %

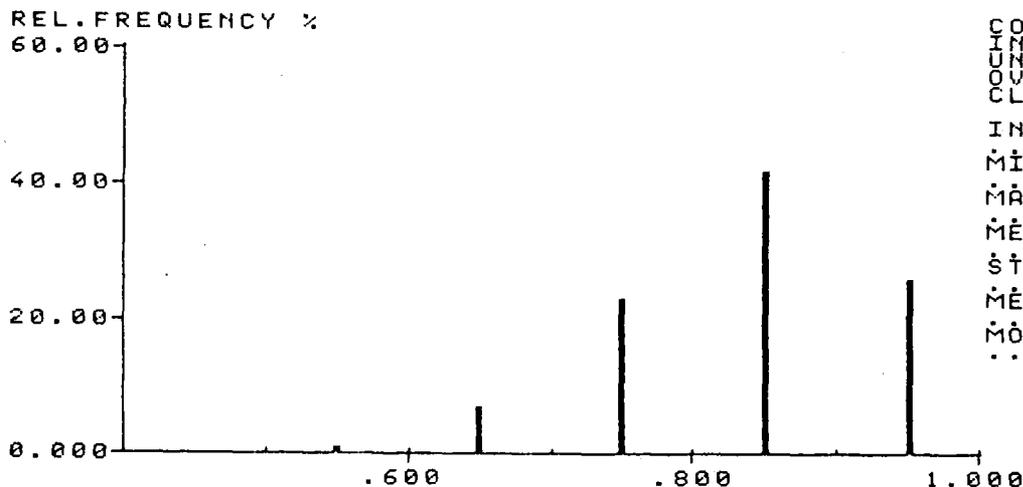
GRAFICA IV-51

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES SAGITALES, PARA LA ZONA MEDIA DEL SECTOR α_E ($\alpha_E M$).
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

A) CHANNELGROUP 8



COUNTS
 MINIMUM 100000
 MAXIMUM 400000
 MEAN 1.000000
 ST. DEV. 0.832951
 MEDIAN 0.872509E-01
 MODE 0.843269
 0.853084

FORM ELL

B) ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 18 ??????

CLASSIFICATION LIST FOR FORM ELL IN CHANNELS 8

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
2	.50000	.60000	3.	1.21 %	3.	1.21 %
3	.60000	.70000	18.	7.26 %	21.	8.47 %
4	.70000	.80000	58.	23.39 %	79.	31.85 %
5	.80000	.90000	104.	41.94 %	183.	73.79 %
6	.90000	1.0000	65.	26.21 %	248.	100.00 %

GRAFICA IV-52

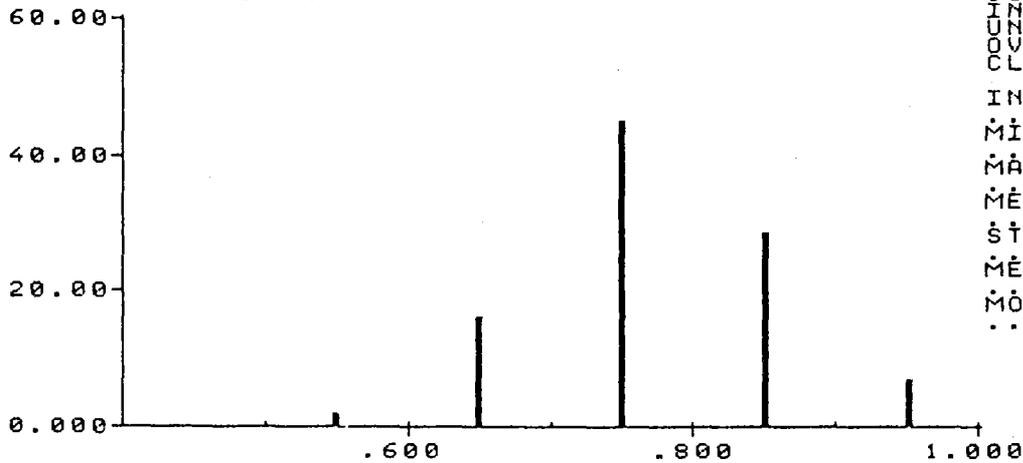
- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA LA ZONA INFERIOR DEL SECTOR α_E ($\alpha_{E I}$).
- B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS.

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 PERFIL 00 67 ??????

A) CHANNELGROUP 8

REL. FREQUENCY %



COUNTS 191
 UNCORRECTED 191
 OVERFLOW 0
 CLASSES 6
 INTERVAL 0.100000
 MINIMUM 0.400000
 MAXIMUM 1.000000
 MEAN 0.771873
 ST. DEV. 0.15190E-01
 MEDIAN 0.769540
 MODE 0.763873

FELL

ID.NR. TR SA EXT.1

B) PERFIL 00 67 ??????

CLASSIFICATION LIST FOR FELL IN CHANNELS 8

UNDERFLOW 0 OVERFLOW 0

CLASS	FROM	TO	FREQUENCIES			
			ABS	REL	CUM. ABS	CUM. REL
2	.50000	.60000	4.	2.09 %	4.	2.09 %
3	.60000	.70000	31.	16.23 %	35.	18.32 %
4	.70000	.80000	87.	45.55 %	122.	63.87 %
5	.80000	.90000	55.	28.80 %	177.	92.67 %
6	.90000	1.00000	14.	7.33 %	191.	100.00 %

GRAFICA IV-53

A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE AL FACTOR DE FORMA ELIPTICA DE LOS NUCLEOS DE LOS PERFILES NEURONALES EN LOS CORTES FRONTALES, PARA LA ZONA INFERIOR DEL SECTOR α_E (α_{E1}),

B) VALORES DE LAS FRECUENCIAS ABSOLUTAS (ABS), RELATIVAS (REL), ABSOLUTAS ACUMULADAS (CUM, ABS) Y RELATIVAS ACUMULADAS (CUM, REL), PARA CADA UNA DE LAS CLASES ESTABLECIDAS,

6.7. Relación núcleo/citoplasma.

La relación núcleo/citoplasma consideramos que podía establecerse sobre los siguientes parámetros:

- a) Diámetro menor perfil núcleo/Diámetro menor perfil soma (DN/DS).
- b) Diámetro menor perfil núcleo/Área perfil soma (D<N/A.S.).
- c) Área perfil núcleo/Área perfil soma (Nu/Cit).

Para la realización de los cálculos anteriores tomamos los valores de los parámetros correspondientes del núcleo y del soma (diámetro mínimo de cada perfil y área de cada perfil). En las gráficas comprendidas entre los números IV-55 a IV-72 se detallan los resultados correspondientes a cada relación, para cada tipo de sección (horizontal, frontal y sagital), así como para cada zona del sector α_E del NGLd. Asimismo, con los valores medios contenidos en dichas gráficas hemos construido las tablas IV-13 (relación "a"), IV-14 (relación "b") y IV-15 (relación "c"). De las tres posibles relaciones anteriores, la que resulta más completa y vamos a emplear en el presente análisis será la "c".

ZONA	HORIZONTALES	FRONTALES	SAGITALES
α_E SUPERIOR	0,778	0,674	0,747
α_E MEDIO	0,788	0,695	0,729
α_E INFERIOR	0,767	0,697	0,726
α_E TOTAL	0,778	0,688	0,734

TABLA IV-13. Valores medios para cada zona y dirección de corte, de la relación entre el diámetro menor de los perfiles nucleares y el diámetro menor de los correspondientes perfiles neuronales (relación "a").

ZONA	HORIZONTALES	FRONTALES	SAGITALES
α_E SUPERIOR	5,324	4,682	5,412
α_E MEDIO	5,277	4,862	5,226
α_E INFERIOR	5,716	5,182	5,572
α_E TOTAL	5,434	4,901	5,403

TABLA IV-14._ Valores medios para cada zona y dirección de corte, de la relación entre el diámetro menor de los perfiles nucleares y el área de los correspondientes perfiles neuronales (relación "b").

ZONA	HORIZONTALES	FRONTALES	SAGITALES
α_E SUPERIOR	0,505	0,459	0,510
α_E MEDIO	0,499	0,474	0,489
α_E INFERIOR	0,512	0,473	0,497
α_E TOTAL	0,505	0,468	0,498

TABLA IV-15._ Valores medios para cada zona y dirección de corte, de la relación entre el área de los perfiles nucleares y el área de los correspondientes perfiles neuronales (relación "c").

A partir de estos valores se pueden sacar las siguientes conclusiones:

- 1ª La relación existente entre el área del núcleo y la del soma (punto "c") es de aproximadamente $\frac{1}{2}$, siendo mayor cuando las secciones estudiadas lo son en la dirección horizontal que cuando lo son en la frontal.
- 2ª Al establecer las relaciones que se desprenden de los puntos "a" y "b" se ve que en los cortes horizontales el núcleo ofrece unos diámetros mayores y por ello valores de 0,77 en la relación "a" y 5,15 en la relación "b", frente a 0,68 ("a") y 4,74 ("b") en las secciones frontales. En cuanto a los cortes sagitales, sus valores para las relaciones "a" y "b" son parecidos a los de los cortes horizontales.

Estos parámetros son un indicativo de la orientación celular, pero tal como ha sido dicho, el mejor índice, por más completo, será el empleo de la relación entre el área del perfil nuclear y el área del perfil del soma (Nu/Cit), por ello en el estudio de catalogación de poblaciones sólo emplearemos dicha relación.

En cuanto a la situación gráfica explicativa de estas relaciones puede observarse en la figura IV-26, en donde se ha dibujado la disposición y forma de núcleo con respecto al soma neuronal. Esta disposición coincide con las opiniones que ya hemos expuesto de que mayoritariamente, en nuestros preparados, la forma del núcleo y su orientación debe ser la de un disco un tanto aplanado que ofrece, con preferencia, sus diámetros mayores en la dirección horizontal.

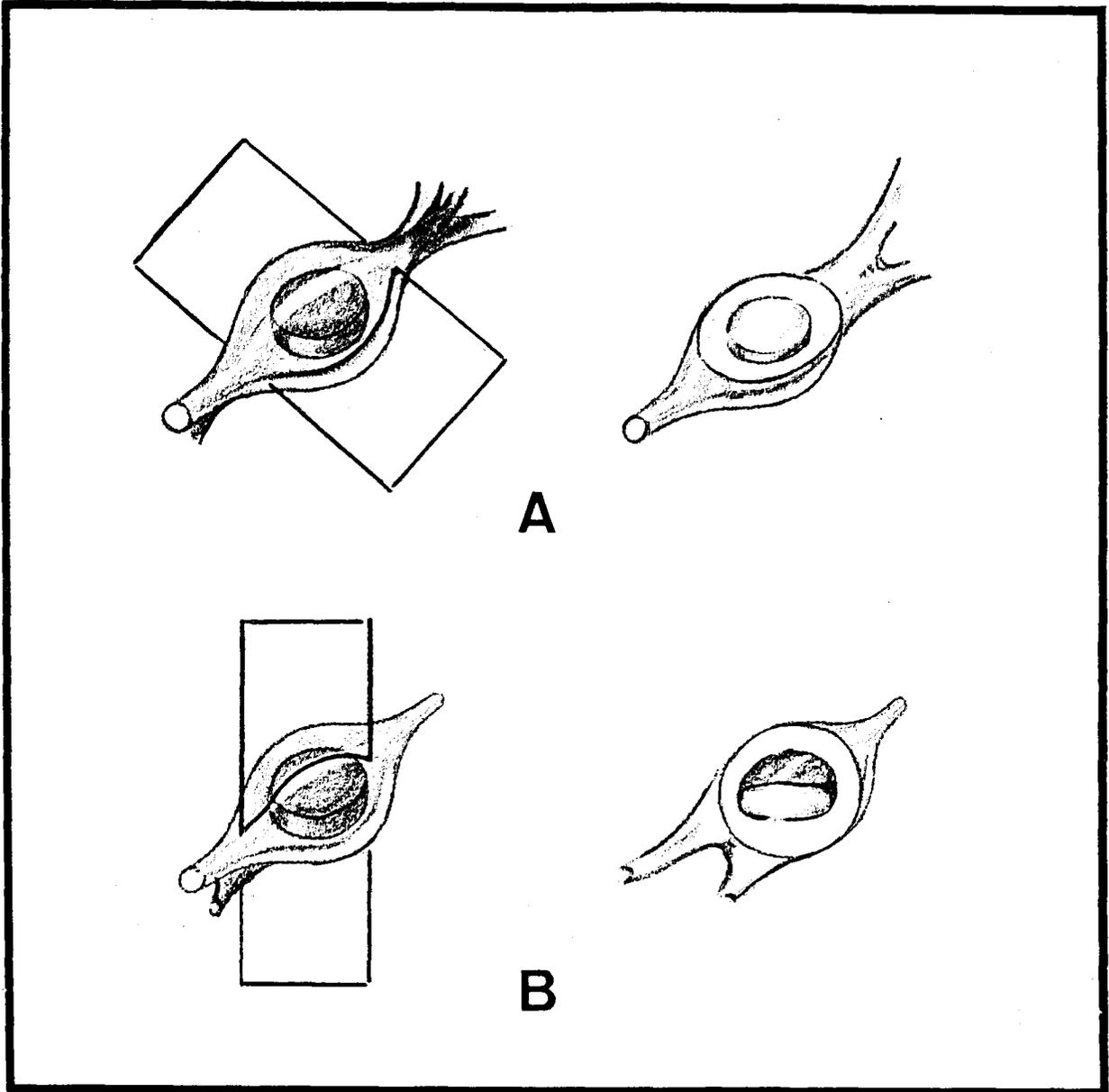
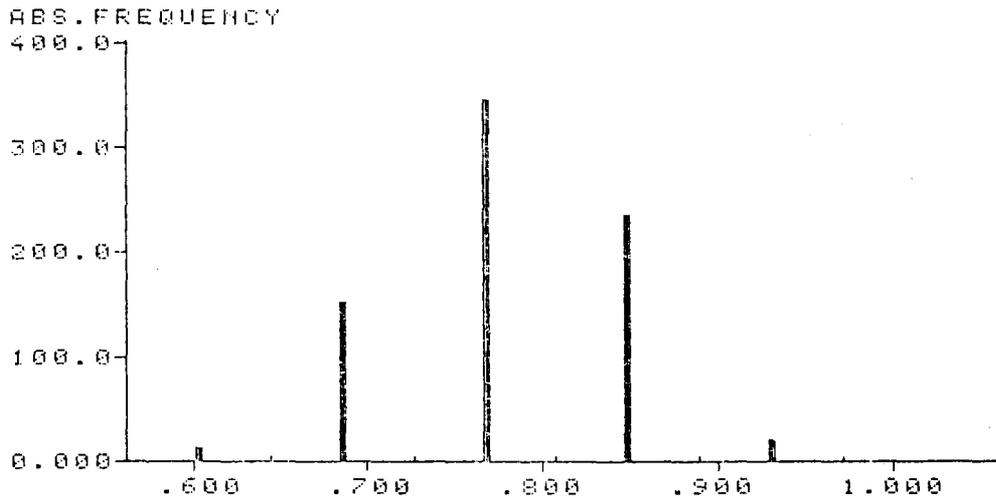


FIGURA IV-26

SELECTED DATAGROUP

A) ID.NR. TR SA EXT.1
 HORIZ. 00 61 ??????

CHANNELGROUP 1 2 3



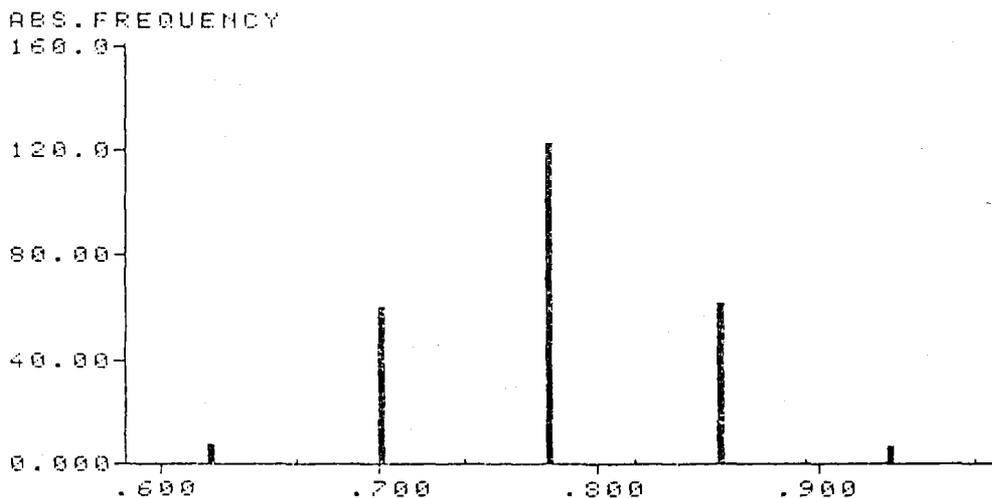
COUNT 221
 MINIMUM 0.518042E-01
 MAXIMUM 0.562716
 MEAN 0.771737
 ST. DEV 0.777878
 MEDIAN 0.629447E-01
 MODE 0.778307
 0.776674

DN/DS

SELECTED DATAGROUP

B) ID.NR. TR SA EXT.1
 HORIZ. 00 61 ??????

CHANNELGROUP 1



COUNT 66
 MINIMUM 0.4894E-01
 MAXIMUM 0.584290
 MEAN 0.771737
 ST. DEV 0.778289
 MEDIAN 0.617678E-01
 MODE 0.778329
 0.778646

DN/DS

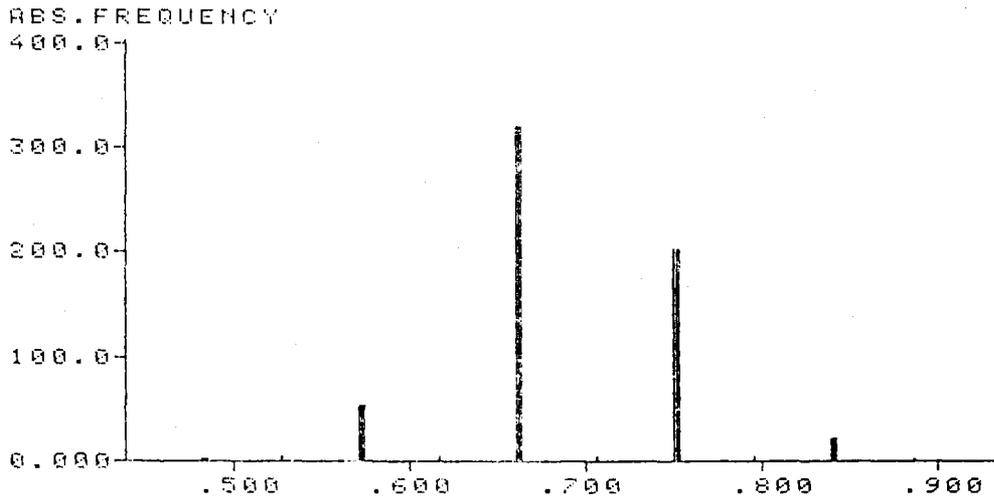
GRAFICA IV-55

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NEURONALES (DN/DS) EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA EL SECTOR α_e TOTAL.
- B) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NEURONALES (DN/DS) EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA LA ZONA SUPERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e S$).

A) SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
FRONT. 00 56 ??????

CHANNELGROUP 1 2 3



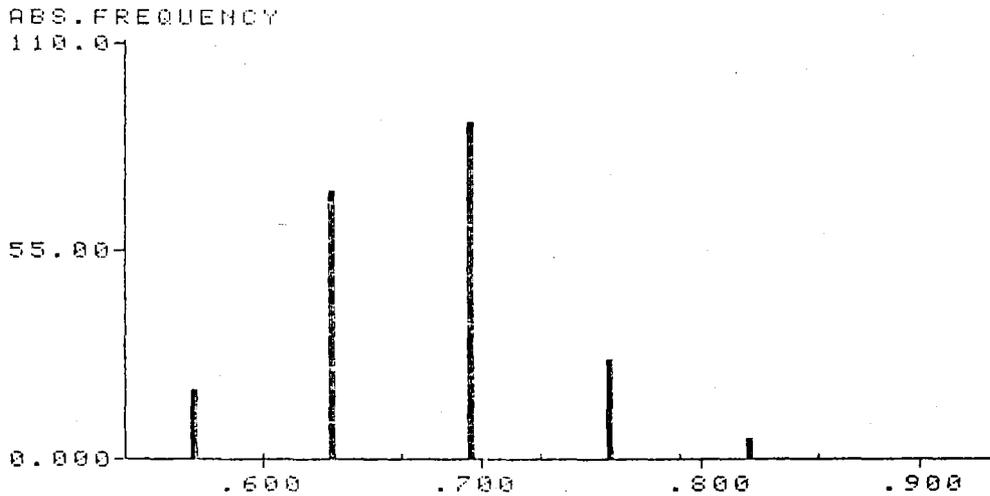
COUNTS 000000
OVER 000000
CLASS 000000
INTERVAL 0.08198257E-01
MINIMUM 0.437137
MAXIMUM 0.886265
MEAN 0.688384
ST. DEV. 0.579985E-01
MEDIAN 0.685701
MODE 0.685405

DN/DS

SELECTED DATAGROUP

B) ID.NR. TR SA EXT.1
FRONT. 00 56 ??????

CHANNELGROUP 1



COUNTS 000000
OVER 000000
CLASS 000000
INTERVAL 0.081620E-01
MINIMUM 0.537199
MAXIMUM 0.853009
MEAN 0.674305
ST. DEV. 0.548221E-01
MEDIAN 0.674523
MODE 0.679823

DN/DS

GRAFICA IV-57

A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NEURONALES (DN/DS) EN LOS CORTES FRONTALES, PARA EL SECTOR α_E TOTAL.

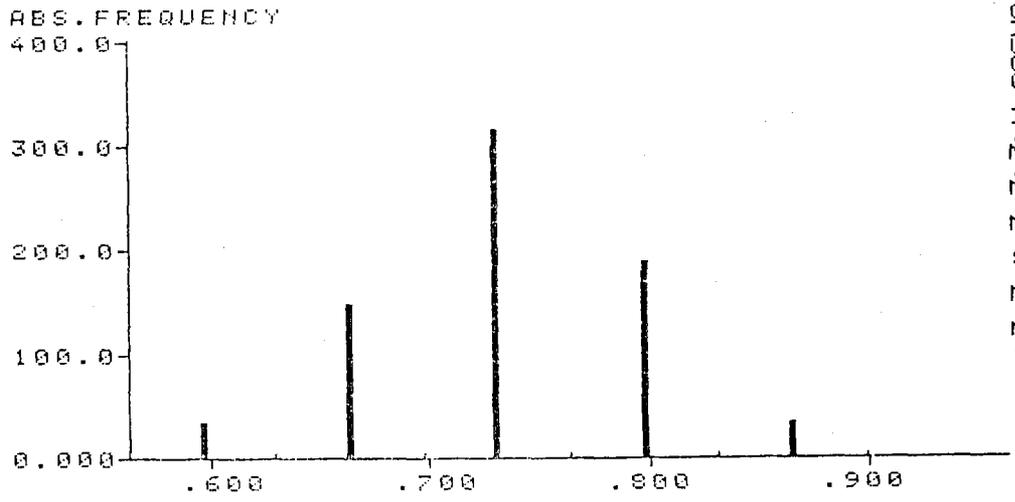
B) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NEURONALES (DN/DS) EN LOS CORTES FRONTALES, PARA LA ZONA SUPERIOR DEL SECTOR α_E ($\alpha_E S$).

SELECTED DATAGROUP

A)

ID.NR. TR SA EXT.1
SAGIT. 00 57 ??????

CHANNELGROUP 1 2 3



COUNT 224
MINIMUM 0.562161
MAXIMUM 0.898628
MEAN 0.734192
ST. DEV 0.161129E-01
MEDIAN 0.734760
MODE 0.734510

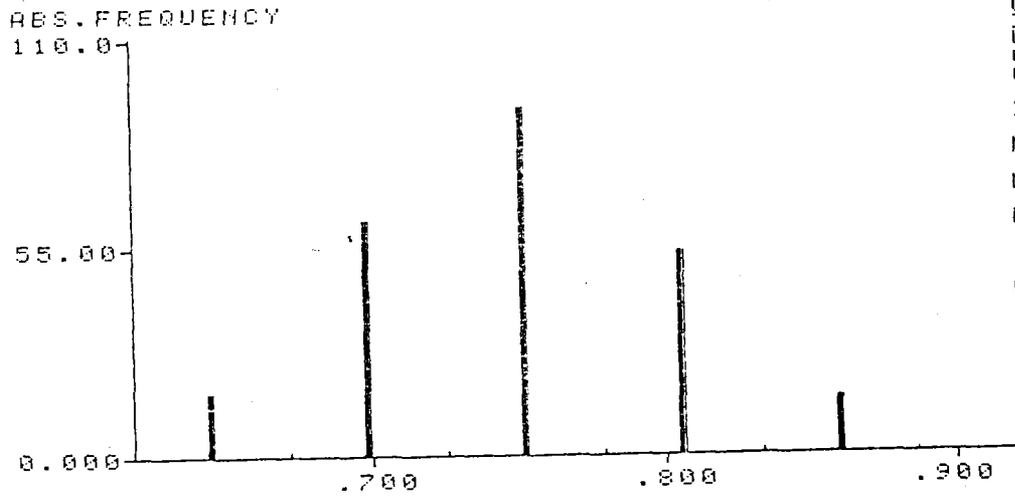
DN/DS

SELECTED DATAGROUP

B)

ID.NR. TR SA EXT.1
SAGIT. 00 57 ??????

CHANNELGROUP 1



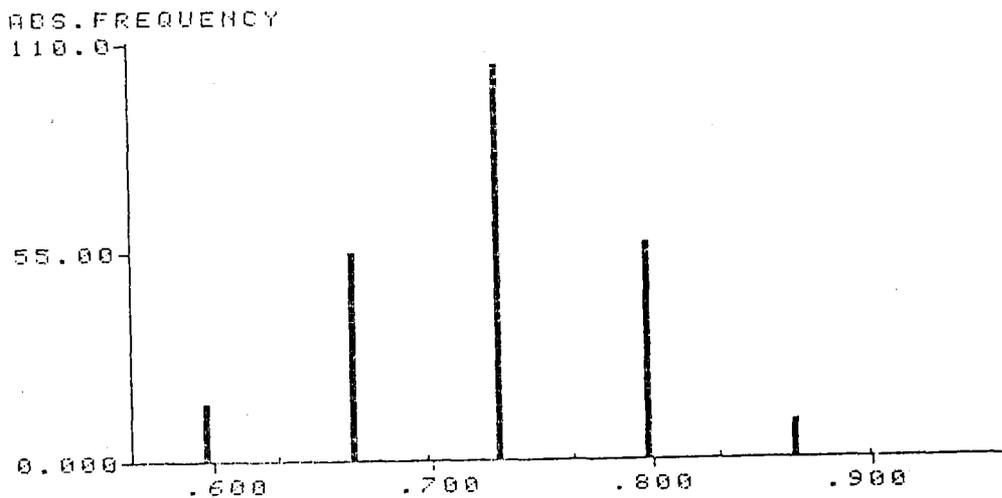
COUNT 244
MINIMUM 0.617957
MAXIMUM 0.886451
MEAN 0.747193
ST. DEV 0.15627E-01
MEDIAN 0.749286
MODE 0.750139

DN/DS

GRAFICA IV-59

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NEURONALES (DN/DS) EN LOS CORTES SAGITALES, PARA EL SECTOR α_e TOTAL,
- B) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NEURONALES (DN/DS) EN LOS CORTES SAGITALES, PARA LA ZONA SUPERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e S$),

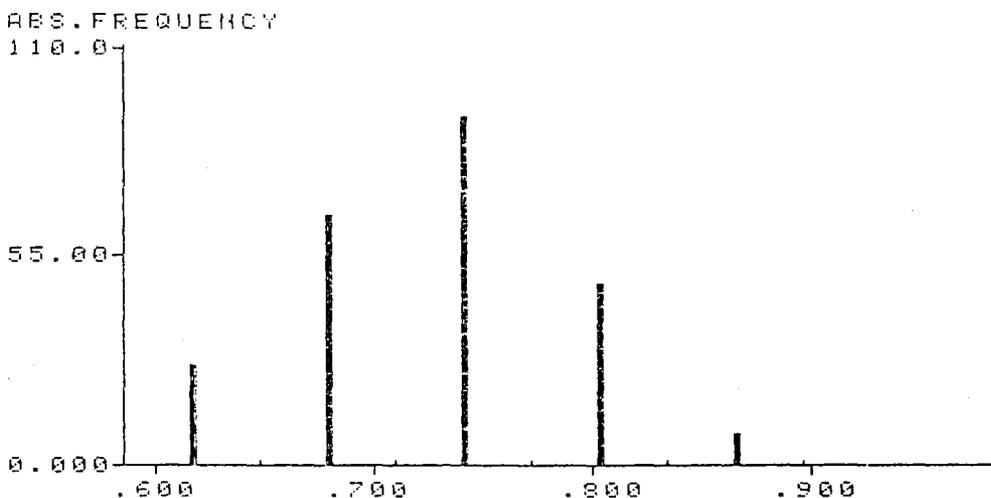
A) SELECTED DATAGROUP
 ID.NR. TR SA EXT.1
 SAGIT. 00 57 ??????
 CHANNELGROUP 2



COUNT 244
 UNITS 10000
 INTERVAL 0.2935E-01
 MINIMUM 0.62161
 MAXIMUM 0.898628
 MEAN 0.728983
 ST. DEV. 0.11763E-01
 MEDIAN 0.729424
 MODE 0.731018

DN/DS

B) SELECTED DATAGROUP
 ID.NR. TR SA EXT.1
 SAGIT. 00 57 ??????
 CHANNELGROUP 3



COUNT 244
 UNITS 10000
 INTERVAL 0.0783E-01
 MINIMUM 0.5869
 MAXIMUM 0.896261
 MEAN 0.726419
 ST. DEV. 0.591526E-01
 MEDIAN 0.728919
 MODE 0.735641

DN/DS

GRAFICA IV-60

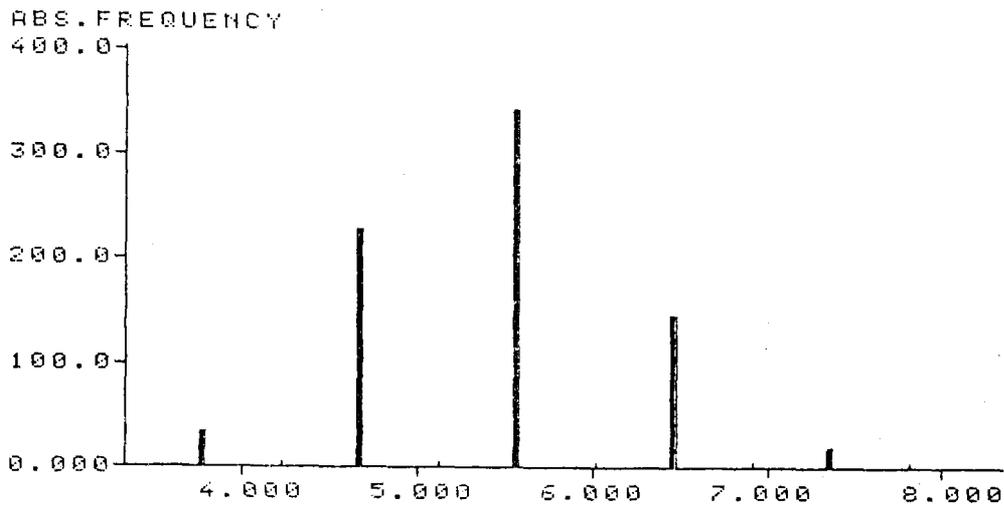
- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NEURONALES (DN/DS) EN LOS CORTES SAGITALES, PARA LA ZONA MEDIA DEL SECTOR α_e ($\alpha_e M$),
- B) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NEURONALES (DN/DS) EN LOS CORTES SAGITALES, PARA LA ZONA INFERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e I$),

SELECTED DATAGROUP

A)

ID.NR. TR SA EXT.1
HORIZ. 00 58 ??????

CHANNELGROUP 1 2 3



COUNT SIZE UNIT
OCCURRANCE PERCENTAGE
CLASS SIZE PERCENTAGE
INTERVAL
MINIMUM VALUE
MAXIMUM VALUE
MEAN
ST. DEV.
MEDIAN
MODE
.....

5403
32774
80476
43427
46257
44189
5.46399

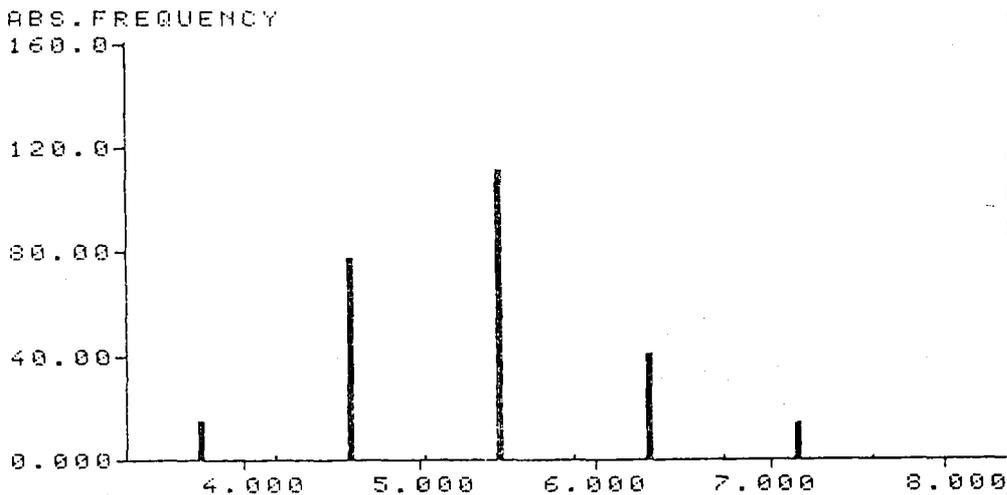
D<N/A.S.

SELECTED DATAGROUP

B)

ID.NR. TR SA EXT.1
HORIZ. 00 58 ??????

CHANNELGROUP 1



COUNT SIZE UNIT
OCCURRANCE PERCENTAGE
CLASS SIZE PERCENTAGE
INTERVAL
MINIMUM VALUE
MAXIMUM VALUE
MEAN
ST. DEV.
MEDIAN
MODE
.....

1840
32774
58694
32426
76845
31283
5.32090

D<N/A.S.

GRAFICA IV-61

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (DN/A.S.) EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA EL SECTOR α_e TOTAL,
- B) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (DN/A.S.) EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA LA ZONA SUPERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e S$).

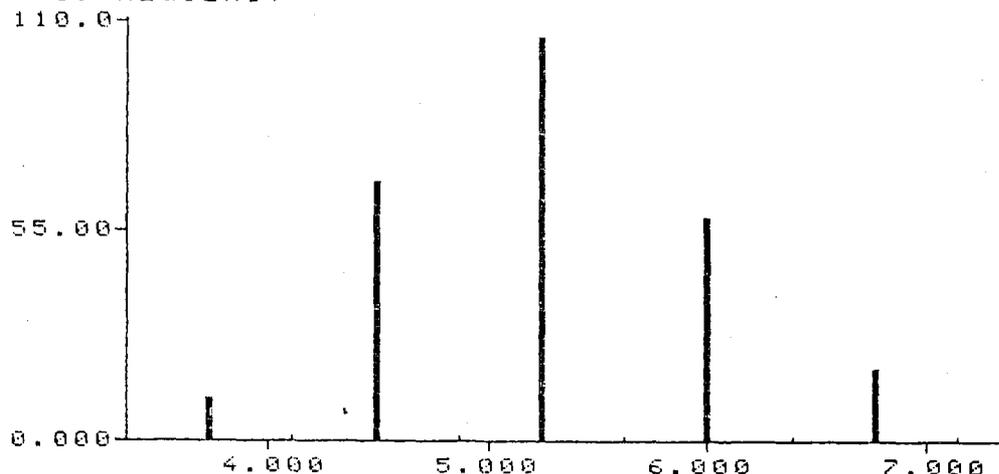
SELECTED DATAGROUP

A)

ID.NR. TR SA EXT.1
HORIZ. 00 58 ??????

CHANNELGROUP 2

ABS. FREQUENCY



COUNT	MINIMUM	MAXIMUM	MEAN	ST. DEV.	MEDIA	MODE
44	3.5105	7.14526	5.27712	0.97919	5.24457	5.21884

D < N / A . S .

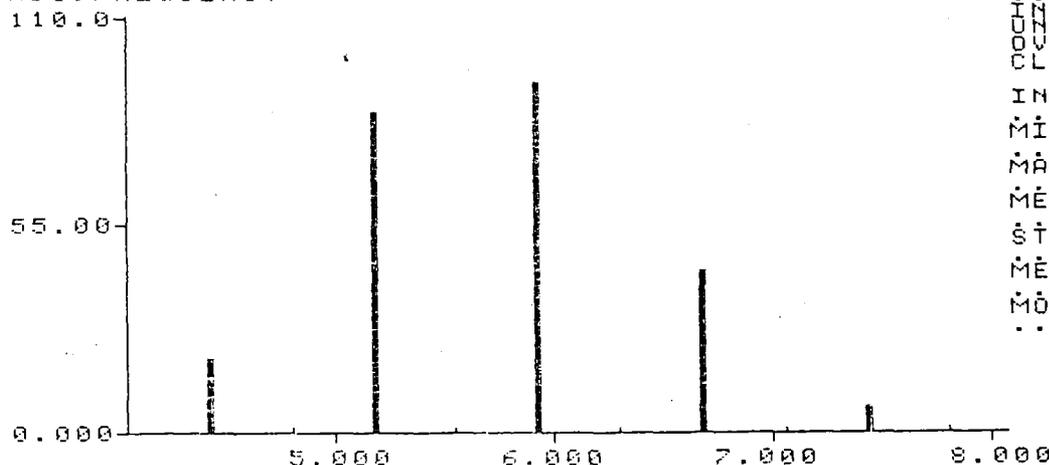
SELECTED DATAGROUP

B)

ID.NR. TR SA EXT.1
HORIZ. 00 58 ??????

CHANNELGROUP 3

ABS. FREQUENCY



COUNT	MINIMUM	MAXIMUM	MEAN	ST. DEV.	MEDIA	MODE
44	4.9809	8.0476	6.71624	0.83915	5.70852	5.70774

D < N / A . S .

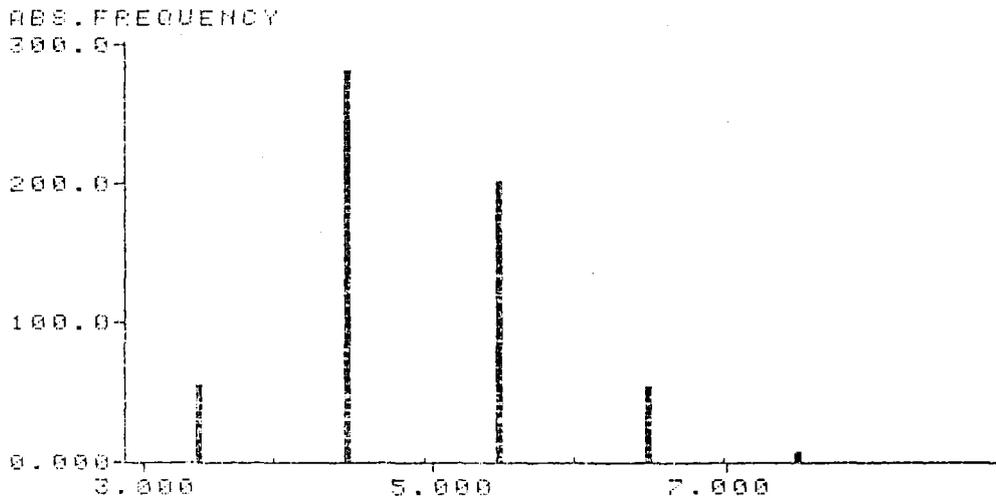
GRAFICA IV-62

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (DN/A.S.) EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA LA ZONA MEDIA DEL SECTOR α_e ($\alpha_e M$),
- B) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (DN/A.S.) EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA LA ZONA INFERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e I$),

A) SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
FRONT. 00 59 ??????

CHANNELGROUP 1 2 3



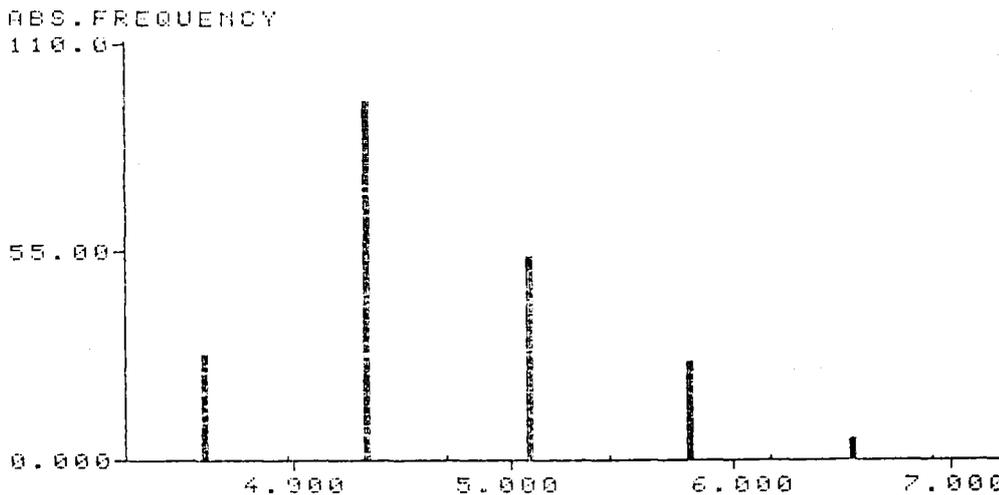
COUNT	MIN	MAX
1000	3.000	7.000
1000	3.000	7.000
1000	3.000	7.000
INTERVAL	0.500	0.500
MINIMUM	3.000	3.000
MAXIMUM	7.000	7.000
MEAN	4.90117	4.90117
ST. DEV.	0.98218	0.98218
MEDIAN	4.79898	4.79898
MODE	4.69713	4.69713

D < N / A . S .

SELECTED DATAGROUP

B) ID.NR. TR SA EXT.1
FRONT. 00 59 ??????

CHANNELGROUP 1



COUNT	MIN	MAX
1000	4.000	7.000
1000	4.000	7.000
1000	4.000	7.000
INTERVAL	0.500	0.500
MINIMUM	4.000	4.000
MAXIMUM	7.000	7.000
MEAN	5.1775	5.1775
ST. DEV.	0.68222	0.68222
MEDIAN	5.4352	5.4352
MODE	4.44784	4.44784

D < N / A . S .

GRAFICA IV-63

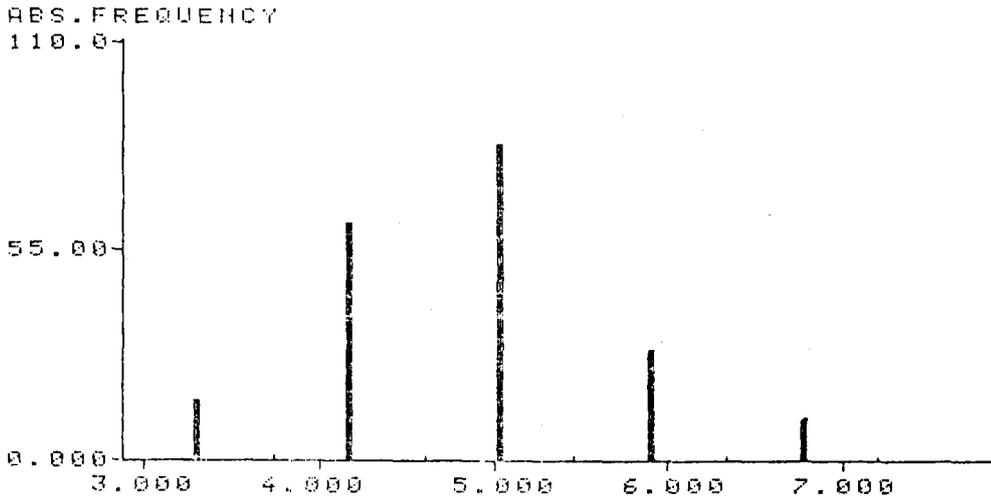
- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (DN/A,S,) EN LOS CORTES FRONTALES, PARA EL SECTOR α_e TOTAL,
- B) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (DN/A,S,) EN LOS CORTES FRONTALES, PARA LA ZONA SUPERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e S$),

A)

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
FRONT. 00 59 ??????

CHANNELGROUP 2



COUNT	100
UNCLAS	100
OVER	100
CLASS	100
INTERVAL	0.2927
MINIMUM	3.7953
MAXIMUM	6.19417
MEAN	4.86171
ST. DEV.	0.819611
MEDIAN	4.83931
MODE	4.87319

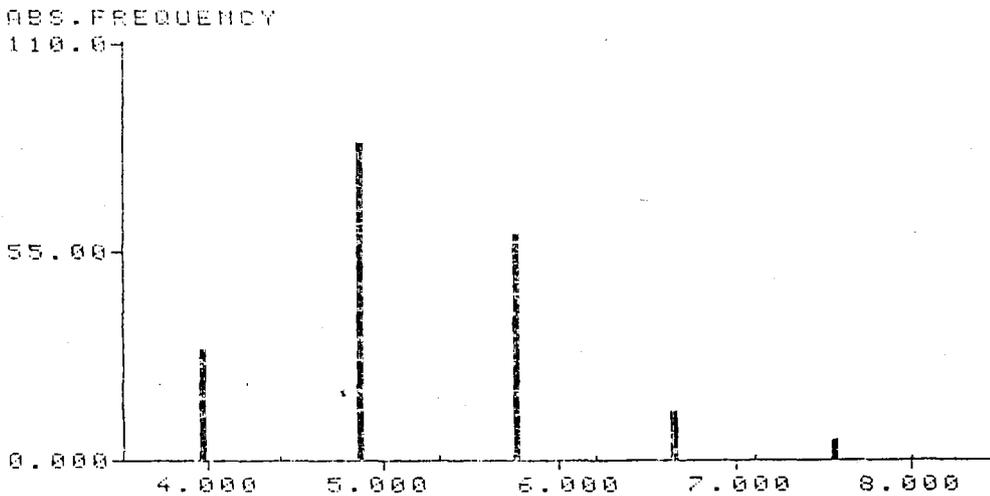
D<N/A.S.

B)

SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
FRONT. 00 59 ??????

CHANNELGROUP 3



COUNT	100
UNCLAS	100
OVER	100
CLASS	100
INTERVAL	0.0979
MINIMUM	5.0657
MAXIMUM	6.01146
MEAN	5.18228
ST. DEV.	0.11429
MEDIAN	5.12082
MODE	5.01948

D<N/A.S.

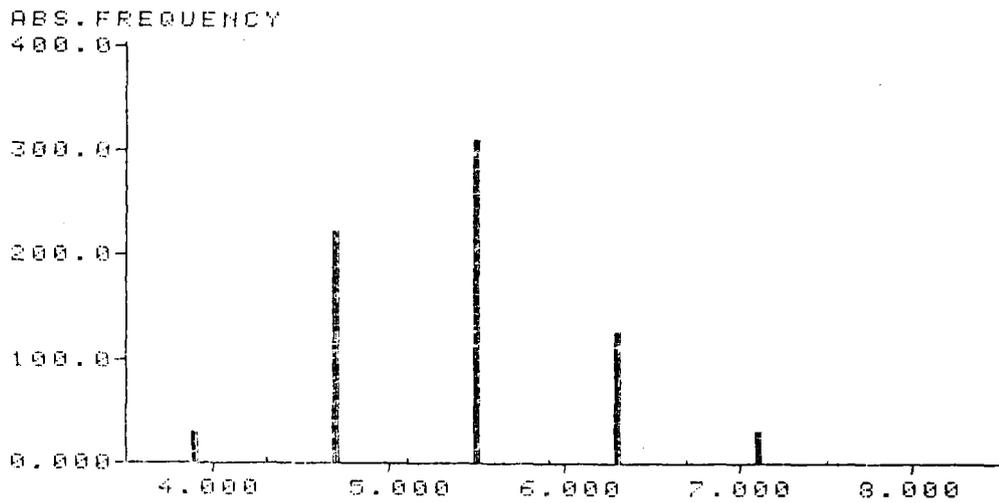
GRAFICA IV-64

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (DN/A,S,) EN LOS CORTES FRONTALES, PARA LA ZONA MEDIA DEL SECTOR α_E (α_{EM}).
- B) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (DN/A,S,) EN LOS CORTES FRONTALES, PARA LA ZONA INFERIOR DEL SECTOR α_E (α_{EI}).

SELECTED DATAGROUP

A) ID.NR. TR SA EXT.1
SAGIT. 00 60 ??????

CHANNELGROUP 1 2 3



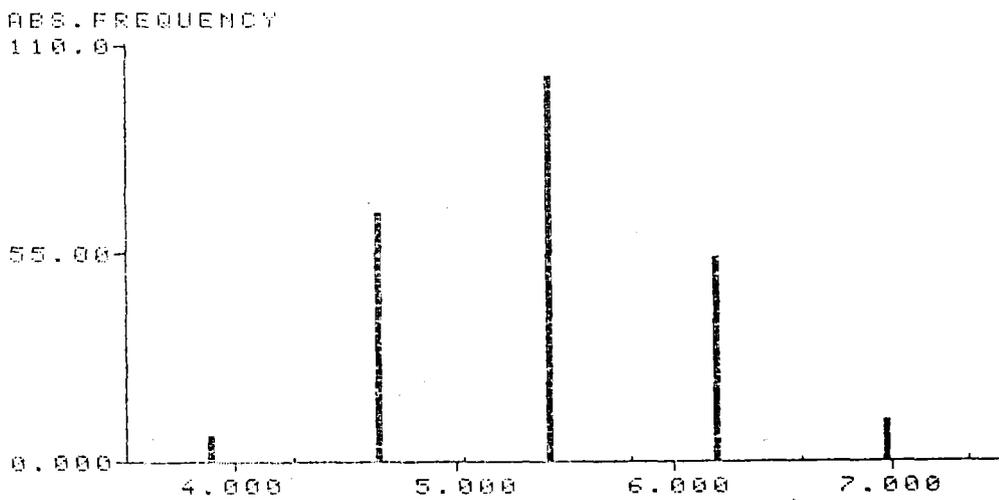
COUNT	49626	WTZ	100
MINIMUM	4.49626	INTERV	3.270
MAXIMUM	5.1261	ST. DEV.	5.40305
MEAN	5.40305	MEDIA	6.01121
MODE	5.38638	MODE	5.38638

D<N/A.S.

SELECTED DATAGROUP

B) ID.NR. TR SA EXT.1
SAGIT. 00 60 ??????

CHANNELGROUP 1



COUNT	1764	WTZ	100
MINIMUM	4.49626	INTERV	3.270
MAXIMUM	5.1261	ST. DEV.	5.40305
MEAN	5.40305	MEDIA	6.01121
MODE	5.38638	MODE	5.38638

D<N/A.S.

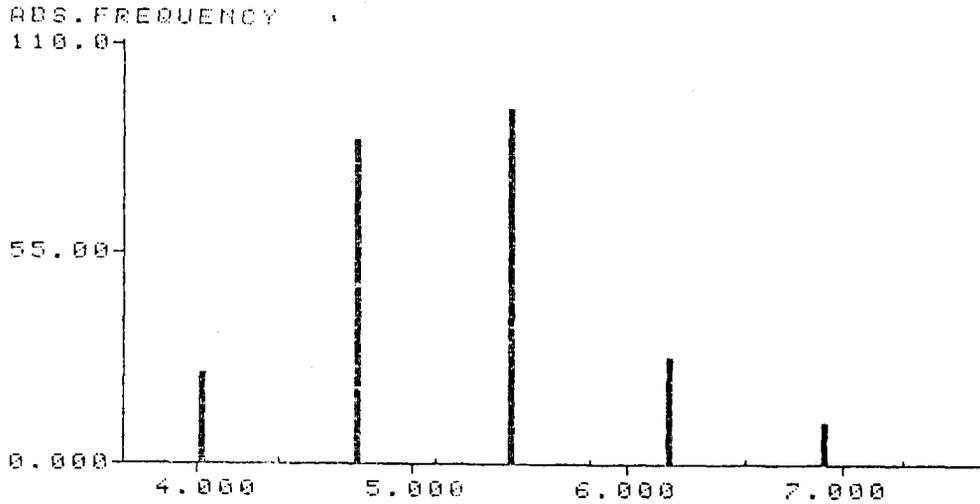
GRAFICA IV-65

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (DN/A,S,) EN LOS CORTES SAGITALES, PARA EL SECTOR α_e TOTAL,
- B) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (DN/A,S,) EN LOS CORTES SAGITALES, PARA LA ZONA SUPERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e S$).

SELECTED DATAGROUP

A) ID.NR. TR SA EXT.1
SAGIT. 00 60 ??????

CHANNELGROUP 2



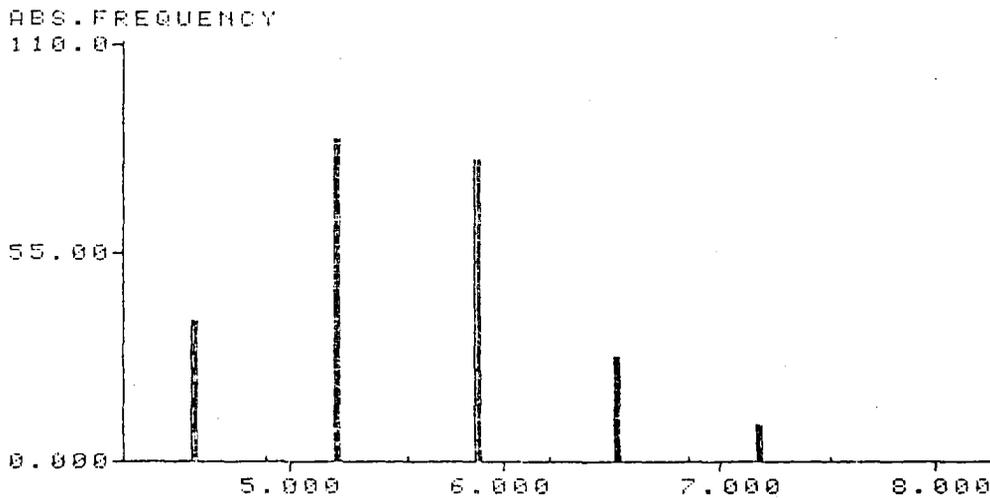
COUNT	MIN	MAX	INTERVAL
110	4.000	7.000	0.250
1024	4.000	7.000	0.250
66306	4.000	7.000	0.250
26818	4.000	7.000	0.250
22561	4.000	7.000	0.250
89569	4.000	7.000	0.250
19427	4.000	7.000	0.250
26612	4.000	7.000	0.250

D < N/A.S.

SELECTED DATAGROUP

B) ID.NR. TR SA EXT.1
SAGIT. 00 60 ??????

CHANNELGROUP 3



COUNT	MIN	MAX	INTERVAL
110	5.000	8.000	0.250
4654	5.000	8.000	0.250
23934	5.000	8.000	0.250
51261	5.000	8.000	0.250
57242	5.000	8.000	0.250
60235	5.000	8.000	0.250
53325	5.000	8.000	0.250
36068	5.000	8.000	0.250

D < N/A.S.

GRAFICA IV-66

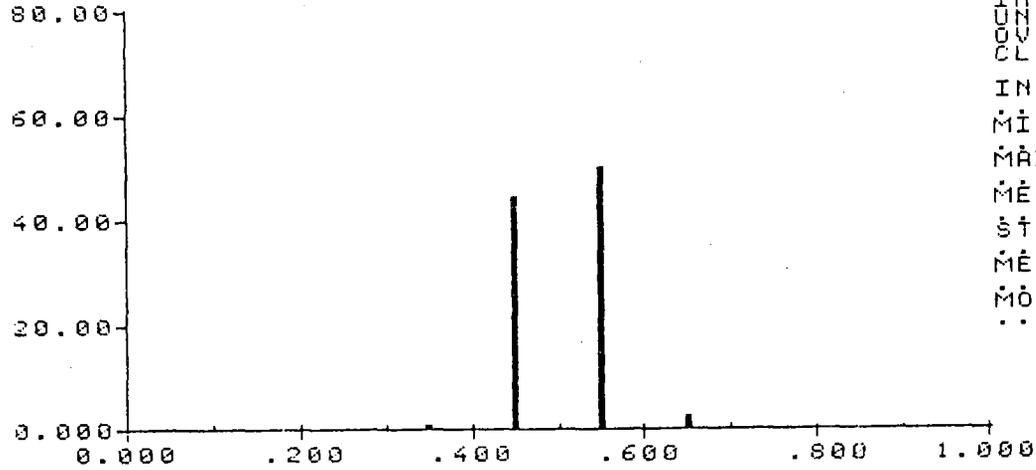
- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (DN/A.S.) EN LOS CORTES SAGITALES, PARA LA ZONA MEDIA DEL SECTOR α_E ($\alpha_E M$),
- B) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL DIAMETRO MENOR DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (DN/A.S.) EN LOS CORTES SAGITALES, PARA LA ZONA INFERIOR DEL SECTOR α_E ($\alpha_E I$),

A) SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 NU/CIT 00 02 ??????

CHANNELGROUP 1 2 3

REL. FREQUENCY %



COUNTS 271
 OVERFLOW 1
 INTERVAL 0.100000
 MINIMUM 0.000000
 MAXIMUM 1.000000
 MEAN 0.505046
 ST. DEV. 509323E-01
 MEDIAN 0.507526
 MODE 0.507632

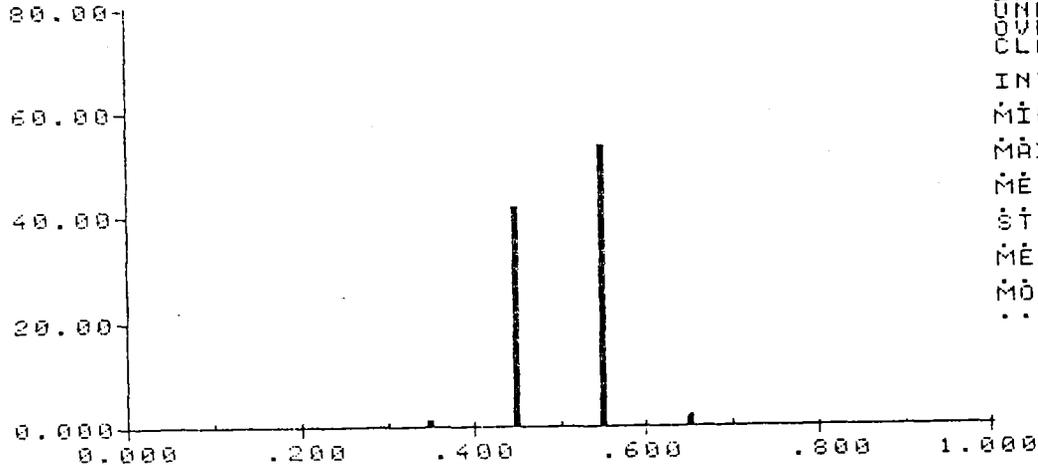
Nu/Cit

B) SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
 NU/CIT 00 02 ??????

CHANNELGROUP 1

REL. FREQUENCY %



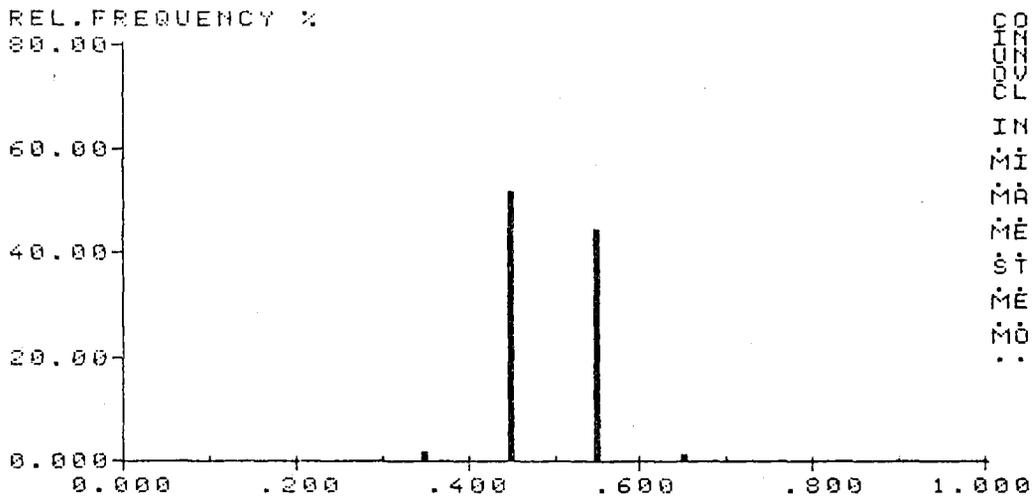
COUNTS 265
 OVERFLOW 1
 INTERVAL 0.100000
 MINIMUM 0.000000
 MAXIMUM 1.000000
 MEAN 0.504737
 ST. DEV. 521791E-01
 MEDIAN 0.512143
 MODE 0.510156

Nu/Cit

GRAFICA IV-67

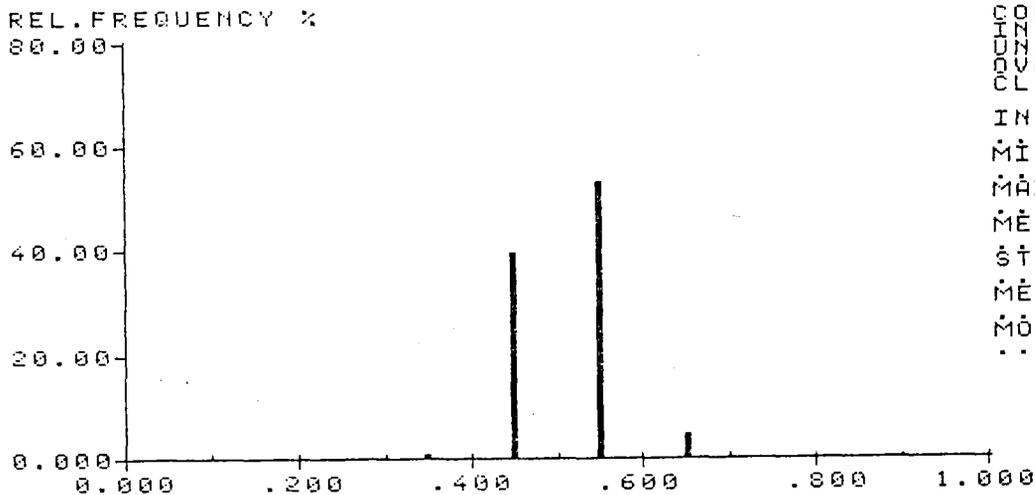
- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL AREA DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (Nu/cit) EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA EL SECTOR α_E TOTAL.
- B) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL AREA DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (Nu/Cit) EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA LA ZONA SUPERIOR DEL SECTOR α_E ($\alpha_E S$).

A) SELECTED DATAGROUP
 ID.NR. TR SA EXT.1
 NU/CIT 00 02 ??????
 CHANNELGROUP 2



COUNT 100000
 OVER. RPT 00
 CLASS. 1
 STAFFS 0
 SECTORS 0
 SIZES 0
 UNITS 0
 INTERVAL 1.00000
 MINIMUM 0.00000
 MAXIMUM 1.00000
 MEAN 0.498900
 ST. DEV. 0.476153E-01
 MEDIAN 0.493066
 MODE 0.494231

B) SELECTED DATAGROUP
 ID.NR. TR SA EXT.1
 NU/CIT 00 02 ??????
 CHANNELGROUP 3

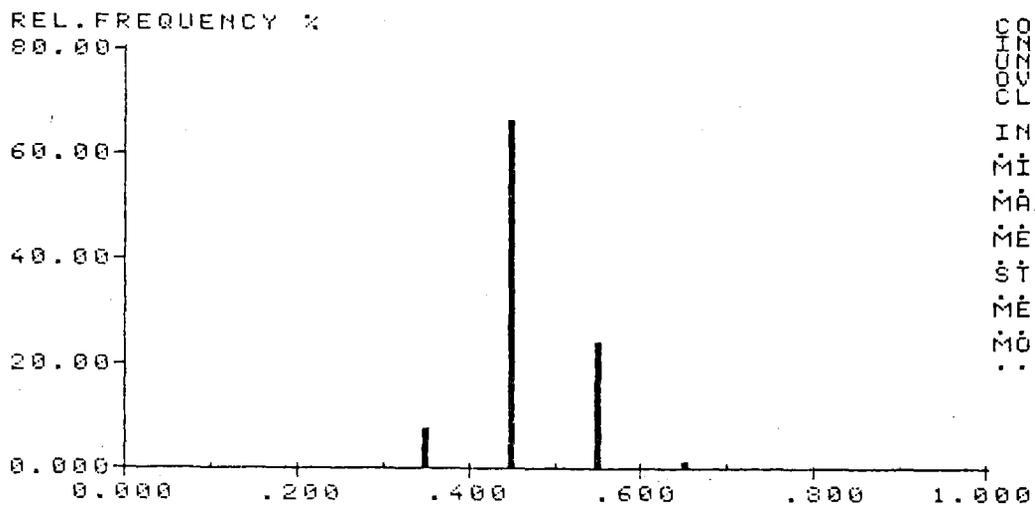


COUNT 100000
 OVER. RPT 00
 CLASS. 1
 STAFFS 0
 SECTORS 0
 SIZES 0
 UNITS 0
 INTERVAL 1.00000
 MINIMUM 0.00000
 MAXIMUM 1.00000
 MEAN 0.511887
 ST. DEV. 0.523423E-01
 MEDIAN 0.516541
 MODE 0.514898

GRAFICA IV-68

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL AREA DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (Nu/Cit) EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA LA ZONA MEDIA DEL SECTOR α_e ($\alpha_e M$),
- B) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL AREA DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (Nu/Cit) EN LOS CORTES HORIZONTALES, PARA LA ZONA INFERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e I$),

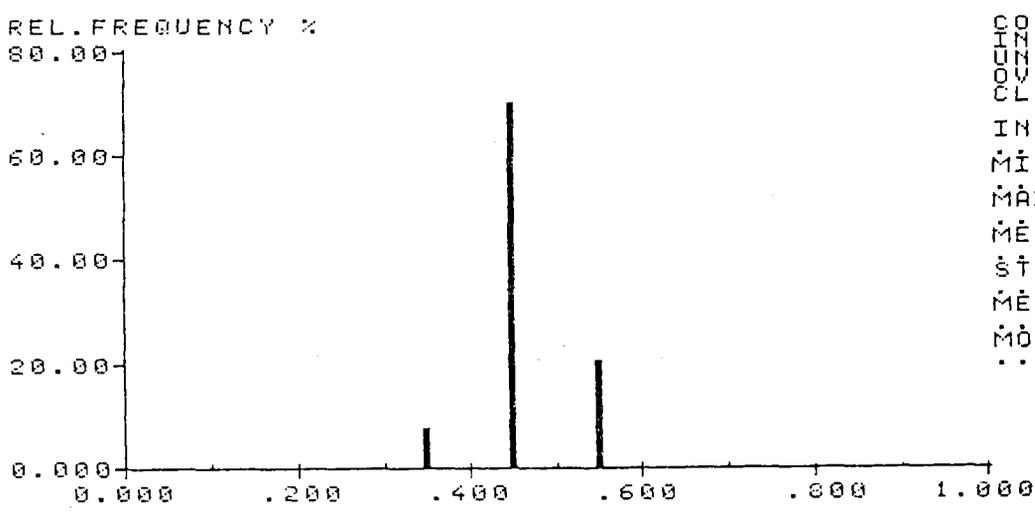
SELECTED DATAGROUP
 A) ID.NR. TR SA EXT.1
 NU/CIT 00 03 ??????
 CHANNELGROUP 1 2 3



COUNTS 0001
 OVER. RPTS 001
 CLASS \$RPTS 10000
 INTERVAL 0.100000
 MINIMUM 0.000000
 MAXIMUM 1.000000
 MEAN 0.468084
 ST. DEV. 0.468084
 MEDIUM 5.16712E-01
 MODE 0.462903
 0.466526

Nu/Cit

SELECTED DATAGROUP
 B) ID.NR. TR SA EXT.1
 NU/CIT 00 03 ??????
 CHANNELGROUP 1



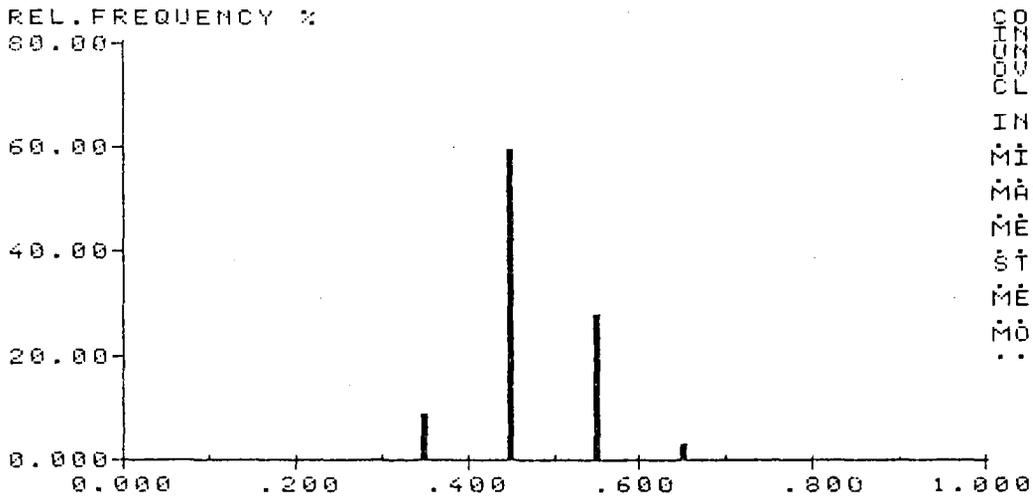
COUNTS 0000
 OVER. RPTS 000
 CLASS \$RPTS 10000
 INTERVAL 0.100000
 MINIMUM 0.000000
 MAXIMUM 1.000000
 MEAN 0.458471
 ST. DEV. 0.476015E-01
 MEDIUM 0.458446
 MODE 0.462500
 0.462500

Nu/Cit

GRAFICA IV-69

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL AREA DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (Nu/cit) EN LOS CORTES FRONTALES, PARA EL SECTOR α_e TOTAL.
- B) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL AREA DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (Nu/cit) EN LOS CORTES FRONTALES, PARA LA ZONA SUPERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e S$).

A) SELECTED DATAGROUP
 ID.NR. TR SA EXT.1
 NU/CIT 00 03 ??????
 CHANNELGROUP 2

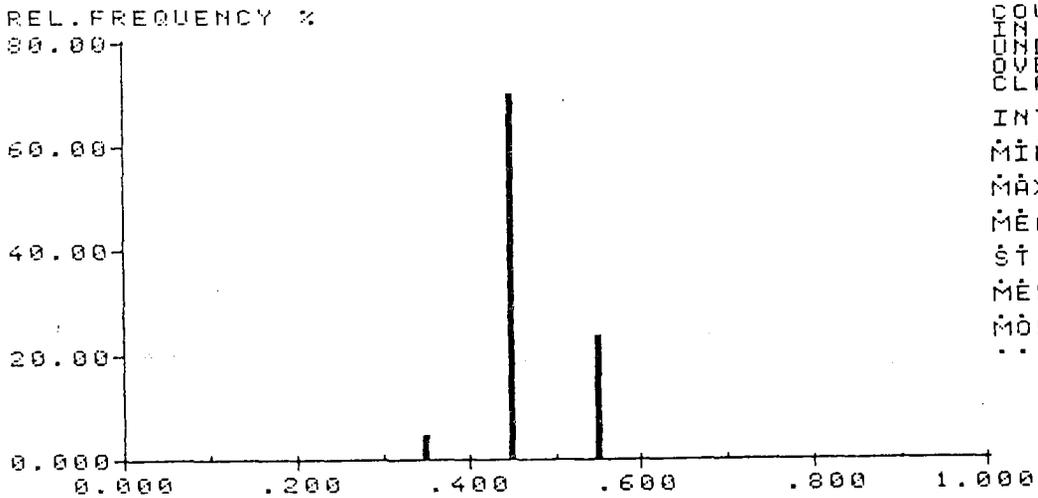


COUNTS
 OVERLAP
 CLASS
 INTERVAL
 MINIMUM
 MAXIMUM
 MEAN
 ST. DEV.
 MEDIAN
 MODE

1001
 1000
 1000
 1.00000
 0.00000
 1.00000
 0.473751
 6.01788E-01
 0.467917
 0.468974

Nu/Cit

B) SELECTED DATAGROUP
 ID.NR. TR SA EXT.1
 NU/CIT 00 03 ??????
 CHANNELGROUP 3



COUNTS
 OVERLAP
 CLASS
 INTERVAL
 MINIMUM
 MAXIMUM
 MEAN
 ST. DEV.
 MEDIAN
 MODE

1001
 1000
 1000
 1.00000
 0.00000
 1.00000
 0.472638
 4.45218E-01
 0.463333
 0.468421

Nu/Cit

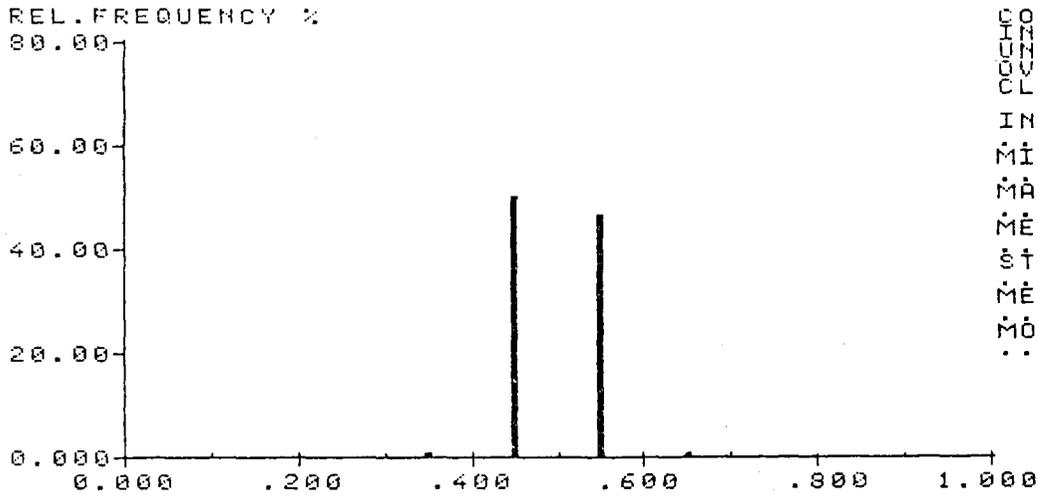
GRAFICA IV-70

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL AREA DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (Nu/Cit) EN LOS CORTES FRONTALES, PARA LA ZONA MEDIA DEL SECTOR α_E ($\alpha_E M$),
- B) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL AREA DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (Nu/Cit) EN LOS CORTES FRONTALES, PARA LA ZONA INFERIOR DEL SECTOR α_E ($\alpha_E I$),

A) SELECTED DATAGROUP

ID.NR. TR SA EXT.1
NU/CIT 00 04 ??????

CHANNELGROUP 1 2 3

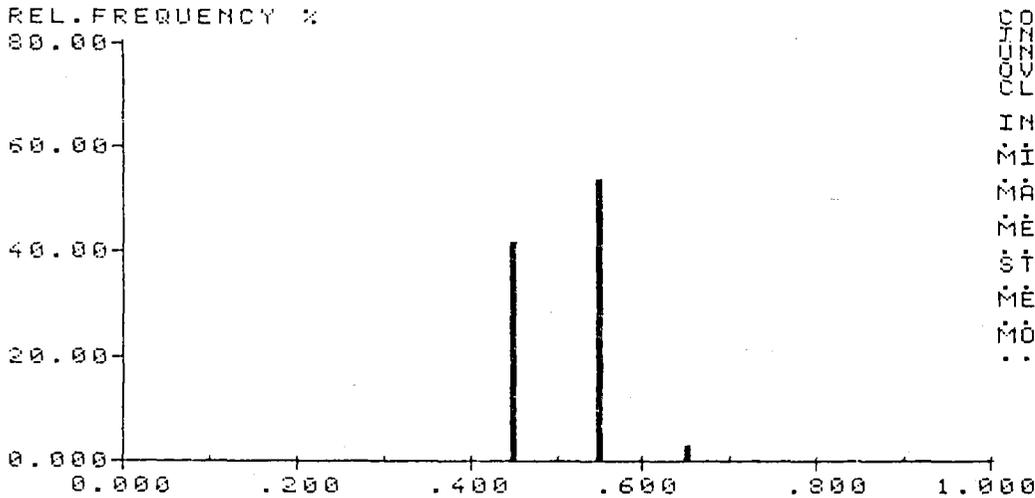


COUNU N N 1
 UNZD R 2 1
 CLARD S R 1
 STADT S 1
 RFLZS S 1
 SDOOS S 1
 SZR S 1
 INTERVAL 1.000000
 MINIMUM 0.000000
 MAXIMUM 1.000000
 MEAN 0.498307
 ST. DEV. 0.49958E-01
 MEDIAN 0.496594
 MODE 0.496844

SELECTED DATAGROUP

B) ID.NR. TR SA EXT.1
NU/CIT 00 04 ??????

CHANNELGROUP 1



COUNU N N 4
 UNZD R 4
 CLARD S R 1
 STADT S 1
 RFLZS S 1
 SDOOS S 1
 SZR S 1
 INTERVAL 1.000000
 MINIMUM 0.000000
 MAXIMUM 1.000000
 MEAN 0.509863
 ST. DEV. 0.478617E-01
 MEDIAN 0.513846
 MODE 0.511088

GRAFICA IV-71

- A) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL AREA DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (Nu/cit) EN LOS CORTES SAGITALES, PARA EL SECTOR α_e TOTAL,
- B) HISTOGRAMA DE DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS RELATIVAS, CORRESPONDIENTE A LA RELACION ENTRE EL AREA DE LOS PERFILES NUCLEARES Y EL AREA DE LOS PERFILES NEURONALES (Nu/cit) EN LOS CORTES SAGITALES, PARA LA ZONA SUPERIOR DEL SECTOR α_e ($\alpha_e S$),

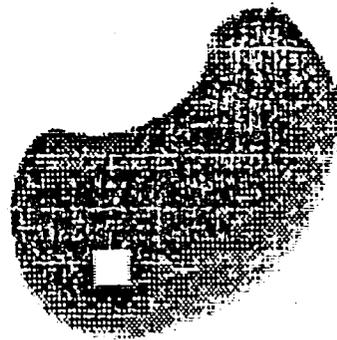
6.8. Esquemas de los perfiles neuronales analizados.

Para finalizar esta sección exponemos una serie de esquemas (E1 a E9) en los que se recogen algunas de las cuadrículas analizadas así como los perfiles neuronales que contenían y a partir de los cuales se han obtenido todos los valores de los distintos parámetros analizados tal y como se ha descrito en el capítulo correspondiente a Material y Métodos. Cada uno de los esquemas expuestos pertenece a una zona de estudio y dirección de corte diferentes. Con el fin de poder representar todas las neuronas comprendidas en la cuadrícula de estudio, se ha reducido la relación neuropilo/griseum; no obstante y con el objeto de hacernos una idea de la dirección preferente del conjunto de los perfiles neuronales se ha mantenido la orientación que cada uno de ellos presentaba en el corte.

En cada esquema además de la imagen, obtenida mediante ordenador, del corte con la cuadrícula (en blanco) de donde se han tomado perfiles para su estudio y del dibujo de los mismos, se consignan:

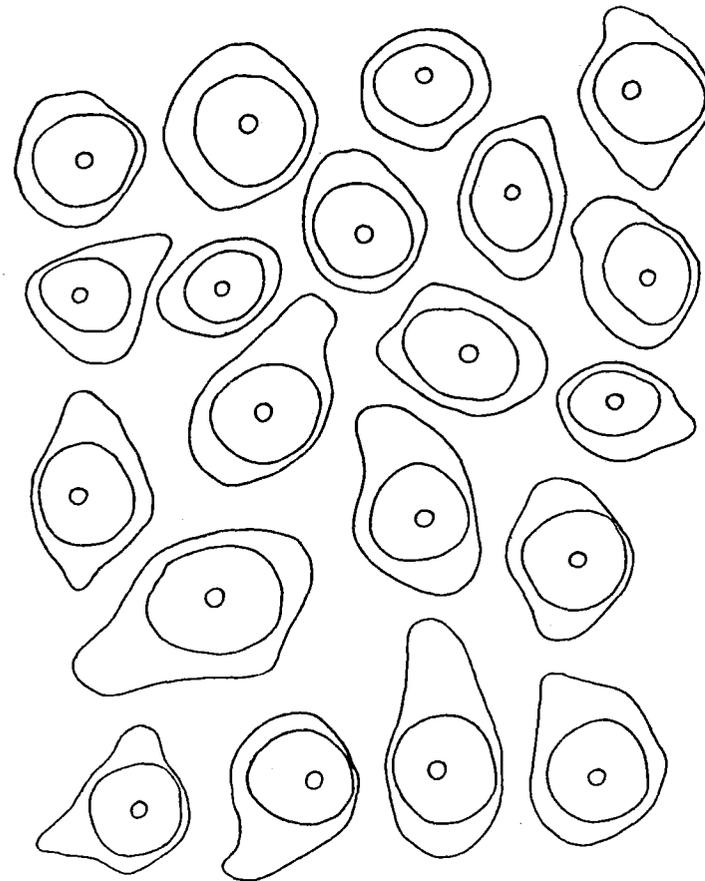
- Número del NGLd estudiado (G1, G2, G3, etc.).
- Dirección de corte considerada (H = horizontal, F = frontal y S = sagital).
- Zona de estudio (Superior, Media e Inferior).
- Número de preparado y paralelepípedo correspondiente de medida (Nº).
- Distancia al primer corte histológico de la serie.
- Las flechas indican la orientación de cada imagen (A = anterior, L = lateral, D = dorsal, P = posterior o caudal).

G1-H SUPERIOR
N° 40
Z- 600



0.5 mm

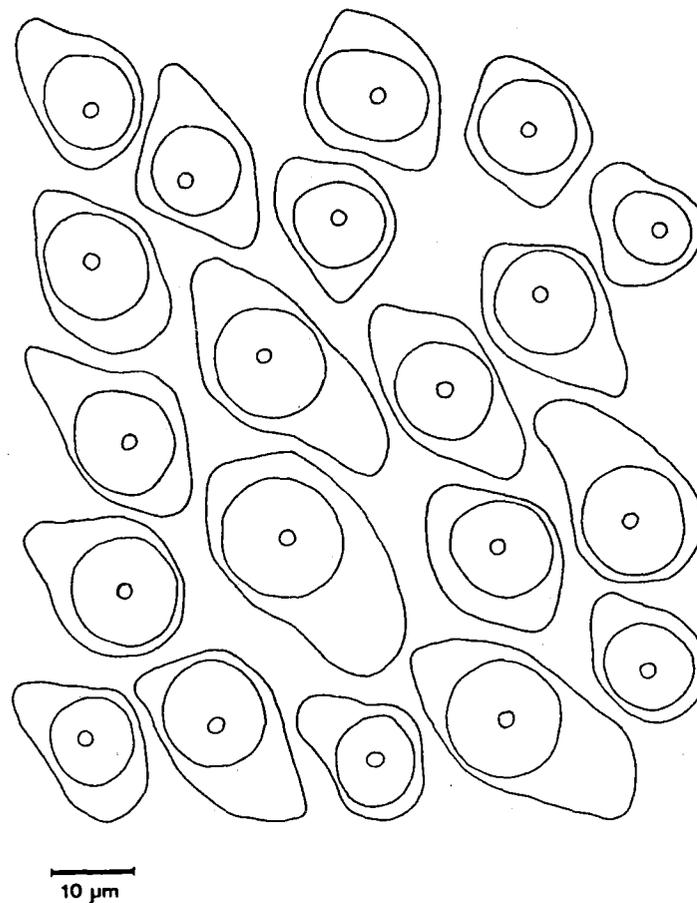
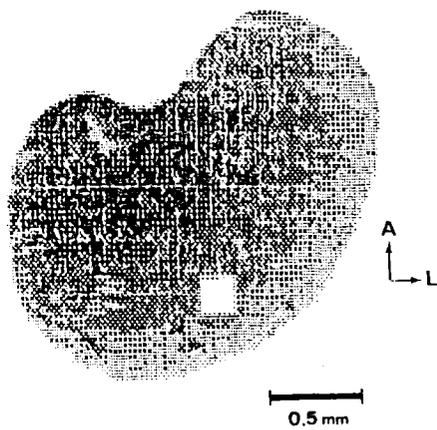
A
L



10 μm

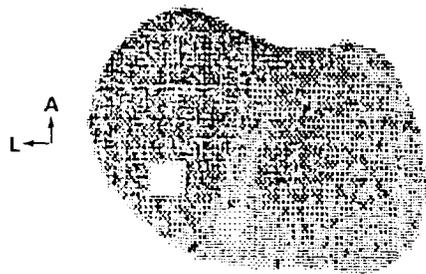
E₁

G3-H MEDIA
N° 102
Z-1530

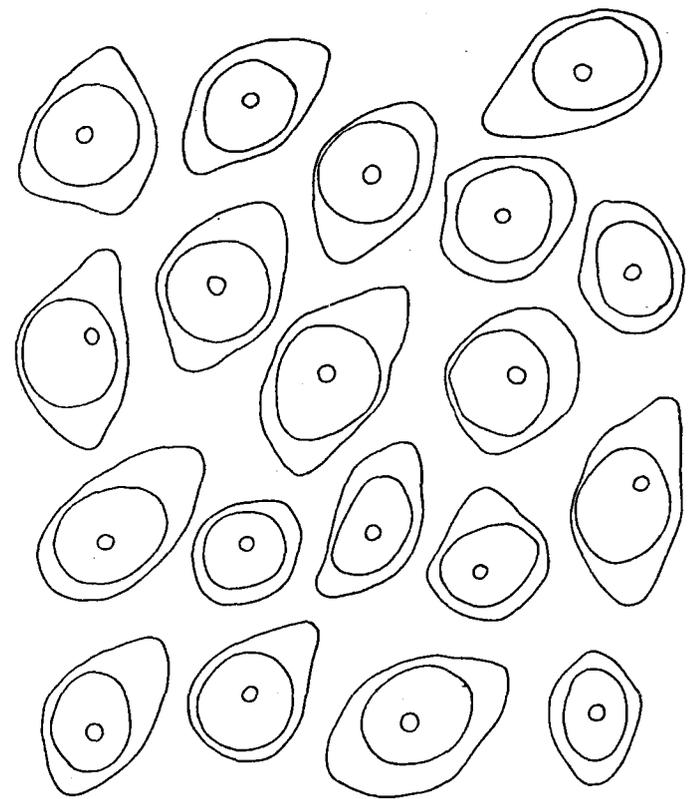


E₂

G4-H INFERIOR
N° 157
Z-2355



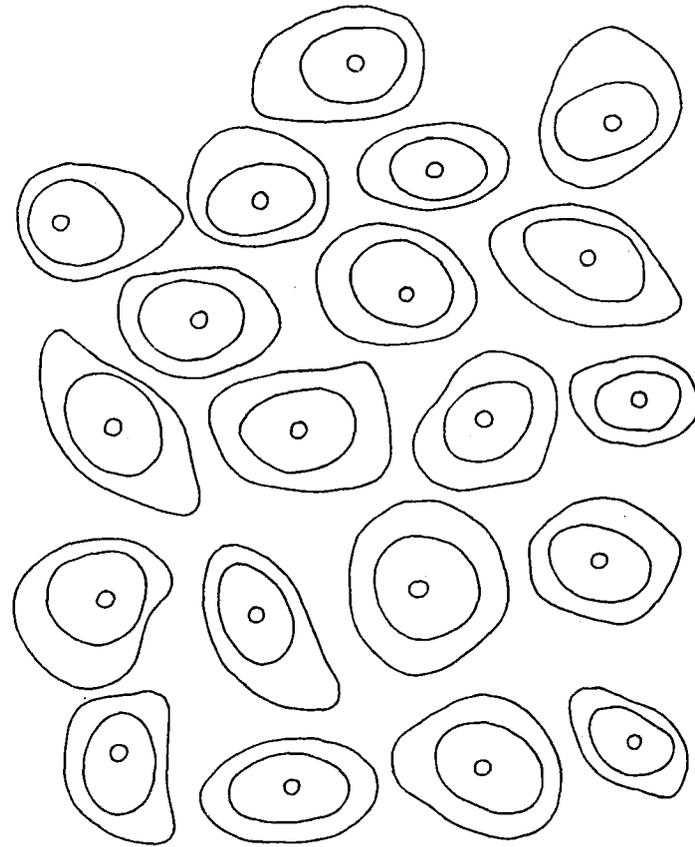
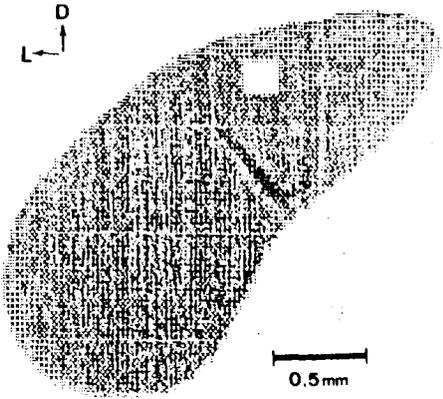
0.5mm



10 μm

E₃

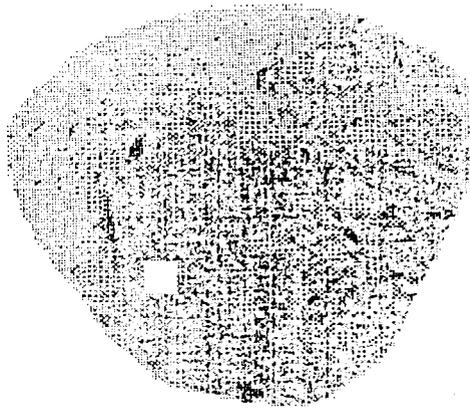
G2-F SUPERIOR
N°68
Z=1020



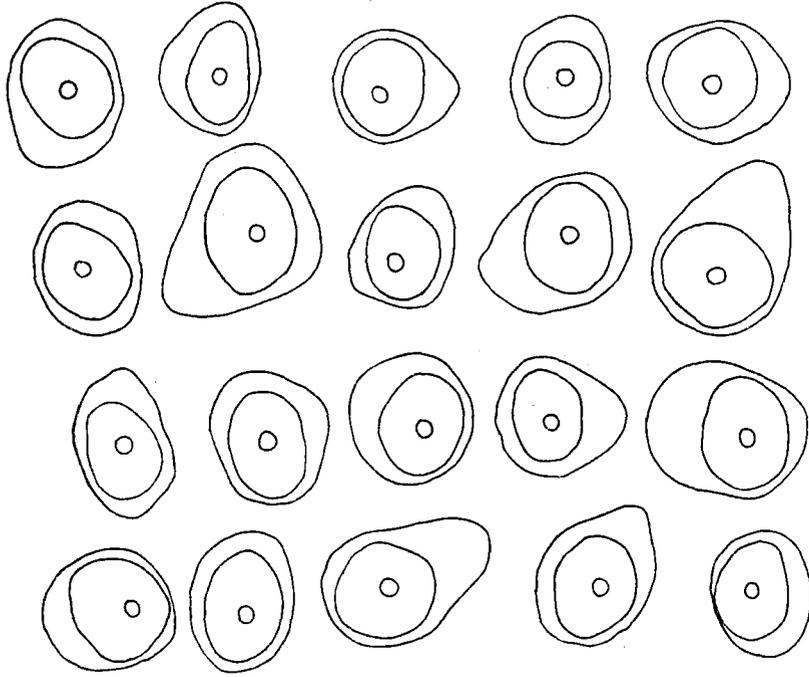
E 4

G3-F MEDIA
N° 109
Z•1635

D
L



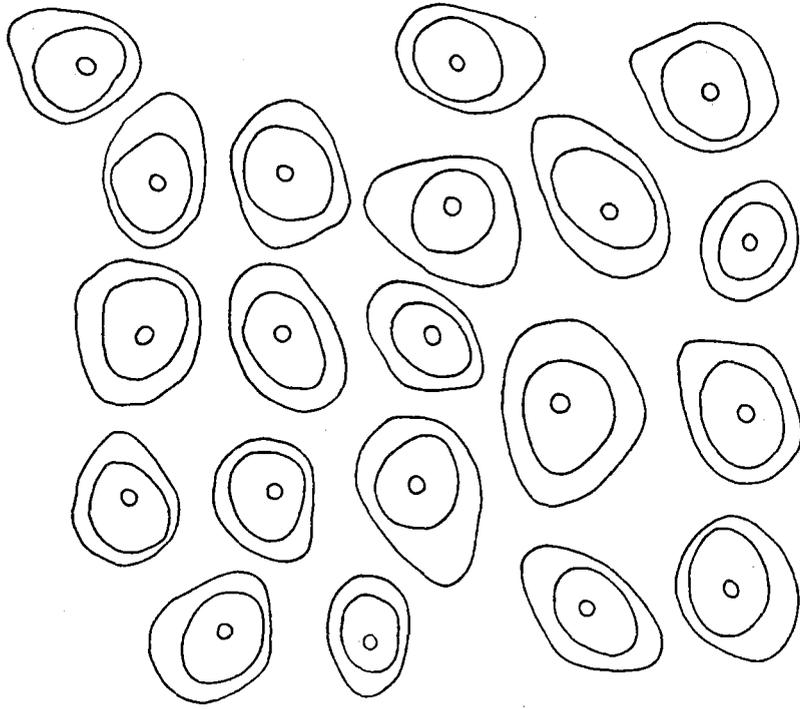
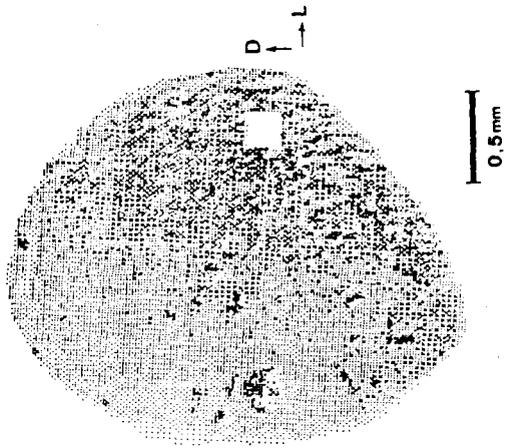
0.5 mm



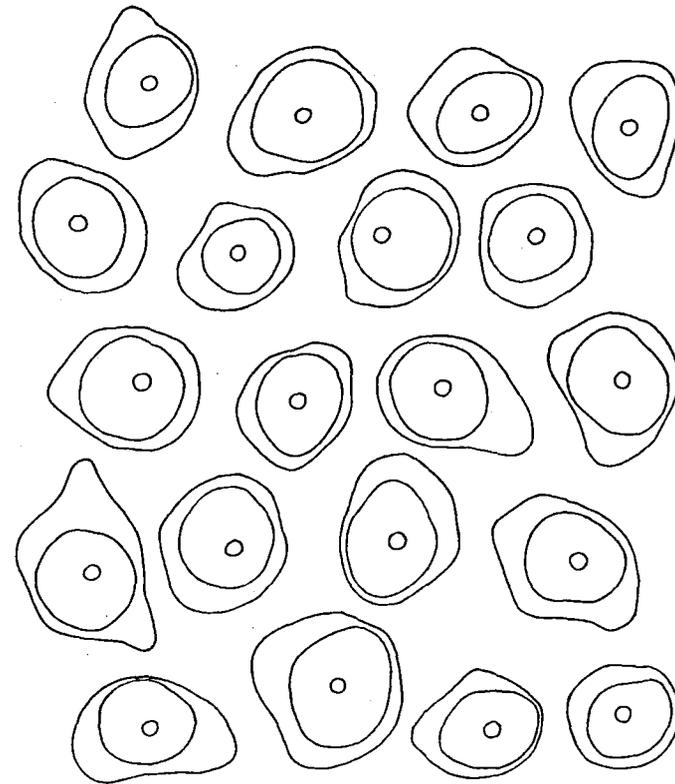
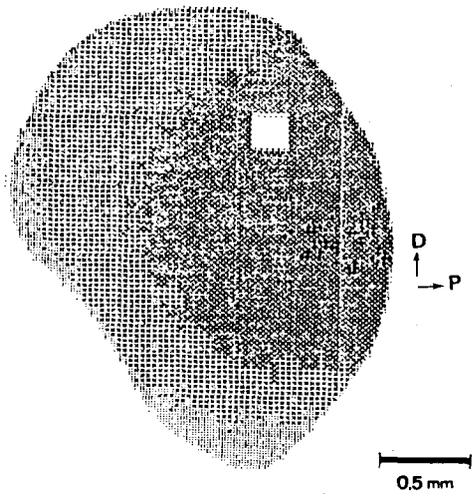
10 μ m

E 5

G1-F INFERIOR
N° 150
Z-2250



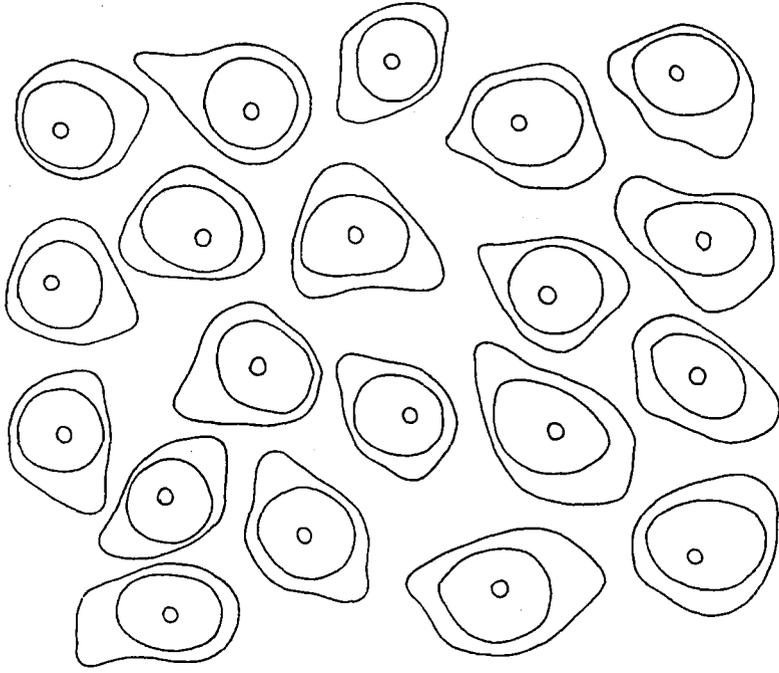
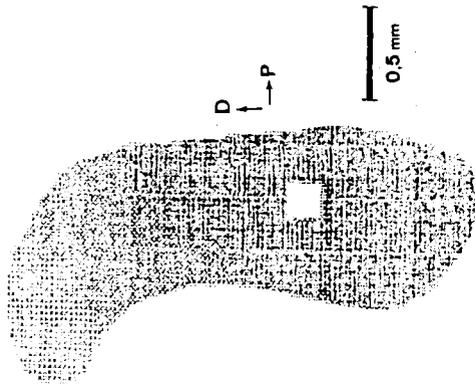
G3-S SUPERIOR
N°45
Z-675



10 μ m

E7

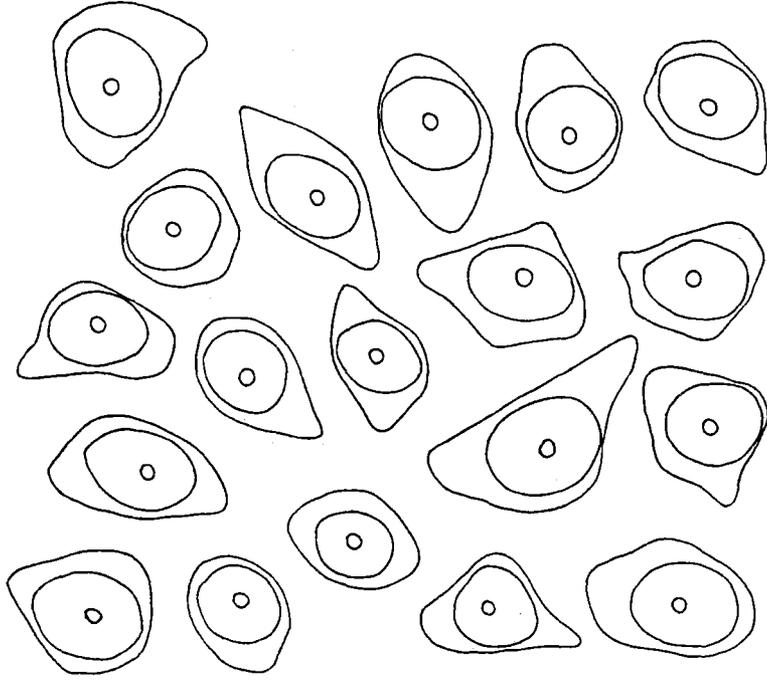
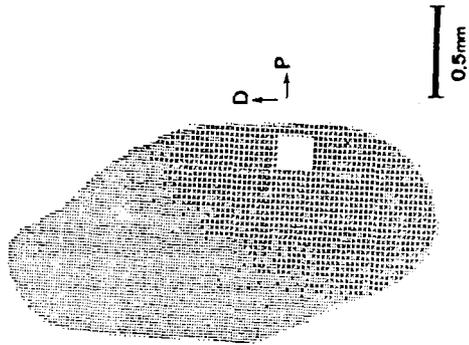
G3-S MEDIA
N° 110
Z = 1650



10 μ m

E8

G3-S INFERIOR
N° 1115
Z-1725



10 μ m

7. ANALISIS DE POBLACIONES O CATEGORIAS DE PERFILES.

7. ANALISIS DE POBLACIONES O CATEGORIAS DE PERFILES.

7.1. Doble clasificación.

Alcanzadas las conclusiones anteriores sobre poblaciones y orientación de las mismas, quisimos entonces concluir nuestro propósito de clasificación morfométrica y estudio del sector α_E del NGLd del conejo, a partir del análisis de los parámetros morfométricos que definieran cada una de las poblaciones. Para ello, lo primero que nos planteamos fue establecer una doble clasificación a partir del factor de forma y tamaño de los perfiles neuronales.

Con anterioridad (en la sección 6 de este mismo capítulo) se ha presentado la pauta a seguir para la obtención de los valores totales encontrados en el sector α_E en cada una de las direcciones de corte empleadas (reflejados en la tabla IV-16). Ahora se trata de analizar concretamente la situación de cada clase o posible población. Ya hemos expuesto anteriormente que de las tres direcciones de corte, es la correspondiente a las secciones horizontales la que por ofrecer mayores porcentajes de perfiles tendentes a la forma elíptica resulta la más favorable al corte, y será por tanto la más apropiada para iniciar el estudio. Al observar la zona superior del sector α_E del NGLd del conejo en los cortes horizontales, encontramos un porcentaje del 87,31% que corresponde a secciones nitidamente elipsoidales (F.F.e. $< 0,8$), frente a un 12,69% para las secciones con un valor de factor de forma mayor o igual a 0,8. Según esto, vemos que para los perfiles con factor de forma elíptica menor a 0,8, aparecen tres o cuatro poblaciones para análisis, siendo otra la situación para el caso de perfiles con factor de forma mayor o igual a 0,8. Mientras que para el caso de los perfiles elipsoidales el problema a resolver es determinar cual es el tamaño o tamaños de las neuronas elipsoidales o de perfil de forma elíptica (ya hemos dicho que estos perfiles sólo pueden provenir de neuronas de forma elíptica), en el caso de los perfiles tendentes a la forma circular el problema es doble:

a) determinar del conjunto cuales corresponden a secciones provenientes de células esferoidales y cuantas a células elipsoidales seccionadas según su diámetro menor; b) concluir el número real de poblaciones esféricas, caso de que existan, pues podría suceder que todos los perfiles con tendencia circular fuesen en realidad secciones de células elipsoidales seccionadas según su diámetro menor.

Al analizar los valores y comparar los de distintas zonas vemos, por ejemplo, que en la zona media del sector α_E y para los cortes horizontales, o bien las células están orientadas más hacia una dirección antero-posterior y por eso ha aumentado el porcentaje de perfiles con factor de forma menor a 0,8 (92,78%), o bien la población de células esferoidales ha disminuido. Por lo demás, las zonas superior y media resultan ser bastante semejantes como ya se ha expuesto en otras anteriores comparaciones.

Por último, en la zona inferior se observa un notable incremento de perfiles con tendencia a la forma circular (F.F.e. \geq 0,8), situación que se hace patente en las secciones frontales y sagitales. Dentro del valor 17,34%, aquí aparecido, llama la atención el porcentaje de 12,90% correspondiente a células que con un F.F.e. \geq 0,8 presentan un tamaño entre $100 \mu\text{m}^2$ y $180 \mu\text{m}^2$ de área de perfil. La pregunta a responder es la misma que hicimos anteriormente: ¿son estos valores producto de poblaciones de carácter tendente a la esfericidad o se deben exclusivamente a la orientación de las células elipsoidales?

Independientemente del análisis más detallado que se verifique más adelante, de todo lo expuesto surgen dos afirmaciones incuestionables: que el número de células elipsoidales es muy superior en las tres zonas y que ofrecen tamaños diversos en su origen.

Continuemos ahora el estudio contestando a tres cuestiones que nos parece son las fundamentales:

- a) ¿Cuáles son los tamaños de las células reales causantes de los diferentes perfiles neuronales que observamos en cada caso?.
- b) ¿Cuenta cada clase o tamaño de perfiles con algún otro carácter específico?.
- c) ¿Hay alguna condición que diferencie las posibles células esferoidales de las elipsoidales?.

La cuestión "a" se puede contestar a partir del análisis conjunto de los porcentajes de áreas y factor de forma de las secciones realizadas en las tres direcciones (horizontal, frontal y sagital). Las cuestiones "b" y "c" necesitan de un nuevo análisis de caracteres morfométricos para poder ser contestadas.

Cuestión a). Si para todas las secciones obtenidas a partir de las tres direcciones de corte histológico multiplicamos tamaños por porcentajes y los sumamos todos, obtendremos para cada zona y clase de factor de forma una cifra que será expresión relativa de los tamaños reales de las células existentes a ese nivel. La tabla IV-17 recoge estos valores.

Conjugando los valores obtenidos para la zona superior y media se ve cómo sigue apareciendo en sus construcciones una gran similitud, al igual que ocurría en los análisis realizados anteriormente sobre otras medidas o parámetros. Del mismo modo, la zona inferior ofrece un valor más bajo ($53.361,60 \mu\text{m}^2$) que los ofrecidos por la zona media ($61.504,80 \mu\text{m}^2$) y superior ($60.626,60 \mu\text{m}^2$), lo cual indica que realmente en la zona inferior hay células más pequeñas y la falta de perfiles con valores de área comprendidos entre $340 \mu\text{m}^2$ y $420 \mu\text{m}^2$ así como la escasez de perfiles con valores de área comprendidos entre $260 \mu\text{m}^2$ y $340 \mu\text{m}^2$, es debida no a efectos del corte sino a que verdaderamente hay una ausencia de células grandes.

ZONA	F. F.	TAMANOS	HORIZONTALES	FRONTALES	SAGITALES	Σ (H+F+S)
SUPERIOR	< 0,8	100 - 180	3553,20 μm ²	2679,60 μm ²	5191,20 μm ²	11424,00 μm ²
		180 - 260	10491,80 μm ²	10736,00 μm ²	10082,60 μm ²	31310,40 μm ²
		260 - 340	3345,00 μm ²	1722,00 μm ²	999,00 μm ²	6066,00 μm ²
		340 - 420	1170,40 μm ²	0,00 μm ²	0,00 μm ²	1170,40 μm ²
		TOTAL	18560,40 μm ²	15137,60 μm ²	16272,80 μm ²	49970,80 μm ²
	> 0,8	100 - 180	592,20 μm ²	603,40 μm ²	1108,80 μm ²	2304,40 μm ²
		180 - 260	1691,80 μm ²	4105,20 μm ²	1192,40 μm ²	6989,40 μm ²
		260 - 340	231,00 μm ²	1005,00 μm ²	126,00 μm ²	1362,00 μm ²
		340 - 420	0,00 μm ²	0,00 μm ²	0,00 μm ²	0,00 μm ²
		TOTAL	2515,00 μm ²	5713,60 μm ²	2427,20 μm ²	10655,80 μm ²
TOTAL (< 0,8 + > 0,8)			21075,40 μm ²	20851,20 μm ²	18700,00 μm ²	60626,60 μm ²
=====						
MEDIO	< 0,8	100 - 180	3939,60 μm ²	2716,00 μm ²	4008,20 μm ²	10663,80 μm ²
		180 - 260	11459,80 μm ²	7552,60 μm ²	10771,20 μm ²	29783,60 μm ²
		260 - 340	3309,00 μm ²	3732,00 μm ²	1494,00 μm ²	8535,00 μm ²
		340 - 420	722,00 μm ²	0,00 μm ²	0,00 μm ²	722,00 μm ²
		TOTAL	19430,40 μm ²	14000,60 μm ²	16273,40 μm ²	49704,40 μm ²
	> 0,8	100 - 180	425,60 μm ²	1254,40 μm ²	1219,40 μm ²	2899,40 μm ²
		180 - 260	585,20 μm ²	4160,20 μm ²	1733,60 μm ²	6479,00 μm ²
		260 - 340	342,00 μm ²	1641,00 μm ²	249,00 μm ²	2232,00 μm ²
		340 - 420	0,00 μm ²	190,00 μm ²	0,00 μm ²	190,00 μm ²
		TOTAL	1352,80 μm ²	7245,60 μm ²	3202,00 μm ²	11800,40 μm ²
TOTAL (< 0,8 + > 0,8)			20783,20 μm ²	21246,20 μm ²	19475,40 μm ²	61504,80 μm ²
=====						
INFERIOR	< 0,8	100 - 180	5871,60 μm ²	4544,40 μm ²	7350,00 μm ²	17766,00 μm ²
		180 - 260	8694,40 μm ²	7026,80 μm ²	6232,60 μm ²	21953,80 μm ²
		260 - 340	363,00 μm ²	1257,00 μm ²	126,00 μm ²	1746,00 μm ²
		340 - 420	0,00 μm ²	0,00 μm ²	0,00 μm ²	0,00 μm ²
		TOTAL	14929,00 μm ²	12828,20 μm ²	13708,00 μm ²	41465,20 μm ²
	> 0,8	100 - 180	1806,00 μm ²	1905,4 μm ²	1750,00 μm ²	5461,40 μm ²
		180 - 260	976,80 μm ²	3456,20 μm ²	1375,00 μm ²	5808,40 μm ²
		260 - 340	0,00 μm ²	627,00 μm ²	0,00 μm ²	627,00 μm ²
		340 - 420	0,00 μm ²	0,00 μm ²	0,00 μm ²	0,00 μm ²
		TOTAL	2782,80 μm ²	5988,60 μm ²	3125,00 μm ²	11896,40 μm ²
TOTAL (< 0,8 + > 0,8)			17711,80 μm ²	18816,80 μm ²	16833,00 μm ²	53361,60 μm ²

Además de los cálculos anteriores es de interés, para proseguir nuestro estudio, obtener para cada clase de tamaño y factor de forma, los valores medios de cada uno de los parámetros analizados (área del soma, área del núcleo, factor de forma elíptica del soma, factor de forma elíptica del núcleo y relación núcleo-citoplasma), en cada una de las zonas de estudio y direcciones de corte consideradas (tablas IV-18a a IV-18l). Obsérvese que en dichas tablas, con respecto al factor de forma de los perfiles neuronales, aparece una nueva clasificación dado que la clase en la que se agrupaban aquéllos con factor de forma elíptica menor de 0,8 se subdividió en otras tres, con lo que los perfiles se reagruparon del siguiente modo para dicho parámetro:

- Perfiles con un factor de forma mayor o igual a 0,8.
- Perfiles entre 0,8 y 0,7.
- Perfiles entre 0,7 y 0,6.
- Perfiles con un factor de forma menor a 0,6.

Estos valores más detallados con respecto al factor de forma de las partículas nos han proporcionado una orientación más minuciosa sobre su mayor o menor tendencia hacia la esfericidad o bien hacia la forma elipsoidal.

A partir de los valores contenidos en las tablas IV-18a a IV-18l, estaremos en disposición de poder distinguir particularidades en el interior de cada factor de forma. Por otra parte esta detallada clasificación será cuando menos conveniente para entender mejor los caracteres de cada categoría de perfiles.

7.2. Distribución de poblaciones a partir de perfiles.

El tratamiento de la distribución de poblaciones a partir de perfiles constituye un capítulo más, de los que resultan complejos en la Estereología y en la opinión de algunos, una cuestión ardua y no totalmente soluble (Cruz-Orive, 1976b). Nosotros no participamos enteramente de estas opiniones, aunque eso sí, partiendo de supuestos o enfoques algo diferentes.

Si queremos dar al problema una solución exactamente matemática, con clasificación indiscutible y en poblaciones multiformes, podemos aceptar que, aún en el caso de que se pudiera obtener una solución útil en teoría, resultaría muy difícil de aplicar en la práctica, sobre todo con los medios de hace unos 20 años; pero, si lo que desarrollamos es una solución que resulte útil conjugando práctica y teoría, aprovechando las ventajas de los modernos ordenadores, es posible que lleguemos a resultados que, sin ser exactos, tengan valor suficiente para servirnos en el deseo principal: el conocimiento relativo de poblaciones a partir de determinados parámetros de sus perfiles.

El tema de por sí, muestra un conjunto de aspectos que ofrecen una amplitud que sobrepasa los límites de que disponemos en nuestro trabajo doctoral, pero como, por otra parte, es una cuestión principal en el planteamiento de nuestra tesis, haremos un resumen de aquello que sea imprescindible y necesario para la resolución de los planteamientos. De todas formas, cuanto a continuación digamos supone las bases sobre las que hemos desarrollado las conclusiones posteriores y de ninguna forma un tratamiento superficial del problema.

La situación a resolver, como ya ha sido apuntado en algún otro lugar de este trabajo, es la de conocer los porcentajes de diversos elementos que pueden presentar diferentes formas y tamaños. La mayor dificultad se presenta en el hecho general de que varias estructuras diferentes, al ser seccionadas en alguno de sus diámetros, en virtud de su orientación pueden dar lugar a perfiles iguales o muy parecidos, en cuanto

a tamaño y forma se refiere. Como ya hemos dicho, práctica y teoría deben ir continuamente de la mano para la resolución de cada dificultad que se nos vaya planteando.

Las soluciones generales que hemos de perseguir son las siguientes:

- 1º Dado un perfil obtenido a partir de una estructura, determinar de qué otras no puede provenir y qué otros posibles perfiles podrían derivarse de la misma estructura.

- 2º Determinar los porcentajes que en los recuentos hemos obtenido para diversos perfiles y clasificarlos por tamaños, para a continuación limpiar dichos porcentajes. Es decir, poder a partir de las tres direcciones de corte concluir para cada porcentaje los valores que, con seguridad, se puede decir pertenecen a una población concreta, eliminando la posibilidad de contaminación de perfiles por: a) coincidencia de secciones propias (que dan análogo valor en otras direcciones de corte) y b) por secciones derivadas a partir de ángulos de corte produciendo posibles elementos diferentes en forma o tamaño.

Para la solución de estos puntos hemos de tratar, en primer lugar, varias cuestiones:

- Análisis de los perfiles derivados de una partícula.

- Estudio de los ángulos de inclinación.

- Tablas de clasificación por ángulos y factor de forma elíptica para cada tamaño de perfiles.

7.3. Análisis de los perfiles derivados de una partícula.

En el caso del NGLd del conejo y de la observación de los preparados histológicos tanto con el método de Golgi como con el de Klüver-Barrera, se desprende que contamos con dos posibles formas para sus neuronas: esferoidal y elipsoidal.

7.3.1. Partículas esferoidales.

Una partícula esferoidal puede dar perfiles de diferente tamaño en razón al nivel de su diámetro por el que haya sido cortada, pero no en virtud del ángulo de corte. Esto determina que, para las posibles neuronas esferoidales, el ángulo de corte no influya y el problema sea más simple. En la práctica hemos simplificado todavía más la cuestión porque únicamente hemos tenido en cuenta perfiles que contuvieran el nucléolo (ya que éste se tomó como unidad de recuento), con lo cual quedan eliminados el resto de perfiles menores que son la verdadera dificultad del análisis (Saltikov, 1946). Como además el grosor de nuestros cortes es de 15 μm , el número de posibilidades todavía se reduce más y con ello disminuyen considerablemente las contaminaciones a que pueden dar lugar las secciones de partículas.

Una sección de partícula esferoidal conteniendo nucléolo, puede dar perfiles menores (para cortes de 15 μm) en relación con la localización de dicha estructura, pero como en nuestros elementos el nucléolo ofrecía una disposición prácticamente central en la célula, quiere esto decir que los perfiles que se midan están dando el valor correspondiente a secciones que en la proyección de observación contienen el diámetro mayor (figura IV-27a), o lo que es lo mismo, los perfiles observados a partir de células esferoidales serán, en cada caso, los correspondientes a la población de origen no siendo posible que provengan de una población de mayor tamaño.

De todo lo dicho podemos deducir:

- 1º) Que si hay neuronas esferoidales, las diferencias de perfiles por encima de $40 \mu\text{m}^2$ de área (que es lo que consideramos como error admisible por razones de variación técnica) son debidas a la existencia de poblaciones diferentes.
- 2º) Que no pudiéndose negar la posibilidad de que elementos elipsoidales den lugar a perfiles circulares, habrá que aclarar esta situación al analizar las poblaciones de neuronas de forma elipsoidal.

7.3.2. Partículas elipsoidales._

Una partícula elipsoidal puede dar lugar cuando se la secciona (aun en el caso de considerar sólo perfiles con nucléolo) a diversos perfiles de tamaño y forma (figura IV-27b) según el ángulo de corte y el grosor de éste. Ante tal situación, el problema a resolver es el de determinar cuales son los perfiles que pueden derivarse de las poblaciones reales que existan en el material objeto de estudio.

Lo primero que tendremos que hacer es encontrar la fórmula que nos analice la posibilidad de perfiles que pueden derivarse a partir de un elipsoide según como cambie su orientación en el espacio.

En teoría las bases para la resolución del problema son como sigue: Tengamos un elipsoide que es seccionado según un plano que forma un ángulo α' con respecto al plano horizontal XZ y que el grosor del corte de sección es t ; en la figura IV-28 se muestra la proyección del elipsoide sobre el plano vertical XY así como la proyección del plano de corte o línea de sección, que forma el correspondiente ángulo α' con el eje X y α con respecto al eje mayor de la elipse. Como sólo vamos a considerar

Figura IV-27a._ La sección de una partícula esferoidal conteniendo nucléolo dará lugar, cuando dicho orgánulo ocupe una posición prácticamente central en la célula, a perfiles que en la proyección de observación contendrán el diámetro mayor. Esto quiere decir que los perfiles observados a partir de células esferoidales serán, en cada caso, los correspondientes a la población de origen.

Figura IV-27b._ Una partícula elipsoidal puede dar lugar cuando se la secciona (aun en el caso de considerar sólo perfiles con nucléolo) a diversos perfiles de tamaño y forma.

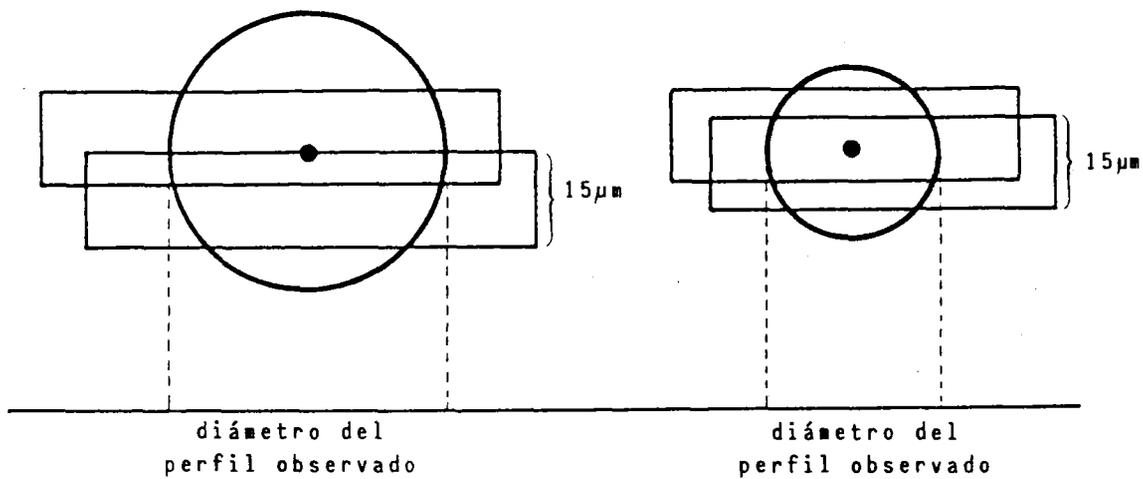


FIGURA IV-27a

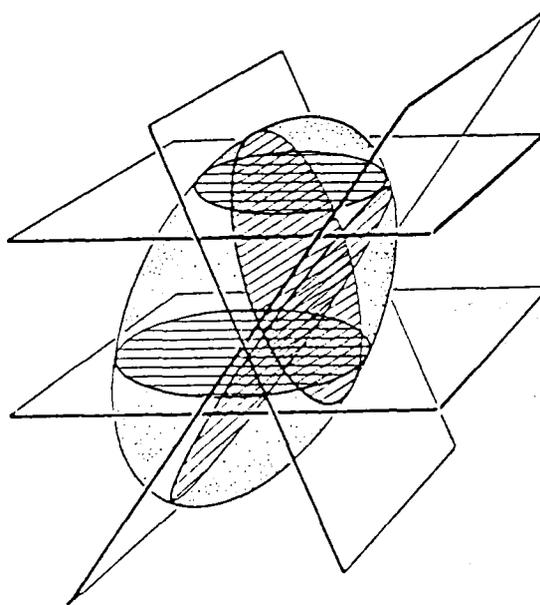


FIGURA IV-27b

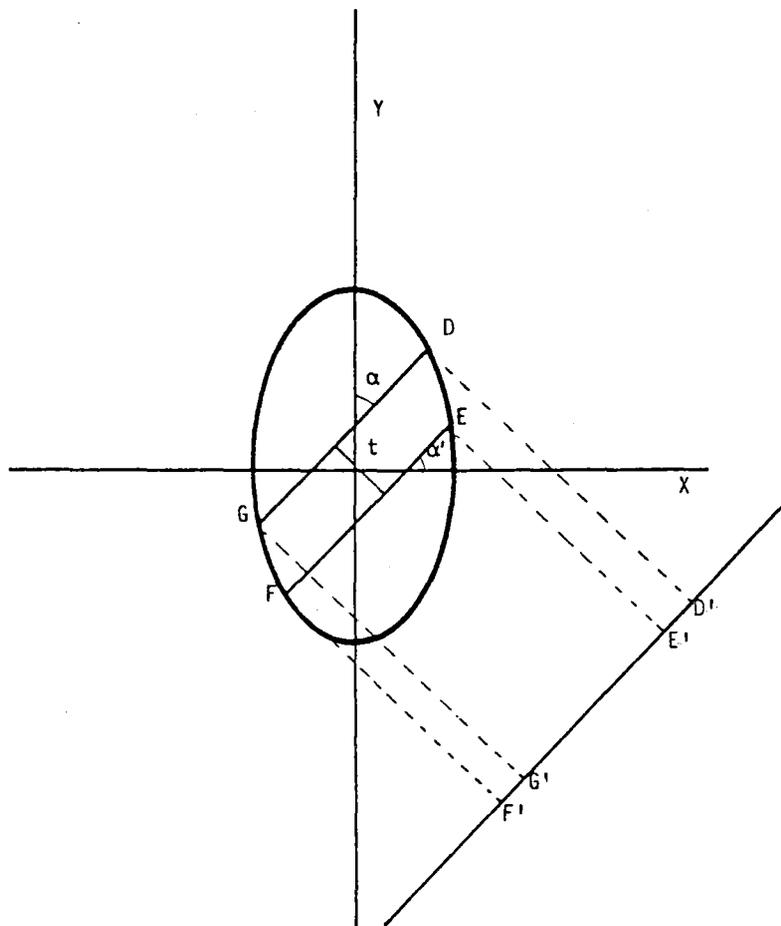


FIGURA IV-28

válidas las secciones que contengan nucléolo (situado en nuestro caso centralmente), los posibles perfiles a observar serán los de las proyecciones F y D (figura IV-28). El valor de esta proyección nos dará el del diámetro mayor del perfil y este valor dependerá del ángulo de inclinación α' . Si consideramos que los ejes mayor y menor de la elipse constituyen los ejes X e Y de coordenadas sobre los que se establece el ángulo de inclinación, entonces, es preciso determinar las coordenadas de los puntos F y D a partir de la ecuación de la elipse y posteriormente calcular los valores de sus proyecciones con arreglo a la construcción que se deriva de la figura IV-29. Siguiendo estas bases Calvente y cols. (1987) desarrollan un procedimiento y deducción cuyo estudio concluye ofreciendo las fórmulas finales para el cálculo de los puntos de proyección y que son:

$$x' = OF$$

$$OF = OG + GF$$

$$OG = x \operatorname{sen} \alpha; GF = y \operatorname{cos} \alpha$$

de donde:

$$x' = y \operatorname{sen} \alpha + y \operatorname{cos} \alpha$$

$$y' = PF$$

$$PF = PD - FD$$

$$PD = y \operatorname{sen} \alpha; FD = GE = x \operatorname{cos} \alpha$$

de donde:

$$y' = y \operatorname{sen} \alpha - x \operatorname{cos} \alpha$$

calculados los puntos D, E, F y G, quedan transformadas sus coordenadas x e y con respecto a los ejes X' e Y'. De estas nuevas coordenadas se toman aquellos dos puntos que ofrezcan, uno, la abscisa más pequeña y, otro, la

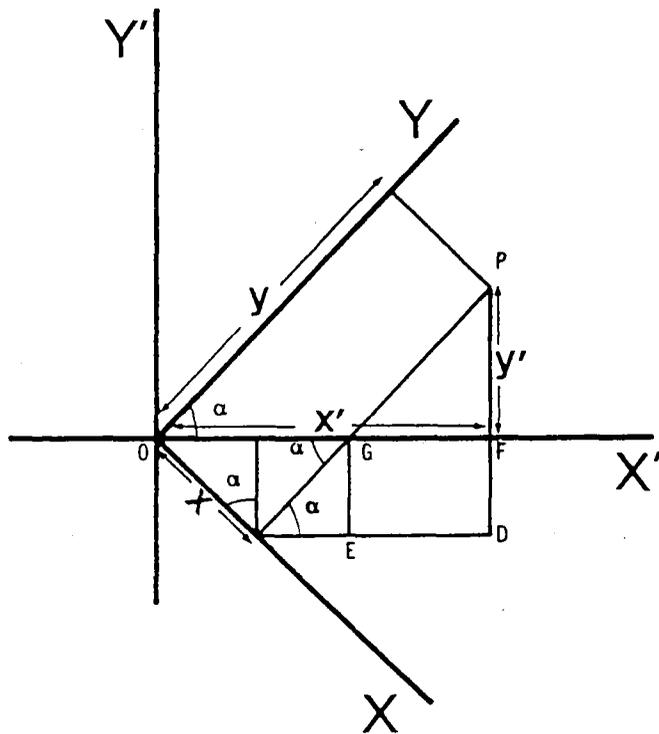


FIGURA IV-29

abscisa mayor; la diferencia entre ambos nos dará el diámetro mayor del perfil observado resultante de esa sección con un grosor t (ver figura IV-28).

A partir de este diámetro y conocido el menor del elipsoide de partida, se calculan los valores que figuran en las tablas de "perfiles derivados" IV-19, IV-20, IV-21 y IV-22, en cada una de las cuales se reflejan, a partir de un tamaño y perfil concreto, los valores menores de perfiles que se pueden obtener cuando sobre la estructura de la partícula inciden ángulos de corte que varían desde 0° hasta 90° .

En nuestro caso, como quiera que inicialmente hemos detectado cuatro tamaños diferentes de perfiles, se han tomado como tamaños de partida a la hora de confeccionar las tablas IV-19, IV-20, IV-21 y IV-22, los valores medios de cada uno de los tamaños considerados ($380 \mu\text{m}^2$, $300 \mu\text{m}^2$, $220 \mu\text{m}^2$ y $140 \mu\text{m}^2$) y a partir de éstos se han calculado sus posibles perfiles derivados. Para cualquiera de los cuatro tamaños iniciales se calcularon los factores de forma elíptica y sus correspondientes diámetros mayor y menor del perfil indicado. Sobre estos valores se fueron dando inclinaciones de 0° hasta 90° (de 10° en 10°) y para cada inclinación se calcularon, haciendo uso de las fórmulas anteriormente indicadas, los valores de los perfiles correspondientes (que son los mostrados en las tablas IV-19, IV-20, IV-21 y IV-22). Cada valor hallado va acompañado de su correspondiente valor de factor de forma elíptica.

La utilidad y empleo de las tablas de "perfiles derivados" es la siguiente. A partir de una situación dada, se puede ver cuales son los perfiles que se pueden derivar, para a continuación comprobar en las tablas de porcentajes de tamaño y factor de forma si existe correspondencia y derivación posible o si no la hay. Por consiguiente, junto con las tablas de "perfiles derivados", para responder a esta cuestión que hemos planteado, también es necesario disponer de la clasificación y porcentaje correspondiente a los tamaños de los perfiles en función de su factor de

		ANGULO DE CORTE								
(1) 140 μm^2 (100-180)	(2)→ ↓	10°	20°	30°	40°	50°	60°	70°	80°	90°
F.F.e.=0,4 d _{max} 21,10 d _{min} 8,44	AREA	133,72	121,57	108,12	95,73	84,49	74,04	65,02	58,46	56,00
	F.F.e.	0,419	0,461	0,518	0,585	0,662	0,756	0,861	0,958	1,000
F.F.e.=0,5 d _{max} 16,86 d _{min} 9,44	AREA	136,16	126,89	115,84	104,89	94,43	85,07	77,32	71,93	70,00
	F.F.e.	0,514	0,552	0,604	0,667	0,741	0,823	0,905	0,973	1,000
F.F.e.=0,6 d _{max} 17,24 d _{min} 10,34	AREA	137,51	130,99	122,24	113,19	104,17	96,26	89,79	85,45	84,00
	F.F.e.	0,611	0,641	0,687	0,742	0,806	0,873	0,936	0,982	1,000
F.F.e.=0,7 d _{max} 15,96 d _{min} 11,17	AREA	138,29	133,85	127,73	120,67	113,65	107,43	102,40	99,14	98,00
	F.F.e.	0,708	0,732	0,767	0,812	0,862	0,912	0,957	0,988	1,000
F.F.e.=0,8 d _{max} 14,92 d _{min} 11,94	AREA	138,83	136,30	132,28	127,50	122,70	118,43	115,03	112,68	112,00
	F.F.e.	0,807	0,822	0,847	0,878	0,913	0,946	0,974	0,994	1,000
F.F.e.=0,9 d _{max} 14,06 d _{min} 12,66	AREA	139,51	138,12	136,22	133,96	131,54	129,28	127,42	126,36	126,00
	F.F.e.	0,903	0,912	0,925	0,941	0,958	0,975	0,989	0,997	1,000

Tabla IV-19. La tabla refleja en (1) los distintos factores de forma elíptica y sus correspondientes diámetros máximo y mínimo para poblaciones de tamaño comprendido entre 100 μm^2 y 180 μm^2 (valor medio empleado en los cálculos: 140 μm^2). En (2) se expresan los valores de área (en μm^2), y su factor de forma correspondiente, de los perfiles derivados que se obtienen de seccionar los valores reflejados en (1) a los ángulos que se indican. Los perfiles reflejados en (1) representan las secciones máximas de la "población origen"; los reflejados en (2) la "población derivada", cuyos perfiles aparecerán en la dirección de corte contraria a la considerada en (1) y según cada caso explicado en el texto. La tabla es válida para cualquiera de las tres direcciones de corte (horizontal, frontal o sagital) que se tome como "población origen".

		ANGULO DE CORTE								
(1) 220 μm^2 (180-260)	(2)→ ↓	10°	20°	30°	40°	50°	60°	70°	80°	90°
F,F,e=0,4 dmax 26,46 dmin 10,59	AREA F,F,e.	210,79 0,418	190,94 0,461	169,88 0,518	150,62 0,584	132,71 0,663	116,41 0,756	102,24 0,861	91,90 0,958	88,00 1,000
F,F,e=0,5 dmax 23,67 dmin 11,63	AREA F,F,e.	213,75 0,515	199,70 0,551	182,23 0,604	164,83 0,667	148,50 0,741	133,76 0,822	121,51 0,905	113,07 0,973	110,00 1,000
F,F,e=0,6 dmax 21,62 dmin 12,96	AREA F,F,e.	216,05 0,611	205,78 0,641	192,27 0,687	177,86 0,742	163,82 0,806	151,32 0,872	141,11 0,936	134,39 0,982	132,00 1,000
F,F,e=0,7 dmax 20,00 dmin 14,00	AREA F,F,e.	217,45 0,708	210,43 0,732	200,62 0,768	189,69 0,812	178,75 0,862	168,85 0,912	160,94 0,957	155,78 0,989	154,00 1,000
F,F,e=0,8 dmax 18,71 dmin 14,97	AREA F,F,e.	218,31 0,806	214,20 0,822	207,74 0,847	200,55 0,878	193,06 0,912	186,18 0,945	180,71 0,974	177,18 0,993	176,00 1,000
F,F,e=0,9 dmax 17,64 dmin 15,66	AREA F,F,e.	219,23 0,903	217,12 0,912	214,21 0,924	210,61 0,940	206,81 0,957	203,27 0,974	200,36 0,988	198,57 0,997	198,00 1,000

Tabla IV-20. La tabla refleja en (1) los distintos factores de forma elíptica y sus correspondientes diámetros máximo y mínimo para poblaciones de tamaño comprendido entre 180 μm^2 y 260 μm^2 (valor medio empleado en los cálculos: 220 μm^2). En (2) se expresan los valores de área (en μm^2), y su factor de forma correspondiente, de los perfiles derivados que se obtienen de seccionar los valores reflejados en (1) a los ángulos que se indican. Los perfiles reflejados en (1) representan las secciones máximas de la "población origen"; los reflejados en (2) la "población derivada", cuyos perfiles aparecerán en la dirección de corte contraria a la considerada en (1) y según cada caso explicado en el texto. La tabla es válida para cualquiera de las tres direcciones de corte (horizontal, frontal o sagital) que se tome como "población origen".

		ANGULO DE CORTE								
(1) 300 μm^2 (260-340)	(2)→ ↓	10°	20°	30°	40°	50°	60°	70°	80°	90°
F.F.e.=0,4 d _{max} 30,90 d _{min} 12,36	AREA	287,35	260,26	231,82	205,46	181,07	158,72	139,40	125,35	120,00
	F.F.e.	0,418	0,461	0,518	0,584	0,663	0,756	0,861	0,957	1,000
F.F.e.=0,5 d _{max} 27,64 d _{min} 13,82	AREA	291,87	272,01	248,60	224,83	202,50	182,40	165,67	154,15	150,00
	F.F.e.	0,514	0,551	0,603	0,667	0,741	0,822	0,905	0,973	1,000
F.F.e.=0,6 d _{max} 25,23 d _{min} 15,14	AREA	294,48	280,65	262,25	242,43	223,47	206,35	192,49	183,24	180,00
	F.F.e.	0,611	0,641	0,686	0,742	0,805	0,872	0,935	0,982	1,000
F.F.e.=0,7 d _{max} 23,36 d _{min} 16,35	AREA	296,54	287,08	273,68	268,63	243,59	230,24	219,41	212,38	210,00
	F.F.e.	0,708	0,731	0,767	0,812	0,862	0,912	0,957	0,989	1,000
F.F.e.=0,8 d _{max} 21,65 d _{min} 17,48	AREA	297,83	292,03	283,50	273,51	263,26	253,95	246,37	241,66	240,00
	F.F.e.	0,806	0,822	0,847	0,878	0,912	0,945	0,974	0,993	1,000
F.F.e.=0,9 d _{max} 20,60 d _{min} 16,54	AREA	298,95	296,20	292,17	287,21	282,02	277,22	273,30	270,78	270,00
	F.F.e.	0,903	0,912	0,924	0,940	0,957	0,974	0,988	0,997	1,000

Tabla IV-21. La tabla refleja en (1) los distintos factores de forma elíptica y sus correspondientes diámetros máximo y mínimo para poblaciones de tamaño comprendido entre 260 μm^2 y 340 μm^2 (valor medio empleado en los cálculos: 300 μm^2). En (2) se expresan los valores de área (en μm^2), y su factor de forma correspondiente, de los perfiles derivados que se obtienen de seccionar los valores reflejados en (1) a los ángulos que se indican. Los perfiles reflejados en (1) representan las secciones máximas de la "población origen"; los reflejados en (2) la "población derivada", cuyos perfiles aparecerán en la dirección de corte contraria a la considerada en (1) y según cada caso explicado en el texto. La tabla es válida para cualquiera de las tres direcciones de corte (horizontal, frontal o sagital) que se tome como "población origen".

		ANGULO DE CORTE								
(1) 380 μm^2 (340-420)	(2)→ ↓	10°	20°	30°	40°	50°	60°	70°	80°	90°
F,F,e,=0,4 d _{max} 34,78 d _{min} 19,90	AREA	363,69	329,97	293,80	260,25	229,34	201,01	176,58	158,77	152,00
	F,F,e,	0,418	0,461	0,517	0,584	0,663	0,756	0,861	0,957	1,000
F,F,e,=0,5 d _{max} 31,10 d _{min} 15,64	AREA	369,79	344,94	314,70	284,80	256,45	231,01	209,82	195,29	190,00
	F,F,e,	0,514	0,551	0,604	0,667	0,741	0,823	0,906	0,973	1,000
F,F,e,=0,6 d _{max} 28,40 d _{min} 17,04	AREA	373,02	355,62	332,14	307,18	282,99	261,30	243,75	232,06	228,00
	F,F,e,	0,611	0,641	0,686	0,742	0,806	0,873	0,935	0,982	1,000
F,F,e,=0,7 d _{max} 26,29 d _{min} 16,40	AREA	375,59	363,59	346,72	327,62	308,75	291,64	278,01	269,05	266,00
	F,F,e,	0,708	0,732	0,767	0,812	0,862	0,912	0,957	0,989	1,000
F,F,e,=0,8 d _{max} 24,59 d _{min} 19,67	AREA	337,32	369,81	359,15	346,35	333,35	321,64	312,18	303,11	304,00
	F,F,e,	0,806	0,822	0,846	0,878	0,912	0,945	0,974	0,993	1,000
F,F,e,=0,9 d _{max} 23,18 d _{min} 20,66	AREA	378,66	375,25	370,10	363,79	357,21	351,15	346,23	342,98	342,00
	F,F,e,	0,903	0,911	0,924	0,940	0,957	0,974	0,988	0,997	1,000

Tabla IV-22. La tabla refleja en (1) los distintos factores de forma elíptica y sus correspondientes diámetros máximo y mínimo para poblaciones de tamaño comprendido entre 340 μm^2 y 420 μm^2 (valor medio empleado en los cálculos; 380 μm^2). En (2) se expresan los valores de área (en μm^2), y su factor de forma correspondiente, de los perfiles derivados que se obtienen de seccionar los valores reflejados en (1) a los ángulos que se indican. Los perfiles reflejados en (1) representan las secciones máximas de la "población origen"; los reflejados en (2) la "población derivada", cuyos perfiles aparecerán en la dirección de corte contraria a la considerada en (1) y según cada caso explicado en el texto. La tabla es válida para cualquiera de las tres direcciones de corte (horizontal, frontal o sagital) que se tome como "población origen".

forma elíptica (tablas IV-23, IV-24, IV-25, IV-26 y IV-27), así como conocer los ángulos de inclinación de los mismos, producidos en cada una de las direcciones de corte consideradas (horizontal, frontal y sagital), que tendremos que extraer de los listados de datos en los que aparecen para cada perfil, los valores de área, factor de forma elíptica y ángulo de inclinación correspondiente.

7.4. Estudio de los ángulos de inclinación.

Desde el punto de vista estrictamente geométrico, una estructura elipsoidal situada en el espacio muestra tres ángulos con grados de orientación según que el corte que le demos (o plano de proyección) sea horizontal, frontal o sagital (figura IV-30). Si los cortes fueran horizontales, la proyección sobre el plano XZ (plano horizontal) del diámetro mayor de la elipse formará un ángulo con el eje X que denominaremos β y que influirá en las áreas de los perfiles que se obtengan cuando realicemos secciones frontales, de tal forma, que cuanto mayor sea β (entre 0° y 90°), menor será el área del perfil derivado en secciones frontales. En las secciones frontales la proyección de la dirección indicada por el eje mayor del elipsoide sobre el plano XY (plano frontal), formará un ángulo con el eje X, que denominaremos α , que influirá en las áreas de los perfiles que se obtengan cuando se realicen secciones horizontales, de tal forma, que cuanto mayor sea α (entre 0° y 90°) menor será el área del perfil que se obtenga en el plano horizontal. Por último, si las secciones son sagitales, el ángulo que forme la proyección de la dirección del diámetro mayor del elipsoide sobre el plano YZ (plano sagital) con el eje Z, al que denominaremos γ' , será tal que resultará semejante a un ángulo α y por lo mismo conforme aumente ese ángulo disminuirá el área de los perfiles resultantes de las secciones horizontales.

Todo lo dicho viene a expresar que cuando realizamos una sección según una dirección concreta, el perfil elíptico obtenido dará un

340 μm^2 - 420 μm^2	FACTOR DE FORMA ELIPTICA (%)			
	ZONA	$\geq 0,8$	0,8-0,7	0,7-0,6
HORIZONTAL-SUPERIOR	-----	-----	0,38	2,69
FRONTAL-SUPERIOR	-----	-----	-----	-----
SAGITAL-SUPERIOR	-----	-----	-----	-----
HORIZONTAL-MEDIA	-----	0,38	0,77	0,77
FRONTAL-MEDIA	0,50	-----	-----	-----
SAGITAL-MEDIA	-----	-----	-----	-----
HORIZONTAL-INFERIOR	-----	-----	-----	-----
FRONTAL-INFERIOR	-----	-----	-----	-----
SAGITAL-INFERIOR	-----	-----	-----	-----

Tabla IV-23. Valores obtenidos, sin corregir, de los porcentajes de participación en función del factor de forma elíptica para la población de 340 μm^2 - 420 μm^2 en cada zona de estudio y según cada una de las direcciones de corte utilizadas.

260 μm^2 - 340 μm^2	FACTOR DE FORMA ELIPTICA (%)			
	ZONA	$\geq 0,8$	0,8-0,7	0,7-0,6
HORIZONTAL-SUPERIOR	0,77	1,90	3,45	6,15
FRONTAL-SUPERIOR	3,35	2,87	2,39	0,48
SAGITAL-SUPERIOR	0,42	0,38	1,25	1,25
HORIZONTAL-MEDIA	1,14	1,52	4,18	5,32
FRONTAL-MEDIA	5,47	5,47	2,99	3,92
SAGITAL-MEDIA	0,83	1,66	2,08	1,25
HORIZONTAL-INFERIOR	-----	-----	-----	1,21
FRONTAL-INFERIOR	2,09	2,09	1,57	0,52
SAGITAL-INFERIOR	-----	-----	-----	0,42

Tabla IV-24. Valores obtenidos, sin corregir, de los porcentajes de participación en función del factor de forma elíptica para la población de 260 μm^2 - 340 μm^2 en cada zona de estudio y según cada una de las direcciones de corte utilizadas.

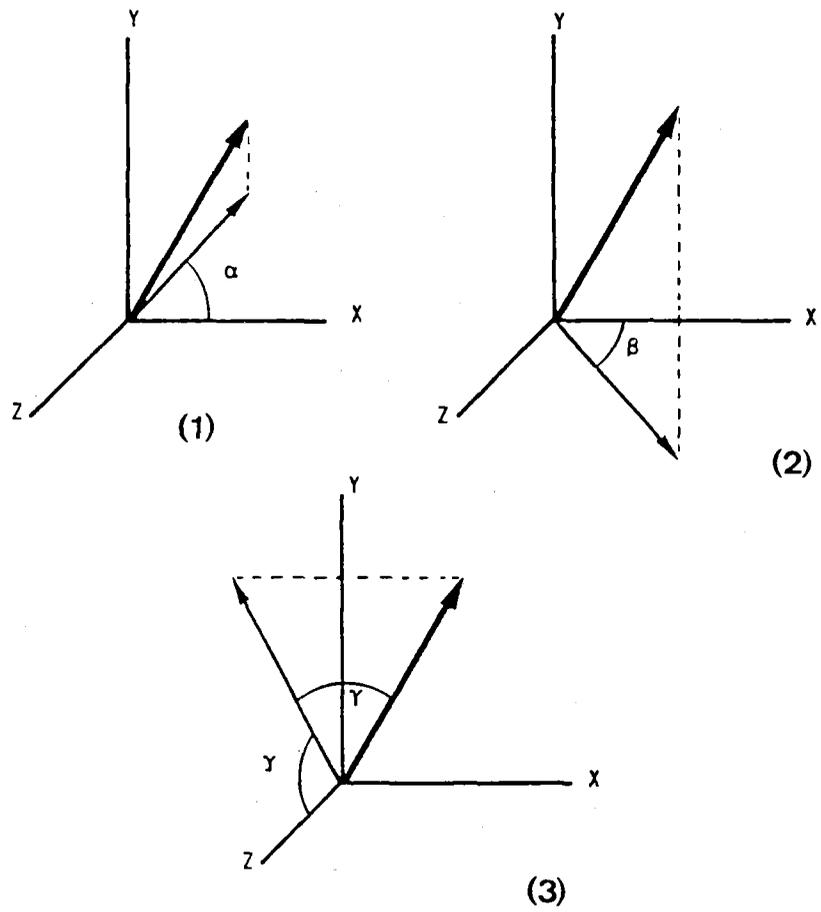
180 μm^2 - 260 μm^2	FACTOR DE FORMA ELIPTICA (%)			
	ZONA	$\geq 0,8$	0,8-0,7	0,7-0,6
HORIZONTAL-SUPERIOR	7,69	15,77	18,46	13,46
FRONTAL-SUPERIOR	18,66	23,92	16,75	8,13
SAGITAL-SUPERIOR	5,42	18,33	20,00	7,50
HORIZONTAL-MEDIA	2,66	11,79	22,05	18,25
FRONTAL-MEDIA	18,91	19,40	8,96	5,97
SAGITAL-MEDIA	7,88	18,26	21,58	9,13
HORIZONTAL-INFERIOR	4,44	10,89	16,94	11,69
FRONTAL-INFERIOR	15,71	15,18	14,14	2,62
SAGITAL-INFERIOR	6,25	10,83	10,83	6,67

Tabla IV-25. Valores obtenidos, sin corregir, de los porcentajes de participación en función del factor de forma elíptica para la población de 180 μm^2 - 260 μm^2 en cada zona de estudio y según cada una de las direcciones de corte utilizadas.

100 μm^2 - 180 μm^2	FACTOR DE FORMA ELIPTICA (%)			
	ZONA	$\geq 0,8$	0,8-0,7	0,7-0,6
HORIZONTAL-SUPERIOR	4,23	11,15	8,85	5,39
FRONTAL-SUPERIOR	4,31	8,61	9,09	1,44
SAGITAL-SUPERIOR	7,92	20,42	12,08	4,58
HORIZONTAL-MEDIA	3,04	10,27	10,27	7,61
FRONTAL-MEDIA	8,96	11,44	5,47	2,49
SAGITAL-MEDIA	8,71	12,45	12,03	4,15
HORIZONTAL-INFERIOR	12,90	16,94	15,73	9,27
FRONTAL-INFERIOR	13,61	14,66	15,18	2,62
SAGITAL-INFERIOR	12,50	21,25	22,92	8,33

Tabla IV-26. Valores obtenidos, sin corregir, de los porcentajes de participación en función del factor de forma elíptica para la población de 100 μm^2 - 180 μm^2 en cada zona de estudio y según cada una de las direcciones de corte utilizadas.

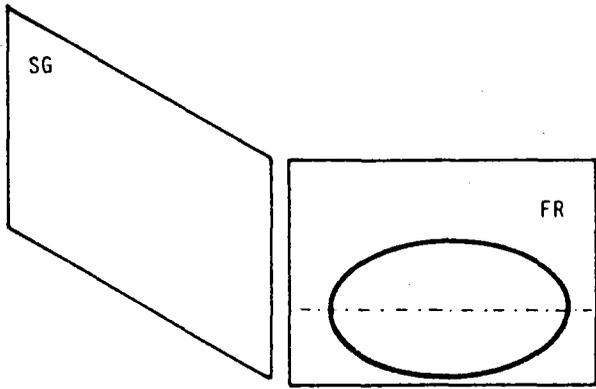
FIGURA IV-30



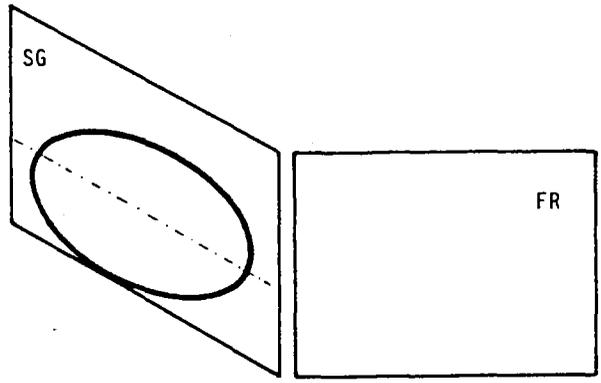
ángulo de inclinación con su eje de proyección, que nos proporcionará un dato (ángulo α , β y γ') sobre el valor que obtendríamos si el corte se hubiera realizado en las otras direcciones. De este modo, dada una situación concreta podremos, con la ayuda de las tablas de "perfiles derivados" (tablas IV-19, IV-20, IV-21 y IV-22), saber qué perfiles obtendríamos si la sección se realizara en las otras direcciones de corte. Finalmente, llamaremos γ al ángulo que forma la dirección del eje mayor del elipsoide con su proyección sobre el plano YZ; como en los casos anteriores, cuanto mayor sea γ menor será el perfil que origine el elipsoide en secciones sagitales.

Cuando analizamos los perfiles obtenidos en una dirección de corte, resultará que serán de mayor área, en cada caso, los de aquellas partículas elipsoidales que mantengan un ángulo de valor mínimo (teóricamente 0°) con esa dirección de corte. La situación queda reflejada en la figura IV-31. De acuerdo con todo lo dicho y según se desprende del análisis de la situación ofrecida por dicha figura (IV-31), resultará que cuando un ángulo valga 0° , el perfil resultante será mayor según la dirección de corte y si valen 0° simultáneamente α y β , obtendremos máximos perfiles en los cortes horizontales y frontales. Si los ángulos que valen 0° son α y γ , obtendremos máximos perfiles en los cortes horizontales y sagitales. Por último, si valen 0° β y γ obtendremos máximos perfiles en los cortes sagitales y frontales. En cada caso de los anteriores, el tercer ángulo no considerado valdrá 90° y cuando el ángulo es 90° para cualquier dirección de corte, el perfil será el menor de los posibles.

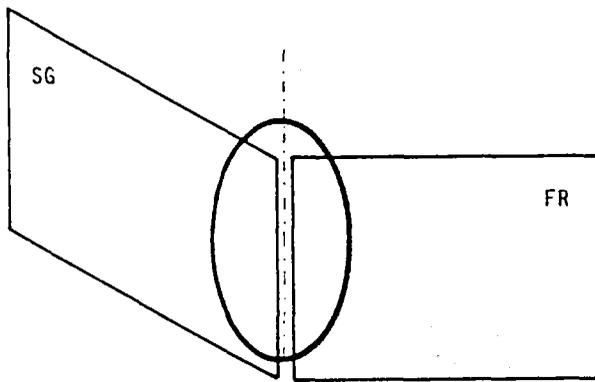
Entendamos ahora que si en las poblaciones de perfiles, derivadas de cada una de las tres direcciones de corte, consideramos sus valores de área, las mayores áreas en cada caso serán aquéllas en que las células sean sorprendidas con ángulo 0° (de acuerdo a la dirección en que hemos seccionado), sin que en esto influya el ángulo que el perfil guarde con el plano de proyección, aunque dicho ángulo influirá sin embargo, por ejemplo en el corte horizontal, en el perfil que habríamos obtenido en las



1



2



3

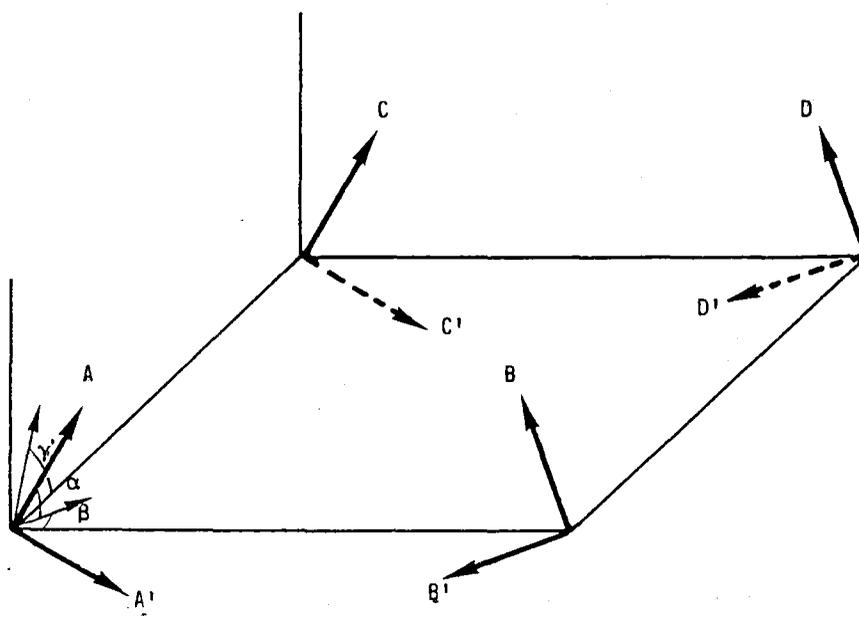
FIGURA IV-31

secciones frontales y sagitales. Según todo esto, los perfiles de mayor tamaño que obtengamos en cada dirección de corte, serán los correspondientes a elementos así favorablemente orientados (ángulo 0°). Estos elementos darán, cuando realicemos cortes en las otras direcciones, perfiles en función del ángulo α , β o γ según los casos. Por consiguiente, se desprende de lo dicho que la suma de perfiles máximos, obtenidos a partir de cada una de las direcciones de corte, representará el valor total en porcentaje para ese tamaño considerado. Sin embargo y atendiendo también a las consideraciones anteriores, cabe la posibilidad de que una estructura al ser seccionada produzca perfiles máximos en dos direcciones de corte, por lo que resultará que cada población ofrecerá en esa suma, contaminación de perfiles "propios" derivados que por su reducido ángulo ofrecerán áreas semejantes (contaminación debida a la propia población).

Por otro lado cuando una población no sea la mayor de todas, soportará contaminación de "perfiles derivados" que son aquellos que, presentando áreas semejantes a la suya son el resultado de secciones menores de elipsoides pertenecientes a poblaciones de mayor tamaño. Por todo ello el porcentaje real de la suma de los perfiles máximos, obtenidos en cada dirección de corte, debe ser reducido o "limpiado" de aquellas dos posibles vías de perfiles contaminantes.

Otra consideración importante en torno a los ángulos de inclinación es que las ocho posiciones posibles que puede adoptar un cuerpo en el espacio, al ser semejantes dos a dos y dar los mismos valores de ángulos, para el tratamiento de nuestro material, se pueden reducir a cuatro. Este aspecto queda reflejado en la figura IV-32, en la que se pueden observar cuales son las coincidencias aludidas. En la práctica y a efectos de morfometría de poblaciones, el problema se reduce a las posiciones A y B (figura IV-32) y en lo referente a tamaños a analizar, entre 0° y 90° . Por último hay que puntualizar que, por ejemplo, un perfil horizontal con 20° de ángulo β producirá al corte frontal y sagital iguales perfiles que otro con un ángulo de 160° (suplementario de 20°), por lo que ambos valores saldrán en los cuadros de estudio en clases

FIGURA IV-32



A	A'	B	B'
α_A	$\alpha_{A'} = 180 - \alpha_A$	α_B	$\alpha_{B'} = 180 - \alpha_B$
β_A	$\beta_{A'} = \beta_A$	β_B	$\beta_{B'} = \beta_B$
γ'_A	$\gamma'_{A'} = 180 - \gamma'_A$	γ'_B	$\gamma'_{B'} = 180 - \gamma'_B$
C	C'	D	D'
α_C	$\alpha_{C'} = 180 - \alpha_C$	α_D	$\alpha_{D'} = 180 - \alpha_D$
β_C	$\beta_{C'} = \beta_C$	β_D	$\beta_{D'} = \beta_D$
γ'_C	$\gamma'_{C'} = 180 - \gamma'_C$	γ'_D	$\gamma'_{D'} = 180 - \gamma'_D$

similares. En la práctica y con el fin de que resulte más cómodo y rápido el modo de operar, es conveniente, con arreglo a los principios considerados anteriormente, confeccionar una tabla de conversión de ángulos, según la cual dado un ángulo medido podamos pasar a sus análogos y complementarios correspondientes (tabla IV-28).

H.	F.	S.										
β	α	α	10°/180°	11°/170°	20°/160°	30°/150°	40°/140°	50°/130°	60°/120°	70°/110°	80°/100°	90°
γ	γ	β	90°	80°	70°	60°	50°	40°	30°	20°	10°	0°

Tabla IV-28. Tabla de conversión de ángulos, válida para cualquiera de las tres direcciones de corte: horizontal (H.), frontal (F.) y sagital (S.). En cada caso esta tabla nos indica los ángulos correspondientes a cada una de las otras dos direcciones distintas de la dirección de corte considerada. Los ángulos serán α para las secciones horizontales, β para las frontales y γ para las sagitales.

7.5. Tablas de clasificación por ángulos y factor de forma elíptica para cada tamaño de perfiles.

Una vez realizado el análisis anterior y para poder trabajar con nuestro material, necesitábamos confeccionar tablas de doble clasificación por ángulos (tablas IV-29, IV-30 y IV-31) en las que, para cada población y con respecto a su tamaño, se reflejase el número de perfiles en función del factor de forma elíptica y de los ángulos de inclinación. Con respecto al factor de forma elíptica los perfiles se clasificaron en cuatro clases:

- 1ª) Factor de forma elíptica mayor o igual a 0,8.
- 2ª) Factor de forma elíptica entre 0,8 y 0,7.
- 3ª) Factor de forma elíptica entre 0,7 y 0,6.
- 4ª) Factor de forma elíptica menor de 0,6.

F.F.e.	> 0,8				0,8 - 0,7				0,7 - 0,6				< 0,6			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
10°	2	2			1	2	1		1	6	2	1		1	3	
20°	1				2				1	1	1			2	1	
30°		3			1	5			2	3			2		1	
40°		3			1	2			2				1		1	
50°			1		2	2			2	1	1		2	1	1	
60°	1		1		3				3				1		1	
70°	1	1			5	1			2	3				3		
80°		1			1	2			4					1		
90°		2			3	3			7				2			
100°	1				1	1			2	1			1	1		
110°	1				1				2				2			
120°	1	1			2	5			5	2				1	2	
130°	1				3	2			1	6			1	7	3	1
140°		2			3	1	2		2	3	2		1	6		1
150°	2	2			4	1			2	2			1		1	2
160°		3			2	1			1	4	1		1	6		
170°		1			1	3			2		1		1	6	1	1
180°	1	1			2	2	1		1	2	1		2	1	1	1

(a) Tamaño de los perfiles: I = 100 - 180 ps²; II = 180 - 260 ps²; III = 260 - 340 ps²; IV = 340 - 420 ps²

HORIZONTAL SUPERIOR

F.F.e.	> 0,8				0,8 - 0,7				0,7 - 0,6				< 0,6			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
10°	1	2	1		2	3	1	1	3	8	4		1	3	4	2
20°		1			2	8	2		1	2			1		1	
30°	1	1	1		3	4			2	8	1		1	6	1	
40°					8	1			2	7	1	1	3	5	1	
50°					1				6	1			2	8	4	1
60°	3				1	1			1	2			4		1	
70°						1			1							
80°									2	1						
90°		2							1							
100°	1												1			
110°	1									1			2			
120°	1									1			3	1		
130°		1							2				3		1	
140°	1	1							2	1			1	4	1	
150°													1	3	1	
160°		1							2	2	1		4	7	1	
170°									3	4			4	1		1
180°	1	1							3	4			3	6	2	1

(b) Tamaño de los perfiles: I = 100 - 180 ps²; II = 180 - 260 ps²; III = 260 - 340 ps²; IV = 340 - 420 ps²

HORIZONTAL MEDIA

F.F.e.	> 0,8				0,8 - 0,7				0,7 - 0,6				< 0,6			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
10°	3				6	3			5	3			3	2	1	
20°	2	1			4	1			1	1			1	1		
30°	1	1			10	4			8	8			1	4		
40°	3				2	3			2	2			6	2		
50°	2	1			5	1			1	4			1			
60°	2				3	1			5				1			
70°	1				4	1			1							
80°	2				1					1						
90°									1				1			
100°	1				1				1							
110°	1	2				1										
120°	1	2							2	2				1		
130°	3	2			1	2			2	2						
140°	1								2	1				3		
150°	4								4	4			5	7	1	
160°	1	1	1		1	2			2	7			3	2	1	
170°	4	1			7	1			1	1			1	4		
180°					2	4			1	7			1	3		

(c) Tamaño de los perfiles: I = 100 - 180 ps²; II = 180 - 260 ps²; III = 260 - 340 ps²; IV = 340 - 420 ps²

HORIZONTAL INFERIOR

Tabla IV-29. Clasificación de los perfiles celulares en función de su tamaño y factor de forma elíptica, para cada ángulo de inclinación desde 0° a 180° (intervalo de cada clase de ángulos 10°), Secciones horizontales (zonas superior, media e inferior).

F.F.e.	> 0,8				0,8 - 0,7				0,7 - 0,6				< 0,6			
	(I)	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
10°	3	3	1		2	8	2		4	6	2		1	2		
20°	1	3	1		2	5	2		1	7			2	1		
30°		2	1		1	3	1		1	1	1		1			
40°	2	4			1				4							
50°		2			1				2							
60°	4				1				1	1						
70°		2	1						1							
80°		1	2		3								1			
90°		2			3	1			1							
100°		1							1							
110°					1				1				3			
120°	1	1			2											
130°		2			4	1			1	1						
140°	1								1				1			
150°		1			1	1			1							
160°	1	4			2	2			1	3			2			
170°		3			2	8										
180°	1	3	1		6	4			5	7			1	5		

(I) tamaño de los perfiles: I = 100 - 180 ps.; II = 180 - 260 ps.; III = 260 - 340 ps.; IV = 340 - 420 ps.

FRONTAL SUPERIOR

F.F.e.	> 0,8				0,8 - 0,7				0,7 - 0,6				< 0,6			
	(I)	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
10°	2	3	2		1	7	1		1	3			1	1	4	
20°	2	5			1	3	1		2	2	1		1	2		
30°	4	7	1		2	5	1		2	1			2			
40°		2	1		1	2	1		1	3						
50°	1	2	1		1				2				1			
60°	1	1	1		1	2	1		1	1	1		1	1		
70°		1							1				1			
80°	3				1											
90°		3			3											
100°	2				1	1	1									
110°	1	1	1		1	1			1	1						
120°	1		1	1	2				1	1	1		1	1		
130°		2	1		1	1			1	1						
140°	2				2				2						1	
150°	2				5	1	2				1					
160°	2				3	1					2	2				
170°	3	1	1		4	2	1		1	1	1		1	2	1	
180°	1	2	1		3	3	2		2	2	2		1	2	3	

(I) tamaño de los perfiles: I = 100 - 180 ps.; II = 180 - 260 ps.; III = 260 - 340 ps.; IV = 340 - 420 ps.

FRONTAL MEDIA

F.F.e.	> 0,8				0,8 - 0,7				0,7 - 0,6				< 0,6			
	(I)	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
10°		2			2	2			1	3			2			
20°	3	1			3	8			2	5						
30°		2	1		1	3			2	4						
40°	1	4			1	1			1	1			1			
50°	1	1							1				1	1		
60°	2				1	1										
70°	1					2										
80°	2	1	1		1											
90°	1									1						
100°	1				1	1			1				1			
110°	1				1				4							
120°	1	1	1	1	2				1							
130°	1	1	2						1	4			2			
140°	2	3			5											
150°	3				1	2			2	2						
160°	3	3	1		6	2	2		3	3						
170°		3			2	4			2	2	2		1	1	1	
180°	3	2			4	3	2		3	2						

(I) tamaño de los perfiles: I = 100 - 180 ps.; II = 180 - 260 ps.; III = 260 - 340 ps.; IV = 340 - 420 ps.

FRONTAL INFERIOR

Tabla IV-30. Clasificación de los perfiles celulares en función de su tamaño y factor de forma elíptica, para cada ángulo de inclinación desde 0° a 180° (intervalo de cada clase de ángulos 10°). Secciones frontales (zonas superior, media e inferior).

f, f, e, i	> 0,8				0,8 - 0,7				0,7 - 0,6				< 0,6			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
10°	3	1			2	5	1		3	3			1			
20°	1				1				1	1			2	2		
30°	1				5	3			2	3						
40°	1	2			1				5				1			
50°	2	1			2	3			7	4			1	1		
60°	1	2			4	1			3				1			
70°					2	1			4	3			1	3	1	
80°					3				1				1			
90°					2	1			1	2			1			
100°	1				1	3			1							
110°					2				1				2			
120°		3			3				1	4						
130°	3				7	1			3				1	2		
140°	1	2			1	4	1		1	3	1		2	1		
150°	1	1			2	5			1				1			
160°		1	1		5	3			1	7			2			
170°	1				1	4			4	5			1			
180°	2				7	8			4	2	2		3	1	1	

(i) tamaño de los perfiles: I = 100 - 180 ps.; II = 180 - 260 ps.; III = 260 - 340 ps.; IV = 340 - 420 ps.

SAGITAL SUPERIOR

f, f, e, i	> 0,8				0,8 - 0,7				0,7 - 0,6				< 0,6			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
10°		1	1		2		1		2	4			1	2	1	
20°	1	1			3	3			2				1			
30°	2	1			1				1	1	1		2			
40°	1	1			5				4				2			
50°	1				5				2	6			2	1		
60°	2	2			1	1			1	2			1			
70°	4	3			1	5			1	2			1			
80°	2				2				1				1			
90°	1	1			2	2			2				2			
100°	1	2			1	4			1	1			1			
110°	1				1				1	2	1					
120°		3			5	2			3	2						
130°					2	2	1		2	3			2	1		
140°	2	2	1		3	1			4	3			2	3		
150°	1				1	5			2	5			1			
160°	1				3	5	1		6	10			1	4		
170°	2				1	1	1		1	1	1		1			
180°		1			2	4	1		1	3	2		1	3		

(i) tamaño de los perfiles: I = 100 - 180 ps.; II = 180 - 260 ps.; III = 260 - 340 ps.; IV = 340 - 420 ps.

SAGITAL MEDIA

f, f, e, i	> 0,8				0,8 - 0,7				0,7 - 0,6				< 0,6			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
10°		1			3				2	5			1	3		
20°	2	2			4				5	1			1	1		
30°	2	1			5	2			7	2			2	1		
40°	2				6	4			2	4			1			
50°	3	2			7	1			4	4			2			
60°	2				1	2			4	4			2	1		
70°	3	1			5	1			3				1			
80°	1				3				1				1			
90°	2				4	1			3							
100°	1				1				2	1						
110°	1				4	2			1	1			2			
120°					1	3			1				1	1		
130°	4	2				1			1				1			
140°					5	3			4				3			
150°	1				3	2			5	7			4	1		
160°	4	2				2			3				2	1		
170°	2	1				7			2	1			2	1		
180°	2	1			4				5	1			1	1		

(i) tamaño de los perfiles: I = 100 - 180 ps.; II = 180 - 260 ps.; III = 260 - 340 ps.; IV = 340 - 420 ps.

SAGITAL INFERIOR

Tabla IV-31. Clasificación de los perfiles celulares en función de su tamaño y factor de forma elíptica, para cada ángulo de inclinación desde 0° a 180° (intervalo de cada clase de ángulos 10°). Secciones sagitales (zonas superior, media e inferior).

En cada una de estas clases los perfiles se distribuyeron en función de su ángulo de inclinación entre 0° y 180° , con un intervalo de 10° .

A partir de los valores de estas tablas podremos realizar la "limpieza" de poblaciones, pues una vez conocidos el área, ángulo, factor de forma elíptica y porcentaje, sabremos en cada caso las posibilidades que pueden derivarse tanto en contaminación a la propia población como a poblaciones inferiores (derivación) y a partir de aquí podremos reducir el porcentaje de cada población a su dimensión real.

Como resumen, queremos describir a continuación una serie de principios analíticos que nos han de marcar las directrices generales que hemos de tener en cuenta al iniciar el trabajo. Hagamos, pues, estas consideraciones que se derivan del conjunto de lo estudiado y que resultan imprescindibles para comprender el proceso de análisis.

7.6. Principios analíticos generales en la distinción de poblaciones.

- Para cada tamaño considerado, su porcentaje se habrá de corresponder aproximadamente, con el valor numérico real de la población detectada de tales elementos o células en la dirección de corte elegida (horizontal, frontal o sagital). Cada valor final será inferior al efectuado por el recuento directo.

- Como los valores de población detectados en cada dirección de corte no pueden, al ser perfiles máximos, aparecer como tales en las otras dos direcciones, quiere ello decir que el valor conjunto real de cada población en la totalidad de la zona o núcleo (con arreglo a las características elegidas), será el resultante de la suma de lo obtenido en las tres direcciones de corte.

- Del principio anterior se desprende que los perfiles de área máxima, obtenidos a partir de los elementos constitutivos de una población concreta, se obtendrán en unos grados determinados de corte; los ángulos de 0° son los que proporcionarán los perfiles mayores en cada una de las tres orientaciones; a esa condición llamaremos "orientación adecuada".

- Como una orientación de los elementos en el espacio puede ser tal que ofrezca dos ángulos de valor 0° en dos direcciones simultáneas de corte, quiere ello decir que es posible obtener perfiles máximos a partir de un mismo elemento en dos direcciones de corte; la tercera dirección, por el contrario, produciría en este caso un ángulo de 90° y por tanto su perfil mínimo.

- Sin dejar de ser válidas las afirmaciones anteriores, se ha de entender que dentro de cualquier población de perfiles y con respecto a su tamaño, podremos encontrar perfiles que pertenezcan realmente al parámetro característico de esa población (área), y otros que teniendo iguales dimensiones (de área) son derivados de secciones inclinadas de elementos de mayor tamaño y que por tanto, en nuestro caso, estarán encuadrados en una población de neuronas mayores. Resulta claro según todo esto antedicho que, en cada estudio, la población cuyo tamaño presente los mayores perfiles será la única que no ofrecerá contaminación de perfiles derivados al no existir ninguna otra por encima de ella.

- Cada población y los perfiles reales a ella pertenecientes los denominaremos como "población original". Aquellos perfiles que por razón de la orientación de corte, siendo derivados de una población original, puedan ir a formar parte de cualquier población de tamaño inferior los llamaremos "perfiles derivados". El conjunto que forman estos últimos podemos catalogarlo como población de "contaminación derivada". Cuando un mismo elemento pueda por razón de su ángulo dar lugar a dos o más perfiles máximos en direcciones de corte distintas, diremos que está produciendo "contaminación propia".

- De lo anterior se desprende que, menos la población de tamaño mayor, el porcentaje de perfiles concretos constitutivos de cualquier población consta de elementos que cuentan con dos o más procedencias. En nuestro caso y con arreglo a esto antedicho, dado que únicamente consideramos perfiles conteniendo nucléolo, una población no podrá contener perfiles derivados de otras que se encuentren por encima de ella a más de dos niveles, pues tal distancia de tamaños no permite el que secciones de la mayor (al contener nucléolo) puedan dar lugar a dimensiones propias de la tercera o cuarta menor. De hecho, cada población da perfiles de contaminación sólo, prácticamente, a la inmediata inferior.

- Cuando se realizan las secciones histológicas en una dirección concreta y luego se dibujan y analizan los elementos o neuronas objeto de estudio, estos elementos ofrecen una inclinación o ángulo con respecto al eje de abscisas, que ejercerá su valor práctico para las otras direcciones de corte. Es decir: en secciones horizontales, los ángulos que se midan (que llamaremos ángulos β) ejercerán su influencia sobre los perfiles derivados correspondientes, que aparecerán en las secciones frontales (y los complementarios de esos ángulos en las sagitales); en secciones frontales el ángulo que medimos (que llamaremos α) ejercerá su influencia sobre los perfiles derivados correspondientes que aparecerán en las secciones horizontales (y los complementarios de este ángulo en las sagitales). En secciones sagitales, el ángulo que medimos (que llamaremos γ') es un ángulo que en las secciones horizontales producirá perfiles derivados menores conforme crezca (y por tanto es un ángulo que actúa como si se tratara del ángulo α), y los complementarios de γ' (complementarios equivalentes a ángulos β) son los que producirán los perfiles derivados correspondientes en los cortes frontales.

- Dada la condición de perfiles que se obtienen a partir de cada dirección de corte con ángulos necesariamente de 0° , es posible, como anteriormente se ha expuesto, el que esta situación se dé para dos secciones de orientación diferente y por lo mismo, que obtengamos a partir de tales elementos dos perfiles de área máxima en dos direcciones de corte

diferentes. Tal situación producirá, sin lugar a dudas, una contaminación o coincidencia teórica en la suma de los porcentajes reales constitutivos de la misma población.

- Cuando, en virtud de su orientación, una población es capaz de ofrecer perfiles derivados en una de las direcciones de corte, si estos ángulos son mayores de 60° , los cortes complementarios darán generalmente perfiles que se encuentran dentro de la misma población y por lo mismo no contaminarán a la población inferior sino al porcentaje conjunto de la población original. Esta misma situación pero a la inversa puede decirse cuando los ángulos son suplementarios.

- Toda población de un factor de forma elíptica determinado, produce al ser seccionada perfiles cuyos factores de forma están por encima del perteneciente a la población original. Inversamente, toda población con factor de forma elíptica bajo (muy elíptico), no puede provenir de las poblaciones situadas por encima de ella.

- Las poblaciones de factor de forma elíptica alto (tendencia considerablemente circular), no pueden dar perfiles para la población inferior y sí contaminaciones en la propia.

- En el porcentaje o valor numérico de toda población, para concluir cual es su valor real, caso de que dicha población exista, tendremos que restarle los valores de contaminación derivados de las poblaciones superiores, y aquéllos que sean el resultado de coincidencias dentro de la misma población.

- Cuando un perfil circular provenga de una partícula elipsoidal y el diámetro mayor de aquél sea igual al diámetro mayor de los perfiles elípticos mayores, es porque el elipsoide de origen tiene forma oblonga.

- Cuando un perfil circular provenga de una partícula elipsoidal y el diámetro mayor de aquél sea igual al diámetro menor de los perfiles elípticos mayores, es porque el elipsoide de origen tiene forma alargada.

- Cuando seccionamos partículas de forma oblonga es más probable que produzcan perfiles elípticos que circulares.

7.7. Procedimiento empleado en el análisis de poblaciones. "Limpieza" de los porcentajes. Obtención de valores reales.

7.7.1. Confección de los Cuadros de Anotaciones (C.A.).

A partir de las tablas anteriormente citadas y para operar en la práctica, el primer paso hacia la obtención de valores reales de poblaciones es la construcción de cuadros de anotaciones (C.A.) (ver tablas IV-32, IV-33 y IV-34), cuadros que realizamos del modo que a continuación se detalla.

1) En primer lugar, en la parte superior de cada C.A., hemos de reseñar las características de la población origen: área, factor de forma elíptica, dirección de corte y zona de estudio considerada. Como se van a tener en cuenta cuatro factores de forma elíptica, quiere ello decir que cada tamaño de población, en cada una de las tres direcciones de corte consideradas, se compondrá en realidad de cuatro C.A.

2) En la primera línea de casillas se anotan los diversos ángulos de inclinación, desde 0° hasta 180° , con intervalos de 10° . Estos ángulos son en cada caso los que se miden en la dirección de corte considerada y que, como se dijo, si el corte es horizontal indicarán ángulos β , si es frontal ángulos α y si sagital γ .

Tabla IV-32

CUADRO DE ANOTACIONES (C.A.A.)

Población origen: 180 μm^2 - 250 μm^2 / Factor de forma elíptica: 0,6 / Dirección de corte: HORIZONTAL / Zona: SUPERIOR

	10°	20°	30°	40°	50°	50°	70°	80°	90°	100°	110°	120°	130°	140°	150°	160°	170°	180°	(1)
	1	2			1		3	1		1	2		7	5		5	6	1	(2)
	214	200	182	165	149	134	122	113	110	113	122	134	149	165	182	200	214	220	(3)
	0,52	0,55	0,60	0,67	0,74	0,82	0,91	0,97	1,00	0,97	0,91	0,82	0,74	0,67	0,60	0,55	0,52	0,50	(4)
	0,38	0,77			--		--	--	--	--	--	--	--	--	1,92	2,31	0,38		(5)
																			(0,52) (0,55)
	--	--					1,15	0,38		0,38	0,77		--	--	--	--	--	--	(6)
																			(0,55) (0,52)
	--	--			0,38		1,15	0,38		0,38	0,77		2,69	1,92		--	--	--	(7)
																			(0,74) (0,91) (0,97) (0,74) (0,67)
	0,38	0,77			0,38		--	--	--	--	--		2,69	1,92		1,92	2,31	0,38	(8)
																			(0,91) (0,97) (1,00)
																			(0,97) (0,91)

(1) Angulos medidos: (E S) .
 (2) Número de perfiles de la población origen en el ángulo correspondiente.
 (3) Tamaño consecuencia de sección en el ángulo correspondiente.
 (4) Factores de forma elíptica consecuencia de sección en el ángulo correspondiente.
 (5) Porcentajes de contaminación en la población origen por coincidencia de perfil en las secciones: ERONIALES.
 (6) Porcentajes de contaminación en la población origen por coincidencia de perfil en las secciones: SAGIALES.
 (7) Porcentajes de contaminación por derivación a poblaciones inferiores en las secciones: ERONIALES.
 (8) Porcentajes de contaminación por derivación a poblaciones inferiores en las secciones: SAGIALES.

3) En las tablas de doble clasificación por ángulos (tablas IV-29, IV-30 y IV-31), se detecta para cada ángulo (en la población de tamaño y factor de forma elíptica correspondiente y caso de que exista), el número de perfiles que para cada situación aparecieron en la muestra histológica con esas condiciones. Dicho número se anota en la segunda línea del cuadro C.A., debajo del ángulo que corresponda.

4) Ahora necesitamos saber a partir de los valores que acabamos de anotar en 3, los perfiles de contaminación que resultarán como producto de la sección en las otras dos direcciones de corte distintas de la que estamos estudiando. Para ello, en las dos líneas de anotaciones inmediatamente inferiores consignaremos, de acuerdo con lo contenido en las tablas IV-19, IV-20, IV-21 y IV-22, las áreas y factores de forma elíptica de estos perfiles que se obtendrían cuando las células se seccionaran en esas otras direcciones de corte.

5) Debajo de los valores citados en el apartado anterior, hay cuatro líneas más, con casillas, que terminan de componer cada cuadro C.A.; de las cuatro líneas, las dos primeras se emplean para recoger la posibilidad de que exista "contaminación propia", es decir, aquellos perfiles de células que, cuando hubiéramos efectuado cortes en las otras dos direcciones (distintas de la considerada en los C.A.), nos hubieran proporcionado valores que se encuentran dentro del tamaño de la propia población y que por lo mismo representan una duplicidad y error al querer considerar las células o porcentaje constitutivo de un tamaño de población concreto. El porcentaje de "contaminación propia" dependerá, como es lógico, del número de células que figuren, en cada caso, en la casilla correspondiente de la segunda línea del cuadro C.A. que estamos analizando. Cualquier valor de contaminación se obtiene multiplicando el número de elementos de la casilla 2 por un factor que representa el porcentaje que supone una célula en el total de la población analizada. En nuestro estudio, dicho factor varía para cada dirección de corte (0,38% en los cortes horizontales, 0,48% en los frontales y 0,42% en los sagitales), debiéndose estas diferencias a que el número de células estudiado en cada

caso fue ligeramente distinto. Cuando no hay "contaminación propia", aparecerá "contaminación derivada" hacia la población inferior porque, como ya se dijo, una célula cortada en una dirección daría si la hubiéramos cortado en las otras, perfiles que o son del mismo tamaño y entonces representan la "contaminación propia" que acabamos de exponer, o son de tamaño inferior al de la población original y entonces suponen "contaminación derivada" a la población inferior. Por supuesto que situados ante el microtomo, una célula que se corta en una dirección ya no podrá ser cortada en las otras dos, pero aquí no nos referimos a la imposibilidad física de seccionar simultáneamente una estructura en tres direcciones de corte diferentes, sino al hecho estadístico de que según lo que se encuentre en una dirección de corte y sus valores, así será lo que aparecerá cuando en las estructuras de otro espécimen se realicen cortes en las otras direcciones (direcciones de corte contrarias). Las anotaciones correspondientes a la "contaminación derivada" se recogen en las dos últimas líneas de cada cuadro C.A. y como en el caso de la "contaminación propia", debajo del porcentaje de contaminación se consigna el factor de forma al que dicha contaminación se produce. De este modo, una vez determinados los porcentajes de contaminación en cada C.A., quedan éstos cumplimentados. En la presente tesis, para no engrosar innecesariamente su contenido, sólo presentamos algunos ejemplos de los cuadros C.A. utilizados (tablas IV-32, IV-33 y IV-34), entendiéndose que el mismo proceso y material de datos se ha empleado para conseguir todos los casos examinados.

Una vez que disponemos del total de cuadros C.A. para cada zona de estudio, el paso siguiente consiste en proceder a la "limpieza" propiamente dicha, tanto de "contaminación propia" como de "contaminación derivada". A continuación describimos brevemente los sistemas de "limpieza" que hemos seguido y para su mejor comprensión nos ayudaremos de un ejemplo concreto, cuyos C.A. son los que se muestran en las tablas IV-32, IV-33 y IV-34.

7.7.2. Sistema de "limpieza" de "contaminación propia" y de "contaminación derivada".

Sea una población de tamaño de perfiles $180 \mu\text{m}^2 - 260 \mu\text{m}^2$ y de factor de forma elíptica menor de 0,6 a la que denominaremos "población origen". Una vez que dicha población ha sido "limpiada" de las derivadas procedentes de la población superior en sus tres direcciones de corte, para eliminar los perfiles que constituyen la "contaminación propia", se toman los tres cuadros C.A. de dicha población (tablas IV-32, IV-33 y IV-34) y desde el cuadro donde se aprecie mayor número de contaminaciones y/o coincidencias, se determinan las coincidencias con las otras dos direcciones de corte. En el ejemplo que presentamos el cuadro tomado era correspondiente a la dirección de corte HORIZONTAL y el procedimiento que acabamos de indicar se efectuaría del modo siguiente:

1) Se parte de los porcentajes de la "población origen", en cada dirección de corte, sin derivar y sin descontaminar (sin "limpiar"):

DIRECCION:	HORIZONTAL	FRONTAL	SAGITAL
% SIN "LIMPIAR":	13,46%	8,13%	7,5%

[Estos porcentajes se obtienen a partir de las tablas de clasificación de perfiles por tamaños y factor de forma (tablas IV-23 a IV-26)].

2) Se toman los porcentajes de "contaminación derivada" que teníamos anotados y que se han originado desde la población superior ($260 \mu\text{m}^2 - 340 \mu\text{m}^2$), cuyo valor en el ejemplo que estamos siguiendo fue:

DIRECCION:	HORIZONTAL	FRONTAL	SAGITAL
% DE DERIVADAS:	----	0,38%	----

estos porcentajes se restan de los valores de 1 y obtendremos así los porcentajes de la población origen una vez extraída la "contaminación derivada".

3) Porcentajes de la población origen sin "contaminación derivada":

DIRECCION:	HORIZONTAL	FRONTAL	SAGITAL
% SIN DERIVADAS:	13,46%	7,75%	7,5%
		(0,13% - 0,38% = 7,75%)	

Como puede observarse en este caso el porcentaje de "contaminación derivada" es muy bajo (0,38% a la dirección frontal), y lo primero que hemos hecho ha sido eliminar dicho porcentaje. Esta eliminación, aparte de la resta matemática, consistirá en borrar en las tablas IV-29, IV-30 y IV-31, de doble clasificación (por ángulos), valores de los que preferentemente se encuentran entre 0° a 30° o entre 150° a 180° que es donde pueden localizarse en cada dos direcciones de corte los procedentes de la original. En nuestro ejemplo, el 0,38% de "contaminación derivada" se traduce en 1 perfil a restar en el cuadro C.A. FRONTAL (tabla IV-33), entre 170° y 180°, por lo que en vez de 5 perfiles (número que aparece entre paréntesis) consideraremos a efectos de recuento sólo 4.

4) El paso siguiente consiste en calcular, a partir del cuadro C.A. de la dirección de corte HORIZONTAL en este ejemplo, los porcentajes de "contaminación propia" que pudieran darse al efectuar las otras dos direcciones de corte:

% DE CONTAMINACION HORIZONTAL A FRONTAL (H→F)

$$0,38\% + 0,77\% + 1,92\% + 2,31\% + 0,38\% = 5,76\%$$

$$5,76\% / 2 = 2,88\%$$

Según lo expuesto en el procedimiento de "limpieza" de "contaminación propia", ahora habrá que restar a los porcentajes sin derivadas de las direcciones horizontal y frontal 2,88% (en cada una).

% DE CONTAMINACION HORIZONTAL A SAGITAL (H+S)

$$1,15\% + 0,38\% + 0,38\% + 0,77\% = 2,68\%$$

$$2,68\% / 2 = \underline{1,34\%}$$

Como en el caso anterior, habremos de restar ahora a los porcentajes sin derivadas de las direcciones horizontal y sagital 1,34%.

5) Ahora se trata de calcular la "contaminación propia" entre las direcciones de corte frontal y sagital a partir de sus respectivos C.A.:

% DE CONTAMINACION ENTRE FRONTAL Y SAGITAL (F+S)

$$\% \text{ DE FRONTAL A SAGITAL: } 0,48\% + 0,48\% + 1,44\% = 2,40\%$$

$$\% \text{ DE SAGITAL A FRONTAL: } 1,25\% + 0,42\% + 0,42\% + 0,83\% = 2,92\%$$

$$\% \text{ TOTAL (F+S) = } 2,40\% + 2,92\% = 5,32\%; 5,32\% / 4 = \underline{1,33\%}$$

Este modo de proceder se deriva de que una vez hecha la primera "descontaminación propia", en esta segunda resulta más práctico en vez de trabajar a partir de una de las direcciones, sumar los valores de las dos y luego dividir por 4 (en vez de por 2). La razón, como decimos, es práctica ya que resulta difícil asegurar las contaminaciones concretas sobretudo después de haber realizado la primera "limpieza" y aquí, en esta segunda, resulta más seguro operar así.

Por lo tanto y según lo expuesto en el procedimiento de "limpieza" de "contaminación propia", habremos de restar ahora de los porcentajes sin derivadas de las direcciones frontal y sagital 1,33%

6) Una vez eliminada la "contaminación propia", la suma de los valores finales resultantes en cada una de las tres direcciones de corte,

representa el porcentaje total real correspondiente a la población examinada. En resumen:

DIRECCION:	HORIZONTAL	FRONTAL	SAGITAL
% SIN "LIMPIAR":	13,46%	8,13%	7,50%
% DE DERIVADAS:	----	0,38%	----
% RESULTANTE AL RESTAR LAS DERIVADAS:	13,46%	7,75%	7,50%
% DE CONTAMINACION (H→F):	2,88%	2,88%	----
% DE CONTAMINACION (H→S):	1,34%	----	1,34%
% DE CONTAMINACION (F→S):	----	1,33%	1,33%
% TOTAL DE CONTAMINACION:	4,22%	4,21%	2,67%
% FINAL REAL:	9,24%	3,54%	4,83%
<hr/>			
% REAL TOTAL DE LA CATEGORIA:	9,24% + 3,54% + 4,83% = <u>17,61%</u>		

La consecución de este porcentaje real, correspondiente a la población de tamaño comprendido entre $180 \mu\text{m}^2$ y $260 \mu\text{m}^2$ y factor de forma elíptica menor de 0,6, junto con todos los demás valores reales calculados de igual forma para el resto de categorías, nos han permitido construir las tablas IV-35, IV-36 y IV-37 y IV-38 que reflejan, en porcentajes, los valores finales que han resultado para cada tamaño y factor de forma elíptica en cada zona de estudio y según cada una de las direcciones de corte utilizadas. Repitamos el que, como puede entenderse, los porcentajes o valores son los que han resultado cuando de los valores iniciales (sin "limpiar"), tomados de las tablas

180 μm^2 - 260 μm^2	FACTOR DE FORMA ELIPTICA (%)			
	ZONA	$\geq 0,8$	0,8-0,7	0,7-0,6
HORIZONTAL-SUPERIOR	0,85	8,31	9,90	9,24
FRONTAL-SUPERIOR	0,98	12,43	8,52	3,54
SAGITAL-SUPERIOR	0,83	7,91	12,20	4,83
HORIZONTAL-MEDIA	0,38	4,62	11,81	13,11
FRONTAL-MEDIA	0,93	13,87	5,49	2,98
SAGITAL-MEDIA	1,14	5,49	10,16	3,78
HORIZONTAL-INFERIOR	-----	2,58	9,75	7,37
FRONTAL-INFERIOR	9,45	3,70	7,47	-----
SAGITAL-INFERIOR	-----	4,18	8,29	3,73

Tabla IV-35 .- Valores corregidos de los porcentajes de participación en función del factor de forma para la población de 180 μm^2 - 260 μm^2 en cada zona de estudio y según cada una de las direcciones de corte utilizadas.

100 μm^2 - 180 μm^2	FACTOR DE FORMA ELIPTICA (%)			
	ZONA	$\geq 0,8$	0,8-0,7	0,7-0,6
HORIZONTAL-SUPERIOR	-----	-----	-----	2,39
FRONTAL-SUPERIOR	-----	-----	-----	0,42
SAGITAL-SUPERIOR	-----	-----	-----	2,45
HORIZONTAL-MEDIA	-----	-----	-----	4,46
FRONTAL-MEDIA	-----	-----	-----	0,96
SAGITAL-MEDIA	-----	-----	-----	1,11
HORIZONTAL-INFERIOR	-----	12,14	8,44	2,47
FRONTAL-INFERIOR	-----	-----	7,45	0,82
SAGITAL-INFERIOR	-----	-----	-----	5,33

Tabla IV-36 .- Valores corregidos de los porcentajes de participación en función del factor de forma para la población de 100 μm^2 - 180 μm^2 en cada zona de estudio y según cada una de las direcciones de corte utilizadas.

340 μm^2 - 420 μm^2	FACTOR DE FORMA ELIPTICA (%)			
	ZONA	$\geq 0,8$	0,8-0,7	0,7-0,6
HORIZONTAL-SUPERIOR	-----	-----	0,38	0,72
FRONTAL-SUPERIOR	-----	-----	-----	-----
SAGITAL-SUPERIOR	-----	-----	-----	-----
HORIZONTAL-MEDIA	-----	-----	0,38	0,53
FRONTAL-MEDIA	-----	-----	-----	-----
SAGITAL-MEDIA	-----	-----	-----	-----
HORIZONTAL-INFERIOR	-----	-----	-----	-----
FRONTAL-INFERIOR	-----	-----	-----	-----
SAGITAL-INFERIOR	-----	-----	-----	-----

Tabla IV-37. _ Valores corregidos de los porcentajes de participación en función del factor de forma para la población de 340 μm^2 - 420 μm^2 en cada zona de estudio y según cada una de las direcciones de corte utilizadas.

260 μm^2 - 340 μm^2	FACTOR DE FORMA ELIPTICA (%)			
	ZONA	$\geq 0,8$	0,8-0,7	0,7-0,6
HORIZONTAL-SUPERIOR	0,35	1,74	1,28	4,35
FRONTAL-SUPERIOR	1,48	1,57	1,20	-----
SAGITAL-SUPERIOR	0,42	0,38	-----	1,25
HORIZONTAL-MEDIA	0,77	1,04	1,11	3,67
FRONTAL-MEDIA	2,26	3,50	1,57	2,06
SAGITAL-MEDIA	0,42	0,84	0,42	1,47
HORIZONTAL-INFERIOR	-----	-----	-----	0,83
FRONTAL-INFERIOR	2,09	2,09	1,57	-----
SAGITAL-INFERIOR	-----	-----	-----	0,20

Tabla IV-38. _ Valores corregidos de los porcentajes de participación en función del factor de forma para la población de 260 μm^2 - 340 μm^2 en cada zona de estudio y según cada una de las direcciones de corte utilizadas.

IV-23 a IV-26, se han restado los valores de "contaminación derivada" a partir de la población superior y de "contaminación propia" (por repetición del perfil).

Una vez que una población está "limpia" de los dos tipos de contaminaciones, sus valores en cada factor de forma elíptica, representan células que darán, desde cada dirección, perfiles derivados a la población inferior, perfiles que aparecerán en cada una de las otras dos direcciones de corte consideradas. Precisamente, en las líneas (7) y (8) de los cuadros C.A., ya se vió que vienen consignados los porcentajes de "contaminación derivada" que se origina desde una población de tamaño y factor de forma elíptica determinados a la población inferior. En nuestro ejemplo concreto, en el que la población origen tiene un tamaño comprendido entre $180 \mu\text{m}^2$ - $260 \mu\text{m}^2$ y un factor de forma elíptica menor de 0,6, la contaminación derivada afectará a la población inferior, de tamaño comprendido entre $100 \mu\text{m}^2$ - $180 \mu\text{m}^2$ y con distintos factores de forma elíptica. Los porcentajes de contaminación, que han sido extraídos de los C.A. de las tablas IV-32, IV-33 y IV-34, vienen resumidos del siguiente modo:

% CONTAMINACION DE HORIZONTAL A FRONTAL (H-F)

$$\text{F.F.e. } \geq 0,8: 1,15\% + 0,38\% + 0,38\% + 0,77\% = \underline{2,68\%}$$

$$\text{F.F.e. } 0,8-0,7: 0,38\% + 2,69\% = \underline{3,07\%}$$

$$\text{F.F.e. } 0,7-0,6: \underline{1,92\%}$$

% CONTAMINACION DE HORIZONTAL A SAGITAL (H-S)

$$\text{F.F.e. } \geq 0,8: 0,38\% + 0,77\% + 1,92\% + 2,31\% + 0,38\% = \underline{5,76\%}$$

$$\text{F.F.e. } 0,8-0,7: \underline{1,92\%}$$

$$\text{F.F.e. } 0,7-0,6: 0,38\% + 2,69\% = \underline{3,07\%}$$

% CONTAMINACION DE FRONTAL A HORIZONTAL (F-H)

$$\text{F.F.e. } \geq 0,8: 0,48\% + 0,48\% + 1,44\% = \underline{2,40\%}$$

% CONTAMINACION DE FRONTAL A SAGITAL (F-S)

$$\text{F.F.e. } \geq 0,8: 0,96\% + 0,96\% + 0,48\% + 0,96\% + 1,91\% = \underline{5,27\%}$$

% CONTAMINACION DE SAGITAL A HORIZONTAL (S-H)

$$\text{F.F.e. } \geq 0,8: 1,25\% + 0,42\% + 0,42\% + 0,83\% = \underline{2,92\%}$$

$$\text{F.F.e. } 0,8-0,7: 0,42\% + 0,83\% = \underline{1,25\%}$$

$$\text{F.F.e. } 0,7-0,6: \underline{0,83\%}$$

% CONTAMINACION DE SAGITAL A FRONTAL (S-F)

$$\text{F.F.e. } \geq 0,8: 0,83\% + 0,83\% + 0,42\% + 0,42\% = \underline{2,50\%}$$

$$\text{F.F.e. } 0,8-0,7: \underline{0,83\%}$$

$$\text{F.F.e. } 0,7-0,6: 0,42\% + 0,83\% = \underline{1,25\%}$$

Estos porcentajes de "contaminación derivada" que hemos calculado, son los que habremos de restar a los porcentajes iniciales de esa población inferior ($100 \mu\text{m}^2 - 180 \mu\text{m}^2$) en el factor de forma elíptica correspondiente. Ahora dicha sustracción habrá de aplicarse en las tablas de doble clasificación por ángulos (tablas IV-29, IV-30 y IV-31) a los perfiles ubicados entre 0° y 30° o entre 150° y 180° , dentro, claro está, del tamaño $100 \mu\text{m}^2 - 180 \mu\text{m}^2$.

El proceso produce los siguientes valores:

% CONTAMINACION DE HORIZONTAL A FRONTAL (H-F)

F.F.e. $\geq 0,8$: 2,68% = 7

F.F.e. 0,8-0,7: 3,07% = 8

F.F.e. 0,7-0,6: 1,92% = 5

% CONTAMINACION DE HORIZONTAL A SAGITAL (H-S)

F.F.e. $\geq 0,8$: 5,76% = 15

F.F.e. 0,8-0,7: 1,92% = 5

F.F.e. 0,7-0,6: 3,07% = 8

% CONTAMINACION DE FRONTAL A HORIZONTAL (F-H)

F.F.e. $\geq 0,8$: 2,40% = 5

% CONTAMINACION DE FRONTAL A SAGITAL (F-S)

F.F.e. $\geq 0,8$: 5,27% = 11

% CONTAMINACION DE SAGITAL A HORIZONTAL (S-H)

F.F.e. $\geq 0,8$: 2,92% = 6

F.F.e. 0,8-0,7: 1,25% = 3

F.F.e. 0,7-0,6: 0,83% = 2

% CONTAMINACION DE SAGITAL A FRONTAL (S-F)

F.F.e. $\geq 0,8$: 2,50% = 6

F.F.e. 0,8-0,7: 0,83% = 2

F.F.e. 0,7-0,6: 1,25% = 3

Estos números de perfiles son los que debemos de restar en la población de tamaño $100 \mu\text{m}^2$ - $180 \mu\text{m}^2$ y en el factor de forma que corresponda.

Por último, hemos de señalar que cuando al "limpiar" de derivadas una población, algún porcentaje desde la población origen resulte ser mayor que el de la población inferior, la diferencia puede y con mucha probabilidad debe ser restada al porcentaje de forma elíptica inmediatamente siguiente (dentro del mismo tamaño), porque la diferencia entre un 0,82 de factor de forma elíptica y un 0,78 por ejemplo, no se puede evitar y por tanto lo que en teoría debería localizarse en el recuadro de la tabla correspondiente a los valores de un factor de forma mayor o igual a 0,8, puede en parte venir recogido en el recuadro de la clase de factor de forma elíptica entre 0,8 y 0,7. Es decir, si en 0,8 hemos de quitar, por ejemplo, un 6% y el valor del recuadro contiene únicamente un 3%, el 3% restante puede eliminarse del valor existente en la clase de factor de forma elíptica entre 0,8 y 0,7.

7.8. Categorías reales finales de neuronas encontradas en el sector α_1 del NGLd del conejo.

A partir de las tablas IV-35 a IV-38, hemos obtenido la tabla IV-39, que refleja en porcentajes, los valores finales que en cada caso han resultado para cada tamaño y factor de forma elíptica, obtenidos a partir de las tres direcciones consideradas (horizontal, frontal y sagital). Como puede entenderse y ya hemos indicado en apartados anteriores, cada porcentaje es el resultado final en el que a partir del "porcentaje original" (o de valores sin corregir; tablas IV-23 a IV-25) se han restado los valores de contaminación posible.

En la tabla IV-39, aquellos porcentajes de factor de forma elíptica mayor o igual a 0,8 serán los que, por ser finales, representan células con tendencia redondeada; los otros (factor de forma elíptica < 0,8) serán los que representan células con tendencia elipsoidal. Ciertamente, en nuestro caso, los porcentajes de células con tendencia redondeada o células de "categoría esferoidal" son muy inferiores a los porcentajes de "categoría elipsoidal". Esto es debido fundamentalmente a que las reducciones que se van realizando por "contaminación derivada" han sido en los factores de forma elíptica altos muy superiores a las que sufrieron las categorías de factor de forma elíptica menor. Ello es lógico porque como cada célula da perfiles derivados con factores de forma que son necesariamente por encima del suyo propio (es decir, más circulares), resulta que las derivaciones son mayores y se acumulan en los factores de forma elíptica superiores.

Por consiguiente se entiende que los porcentajes resultantes, tras eliminar la contaminación, con factor de forma elíptica mayor de 0,8 son realmente células esferoidales (o de tal tendencia). Por debajo de 0,7 los porcentajes resultantes corresponden a células elipsoidales. Por último, entre un factor de forma elíptica de 0,8 a 0,7 encontramos porcentajes que por su forma, aunque hay que catalogar de elipsoidales (o con tal tendencia), no se puede descartar como ya se ha dicho el que en algunos casos pudieran pertenecer a la "categoría esferoidal", entrando aquí en juego errores ineludibles de variaciones tintoriales, ligeras desviaciones al dibujar los perfiles, etc. Por esta circunstancia, a la hora de establecer categorías neuronales hemos preferido prescindir de dichos porcentajes de factor de forma elíptica entre 0,8 y 0,7 ya que no los podemos adscribir con certeza a la "categoría esferoidal" ni a la "categoría elipsoidal". Tales valores no es que se pierdan, sino que tanto si los dividimos entre los elementos de más de 0,8 y de menos de 0,7, como si dejamos de considerarlos, ello no afectará al entendimiento de las relaciones inter-poblacionales.

Siguiendo las observaciones y desde el análisis de la tabla IV-39, se comprueba directamente el que, tal y como ya habíamos afirmado con anterioridad, los valores de los conjuntos existentes en la zona superior del sector α_E son muy similares a los de la zona media, lo cual indica que salvo pequeñas variaciones de porcentaje inicial, debidas principalmente a que las células en la zona media ofrecen una orientación más uniforme, ambas zonas presentan una disposición general en densidades y tamaños neuronales muy semejante. No obstante, con todo, hay que hacer notar el que algo sí varía el porcentaje de células redondeadas de mayor tamaño, el cual se ha incrementado en la zona media. Otra diferencia estriba en que en la zona superior el porcentaje de los tamaños comprendidos entre $340 \mu\text{m}^2$ - $420 \mu\text{m}^2$ es mayor que en la zona media. En cuanto a la zona inferior, su carácter es marcadamente diferente a las otras dos, las células disminuyen apreciablemente de tamaño y el número de células elípticas pequeñas se incrementa considerablemente.

En resumen y refiriéndonos ya, concretamente, a las categorías celulares encontradas en nuestro estudio, considerando fundamentalmente el tamaño y el factor de forma elíptica, podemos diferenciar, como ya hemos indicado anteriormente, una "categoría esferoidal" a la que denominaremos "C" y otra "elipsoidal" a la que denominaremos "E", cuyos porcentajes vienen reflejados en la tabla IV-40. Dentro de la categoría "C" podemos diferenciar dos tamaños, células entre $260 \mu\text{m}^2$ - $340 \mu\text{m}^2$ o categoría "C₁" y células entre $180 \mu\text{m}^2$ - $260 \mu\text{m}^2$ o categoría "C₂". En cuanto a las células elipsoidales, encontramos tres categorías según su tamaño, categoría "E₁" de tamaño comprendido entre $260 \mu\text{m}^2$ - $340 \mu\text{m}^2$; categoría "E₂" de tamaño comprendido entre $180 \mu\text{m}^2$ - $260 \mu\text{m}^2$ y categoría "E₃" cuyo tamaño es de $100 \mu\text{m}^2$ - $180 \mu\text{m}^2$. Con respecto a las categorías elipsoidales, la "E₁" y la "E₂" son más abundantes en las zonas superior y media, descendiendo su porcentaje en la zona inferior; por lo demás la "E₂" resulta ser la más abundante de todas las categorías en cada una de las tres zonas. En cuanto a la categoría "E₃", resulta ser más abundante en la zona inferior mientras que en las zonas superior y media su porcentaje es bajo y muy similar.

Tabla IV-40

% DE CATEGORIAS DE PERFILES CELULARES, VALORES TOTALES DEL SECTOR α_E , NGLd							% DE LAS CATEGORIAS HALLADAS EN EL PRESENTE ESTUDIO				
ZONA	F.F.e. (*) TAMARO	> 0,8	0,8 - 0,7	0,7 - 0,6	< 0,6	Σ	> 0,8		< 0,7		
							C ₁ 260-340	C ₂ 180-260	E ₁ 260-340	E ₂ 180-260	E ₃ 100-180
α_E ROHREPCS	340 - 420	----	----	0,38	0,72	1,10	----	----	----	----	----
	260 - 340	2,25	3,68	2,48	5,60	14,01	2,25	----	8,08	----	----
	180 - 260	2,66	28,65	30,62	17,61	79,54	----	2,66	----	49,23	----
	100 - 180	----	----	----	5,26	5,26 (39,31)	----	----	----	----	5,26
α_E MIDIDA	340 - 420	----	----	0,38	0,53	0,91	----	----	----	----	----
	260 - 340	3,45	5,38	3,10	7,20	19,13	3,45	----	10,30	----	----
	180 - 260	2,45	23,98	27,46	19,87	73,76	----	2,45	----	47,33	----
	100 - 180	----	----	----	6,53	6,53 (100,32)	----	----	----	----	6,53
α_E INFERIOR	340 - 420	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
	260 - 340	2,09	2,09	1,57	1,03	6,78	2,09	----	2,60	----	----
	180 - 260	9,45	10,46	25,51	11,10	56,52	----	9,45	----	36,61	----
	100 - 180	----	12,14	15,89	8,62	36,65 (93,95)	----	----	----	----	24,51
VALOR DE LOS PORCENTAJES DE LAS CATEGORIAS NEURONALES PARA EL SECTOR α_E							2,60	4,85	6,99	44,06	12,10
							7,45		63,15		

(*) El valor de los límites de clase viene consignado en μm^2

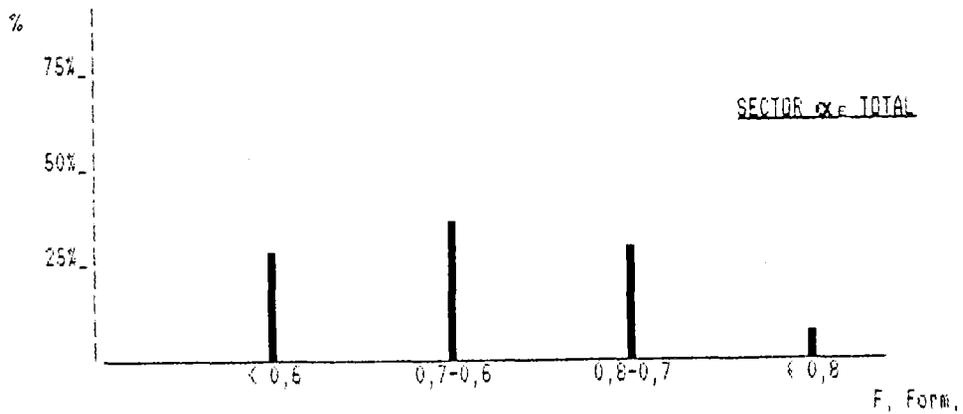
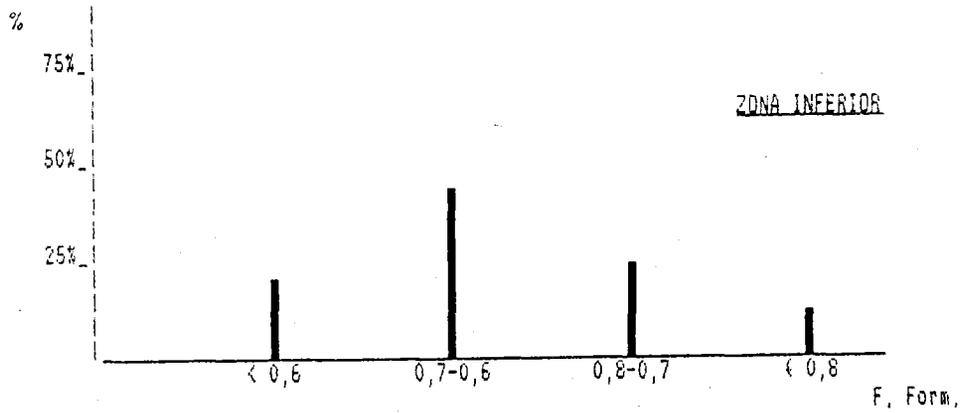
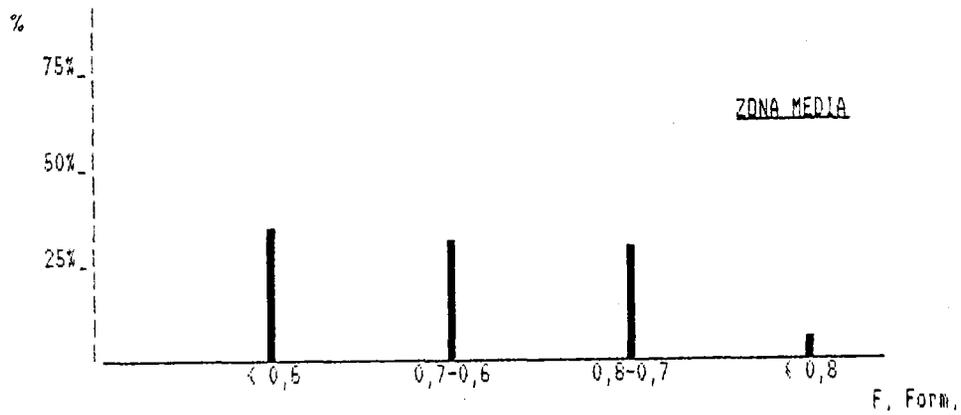
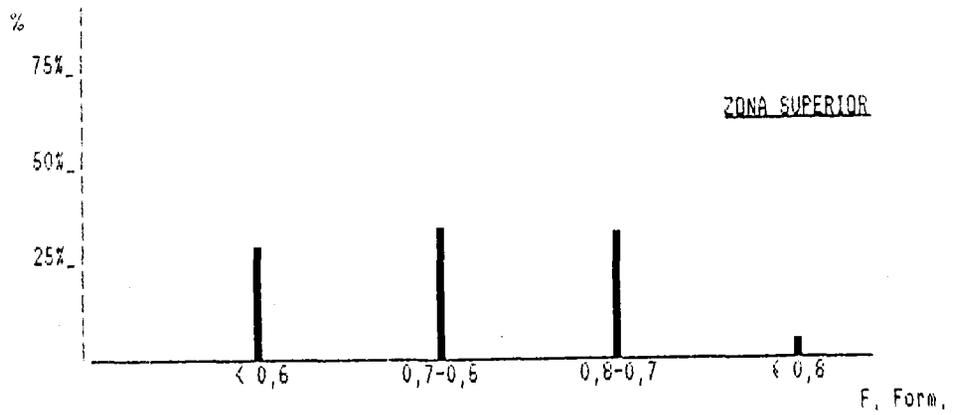
Aún podríamos distinguir una sexta categoría neuronal, "E_o", en la que se incluirían aquel escaso número de células elipsoidales de tamaño comprendido entre 340 μm^2 - 420 μm^2 . Ciertamente, en este caso, debido al exiguo porcentaje que representan (1,1% en la zona superior y 0,91% en la zona media) podría ponerse algún reparo consistente en la posibilidad de que esta categoría pueda ser en realidad una extrapolación de la categoría "E.". En cuanto a las demás categorías, las diferencias de tamaño y factor de forma así como sus preferencias de localización, determinan el que no pueda existir duda de que nos encontramos ante auténticas diferencias morfométricas y no de grado.

En las gráficas IV-73 y IV-74 se recoge la representación de los porcentajes finales reales, en función del factor de forma elíptica (IV-73) y en función de los tamaños (IV-74). En la figura IV-33 hemos realizado una gráfica de múltiple entrada donde puede observarse el porcentaje de participación de cada categoría neuronal dentro del total de la población. Las micrografías números 1 a 14 (IMAGEN 1 a IMAGEN 14) son una exposición de las imágenes más típicas de las distintas categorías, según los detalles observables en las preparaciones de Golgi y Klüver-Barrera.

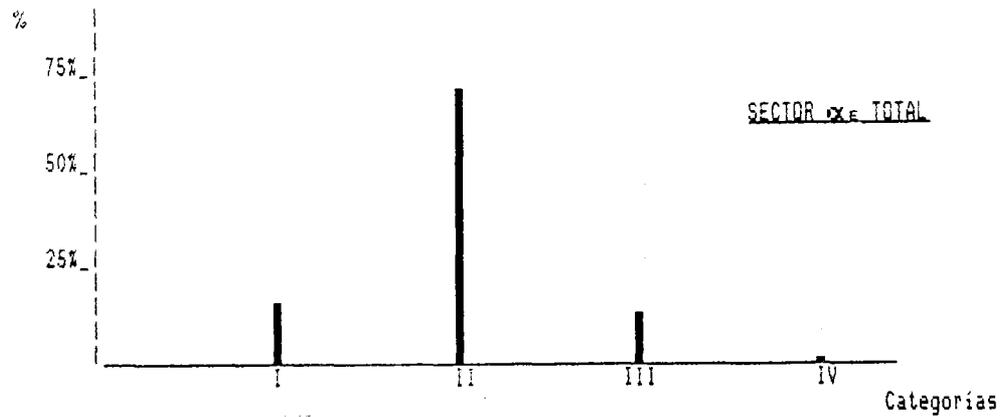
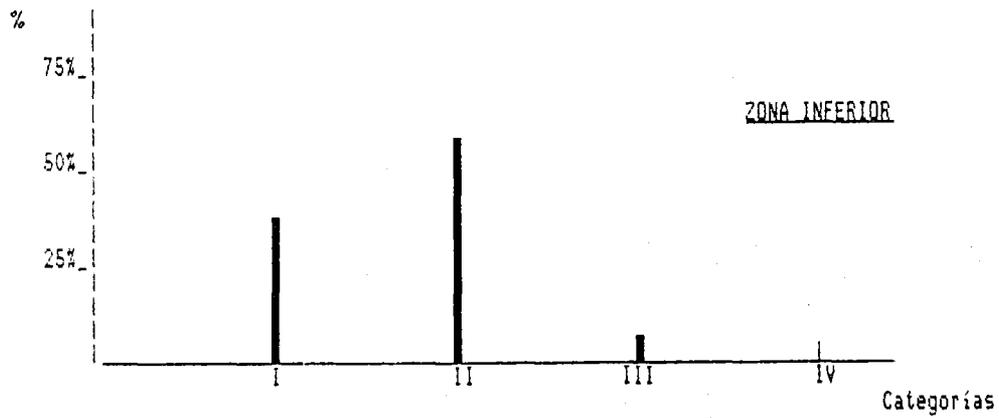
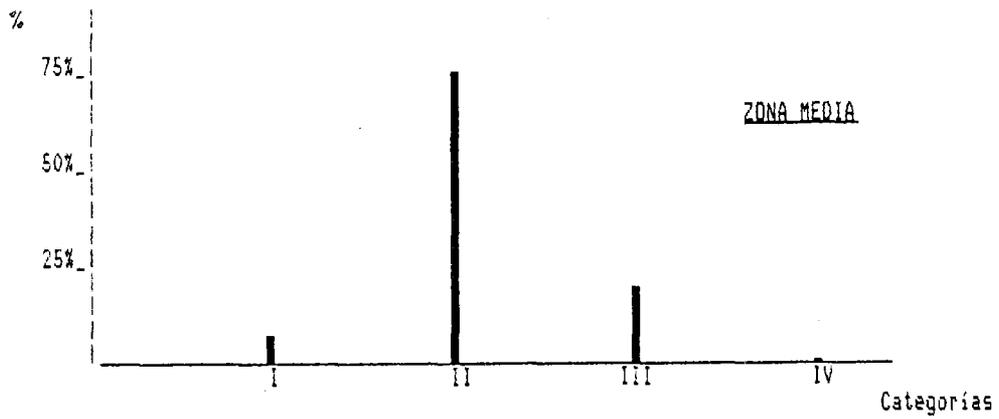
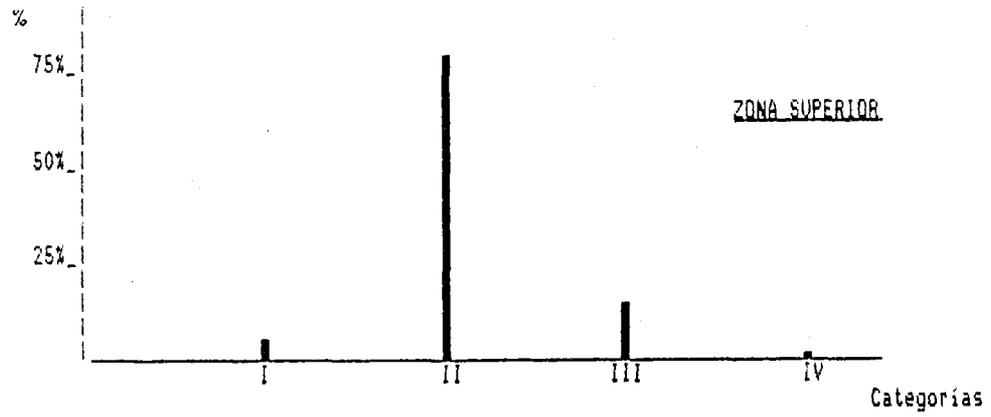
Por último, nos queda el referir para estos porcentajes obtenidos y en cada categoría celular, el número final de células que obtuvimos cuando se realizaron los estudios de recuentos y densidades neuronales al comienzo de nuestro trabajo. A este respecto, una vez que se han corregido los valores encontrados de la sobreestimación por razón del efecto Holmes, y al aplicar a tales valores los porcentajes de participación, han resultado para cada categoría y en cada una de las zonas de estudio, las cifras que recogen las tablas IV-41 y IV-42, las cuales son ya la expresión final de todo nuestro análisis.

Gráfica IV-73

% FINALES REALES PARA EL FACTOR DE FORMA ELIPTICA



Gráfica IV-74
% FINALES REALES EN FUNCION DEL TAMARO



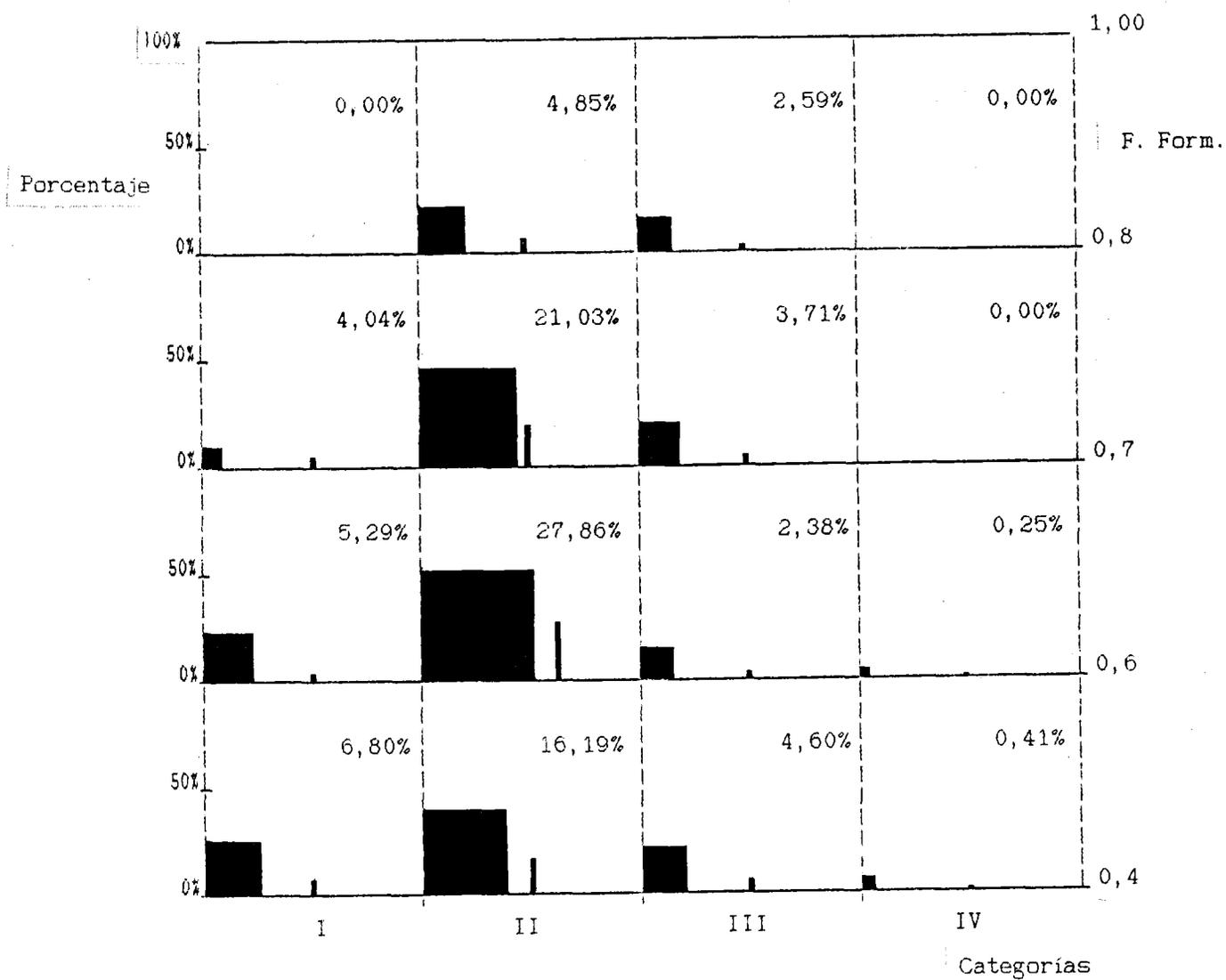


FIGURA IV-33

ZONA SUPERIOR:

<u>CATEGORIA</u>	<u>TAMANO (μm^2)</u>	<u>F.F.e</u>	<u>PORCENTAJE</u>	<u>Nº CELULAS</u>
C ₁	260 - 340	> 0,8	2,25%	1107 ± 78
C ₂	180 - 260	> 0,8	2,66%	1308 ± 93
E ₀	340 - 420	< 0,7	1,10%	541 ± 38
E ₁	260 - 340	< 0,7	8,08%	3974 ± 281
E ₂	180 - 260	< 0,7	48,23%	23722 ± 1680
E ₃	100 - 180	< 0,7	5,26%	2587 ± 183

ZONA MEDIA:

<u>CATEGORIA</u>	<u>TAMANO (μm^2)</u>	<u>F.F.e</u>	<u>PORCENTAJE</u>	<u>Nº CELULAS</u>
C ₁	260 - 340	> 0,8	3,45%	3030 ± 149
C ₂	180 - 260	> 0,8	2,45%	2152 ± 106
E ₀	340 - 420	< 0,7	0,91%	799 ± 39
E ₁	260 - 340	< 0,7	10,30%	9045 ± 445
E ₂	180 - 260	< 0,7	47,33%	41564 ± 2044
E ₃	100 - 180	< 0,7	6,53%	5735 ± 282

ZONA INFERIOR:

<u>CATEGORIA</u>	<u>TAMANO (μm^2)</u>	<u>F.F.e</u>	<u>PORCENTAJE</u>	<u>Nº CELULAS</u>
C ₁	260 - 340	> 0,8	2,09%	651 ± 39
C ₂	180 - 260	> 0,8	9,45%	2946 ± 175
E ₀	340 - 420	< 0,7	0,00%	-----
E ₁	260 - 340	< 0,7	2,60%	810 ± 48
E ₂	180 - 260	< 0,7	36,61%	11412 ± 677
E ₃	100 - 180	< 0,7	24,51%	7640 ± 453

TABLA IV-41

SECTOR IXE:

<u>CATEGORIA</u>	<u>TAMANO (μm^2)</u>	<u>F.F.e</u>	<u>PORCENTAJE</u>	<u>Nº CELULAS</u>	<u>LOCALIZACION</u>
C ₁	260 - 340	> 0,8	2,60%	4330 ± 193	Z. MED.
C ₂	180 - 260	> 0,8	4,85%	8078 ± 360	Z. INF.
E ₀	340 - 420	< 0,7	0,67%	1116 ± 50	Z. SUP./ MED.
E ₁	260 - 340	< 0,7	6,99%	11642 ± 518	Z. SUP./ MED.
E ₂	180 - 260	< 0,7	44,06%	73384 ± 3267	Z. SUP./ MED.
E ₃	100 - 180	< 0,7	12,10%	20153 ± 897	Z. INF.

TABLA IV-42

7.9. Descripción de algunos caracteres morfométricos propios de las categorías neuronales descritas.

Hagamos ahora descripción de los caracteres morfométricos propios de cada una de las categorías encontradas. Los valores de dichos caracteres quedan recogidos en las tablas IV-43 y IV-44, en las que para cada una de las categorías celulares se exponen los valores medios de los tamaños reales de los perfiles neuronales así como los correspondientes al diámetro máximo del nucléolo (tabla IV-43) y los tamaños reales de los perfiles nucleares así como el factor de forma elíptica del núcleo y la relación núcleo-citoplasma (tabla IV-44).

Con respecto a los valores obtenidos para el diámetro máximo de los nucléolos, valores deducidos desde 330 perfiles tomados para dicho análisis, y en medidas conseguidas a partir de las tres direcciones de corte consideradas, se han obtenido cifras que nos indican que los nucléolos son, lógicamente, menores para las neuronas más pequeñas, aunque las diferencias entre las neuronas de perfil mayor y las menores son como máximo de 0,24 μm . Estas diferencias de tamaño nucleolar tan mínimas no van a influir en las proporciones geométricas que se obtengan al realizar las secciones y estudios de los perfiles derivados, por lo que los cálculos y análisis serán los mismos para cualquier tamaño o categoría de perfil, no influyendo en ellos, como decimos, esa pequeña diferencia encontrada en el diámetro nucleolar.

Otra cuestión será el comprobar si desde el punto de vista de carácter morfológico las diferencias encontradas entre los nucléolos en las categorías de 100 μm^2 - 180 μm^2 , 180 μm^2 - 260 μm^2 y 260 μm^2 - 340 μm^2 , dan diferencias significativas.

También se puede apreciar en este nuevo análisis que las diferencias de los tamaños reales o áreas de los perfiles de los somas neuronales correspondientes al presente estudio, varían de una categoría a otra en valores que oscilan entre 70 μm^2 y 90 μm^2 , lo cual indica, que el

CLASES TEORICAS (*)	340 - 420	260 - 340	180 - 260	100 - 180
X TAMAÑO PERFIL REAL	379,52 $\sigma = 30,28$	289,60 $\sigma = 20,02$	216,79 $\sigma = 24,13$	145.45 $\sigma = 21,58$
X D _{max} DEL NUCLEOLO	2,70 $\sigma = 0,19$	2,74 $\sigma = 0,22$	2,63 $\sigma = 0,33$	2,50 $\sigma = 0,23$

(*)El valor de los intervalos de cada clase viene consignado en μm^2 .

-TEST-

Valores de t_a obtenidos al comparar los diámetros máximos de los nucléolos, en cada una de las clases de tamaño.

TAMAÑOS †	260 - 340	180 - 260	100 - 180
260 - 340	-----	2,803*	6,347*
180 - 260	2,803*	-----	3,801*
100 - 180	6,347*	3,801*	-----

†El valor de los intervalos de cada clase viene consignado en μm^2 .

TABLA IV-43. _ Valores medios de los perfiles neuronales así como de los diámetros máximos (D_{max}) de los nucléolos, en cada una de las clases teóricas analizadas. Test de comparación de medias para los diámetros máximos de los nucléolos de cada clase. El número total de perfiles estudiados fue 330.

F.F.e.	PARAMT.	TAMANOS (*)			
		340 - 420	260 - 340	180 - 260	100 - 180
≥ 0,8	AREA NUC.	-----	130,27 $\sigma = 11,21$	97,42 $\sigma = 10,50$	80,38 $\sigma = 9,41$
	F.F.e. NUC.	-----	0,83 $\sigma = 0,04$	0,80 $\sigma = 0,07$	0,80 $\sigma = 0,07$
	Nu/Cit	-----	0,450 $\sigma = 0,047$	0,485 $\sigma = 0,051$	0,520 $\sigma = 0,045$
0,8 a 0,7	AREA NUC.	-----	125,43 $\sigma = 9,11$	103,09 $\sigma = 9,80$	78,49 $\sigma = 8,32$
	F.F.e. NUC.	-----	0,82 $\sigma = 0,05$	0,82 $\sigma = 0,06$	0,80 $\sigma = 0,07$
	Nu/Cit	-----	0,440 $\sigma = 0,046$	0,480 $\sigma = 0,050$	0,510 $\sigma = 0,047$
0,7 a 0,6	AREA NUC.	-----	127,47 $\sigma = 10,62$	101,43 $\sigma = 11,56$	78,95 $\sigma = 9,52$
	F.F.e. NUC.	-----	0,82 $\sigma = 0,07$	0,81 $\sigma = 0,06$	0,78 $\sigma = 0,09$
	Nu/Cit	-----	0,450 $\sigma = 0,042$	0,480 $\sigma = 0,043$	0,510 $\sigma = 0,048$
< 0,6	AREA NUC.	153,72 $\sigma = 14,41$	123,87 $\sigma = 14,91$	102,65 $\sigma = 11,60$	75,83 $\sigma = 9,33$
	F.F.e. NUC.	0,91 $\sigma = 0,07$	0,84 $\sigma = 0,08$	0,80 $\sigma = 0,06$	0,74 $\sigma = 0,08$
	Nu/Cit	0,410 $\sigma = 0,049$	0,440 $\sigma = 0,032$	0,481 $\sigma = 0,035$	0,49 $\sigma = 0,038$

(*) El valor de los límites de clase viene consignado en μm^2

Tabla IV-44. Valores medios reales de los parámetros: área del núcleo, factor de forma elíptica del núcleo y relación núcleo-citoplasma, para cada una de las categorías neuronales descritas.

valor de $80 \mu\text{m}^2$ que habíamos determinado como intervalo de clase para diferenciar los cuatro tamaños de categorías iniciales fue acertado. Además hay otra coincidencia y es que cada uno de los valores reales obtenidos para cada categoría está muy próximo al valor medio de cada clase teórica, lo cual resulta también un argumento a favor del procedimiento seguido; pues, podría haber ocurrido, de no haberse planteado correctamente la división de clases, que los valores medios hubieran aparecido más próximos a los límites de las clases que al valor del punto medio de las mismas (marca de clase), con lo que los resultados finales se encontrarían falseados (es de entender que en nuestra primera intención al clasificar las poblaciones hemos partido de un muestreo inicial con el que, como siempre se recomienda en estereología; se realizaron las primeras observaciones que proporcionan una idea del material que se ha de procesar después).

En la tabla IV-44 recogemos para cada factor de forma y categoría de tamaño neuronal, el área media obtenida para los núcleos neuronales de un total de 2070 neuronas analizadas y repartidas del siguiente modo: 403 (F.F.e. $\geq 0,8$); 644 (F.F.e. $0,8-0,7$); 647 (F.F.e. $0,7-0,6$) y 356 (F.F.e. $< 0,6$); todos ellos suponen valores superiores a los que exigían las fórmulas de significación de poblaciones. En el cuadro destaca el hecho de que para cada factor de forma celular se obtengan, dentro de cada categoría, muy parecidos valores de la forma nuclear así como de la relación núcleo-citoplasma (Nu/cit); así por ejemplo, para el tamaño $260 \mu\text{m}^2 - 340 \mu\text{m}^2$, el factor de forma nuclear oscila entre 0,82 y 0,84 (tanto si la célula es redondeada como si es marcadamente elipsoidal). Idéntica situación, a pesar de tener un tamaño más reducido, observamos en la categoría $180 \mu\text{m}^2 - 260 \mu\text{m}^2$. En cuanto a la categoría cuyo tamaño oscila entre $100 \mu\text{m}^2 - 180 \mu\text{m}^2$, aun manteniéndose dentro de límites muy parecidos a las otras dos, ofrece algo más de variación sobretodo para el factor de forma elíptica del soma menor a 0,6. Estas situaciones, que comentaremos después, representan caracteres morfométricos específicos internos que avalan la distinción o condición propia de cada uno de los tamaños establecidos. En cuanto a la población cuyo tamaño oscila entre

340 μm^2 - 420 μm^2 , de la cual han aparecido muy pocos elementos, ofrece como particularidad el que sus núcleos son bastante esféricos o de perfil redondeado y proporcionalmente de menor tamaño que los de las otras clases, ya que en este caso la relación núcleo-citoplasma tiene un valor de 0,41, lo cual indica que el desarrollo somático no ha sido paralelamente seguido por el de su núcleo celular correspondiente.

ICONOGRAFIA REPRESENTATIVA DE LAS CATEGORIAS OBTENIDAS EN LOS
PREPARADOS HISTOLOGICOS TRAS SU CLASIFICACION REAL.

IMAGEN 1

Sección horizontal a nivel de la zona media del sector α_E del NGLd del conejo (Klüver-Barrera). Aspecto panorámico de diversos tamaños neuronales de tendencia preferentemente elíptica. Aumentos $\times 350$.

IMAGEN 2

Neuronas de la zona superior del sector α_E del NGLd del conejo. Sección horizontal. La flecha indica una gran neurona de la categoría E_0 ($390 \mu\text{m}^2$). Con asterisco se señalan perfiles circulares, posiblemente derivados (Klüver-Barrera). Aumentos $\times 750$.

IMAGEN 3

Neuronas categoría E_1 ($260 \mu\text{m}^2 - 290 \mu\text{m}^2$). Sección horizontal a nivel de la zona media del sector α_E del NGLd del conejo (Klüver-Barrera). Aumentos $\times 750$.



IMAGE 1

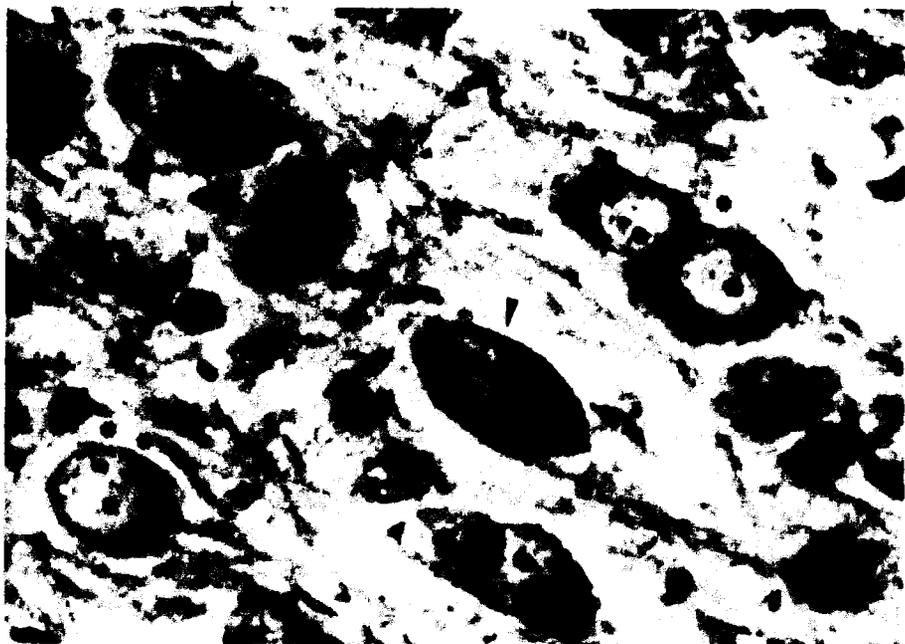


IMAGE 2



IMAGE 3

IMAGEN 4

Neuronas de la zona superior del sector α_E del NGLd del conejo (Klüver-Barrera). Las flechas señalan neuronas de la categoría E₂ (200 μm^2). Aumentos $\times 750$.

IMAGEN 5

Sección horizontal a nivel de la zona inferior del sector α_E del NGLd del conejo (Klüver-Barrera). Neuronas de la categoría E₃ (142 μm^2). Aumentos $\times 750$.

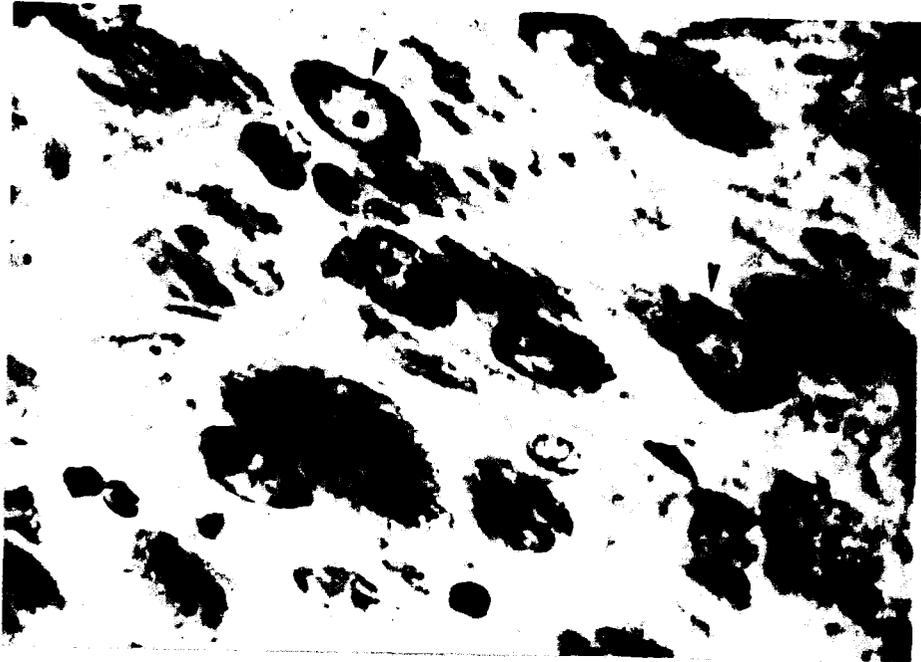


IMAGEN 4

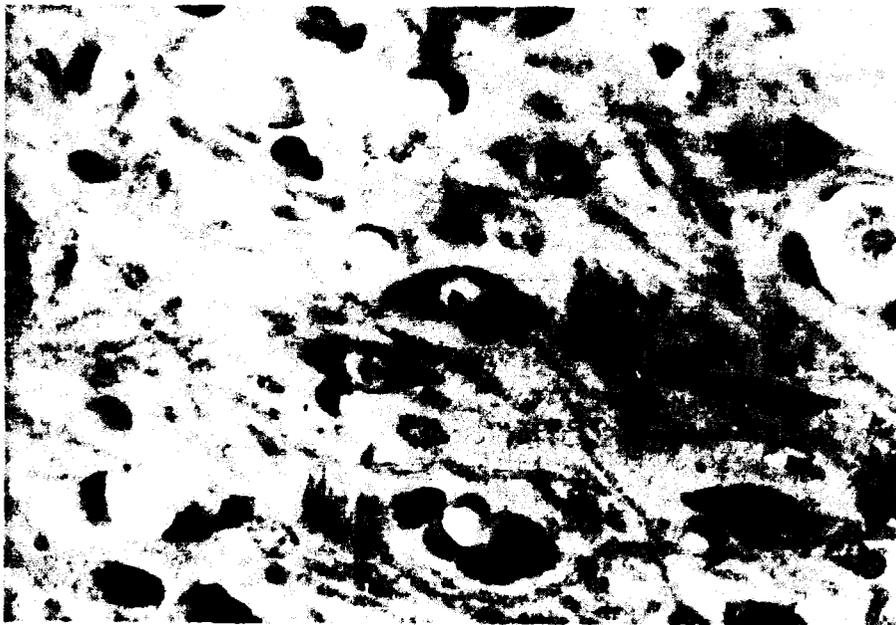


IMAGEN 5

IMAGENES 6 Y 7

Neuronas de la zona media del sector α_E del NGLd del conejo (Klüver-Barrera). Tamaños diversos de perfiles redondeados pertenecientes a secciones posiblemente derivadas de tamaños superiores (flechas) y otras de aspecto esferoidal propio (asterisco). Aumentos $\times 750$ y $\times 800$.



IMAGEN 6

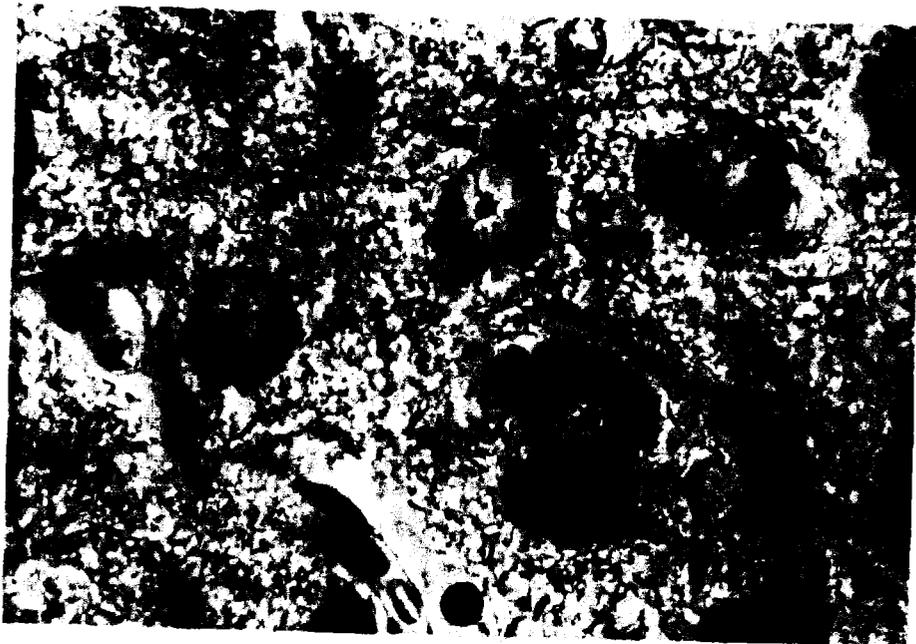


IMAGEN 7

IMAGEN 8

Aspecto panorámico de neuronas impregnadas con el método de Golgi (Golgi-Adams), en una sección horizontal a nivel de la zona media del sector α_E del NGLd del conejo. Aumentos $\times 250$.

IMAGEN 9

Neurona elipsoidal. Categoría E₁. Sección horizontal a nivel de la zona superior del sector α_E del NGLd del conejo. Técnica de Golgi (Golgi-Adams) ofreciendo tamaños relativamente menores que los anteriores. Aumentos $\times 500$.

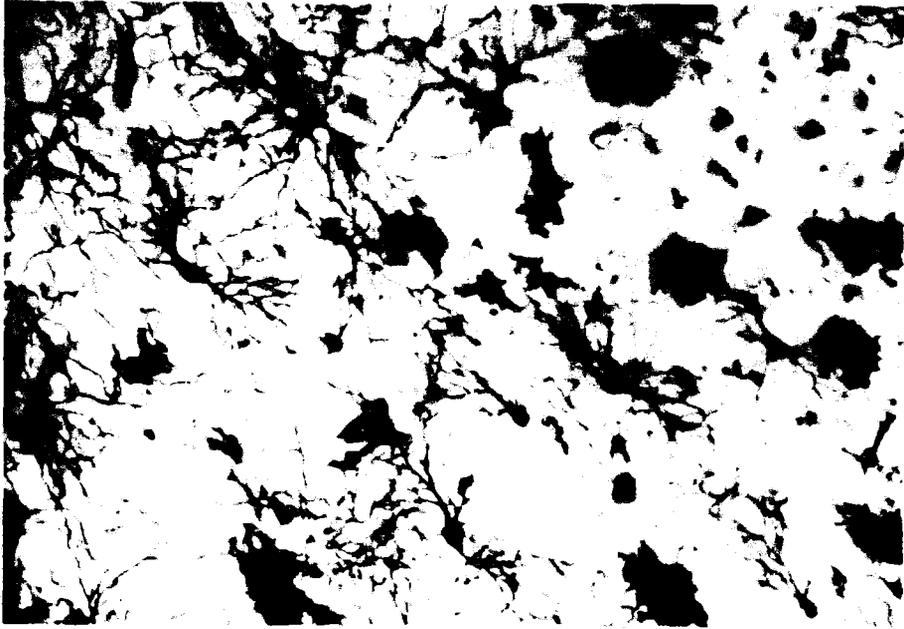


IMAGEN 8



IMAGEN 9

IMAGEN 10

Neurona elipsoidal. Categoría E_2 (Golgi-Adams). Aumentos $\times 500$.

IMAGEN 11

Neurona elipsoidal de la categoría E_3 . Sección horizontal a nivel de la zona inferior del sector α_E del NGLd del conejo (Golgi-Adams). Aumentos $\times 500$.

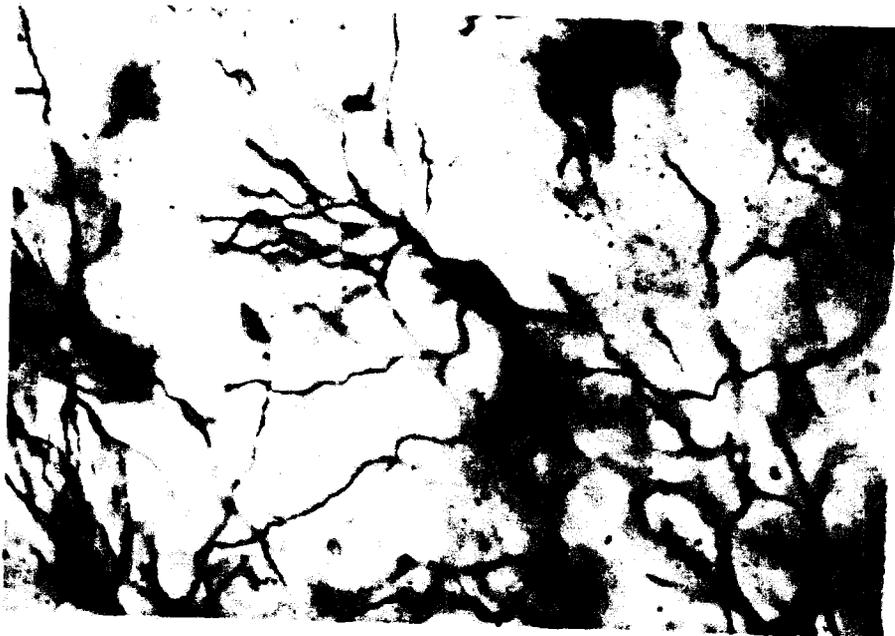


IMAGEN 10

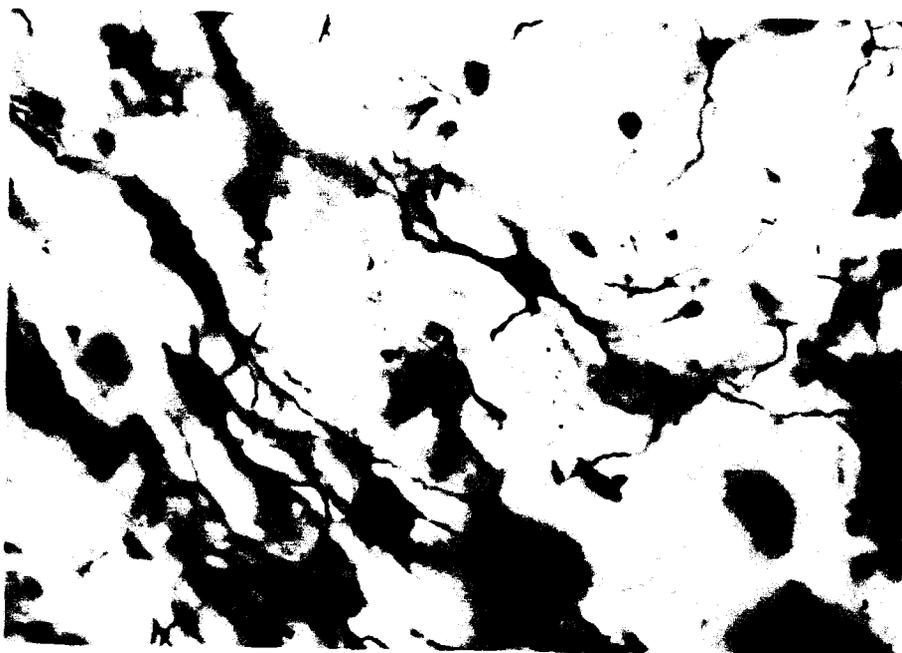


IMAGEN 11

IMAGENES 12 Y 13

Neuronas de tamaño diverso y perfil de tendencia redondeada (Golgi-Adams). Aumentos x 500.

IMAGEN 14

Imagen mostrando dos neuronas, una elíptica y otra multipolar (tendencia esferoidal). En ambos casos las flechas indican el lugar de emergencia del axón. Obsérvese la diferencia en ambos tipos de células (Golgi-Adams). Aumentos x 600.



— ZM0D3H
A

— ZM0D3H
B



— ZM0D3H
C

V. COMENTARIO

1. ASPECTOS TECNICOS.

Para el desarrollo de los estudios realizados en el NGLd del conejo (*Dryctolagus cuniculus*), siempre se han seguido unos procedimientos técnicos en consonancia con los fines propuestos.

En este sentido y en primer lugar, resultó muy conveniente el poner a punto una técnica de perfusión que, a nuestro entender, es menos traumática que la técnica habitual vía aorta, y por supuesto mucho más efectiva que la simple inyección de fijador vía arterial. En efecto, la técnica de perfusión vía carotídea directa permite mantener al animal vivo, bajo anestesia general, sin necesidad de respiración asistida prácticamente hasta la entrada del fijador en el cerebro, hecho este muy conveniente si tenemos en cuenta la sensibilidad del tejido nervioso a los estados de anoxia. Además hay que tener en cuenta que mediante la perfusión vía aorta sólo de un 5% a un 10% del fijador utilizado llega al tejido cerebral, sin embargo en el caso de la técnica de perfusión vía carotídea prácticamente todo el fijador empleado llega al cerebro.

Con respecto a los estudios cuantitativos, el empleo selectivo del método de Klüver-Barrera (Klüver-Barrera, 1953), ya descrito, se debe precisamente a que lo hemos considerado de los más apropiados para dichos estudios. Esta técnica, que utiliza el Luxol Fast Blue; que es una ftalocianina de cobre que presenta una estructura química en cadena cerrada, complicada y comparable con la de la hematina y la de la clorofila; permite teñir en la misma preparación no sólo las vainas de mielina, sino también, por tinción combinada con violeta de cresil (técnica de Nissl), las células nerviosas y sus núcleos. En efecto, las sustancias lipoides de la vaina de mielina se tiñen por la difusión progresiva del colorante, el Luxol Fast Blue, desde la solución alcohólica en el interior de las vainas. La coloración se puede ejecutar no sólo en corte por congelación, sino también, tal y como en nuestro caso, en material incluido en parafina, ya que los lipoides de las vainas de mielina apenas si son disueltos por el alcohol. En cuanto al violeta de cresil, dicho colorante pone de manifiesto

los núcleos de las células nerviosas, en los que destaca intensamente la imagen nucleolar, así como la "sustancia tigre" de las neuronas. Estas estructuras se tiñen de un modo parecido, debido a que su composición en ácidos ribonucleicos es semejante. El colorante básico (violeta de cresil) se deposita en los radicales ácidos de los ácidos nucleicos debido a fuerzas electropolares.

El resultado final de la técnica de Klüver-Barrera es: fibras nerviosas de color azulado-verdoso, grumos de Nissl y nucléolos en azul oscuro; los núcleos de las células gliales se nos ofrecen en diversos tonos azules, destacando en ellos pequeños grumos irregulares de heterocromatina.

En resumen, mediante la técnica de Klüver-Barrera, hemos podido obtener preparaciones histológicas en las que se puede observar el NGLd perfectamente delimitado, lo cual nos facilita las posteriores descripciones topográficas e histológicas. De esta forma, hemos conseguido la reconstrucción del NGLd, las determinaciones volumétricas precisas e imágenes tisulares claras que nos han permitido efectuar los recuentos y obtener los parámetros utilizados en el análisis citomorfométrico de los elementos neuronales.

Un aspecto técnico importante a tener en cuenta ha sido el grosor del corte empleado. La tendencia, en estudios cuantitativos, es a realizar cortes lo más gruesos posible, ya que de esta forma se seccionará una proporción mínima de las estructuras que se toman como unidad de recuento (en nuestro caso el nucléolo), con lo que disminuyen los errores que puedan ser cometidos. Además, a la hora de las determinaciones citomorfométricas, cuanto mayor sea el grosor del corte mayor será el número de neuronas no seccionadas que encontraremos y que, por tanto, ofrecerán su máximo perfil sobre el plano de corte. Sin embargo, en los cortes demasiado gruesos los recuentos se ven dificultados por la superposición de diversas imágenes celulares, y los perfiles a nivel del nucléolo, que realmente son los que hemos considerado en nuestro estudio, resultan desvirtuados dado que en realidad y en la mayoría de los casos,

como hemos mencionado más arriba, lo que realmente estaremos considerando será la proyección del perfil máximo de cada célula en el plano de corte. Todas estas consideraciones nos han llevado a estimar como grosor ideal para nuestro material el de 15 μm . Coincide éste con el utilizado por la mayoría de los investigadores que se han ocupado de la realización de recuentos en el tejido cerebral, que oscila, casi siempre, entre 10 y 20 μm . No obstante, se han llegado a emplear grosores de corte superiores, así Haug (1982), al menos para el córtex cerebral, recomienda cortes de 30 a 40 μm y autores como Chow (1951), han llegado a utilizar grosores de hasta 50 μm .

Por lo que respecta a la elección, como unidad de recuento, de los nucléolos, ha sido ampliamente defendida por numerosos autores entre los que destacan Königsmark (1970) y Haug (1967a, 1970, 1972). Esta estructura debido a su pequeño tamaño, presenta menores probabilidades que otros elementos neuronales de ser seccionada, y cuando lo es, debido al grosor del corte (15 μm), aparecerá como máximo en dos secciones histológicas diferentes, evitando de este modo posibles errores en el recuento.

No obstante, a pesar de las consideraciones anteriores, hemos de decir que el efecto Holmes (Holmes, 1927) es siempre significativo, es decir, que normalmente se produce una sobreestimación del número real de células debido al efecto del grosor finito de la sección. Por ello, con vistas a una evaluación más precisa del número de partículas hemos empleado una fórmula de corrección en nuestros recuentos. Dicha fórmula ha sido la de Floderus (1944), en base a que, según estudios realizados por Calvente (1985), resulta ser la más fiable de entre las que se utilizan corrientemente en este tipo de estudios.

Desde el punto de vista técnico, un factor muy interesante a tener en cuenta en todo tipo de estudios de naturaleza cuantitativa es el de la retracción. Todo material que se someta a una serie de procedimientos técnicos va a sufrir una disminución en el volumen de sus estructuras, que

deberá tenerse en cuenta para ajustar los datos obtenidos sobre el tejido retraído, a los valores reales de las estructuras medidas.

La retracción será distinta según el animal utilizado y según el tejido empleado aunque los diferentes tejidos hayan sido sometidos a los mismos procesos de fijación, inclusión y tinción; además un mismo material sufrirá diferente retracción según el tipo de técnica que con él se emplee. Así, los diferentes autores, de entre los pocos que han calculado la retracción ocasionada en sus correspondientes materiales de estudio, ofrecen cifras muy variables. Pakkenberg (1966), trabajando sobre el cerebro humano incluido en parafina y sometido a la técnica de tinción con galocianina, indica una retracción en volumen del 74%; Haug (1970, 1972) da retracciones en volumen de un 50%, para tejido cerebral fijado en formol e incluido en parafina; Navascués (1976) calcula un valor de retracción en volumen del 32,5%, para tejido cerebral de gato incluido en parafina y teñido con tionina; Ostos (1980), para tejido cerebral de ratón incluido en parafina y sometido a la técnica de tinción con verde metilo-pironina, obtiene un valor de retracción en volumen de un 40%.

En nuestro trabajo, para tejido cerebral de conejo sometido a los procedimientos técnicos empleados (técnica de Klüver-Barrera), hemos obtenido un valor de retracción en volumen de un 36,57%, determinado mediante el método propuesto por Navascués y cols. (1979).

Esta retracción, lógicamente debe influir de manera escasa a la hora de dar valores relativos, siempre y cuando se hayan puesto los máximos cuidados para que los materiales objeto de estudio, al ser sometidos a procesos iguales, ofrezcan en todo caso iguales modificaciones o equivalentes. De este modo, aunque ocurran cambios, estos no influirán, como ya hemos dicho, en las conclusiones comparativas y si acaso en los valores absolutos o al establecer comparaciones con los resultados dados por otros autores.

En cuanto a la utilización de la técnica de Golgi, diremos que nos servimos de ella para confirmar la existencia de un principio de ordenación espacial de las células del NGLd del conejo. En este sentido el proceder de Golgi-Adams (Adams, 1979) resultó ser el más fiable y constante de las distintas variantes del método de Golgi que se ensayaron en un principio. Esta variante está inspirada en otra desarrollada por Del Rio-Hortega (1928) para la demostración de la oligodendroglia, pero que en este caso impregna de modo inmejorable neuronas, así como fibras de muy diverso calibre. Por otra parte, además de su seguridad, este método resulta ser rápido y económico, lo cual ha contribuido a que lo utilizásemos como método de elección en las comprobaciones de la organización estructural del NGLd del conejo.

Por último, un aspecto técnico que resulta interesante destacar, es el haber realizado cortes, para analizar la estructura del NGLd, en tres direcciones del espacio diferentes: horizontal, frontal y sagital. La orientación espacial que presentan las células no sólo en el NGLd, tal y como nosotros hemos observado, sino en otras muchas zonas del Sistema Nervioso Central, hace imprescindible, para cualquier consideración acerca del tamaño o la forma de dichos elementos, realizar estudios en varios planos de sección diferentes comparando a continuación los resultados obtenidos, ya que, en caso contrario, tal y como demuestran Droogleever y Fortuyn (1964), podemos caer en el error de establecer distinciones morfológicas, en cuanto a esos parámetros se refiere, en regiones donde en realidad dichas distinciones no existen o bien a la inversa, podemos considerar que elementos morfométricamente diferentes son idénticos debido a que por su orientación presentan perfiles similares a un determinado plano de corte.

Esta última consideración es a menudo obviada por la mayoría de los investigadores que, para sus estudios, utilizan un único tipo de secciones, preferentemente frontales u horizontales. En este sentido, nosotros pensamos que cualquier estudio de tipo estereológico fiable no

puede prescindir de al menos tres o incluso cuatro orientaciones de corte diferentes, según lo exija el ángulo de inclinación de los elementos.

2. CONSIDERACIONES MORFOLÓGICAS.

Cualquier estudio de naturaleza estereológica requiere, en primer lugar, obtener una clara imagen cualitativa de la zona que vamos a valorar (Haug, 1972), en nuestro caso el NGLd. Por consiguiente, antes de efectuar las valoraciones cuantitativas, hemos procedido a un detallado estudio de los caracteres morfológicos del NGLd del conejo. Dicho análisis morfológico nos permitió localizar y delimitar con exactitud el NGLd, así como los sectores que lo constituyen.

El complejo nuclear del NGL del conejo (*Oryctolagus cuniculus*) es un núcleo par, situado a ambos lados del tálamo dorsal que se observa constituido por un conjunto de células nerviosas agrupadas en dos núcleos claramente diferenciados y denominados por su situación NGL dorsal (NGLd) y NGL ventral (NGLv).

Con respecto al NGLd, objeto de nuestros estudios, la ordenación de los elementos celulares que lo integran muestra una situación que podríamos considerar intermedia entre la de mamíferos inferiores, en los que el NGLd tiene una apariencia homogénea, y la típica diferenciación en láminas que como es sabido tiene lugar en mamíferos como el gato (Guillery, 1970), el hombre (Chacko, 1948, 1949; Kahle y cols., 1977), y otros primates (Giolli y Tigges, 1970; Hassler, 1966) de posición más elevada en la escala zoológica. En efecto, Holcombe y Guillery (1984) destacan, salvando las evidentes diferencias, que los sectores α_E , α_I y β del NGLd del conejo, tienen sus equivalencias en el NGLd del gato, mamífero este último donde resulta bien patente la laminación del núcleo.

En resumen, lo realmente importante, desde el punto de vista morfológico, es el constatar la existencia de tres sectores claramente distinguibles en el NGLd del conejo, el Sector α -Externo (α_E), Sector α -Interno (α_I) y Sector β , lo cual coincide con las observaciones realizadas por Holcombe y Guillery (1984) y con las de Rose y Malis

(1965), aunque estos últimos autores sólo consideran los sectores α y β , siendo aquel la suma de los sectores α_E y α_I .

Al margen de estas consideraciones, pero como aspectos dignos de tener en cuenta, cabe decir que desde el punto de vista funcional la bibliografía indica que tanto el sector α_E como el α_I son dos zonas de proyección contralateral entre las cuales y hacia la región posteromedial se localiza una zona de aspecto generalmente cuneiforme y de proyección ipsilateral, que no puede distinguirse morfológicamente y sólo se pone de manifiesto cuando se utilizan técnicas de degeneración y marcaje. También se ha observado mediante marcaje anterógrado con peroxidasa de rábano, que la zona ventrolateral del sector α tiene una densidad de terminales contralaterales marcados, más baja que la que presenta el resto del sector α , lo cual induce a pensar que esta zona al igual que la de proyección ipsilateral entre los sectores α_E y α_I , es de algún modo diferente al resto del sector α .

Una vez reconocida la estructura y organización interna del NGLd del conejo; sobre la que no vamos a abundar más ya que ha sido suficientemente tratada en el apartado correspondiente, dentro del capítulo de Observaciones y Resultados; estábamos en condiciones de proceder a los estudios estereológicos, comenzando el trabajo por la determinación de parámetros generales tales como el volumen total del núcleo así como de los diferentes sectores y zonas de estudio consideradas y cantidad de neuronas contenidas en cada una de ellas.

Por último, si nos interesa una vez más, recalcar la existencia de un principio de ordenación espacial de las células del NGLd, detectado con el método de Klüver-Barrera y confirmado con el de Golgi-Adams, por cuanto que nuestros estudios estereológicos posteriores se encuentran básicamente relacionados con esta circunstancia.

3. RECONSTRUCCION GRAFICA Y DELIMITACION DE LAS ZONAS DE ESTUDIO.

Nuestras reconstrucciones gráficas tridimensionales del NGLd del conejo a partir de secciones seriadas, nos han servido para precisar la forma específica de dicho complejo nuclear del tálamo dorsal, así como para determinar la posición y el tamaño relativos del NGLd con respecto al NGLv. Al mismo tiempo hemos conseguido, indirectamente, profundizar en la morfología del NGLd en cuanto a sus regiones constitutivas se refiere, fundamentalmente por lo que respecta a la exacta localización del sector β .

Es interesante reseñar que de las tres direcciones de corte utilizadas en nuestros estudios, las direcciones horizontal y sagital son las que proporcionan reconstrucciones gráficas más fidedignas (precisamente las reconstrucciones que se muestran en el apartado correspondiente del capítulo de Observaciones y Resultados se han obtenido a partir de secciones horizontales). Esto se debe a que en dichas secciones horizontales y sagitales, el sector β y los límites mediales del sector α resultan más claramente distinguibles que en las frontales, en las que el sector β resulta difícil de visualizar con precisión dada su orientación contraria. Por otra parte, es sabido, que el analizador de imágenes permite una vez hecha la reconstrucción obtener por rotación otros ángulos de visión.

En cuanto a la posición relativa de los núcleos NGLd y NGLv, se observa que el NGLv se encuentra en situación anterior con respecto al NGLd, además ambos núcleos están imbricados en aproximadamente un tercio de su extensión dorso-ventral. Por ello, son las imágenes histológicas ofrecidas por los cortes frontales, las que mejor reflejan esta situación. Con respecto al volumen de cada uno de los núcleos del complejo nuclear del NGL, si bien sólo hemos realizado determinaciones precisas para el caso del NGLd, en la reconstrucción puede apreciarse cómo dicho núcleo (NGLd) resulta ser más voluminoso que el NGLv.

La forma del NGLd a través de nuestras reconstrucciones coincide en líneas generales con las apreciaciones que sobre este aspecto se encuentran en la literatura y así, el NGLd del conejo, es similar a una pera invertida y con su tercio inferior curvado y dirigido hacia la región anteromedial (Loepp, 1911; Chaudhury y Whitteridge, 1965). Desde este punto de vista, nuestras reconstrucciones aportan dos aspectos que sí creemos que resultan de interés: en primer lugar, puede observarse que la localización del sector β del NGLd se ubica hacia la región anteromedial del sector α , y en segundo lugar se puede apreciar como este último, además envuelve a aquél. Esta segunda consideración también pudo sospecharse de la observación de las imágenes histológicas ofrecidas por los cortes sagitales y horizontales.

Por último, comentar el que cuando se realizan determinaciones cuantitativas en estructuras voluminosas, es conveniente subdividir las en varias zonas de estudio de menor tamaño, en cada una de las cuales se efectuarán, por separado, dichas determinaciones cuantitativas. De este modo podremos eliminar los vacíos o la isotropía que en determinados lugares producen las fibras así como conocer si en las diferentes regiones de la estructura estudiada las medidas se mantienen constantes, o si por el contrario existe algún grado de heterogeneidad dentro de la misma. En este sentido, en nuestro caso, tanto la reconstrucción tridimensional como los estudios morfológicos previos del NGLd han sido determinantes de la particular división en zonas de estudio que hemos realizado dentro del citado núcleo. En efecto, por una parte el hecho de que los sectores α_E y α_I discurren en dirección dorsoventral y por otra la forma de pera invertida o de maza que presenta el núcleo, nos decidieron a utilizar como criterio para la delimitación de zonas de estudio, el de dividir el núcleo en tres partes iguales mediante dos planos perpendiculares al eje dorsoventral del núcleo, distinguiéndose así las zonas superior, media e inferior, tanto para el sector α_E como para el sector α_I ; el sector β se consideró de forma global debido a sus reducidas dimensiones.

4. ESTIMACIONES DE VOLUMEN.

Los valores de volumen de los sectores α_E , α_I y β del NGLd del conejo, no se han podido contrastar con los de otros autores, ya que no se encuentran en la literatura resultados de esta naturaleza. Solamente Rose y Malis (1965), así como Holcombe y Guillery (1984) establecen en base a apreciaciones meramente morfológicas que el sector α_E es mayor que el sector α_I , siendo el sector β el de menores dimensiones. Nosotros hemos confirmado con exactitud las impresiones de estos autores, por cuanto que hemos determinado que el sector α ocupa un volumen cuyo porcentaje oscila entre el 89,53% y el 91,87% del total del NGLd, correspondiendo el resto del mismo al sector β . Asimismo, el sector α_E es mayoritario, ocupando un volumen que oscila entre el 56,89% y el 61,81% del total del sector α (ver figura IV-22).

En cuanto a los volúmenes de las zonas superior, media e inferior de los sectores α_E y α_I , lo más interesante es destacar, considerando el total de los geniculados estudiados (diez), que la variación del porcentaje para cada una de ellas es baja, oscilando entre el 2,1% y el 5,5%. Si tenemos en cuenta que para estos cálculos hemos utilizado núcleos cortados según tres direcciones de corte (horizontal, frontal y sagital), podemos admitir que el método utilizado para la delimitación de zonas de estudio a partir de los dibujos confeccionados a tal efecto, resulta bastante fiable. Por lo demás, estas medidas tienen el valor de proporcionarnos, una vez efectuados los recuentos, el número total de neuronas en cada zona de estudio. Si queremos repetir, el que la división en zonas superior, media e inferior se hizo de modo práctico y sin pretender, al menos inicialmente, afirmar diferencias específicas morfológicas.

5. NUMERO DE NEURONAS Y DENSIDAD NEURONAL.

Para el cálculo del número de neuronas y más concretamente, de la densidad neuronal, presentada por los diferentes sectores (α_E , α_I y β) y zonas (superior, media e inferior) de los núcleos geniculados considerados, llevamos a cabo una serie de recuentos neuronales (a través del nucléolo), para lo que fue necesario elegir una unidad o paralelepípedo de recuento, cuyas dimensiones determinamos cuidadosamente con el fin de obtener un número de éstos lo suficientemente amplio en cada uno de los casos estudiados, como para permitirnos la elección de una muestra de tamaño aceptable, según lo indicado en el tratamiento estadístico de Azorín Posch (1972). A partir de los recuentos se calculó el número total de neuronas en cada una de las zonas de estudio.

Ya al realizar las muestras piloto, observamos que el número de paralelepípedos que debían escogerse para componerlas era similar en todas las zonas excepto en el caso del sector β , en el que dicho número había de ser considerablemente mayor. Este hecho es debido a la baja densidad de neuronas por paralelepípedo que aparecen en el sector β , puesto que en la fórmula utilizada para determinar el tamaño de la muestra, cuanto menor es el número de neuronas contenido en cada paralelepípedo mayor habrá de ser el número de ellos que han de componer una muestra que sea significativa del total de la población. Normalmente, en estos casos, se procede a determinar una nueva unidad de recuento o paralelepípedo unidad; sin embargo, dado que esta circunstancia señalada sólo afectó al sector β , preferimos utilizar un mismo paralelepípedo unidad para todas las zonas sin excepción aun a sabiendas de que el número de recuentos a realizar sería mayor en el sector β . Por otra parte, el hecho de que en dicho sector el número de neuronas sea considerablemente menor que en el resto del núcleo no debe sorprendernos si tenemos en cuenta que a través de dicho sector las fibras de la proyección geniculoes triada se abren paso en su camino hacia la corteza (Rose y Malis, 1965; Schober y cols., 1985).

En otro orden de cosas, refiriéndonos concretamente a los valores de densidad obtenidos para los distintos sectores del NGLd del conejo, diremos que también se encuentran en la literatura escasos datos al respecto, los cuales además no pasan de ser simples apreciaciones de carácter general. Así, Werner y Wilke (1985) apuntan que, aunque el sector α de los roedores y de otros mamíferos (entre los que se encuentra el conejo) presenta una apariencia homogénea, cuando se aplican métodos estadísticos es posible distinguir varias zonas de densidad celular diferente. Nosotros hemos encontrado que existe una apreciable diferencia de densidad entre el sector α_E ($25,203 \pm 0,599$ cels/ $10^6 \mu\text{m}^3$) y el sector α_I ($15,200 \pm 0,738$ cels/ $10^6 \mu\text{m}^3$). En cuanto al sector β , como ya hemos apuntado, su densidad es la más baja del NGLd ($7,614 \pm 0,436$ cels/ $10^6 \mu\text{m}^3$). Como causa de esta diferencia de densidad parece razonable proponer que al reducirse el volumen del núcleo en esta zona, la cantidad de fibras que han de atravesarlo y que provienen del sector α_E en su camino hacia la corteza, hacen que disminuya el espacio disponible para los somas neuronales con el consiguiente descenso de la densidad neuronal.

Como ya hemos comentado, cuando se realizan determinaciones cuantitativas en una estructura voluminosa, resulta conveniente su subdivisión con el objeto de determinar si existe o no algún grado de heterogeneidad dentro de la misma. En el caso del NGLd y efectuada la comparación de los valores de densidad neuronal obtenidos en las diferentes zonas (superior, media e inferior) de los sectores α_E y α_I , pudimos comprobar que mientras que el sector α_I resulta ser homogéneo; ya que los test de comparación de medias no fueron significativos en ningún caso; en el sector α_E la zona inferior presenta unos valores de densidad neuronal que sí son significativamente más bajos que los de la zona superior y media. Por consiguiente, bajo el punto de vista de nuestros estudios de densidad neuronal, podemos afirmar que dentro del sector α_E se pueden diferenciar dos zonas: una que estaría constituida por las zonas que nosotros hemos denominado superior ($25,926 \pm 0,655$ cels/ $10^6 \mu\text{m}^3$) y media ($25,982 \pm 0,512$ cels/ $10^6 \mu\text{m}^3$), y otra que afectaría al tercio



inferior de este sector y en la que los valores de densidad neuronal son más bajos ($23,402 \pm 0,845$ cels/ $10^6 \mu\text{m}^3$).

Estas diferencias de densidad neuronal no son las únicas que distinguen al tercio inferior del sector α_E , pues los parámetros utilizados en el análisis citomorfométrico realizado en este sector, revelan, como veremos posteriormente, que existen razones suficientes para considerar que la zona inferior de dicho sector es distinta del resto.

En base a estos datos comentados y dado que el estudio morfométrico que proyectamos en principio iba a ser ciertamente laborioso, es por lo que, una vez hechos estos análisis, decidimos tomar el sector α_E para el desarrollo del sistema de análisis que constituye el 50% fundamental del trabajo de esta tesis doctoral. Por otra parte, la variabilidad del sector α_E junto a sus dimensiones, lo hacían más interesante que los sectores α_I y β cuyo análisis, una vez que se establecieran las conclusiones metodológicas, vendría a ser un proceso más bien rutinario.

6. ANALISIS DE POBLACIONES O CATEGORIAS DE PERFILES REALES: CARACTERES MORFOMETRICOS PROPIOS.

El sistema empleado ha proporcionado ciertamente datos considerablemente fiables. Si no se hubieran hecho los análisis teóricos que nos permitieron obtener las orientaciones de las partículas (células) y el estudio que permite obtener los posibles perfiles derivados de la sección contraria a los ángulos dados, no se podría haber hecho la "limpieza" necesaria para conocer los porcentajes reales de cada categoría ni tampoco la afirmación de la existencia de las mismas, y por supuesto no habríamos podido detectar con claridad su preferencia de lugar que tan importante resulta al entender que las categorías morfométricas pueden tener un sentido funcional.

Las tablas de "valores iniciales" indican o contienen unos porcentajes que al no ser los reales tan sólo pueden entenderse como una expresión aproximada de lo que contienen; a veces dicha expresión resulta incluso falsa, como podemos comprobar cuando se observa que, por ejemplo, en la tabla final (de valores corregidos) con respecto a la categoría $100 \mu\text{m}^2 - 180 \mu\text{m}^2$, fundamentalmente en las zonas superior y media, apenas si han quedado perfiles (células), lo que nos lleva a entender el que, prácticamente, todo ese conjunto existente en el cuadro de "valores iniciales" son en realidad perfiles derivados desde las poblaciones superiores. En relación con esta observación queremos indicar además, que una muestra de que nuestros argumentos a favor de haber clasificado los perfiles de $80 \mu\text{m}^2$ en $80 \mu\text{m}^2$ son acertados, es el hecho de que no hemos encontrado prácticamente perfiles de una población que hayan producido contaminaciones en una categoría situada dos tamaños por debajo de la que estudiamos; esta situación viene también determinada por el tipo de sistema teórico desarrollado para la obtención de perfiles derivados, puesto que al emplear únicamente perfiles conteniendo nucléolo y basar sobre tal situación la consecución de perfiles de mayor tamaño, se ha eliminado el conjunto de perfiles menores contaminantes que son los que,

desde el punto de vista teórico, ofrecen mayores dificultades de análisis (Saltikov, 1946; Cruz-Orive, 1976b).

Es interesante comentar y aclarar que en la "limpieza de valores", una vez que desde los "cuadros de anotaciones" se han determinado los porcentajes y factores de forma que se han de restar, puede surgir la pregunta concreta sobre cuales son los lugares definidos (ángulos de la propia población o de la derivada inferior) en donde tenemos que eliminar esos perfiles. Ciertamente y de modo directo nosotros desconocemos, por medición, los ángulos en que esos perfiles se encuentran, pues el ángulo reflejado en los "cuadros de anotaciones" indica el valor de área y factor de forma correspondiente, pero no dicen nada sobre la situación en la dirección contraria, que es la que se cortará. Sin embargo, la situación queda aclarada porque, a partir de una población o categoría y contando con que vamos limpiando desde las categorías de mayores tamaños hacia las inferiores, como en la población en donde buscamos las derivadas (que restarán en su inmediata inferior) tendremos para esa dirección de corte los perfiles mayores y solamente los mayores, esas células están a ángulo 0° ($\alpha = 0^\circ$ si el corte es horizontal, $\beta = 0^\circ$ si es frontal y $\gamma = 0^\circ$ si sagital); luego, en los cortes contrarios las derivadas se encontrarán a 0° . En la práctica y por razones de que el corte nunca puede ser dado de modo perfecto con el microtomo, podemos admitir que estos perfiles pueden encontrarse no sólo a 0° sino entre 0° y 20° o a lo sumo 30° . De ser esto cierto, cuando anotemos y observemos los porcentajes (número) de perfiles y sus ángulos ("cuadros de anotaciones"), tendremos que obtener mayor abundancia de perfiles en los ángulos de valores comprendidos entre 0° y 30° así como entre 180° y 150° . Tal situación es precisamente la que encontramos y se repite en las diversas tablas, comprobándose con ello otra razón a favor de la corrección en las consideraciones y deducciones que hemos efectuado con nuestro sistema operativo.

Otra cuestión interesante para comentar es la de que cada "valor real", anotado en las tablas finales (en las que se consignan los valores corregidos de las distintas categorías para cada una de las zonas de

estudio), se ha calculado de modo independiente, incluso con comprobación por más de una persona y sin atender lo más mínimo a los valores de los tamaños y factores de forma contiguos. Pues bien, si todos los cálculos realizados y el proceso seguido han sido correctos, la suma de los "valores reales" correspondientes a todas las categorías para una zona de estudio determinada y a partir de los datos en las tres direcciones, deberá ser 100%. Nosotros mismos quedamos algo sorprendidos, al comprobar que en efecto, en cada zona de estudio, la suma de los porcentajes correspondientes a cada categoría de perfiles ("valores reales") era muy próxima a 100% (99,91% en la zona superior; 100,33% en la zona media y 99,95% en la zona inferior). Los porcentajes, por razón de la complejidad del método, podrían haber dado valores relativos que sumados no se aproximaran a 100% bien por defecto o bien por exceso; en este caso, como las cantidades reflejan la proporción interdependiente entre los valores, hubiéramos tenido que ajustar el valor de cada una de ellas para referirlo al 100%. Esta situación no hubiera sido ni incorrecta ni extraña, es más, era lo que en principio esperábamos, pero los valores obtenidos han sumado prácticamente el 100%, con lo que de nuevo tenemos aquí una indicación de la corrección del sistema propuesto.

En cuanto a la realidad de las diversas categorías morfométricas obtenidas, hemos de comentar los siguientes aspectos. Una categoría morfométrica viene caracterizada, como ya apuntó Underwood (1983), fundamentalmente por su tamaño y por su forma (o factor de forma), aunque evidentemente su localización en el espacio contenedor también es de gran importancia. Las partículas componentes de una estructura cobran especial significado cuando aparecen preferentemente ubicadas en determinados lugares, máxime cuando las estructuras contenedoras son materiales biológicos. Todas estas circunstancias son las que hemos encontrado y descrito en el material objeto de nuestro estudio y tienen para nosotros un valor determinante superior al dato numérico aislado. Con todo, cabría todavía preguntarse si se puede considerar diferente a una población de tamaño $100 \mu\text{m}^2$ - $180 \mu\text{m}^2$ de otra cuyo tamaño sea $180 \mu\text{m}^2$ - $260 \mu\text{m}^2$; antes de comentar esta cuestión recapacitemos sobre el hecho, ya reflejado

en nuestra forma de redactar, de que se prefiere hablar de "categoría morfométrica" que de "población celular", porque esta última denominación denota cierta connotación funcional y en el presente trabajo no hay porqué entrar en tal discusión con carácter determinante. Precisamente, lo que no pretendemos es intentar tratar el tema con consideraciones que escapan a los límites de esta tesis, en todo caso la cuestión sería la contraria, es decir, dado que se han detectado una serie de "categorías morfométricas" diferentes, búsquese ahora la posibilidad o no de diversidad de funciones. En este sentido la estereología y la morfometría lo que han hecho es iniciar un camino que habrá que continuar desde otros ámbitos de investigación y no al contrario.

Resulta incuestionable que en los estudios que hasta el presente se han realizado sobre el NGLd de mamíferos, los aspectos morfométricos, incluso recientemente, han sido muy ligeramente considerados (Guillery, 1966; Schober y Brauer, 1973; Fitzpatrick y cols., 1982; Werner y cols., 1984; Werner y Wilke, 1985; etc.). Hablar sin mas de dos poblaciones (Grossman y cols., 1973; Schober y Brauer, 1973; Werner y Krüger, 1973; Fitzpatrick y cols., 1982; Werner y Wilke, 1985; etc.) o en otros casos de tres (Kriebel, 1975; Caballero y cols., 1986; etc.), nos parece que sin otros análisis resulta aventurado, máxime cuando, como sabemos por los últimos estudios de retina (Tauchi y Masland, 1984; Masland, 1987) y de corteza cerebral (Hubel y Wiesel, 1979), se describen diversas categorías dentro de cada uno de los tipos neuronales receptores básicos de la retina y tres zonas visuales corticales superiores (a las que se proyecta la zona visual primaria) en las que, con toda probabilidad, se procesa por separado la información acerca del color, el movimiento y la profundidad estereoscópica.

En cuanto a la consideración de las posibles relaciones existentes entre las categorías encontradas en nuestro estudio y los diferentes tipos neuronales descritos en la literatura por otros autores, resulta interesante comentar el posible paralelismo.

Con respecto a la categoría "E₁", estas células podrían equipararse a las neuronas tipo 1 descritas por Caballero y cols. (1986) en estudios realizados mediante el método de Golgi en el conejo, puesto que en ambos casos, dichas neuronas no abundan en el sector α_E y dado que los diámetros y forma de las neuronas tipo 1, coinciden con los de nuestra categoría "E₁"; salvando, evidentemente, las diferencias debidas al empleo de técnicas distintas. También podría incluirse aquí la categoría "E_c", que podría compararse con aquellas neuronas tipo 1 de mayor tamaño (hasta 35 μm de diámetro mayor) y de forma apiramidada. Al comparar esta situación anterior con la de otros mamíferos, este paralelismo entre nuestra categoría "E₁" y las neuronas tipo 1 es también claro. En la rata, Grossman y cols. (1973), señalan que las células de relevo tálamo-cortical que denominan A, cuyos diámetros oscilan entre 15 y 20 μm , ocupan preferentemente la porción medial del núcleo siendo más raras en la periferia. En cuanto a la forma, Grossman apunta sin embargo que son más frecuentes las neuronas redondeadas, por lo cual habría que contemplar la posibilidad de considerar conjuntamente a las categorías "E₁" y "C₁", que además tienen características morfométricas intrínsecas (tamaño del nucléolo, factor de forma del núcleo y relación núcleo-citoplasma) similares, tal y como se comentará más adelante. En este sentido Guillery (1966), en estudios realizados en el gato, ya apuntó que las células de la clase 1 (comparable con el tipo 1), que son las de mayor tamaño, con un diámetro máximo que oscila entre 25-40 μm , presentan gran variedad de formas, siendo de la misma opinión Rafols y Valverde (1973), que en estudios a microscopía electrónica realizados en el ratón observan que las células TSR o de relevo tálamo-cortical (de diámetros máximos entre 15 y 25 μm) presentan formas tanto redondeadas como ovales. Todo ello viene a apoyar nuestra consideración de equiparar las categorías "E₁" y "C₁". No obstante, existen algunas discrepancias que no podemos explicar. En la rata, Kriebel (1975) encuentra que las neuronas del tipo 1 están distribuidas por todo el núcleo, al contrario de lo que sucede en el conejo, y una situación similar observa Guillery en el gato al afirmar que las células de la clase 1 son las más abundantes del núcleo y se localizan en

las láminas A y A1 (recordemos que la lámina A del gato es equiparable al sector α_E del conejo).

Las células de la categoría "E₂" son las más abundantes en el sector α_E del NGLd del conejo y en este sentido, también por forma y tamaño, se pueden equiparar a las neuronas tipo 2 de Caballero y cols. (1986). Como en el caso anterior cabe preguntarse si pueden incluirse dentro de una misma categoría las células "E₂" y "C₂", ya que además de ser del mismo tamaño, presentan características internas similares. Desde nuestro punto de vista sin embargo, pensamos que tal vez se trate de categorías ciertamente diferentes, por cuanto que resulta que mientras que las células "C₂" ofrecen porcentajes similares en las zonas superior y media (aproximadamente 2,5%) y más altos en la inferior (aproximadamente 9,5%), las "E₂" son más abundantes en las zonas superior y media (aproximadamente 47%-48%), mientras que en la zona inferior sus porcentajes son más bajos (aproximadamente 36,5%). Si lo que comparamos son los porcentajes de participación para el total del sector α_E , también resulta chocante que mientras que las "E₂" representan el 44%, las "C₂" sólo suponen alrededor de un 5%.

Los datos referentes a la categoría "E₃", son los siguientes. Las neuronas de esta categoría son comparables en cuanto a tamaño con una población de interneuronas encontrada por Fitzpatrick y cols. (1982) en la lámina A del NGLd del gato. Este autor examina el área media de los somas de estas células encontrando que tienen una sección media de unas 142 μm^2 .

También en cuanto a forma y tamaño se refiere, las células de la categoría "E₃" son equiparables con las de la clase 3 de Guillery (1966, 1971) en el gato; con el tipo 3 de Kriebel (1973, 1975) en roedores; tipo 3 descrito por Caballero y cols. (1986) en el conejo; tipo 3 de Campos-Ortega y cols. (1968) y Wong-Riley (1972) en primates; así como con las células de la clase B de Grossman y cols. (1973), células pseudoamacrinas de Rafols y Valverde (1973), tipo 2 de Schober y Brauer (1973), Werner y Krüger (1973), Rios y cols. (1981), así como con las neuronas de Golgi tipo

2 observadas en otros núcleos talámicos por Morest (1964, 1971), Tömböl (1967), Ralston (1971), Famiglietti y Peters (1972), etc, y por consiguiente es posible que estas células de la categoría "E₃" sean neuronas de control (interneuronas).

No obstante encontramos ciertas discrepancias en cuanto a los porcentajes de participación se refiere. Nuestra categoría "E₃" representa para el sector α_E un porcentaje de aproximadamente un 12%, lo cual no concuerda con los datos obtenidos por Werner y Wilke (1985), que utilizando el proceder de Nissl encuentran que el tanto por ciento de interneuronas en el sector α del NGLd de roedores es del 36%, aunque en el caso de animales albinos dicho porcentaje se reduce hasta situarse en el 8%. En otros órdenes de mamíferos los resultados son también divergentes y así mientras que Lin y cols. (1977) estiman en un 10% el porcentaje de interneuronas del NGLd del gato, Le Vay y Ferster (1979) aprecian un porcentaje del 25%. Para Geisert (1980), las interneuronas constituyen el 20% del total de las neuronas del NGLd del gato, y Weber y Kalil (1983), en estudios realizados en la lámina A del gato, estiman que las interneuronas suponen el 22% del total de las neuronas de esta lámina. Resultados similares a los de estos últimos autores obtienen Fitzpatrick y cols. (1982), encontrando en la lámina A del NGLd del gato una población de interneuronas que constituye entre un 19% y un 26% del total.

Con respecto a esta última consideración resulta interesante destacar que los porcentajes de participación de la categoría "E₃" en el sector α_E del NGLd del conejo, son muy diferentes si comparamos las zonas superior o media (porcentaje de participación entre el 5,26% para la zona superior y el 6,53% para la zona media) con la inferior (porcentaje de participación del 24,51%). Estas diferencias, que no han sido apuntadas por otros autores, pueden explicar en cierto modo las divergencias que hemos descrito en cuanto a porcentajes de participación se refiere, ya que si admitimos que existen zonas de diferente densidad en cuanto a las interneuronas se refiere, los recuentos que se efectúen sin tener en cuenta esta circunstancia darán resultados que oscilarán ampliamente.

Por último, si admitimos que las neuronas de la categoría "E₃" son de control intrínseco y tenemos en cuenta los porcentajes de participación que hemos encontrado para las distintas categorías celulares así como los valores de densidad neuronal, podemos afirmar que el tercio inferior del sector α_E del NGLd del conejo resulta muy diferente del resto. De la misma opinión, aunque desde un enfoque de estudio diferente, son Gonzalo y cols. (1985) que mediante el marcaje anterógrado con peroxidasa de rábano encuentran que la zona ventrolateral del sector α del NGLd del conejo (equiparable a nuestra zona inferior del sector α_E) presenta una densidad de terminales contralaterales marcados, procedentes de la retina, que es más baja que la que presenta el resto del sector α . Si tenemos en cuenta que, como ya hemos dicho, la densidad neuronal de esta zona es más baja que en el resto del sector así como la mayor abundancia de interneuronas ("E₃") y la disminución del porcentaje de neuronas de relevo ("E₁" y "E₂" fundamentalmente), es posible explicar que se encuentre menor número de terminales retinales marcados, teniendo a nuestro entender mayor importancia, en esta zona del núcleo, los contactos sinápticos de carácter intrínseco. No obstante, este último extremo deberá ser comprobado en estudios ulteriores que cuantifiquen los diversos contactos sinápticos en esta zona.

En cuanto al análisis de los caracteres morfométricos propios de cada una de las categorías halladas en nuestro estudio, encontramos lo siguiente. Con respecto a la categoría de $340 \mu\text{m}^2 - 420 \mu\text{m}^2$, se trata de neuronas de mayor tamaño cuyo núcleo, de perfil no muy redondeado cuando menos en la dirección horizontal de corte, presenta un tamaño que siendo de $153,7 \mu\text{m}^2$ de media resulta marcadamente inferior al 50% del total del soma, con lo que la relación núcleo-citoplasma (Nu/cit) da un valor de 0,41; estas neuronas ofrecen valores que no vamos a ver repetidos en las otras categorías, por lo cual, aunque si bien debido a su escaso número, puede pensarse que se trata de una extrapolación de la categoría de $260 \mu\text{m}^2 - 340 \mu\text{m}^2$, las específicas características que acabamos de citar hacen difícil su adscripción desde un punto de vista morfométrico. Esta apreciación debe ser tenida en cuenta cuando intentamos entender la

realidad de cada una de las categorías encontradas; porque a primera vista puede parecernos que la distinción de tamaños no sea más que una diversificación de un mismo elemento con variedad de grados, pero la modificación conjunta del tamaño del núcleo y el hecho de la distribución de los elementos en zonas preferentes, hablan a favor de alguna relación específica más que de una aleatoria casualidad (condición que por otra parte no es la norma en biología).

Hemos encontrado una categoría de células redondeadas con dos tamaños: neuronas "C₁" entre 260 μm^2 - 340 μm^2 y de factor de forma superior a 0,8, con un porcentaje del 2,6% (en el total) y neuronas que llamamos "C₂", entre 180 μm^2 - 260 μm^2 de perfil y también con factor de forma superior a 0,8, cuyo porcentaje es del 4,85% (en el total). Las "C₁" dan una relación núcleo-citoplasma de 0,450 y las "C₂" de 0,485, esta diferencia es considerable y significativa e indica que junto a la diferencia de tamaños hay un valor nuclear que es característico de la población o categoría que analizamos. Junto a los valores anteriores habríamos de señalar que el diámetro medio de sus nucléolos es también diferente, 2,74 μm para las "C₁" y 2,63 μm para las "C₂" y si bien la diferencia de valor no tiene relevancia a efectos cuantitativos de cálculo en el número final real (como ya se ha dicho), desde el punto de vista de la constitución propia de los elementos, esta circunstancia no puede ser pasada por alto.

Entre las neuronas que por tener factores de forma menores a 0,7 hemos catalogado como de marcadamente elipsoidales encontramos tres categorías:

Categoría "E₁". Consideramos aquí aquellas neuronas de tamaño 260 μm^2 - 340 μm^2 , con factor de forma menor de 0,7 (entre 0,7 y 0,4) y que representan un 7% (en el total); ofrecen núcleos redondeados y una relación núcleo-citoplasma igual a la que encontramos en las "C₁", que son de igual tamaño pero de forma redondeada. Cabe preguntarse aquí si se trata de células de igual significación pero con distinta forma. Puesto que

a partir de los datos obtenidos la única diferencia detectada es la de que su forma somática varía, todo lo que a este respecto podemos afirmar es que se trata de neuronas situadas fundamentalmente en las zonas superior y media del sector α_E del NGLd y que su coincidencia de caracteres propios indica una posible línea de derivación común, quedando abierta a otros estudios la posibilidad de que se trate de dos poblaciones de significado distinto puesto que morfométricamente sí ofrecen una variedad: su marcada diferencia de forma exterior.

Categoría "E₂". Dentro de esta categoría catalogamos a las neuronas (44,06% del total) con tamaño entre 180 μm^2 - 260 μm^2 y factor de forma menor de 0,7. Estas células ofrecen núcleos de perfil redondeado, pero una relación núcleo-citoplasma de 0,48. Esta circunstancia junto al hecho de que sus nucléolos ofrecen diámetros menores que en las "E₁" (2,63 μm frente a 2,74 μm), indican el que nos encontramos ante una categoría con caracteres propios diferentes y no ante el producto de la casual sección de células del tamaño superior ("E₁"). Además ya hemos dicho que células de perfil elíptico y de un determinado tamaño, no pueden dar lugar a perfiles de menor tamaño y con un mismo factor de forma elíptica que las primeras; como por otra parte varía también la relación núcleo-citoplasma, todo ello avala la distinción entre las "E₁" y "E₂". Digamos también que las neuronas de la categoría "E₂", que son las más abundantes en el sector α_E del NGLd del conejo, presentan unos porcentajes que son similares en las zonas superior y media (zona superior, 48,23%; zona media, 47,33%) y un valor más bajo en la zona inferior (36,61%).

Categoría "E₃". Son las menores de las encontradas, 100 μm^2 - 180 μm^2 de perfil y representan un 12,1% del total. Su núcleo resulta ser el que proporcionalmente ocupa un mayor espacio en el citoplasma, con lo que la relación núcleo-citoplasma presenta un valor de 0,5; por otra parte, si bien no de forma muy acusada, son los más elípticos de los núcleos analizados, con un factor de forma que oscila entre 0,78 (para perfiles neuronales de factor de forma elíptica entre 0,7 y 0,6) y 0,74 (para

perfiles neuronales con factor de forma elíptica menor de 0,6). Su localización es preferentemente en la zona o tercio inferior del sector α_E .

Por último, queremos insistir en que, desde un punto de vista morfométrico, si las anteriores categorías no tuvieran una existencia real y obedecieran a algún tipo de azar, no habrían ofrecido los valores hallados desde las tres direcciones de corte histológico, ni estarían ubicadas de forma preferente cada una en lugares y porcentajes que resultan específicos.

En resumen, como reflexión final a este comentario queremos expresar que el presente trabajo más que un método supone un sistema operativo, conseguido desde un conjunto de técnicas y procesos, a través del cual hemos demostrado el que, para analizar los tamaños y formas de las poblaciones celulares específicas (tal y como son las neuronales), hay que llevar un extremado cuidado y no catalogar a través de la simple impresión visual; a este respecto, hay que apuntar la ligereza con que en la literatura se habla de tamaños y estirpes poblacionales a veces sin más análisis que esa mera impresión visual. Nuestro sistema viene a poner de manifiesto precisamente lo contrario.

A partir de estas afirmaciones anteriores y desde las categorías morfométricas por nosotros catalogadas, no queremos ni mucho menos concluir o afirmar, que en el NGLd del conejo existan cinco o seis poblaciones que en su misión resulten funcionalmente distintas; con relación a este problema preferimos preguntar: ¿Qué sentido tiene la existencia de categorías morfométricas de tamaño y forma diferentes?. ¿Es posible que toda esta variedad de elementos tenga encomendada una misma función?. Podría ser, pero no olvidemos que en la Biología el principio de economía es una regla general y no se gasta en tamaños y formas, aleatoriamente, la energía que pueda ser necesaria para conseguir otros beneficios funcionales.

VI. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES.

Del estudio realizado en esta tesis doctoral se pueden extraer un buen número de conclusiones que tendrían el carácter de afirmaciones directas contenidas en los distintos capítulos de que ha constado nuestro trabajo. Tales afirmaciones ya han sido paulatinamente descritas conforme el tema avanzaba, por ello preferimos aquí, no repetir cuantos datos y resúmenes finales están ya contenidos en las tablas, sobre: volúmenes, zonas, reconstrucciones, situación neuronal, densidades, distribución por sectores, etc. Dado el que todo esto ya ha sido demostrado y expuesto a lo largo del texto, considero más oportuno resumir como conclusiones las afirmaciones que se deriven fundamentalmente de una consideración o reflexión conjunta del tema. Estas son las que me parecen más apropiadas:

- El empleo de analizadores semiautomáticos de imagen ha permitido una visión de conjunto que nos ha posibilitado ir desarrollando una hipótesis paulatina que de otro modo habría sido imposible entender, tanto por la extensión en el tiempo para la obtención de parámetros, como porque nos habríamos perdido entre un interminable número de listados y datos inmanejables.
- Para el esclarecimiento de las categorías de perfiles celulares obtenidas a partir de los elementos neuronales, contenidos en una estructura, es necesaria la realización de secciones histológicas perpendiculares entre sí para poder obtener valores ortogonales fiables. También es necesaria la "limpieza" de cada una de las clases o categorías celulares para reducirlas a sus valores reales.
- El número y condición de las categorías de perfiles celulares existentes (en una estructura) resulta inexacto a simple vista, no

sólo en lo referente a la dimensión real de cada población sino también en las auténticas condiciones morfométricas propias o internas. Esto es así porque, algunos datos nacen desde una contaminación a partir de otras poblaciones, por lo que resulta evidente que los caracteres morfométricos propios o internos deben establecerse sobre el estudio de poblaciones ya limpias.

- De los tres sectores componentes del NGLd (α_E , α_I y β) del tálamo del conejo (*Oryctolagus cuniculus*), el sector α_E es el menos homogéneo y por lo mismo sus categorías celulares son más diversas. También a partir de las determinaciones volumétricas y reconstrucciones se comprueba que el sector α_E es el mayor con un 54% del volumen, el α_I ofrece un 36% y el β únicamente un 9%.

- El análisis realizado ha permitido descifrar como específico del sector α_E del NGLd del conejo (*Oryctolagus cuniculus*): a) una capa superficial superior, multiforme y poco orientada; b) una población diseminada por todo el sector α_E de neuronas cuyo perfil medio es de $220 \mu m^2$ ($180 - 260 \mu m^2$) y con orientación preferente antero-posterior y extero-interna, asimismo se encontraron en las zonas estudiadas categorías de perfiles diferentes, dos circulares y cuatro elípticas, cuyas condiciones particulares quedan reseñadas en los cuadros correspondientes de esta tesis.

- El carácter de los perfiles estudiados en el sector α_E del NGLd (de conejo) ofrece diferencias que avalan la realidad de que contamos con esa diversidad de categorías, pero, también aparece una semejanza de relación nucleocitoplásmica recuerdo de esa procedencia común de estirpes originadas a partir de unos iniciales comunes (neuroblastos ubicados en las regiones diencefálicas de las vesículas cerebrales). Estas condiciones amplían el sentido de la morfometría a la posibi-

lidad de seguimiento de los procesos de diferenciación neuronal. Por todo esto, la conjunción de datos morfométricos, si bien laboriosa, supone un camino esclarecedor y rentable en el conocimiento de las condiciones celulares y supone un método abierto a más profundas conclusiones.

- Desde los parámetros ofrecidos por las diversas categorías y también por su distribución, puede entenderse, que las dos categorías de perfiles circulares y las categorías elípticas ofrecen paralelismo con las comunicaciones anteriores de la bibliografía, pero también distinciones que representan una ampliación de los tipos existentes. Otras suposiciones nos parecerían atrevidas a partir del presente análisis.

- El sistema descrito para analizar poblaciones celulares representa un proceso científicamente correcto y útil que resuelve el problema de distinción de perfiles en categorías reales y supone una nueva demostración de las ventajas y beneficios que la estereología y la morfometría pueden ofrecer en el avance de las incógnitas biológicas.

VII. BIBLIOGRAFIA

- ABERCROMBIE, M. (1946). Estimation of nuclear population from microtomic sections. *Anat. Rec.* **94**, 239-247.
- ADAMS, J.C. (1979). A fast, reliable silver-chromate Golgi method for perfusion-fixed tissue. *Stain Technol.* **54**, 225-226.
- AGDUHR, E. (1941). A contribution to the technique of determining the number of nerve cells per volume unit of tissue. *Anat. Rec.* **80**, 191-202.
- AHERNE, W. (1975). Some morphometric methods for the central nervous system. *J. Neurol. Sci.* **24**, 221-241.
- AHLSÉN, G.; LINDSTRÖM, S. (1978). Axonal branching of functionally identified neurones in the lateral geniculate body of the cat. *Neurosci. Lett.* **1**, 156-161.
- ALTMAN, A.J. (1966). Facial nucleus in Bell's Palsy. *Bull. Johns Hopk. Hosp.* **118**, 265-274.
- ANDERSEN, P.; ECCLES, J.C.; SEARS, T.A. (1964). The ventrobasal complex of the thalamus: types of cells, their responses and their functional organization. *J. Physiol. (Lond.)* **174**, 370-399.
- AZORIN POCH, F. (1972). "Curso de muestreo y aplicaciones". Ed. Aguilar. Madrid.
- BARNARD, T. (1976). An empirical relationship for the formulation of glutaraldehyde-based fixatives, based on measurements of cell volume change. *J. Ultrastruct. Res.* **54**, 478-486.
- BAUDHUIN, P.; LEROY-HOUYET, M.A.; QUINTART, J.; BERTHIER, P. (1979). Application of cluster analysis for characterization of spatial distribution of particles by stereological methods. *J. Microscopy* **115**, 1-17.

- BECKMAN, R.J.; WATERMAN, M.S. (1977). On the random distribution of nucleoli in metabolic cells. *J. theoret. Biol.* **69**, 561-566.
- BENEVENTO, L.A.; EBNER F.F. (1970). Pretectal, tectal, retinal and cortical projections to thalamic nuclei of the *Virginia opossum* in stereotaxic coordinates. *Brain Res.* **18**, 171-175.
- BERESFORD, W.A. (1961). Fibre degeneration following lesions of the visual cortex of the cat. In: "Neurophysiologie und Psychophysik des visuellen Systems". Heidelberg; Springer.
- BERESFORD, W.A. (1962). A Nauta and galloxyanin study of the cortico-lateral geniculate projection in the cat and monkey. *J. Hirnforsch.* **5**, 210-228.
- BESSIS, M.; BRETON-GORIUS, J.; THIERY, J.P. (1958). Centriole, corps de Golgi et aster des leucocytes. Etude au microscope électronique. *Rev. Hematol.* **13**, 363-375.
- BIANCHI, L. (1942). Qualche considerazione sui metodi per il conteggio delle cellule nervose. *Anat. Anz.* **92**, 233-240.
- BISHOP, P.O. (1964). Properties of afferent synapses and sensory neurons in the lateral geniculate nucleus. *Inst. Rev. Neurobiol.* **6**, 191-255.
- BISHOP, P.O.; JEREMY, D.; MCLEOD, J.G. (1953). Phenomenon of repetitive firing in the lateral geniculate nucleus of cat. *J. Neurophysiol.* **16**, 437-447.
- BISHOP, P.O.; KOZAK, W.; LEVICK, W.R.; VAKKUR, G.S. (1962). The determination of the visual field on to the lateral geniculate nucleus in the cat. *J. Physiol.* **163**, 503-539.

- BORN, G. (1883). Die Plattenmodelliermethode. *Arch. Mikrosk. Anat.*, 22, 584-599.
- BORN, G. (1898). Citado por M. Gabe en "Techniques histologiques". Ed. Mason y Cie., Paris, 1968, 163-173.
- BORNENS, M. (1979). The centriole as a gyroscopic oscillator. Implications for cell organization and some other consequences. *Biol. Cell.* 35, 115-121.
- BOUMAN, K.H. (1928). Die pathologische Anatomie des Zentralnervensystems bei Schizophrenie. *Psychiat. neurol. Bl. (Amst.)* 32, 517-539.
- BOURGEOIS, C.A.; HEMON, D.; BOUTEILLE, M. (1979). Structural relationship between the nucleolus and the nuclear envelope. *J. Ultrastruct. Res.* 68, 328-334.
- BRACEGIRDLE, B. (1983). Techniques of specimen preparation at the time of Leeuwenhoek. In: "Beads of Glass: Leeuwenhoek and the Early Microscope" (Catalogue of an exhibition in the Museum Boerhaave, November 1982 to May 1983, and in the Science Museum, May to October 1983) (Ed. by B. Bracegirdle), pp. 21-27.
- BRIARTY, L.G.; FISHER, P.J.; JENKINS, P.H. (1982). Microscopy, morphology and microcomputers. *Acta Stereol.* 1, 227-234.
- BRIARTY, L.G.; JENKINS, P.H. (1984). Gridss: an integrated suite of micro-computer programs for three-dimensional graphical reconstruction from serial sections. *J. Microscopy.* 134, 121-124.
- BROUWER, B. (1923). Experimentell-anatomische untersuchungen über die projektion der retina an die primären opticuszentren. *Schweiz. Arch. Neurol. Psychiat.* 13, 118-137.

- BURKE, W.; SEFTON, A.J. (1966). Discharge patterns of principal cells and interneurons in lateral geniculate nucleus of rat. *J. Physiol. (Lond.)* 187, 201-212.
- CABALLERO, J.L.; OSTOS, M.V.; ABADIA-FENOLL, F. (1986). Neuron types and organisations of the rabbit dorsal lateral geniculate nucleus. *J. Anat.* 148, 169-182.
- CALVENTE, R. (1985). Estudio estereológico de la distribución mitótica en el desarrollo de la retina de *Gallus domesticus* L. Tesis doctoral. Univ. Granada.
- CALVENTE, R. (1987). Comunicación personal.
- CAMPBELL, C.B.G. (1972). Evolutionary patterns in mammalian diencephalic visual nuclei and their fiber connections. *Brain, Behav. Evol.* 6, 218-236.
- CAMPBELL, C.B.G.; HAYHOW, W.R. (1971). Primary optic pathways in the echidna, *Tachyglossus aculeatus*: an experimental degeneration study. *J. comp. Neurol.* 143, 119-136.
- CAMPBELL, C.B.G.; JANE, J.A.; YASHON, D. (1967). The retinal projections of the tree shrew and hedgehog. *Brain Res.* 5, 406-418.
- CAMPOS-ORTEGA, J.; GLEES, P.; NEUHOFF, V. (1968). Ultrastructural analysis of individual layers in the lateral geniculate body of the monkey. *Z. Zellforsch.* 87, 82-100.
- CAUSLEY, D.; YOUNG, J.Z. (1955). Counting and sizing of particles with the flying-spot microscope. *Nature* 176, 453-454.
- CHACKO, L.W. (1948). The laminar pattern of the lateral geniculate body in the primates. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 71, 211-224.

- CHACKO, L.W. (1949). A preliminary study of the distribution of cell size in the lateral geniculate body. *J. Anat. (Lond.)* 83, 254-266.
- CHACKO, L.W. (1954). The lateral geniculate body in the new world monkeys. *J. Anat. Soc. India* 3, 62-74.
- CHALKLEY, H.W. (1943). Methods for quantitative morphological analysis of tissue. *J. Nat. Cancer Inst.* 4, 47-53.
- CHALKLEY, H.W.; CORNFIELD, J.; PARK, H. (1949). A method for estimating volumesurface ratios. *Science* 110, 295-307.
- CHELMANT, J.L.; COSTER, M. (1978). Fractal object in image analysis, Proceedings of the International Symposium on Quantitative metallography, Florence, pp. 125-137.
- CHOUDHURY, B.P.; WHITTERIDGE, D. (1965). Visual field projection on the dorsal nucleus of the lateral geniculate body in the rabbit. *Quart. J. Exptl. Physiol.* 50, 104-112.
- CHOW, K.L. (1951). Numerical estimates of the auditory central nervous system of the rhesus monkey. *J. comp. Neurol.* 95, 159-175.
- CLARK, W.E. LE GROS (1941a). Observations on the association fiber system of the visual cortex and the central representation of the retina. *J. Anat. (Lond.)* 75, 225-235.
- CLARK, W.E. LE GROS (1941b). The lateral geniculate body in the platyrrhine monkeys. *J. Anat. (Lond.)* 76, 131-140.
- CLELAND, B.G.; LEVICK, W.R.; MORSTYN, R.; WAGNER, H.G. (1976). Lateral geniculate relay of slowly conducting retinal afferents to cat visual cortex. *J. Physiol.* 255, 299-320.

- COCHRAN, W.C. (1953). "Sampling Techniques". Wiley and Sons, New York.
- CONNOLLY, M.; VAN ESSEN, D. (1984). The representation of the visual field in parvicellular and magnocellular layers of the lateral geniculate nucleus in the macaque monkey. *J. comp. Neurol.* 226, 544-564.
- CRAGG, B.G. (1967). The density of synapses and neurones in the motor and visual areas of the cerebral cortex. *J. Anat.* 101, 639-654.
- CROFTON, M.W. (1885). Probability. In: "Encyclopedia Britannica". 9th ed., 19, 768.
- CRUZ-ORIVE, L.M. (1976a). Quantifying "pattern": a stereological approach. *J. Microscopy* 107, 1-9.
- CRUZ-ORIVE, L.M. (1976b). Particle size-shape distributions: the general spheroid problem. I. Mathematical Model. *J. Microscopy* 107, 235-254.
- DARON, G.H. (1960). Morphology of the cerebellar dentate nucleus in a chimpanzee. *Anat. Rec.* 138, 81-92.
- DE HOFF, R.T. (1964). The determination of the geometric properties of aggregates of constant-size particles from counting measurements made on random plane sections. *Trans. AIME* 230, 764.
- DE HOFF, R.T.; RHINES, F.N. (1961). Determination of the number of particles per unit volume from measurements made on random plane sections: the general cylinder and the ellipsoid. *Trans. AIME* 221, 975-982.
- DE HOFF, R.T.; RHINES, F.N. (1968). "Quantitative Microscopy". McGraw-Hill, New York.

- DEL RIO-HORTEGA, P. (1928). Tercera aportación al conocimiento morfológico e interpretación funcional de la oligodendroglia. *Mem. Real Soc. Hist. Nat.* 14, 5-14.
- DELESSE, M.A. (1847). Procède mecanique pour determiner la composition des roches. *Ann. Mines.* 13, 379-388.
- DERRINGTON, A.M.; FUCHS, A.F. (1979). Spatial and temporal properties of X- and Y- cells in the cat lateral geniculate nucleus. *J. Physiol. (Lond.)* 293, 347-364.
- DORNFIELD, E.J.; SLATER, D.W.; SCHEFFE, H. (1942). A method for accurate determination of volume and cells numbers in small organs. *Anat. Rec.* 82, 255-259.
- DROOGLEEVER FORTUYN, J. (1964). Geometrical properties of the neurons in general and of the lateral geniculate body of the rabbit in particular. *Progress. Brain Res.* 6, 113-125.
- DUBIN, M.W.; CLELAND, B.G. (1977). Organization of visual inputs to interneurons of lateral geniculate nucleus of the cat. *J. Neurophysiol.* 40, 410-427.
- DUBOCHET, J.; DUCOMMUN, M.; ZOLLINGER, M.; KELLENBERGER, E. (1971). A new preparation method for dark-field electron microscopy of biomacromolecules. *J. Ultrastruct. Res.* 35, 147-167.
- DYKES, E.; AFSHAR, F. (1982). Computer generated three-dimensional reconstruction from serial section. *Acta Stereol.* 1, 289-296.
- EBBESON, S.O.E. (1963). A quantitative study of human superior cervical sympathetic ganglia. *Anat. Rec.* 146, 353-356.

- EBBESON, S.O.E; TANG, D.B (1965). A method for estimating the number of cells in histological sections. *J. Microscopy*. 84, 449-464.
- EBBESON, S.O.E.; TANG, D.B. (1967). A comparison of sampling procedures in a structured cell population. In: "Stereology". Proceedings 2nd International Congress for Stereology (H. Elias, ed.), pp. 131-132. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.
- EDWARDS, S.B.; ROSENQULST, A.C.; PALMER, L.A. (1974). An autoradiographic study of ventral lateral geniculate projections in the cat. *Brain Res.* 72, 282-287.
- ELIAS, H. (1972). Identification of structure by the common sense approach. *J. Microscopy*. 95, 59-68.
- ELIAS, H.; HENNIG, A.; SCHWART, D.E. (1971). Stereology: Applications to biomedical research. *Physiol. Rev.* 51, 158-200.
- ESCOBAR, A.; SAMPEDRO, E.D.; DOW, R.S. (1968). Quantitative data on the inferior olivary nucleus in man, cat, and vampire bat. *J. comp. Neurol.* 132, 397-404.
- EXNER, H.E. (1978). Private communication. In: Two-dimensional feature-shape indices, by H. Schwarz (1980). *Mikroskopie (Wien)* 37, 64-67.
- FAMIGLIETTI, E.V. (1970). Dendro-dendritic synapses in the lateral geniculate nucleus of the cat. *Brain Res.* 20, 181-191.
- FAMIGLIETTI, E.V.; PETERS, A. (1972). The synaptic glomerulus and the intrinsic neuron in the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat. *J. comp. Neurol.* 144, 285-334.

- FITZPATRICK, D.; PENNY, G.R.; SCHMECHEL, D.; DIAMOND, I.T. (1982). GAD immunoreactive neurons in the lateral geniculate nucleus of the cat and galago. *Neurosci. (Abstr.)* 8, 261.
- FLODERUS, S. (1944). "Untersuchungen über den Bau der menschlichen Hypophyse mit besonderer Berücksichtigung der quantitativen mikromorphologischen Verhältnisse". Kopenhagen: Munksgaard.
- FLOOK, A.G. (1978). Use of dilation logic on the quantimet to achieve fractal dimension characteristic of textured and structured profiles. *Powder Techn.* 21, 295-298.
- FRIEDEMANN, M. (1912). Die Cytoarchitektonik des Zwischenhirns der Cercopitheken mit besonderer Berücksichtigung des Thalamus opticus. *J.f. Psychol. u. Neurol.* 18, 309.
- FRIEDLANDER, M.J.; LIN, C.S.; SHERMAN, S.M. (1979a). Structure of physiologically identified X- and Y- cells in the cat's lateral geniculate nucleus. *Science* 204, 1.114-1.117.
- FRIEDLANDER, M.J.; LIN, C.S.; SHERMAN, S.M. (1979b). Structure of geniculate X- and Y- cells in normal and monocularly deprived cats. *Soc. Neurosci. (Abstr.)* 5, 785.
- FUKUDA, Y.; IWAMA, K. (1971). Reticular inhibition of internuncial cells in the rat lateral geniculate body. *Brain Res.* 35, 107-118.
- FUKUDA, Y.; SUGITANI, M. (1974). Cortical projections of two types of principal cells of the rat lateral geniculate body. *Brain Res.* 67, 157-161.
- FUKUDA, Y.; SUGITANI, M.; IWAMA, K. (1973). Flash evoked responses of two types of principal cells of the rat lateral geniculate body. *Brain Res.* 57, 208-212.

- FUSTER, J.M.; CREUTZFELDT, O.D.; STRASCHILL, M. (1965). Intracellular recording of neuronal activity in the visual system. *Z. Vergl. Physiol.* 49, 605-622.
- GABE, M. (1968). "Techniques histologiques". Ed. Mason y Cie. Paris, 163-173.
- GAREY, L.J.; JONES, E.G.; POWELL, T.P.S. (1968). Interrelationship of striate and extrastriate cortex with the primary relay sites of the visual pathway. *J. Neurol. Neurosurg Psychiat.* 31, 189-222.
- GAREY, L.J.; POWELL, T.P.S. (1967). The projection of the lateral geniculate nucleus upon the cortex in the cat. *Proc. R. Soc. Lond. Biol.* 169, 107-126.
- GAREY, L.J.; POWELL, T.P.S. (1968). The projection of the retina in the cat. *J. Anat. (Lond.)* 102, 189-222.
- GAUNT, P.M.; GAUNT, W.A. (1978). "Three-dimensional reconstruction in Biology", pp. 19-32. Pitman, Tunbridge Wells.
- GEISERT, E.E. (1980). Cortical projections of the lateral geniculate nucleus in the cat. *J. comp. Neurol.* 190, 793-812.
- GERHARD, L. (1968). "Atlas des mittel und zwischenhirns des kaninchens". Berlin, Springer.
- GIOLLI, R.A. (1961). An experimental study of the accessory optic tracts (transpeduncular tracts and anterior accessory optic tracts) in the rabbit. *J. comp. Neurol.* 117, 77-95.
- GIOLLI, R.A.; GUTHRIE, M.D. (1969). The primary optic projections in the rabbit. An experimental degeneration study. *J. comp. Neurol.* 136, 99-126.

- GIOLLI, R.A.; GUTHRIE, M.D. (1971). Organization of subcortical projections of visual areas I and II in the rabbit. An experimental degeneration study. *J. comp. Neurol.* 142, 351-376.
- GIOLLI, R.A.; POPE, J.E. (1973). The mode of innervation of the dorsal lateral geniculate nucleus and the pulvinar of the rabbit by axons arising from the visual cortex. *J. comp. Neurol.* 147, 129-144.
- GIOLLI, R.A.; TIGGES, J. (1970). The primary optic pathways and nuclei of primates. In: NOBACK and MONTAGNA. "The primate brain", pp. 29-54 (Appleton-Century-Crofts, New York, 1970).
- GIOLLI, R.A.; TOWNS, L.C.; TAKAHASHI, T.T.; KARAMANLIDIS, A.N.; WILLIAMS, D.D. (1978). An autoradiographic study of the projections of visual cortical area 1 to the thalamus, pretectum and superior colliculus of the rabbit. *J. comp. Neurol.* 180, 743-752.
- GLAGOLEV, A.A. (1933). On the geometrical methods of quantitative mineralogic analysis of rocks. *Trans. Inst. Econ. Min. (U.S.S.R.)*, 59.
- GLAUERT, A.M. (1979). Recent advances of high voltage electron microscopy in biology. *J. Microscopy* 117, 93-99.
- GONZALEZ-PAREJA, A.C.; ABADIA, F.; ALJON, J.; NAVASCUES, J. (1975). Contribución a las fórmulas de recuento neuronal tomando el nucléolo como unidad de medida. *Trab. Inst. Cajal Inv. Biol.* 67, 231-246.
- GONZALO, A.; ARZYMANOW, B.J.; LIEBERMAN, A.R. (1985). Proyecciones ópticas primarias en el conejo. Estudio mediante el marcaje anterógrado con peroxidasa de rábano. *Revista española de fisiología*, 41, 161-170.
- GOODMAN, D.C.; HOREL, J.A. (1966). Sprouting of optic tract projections in the brain stem of the rat. *J. comp. Neurol.* 127, 71-88.

- GRAHAM, J. (1977). An autoradiographic study of the efferent connections of the superior colliculus in the cat. *J. comp. Neurol.* 173, 629-654.
- GRATIOLET, P. (1854). "Mémoire sur les plis cérébraux de l'homme et des primates". A. Bertrand, Paris, 1854.
- GRAYBIEL, A.M. (1974). Visuo-cerebellar and cerebello-visual connections involving the ventral lateral geniculate nucleus. *Exp. Brain Res.* 20, 303-306.
- GRIFFITH, J.D. (1973). Electron microscopy visualization of DNA in association with cellular components. *Methods in Cell Biology* (Ed. by D.M. Prescott), Vol. 7, p. 129. Academic Press, New York.
- GROSSMAN, A.; LIEBERMAN, A.R.; WEBSTER, K.E. (1973). A Golgi study of the rat dorsal lateral geniculate nucleus. *J. comp. Neurol.* 150, 441-466.
- GUILD, S.R.; CROWE, S.J.; BUNCH, C.C.; POLVOGT, L.M. (1931). Correlations of differences in the density of innervation of organ of Corti with differences in the acuity of hearing, including evidence as to the location in the human cochlea of the receptors for certain tones. *Acta otolaryng. (Stockh.)* 15, 269-308.
- GUILLERY, R.W. (1966). A study of Golgi preparations from the dorsal lateral geniculate nucleus of the adult cat. *J. comp. Neurol.* 128, 21-50.
- GUILLERY, R.W. (1967). Patterns of fibers degeneration in the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat following lesions in the visual cortex. *J. comp. Neurol.* 130, 197-222.
- GUILLERY, R.W. (1969). The organization of synaptic interconnections in the laminae of the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat. *Z. Zellforsch.* 96, 1-38.

- GUILLERY, R.W. (1970). The laminar distribution of retinal fibers in the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat. A new interpretation. *J. comp. Neurol.* 138, 339-368.
- GUILLERY, R.W. (1971). Patterns of synaptic interconnections in the dorsal lateral geniculate nucleus of cat and monkey: A brief review. *Vision Res.* 3, 211-227.
- GUILLERY, R.W. (1974). Visual pathways in albinos. *Sci. Am.* 230, 44-54.
- GUILLERY, R.W.; SCOTT, G.J. (1971). Observations on synaptic patterns in the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat; the C laminae and the perikaryal synapses. *Exp. Brain Res.* 12, 184-203.
- GUILLERY, R.W.; SITTHI-AMORN; EIGHMY, B.B. (1971). Mutants with abnormal visual pathways: an explanation of anomalous geniculate laminae. *Science* 174, 831-832.
- GURDJIAN, E.S. (1927). The diencephalon of the albino rat. *J. comp. Neurol.* 43, 1-114.
- HADWIGER, H. (1957). "Vorlesungen über inhalt, oberfläche und isoperimetrie". Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg.
- HALL, J.G. (1962). A histological investigation of the auditory pathways in neonatal asphyxia. *Acta otolaryng. (Stockh.)* 54, 369-375.
- HALL, J.G. (1964). On the neuropathological changes in the central nervous system following neonatal asphyxia with special reference to the auditory system in man. *Acta otolaryng. (Stockh.)* 56, 331-339.
- HALL, W.C.; EBNER, F.F. (1970). Parallels in the visual afferent projections to the thalamus in the hedgehog *Furaechinus hypomelas* and the turtle *Pseudomys scripta*. *Brain, Behav. Evol.* 3, 135-154.

- HAMASAKI, D.; MARG, E. (1962). Microelectrode study of accessory optic tract in the rabbit. *Am. J. Physiol.* 202, 480-486.
- HAMMAR, F.A. (1914). Methode, die menge der rinde und des marks der thymus, sowie die groesse der hassalschen koerper zahlenmaessig festzustellen. *Z. Angew. Anat. Konstitutions Lehre.* 1, 311-396.
- HAMMAR, F.A. (1926). Ueber methoden, die groesse und anzahl der hassalschen koerper zahlenmaessig festzustellen. *Z. Mikrosk. Anat. Forsch.* 6, 399-404.
- HAMMARBERG, C. (1895). "Studien über klinik un pathologie der idiote". Upsala. Editorial.
- HAMORI, J.T.; PASIK, T.; PASIK, P.; SZENTAGOTHAI, J. (1974). Triadic synaptic arrangements and their possible significance in the lateral geniculate of the monkey. *Brain Res.* 80, 379-393.
- HARE, T.M.; RUSS, J.C.; RUSS, J.C. (1982). Image measuring algorithms for a small computer. In: "Microbeam Analysis" 1982 (Ed. by K.F.J. Heinrich), pp. 509-516. San Francisco Press, San Francisco.
- HARMAN, P.J.; CARPENTER, M.B. (1950). Volumetric comparisons of the basal ganglia of various primates including man. *J. comp. Neurol.* 93, 125-137.
- HASSLER, R. (1966). Comparative anatomy of the central visual systems in day- and night- active primates. In: Hassler and Stephan. "Evolution of the forebrain", pp. 419-434. (Thieme, Stuttgart, 1966).
- HATAI, S. (1902). Number and size of the spinal ganglion cells and dorsal root fibers in the white rat at different ages. *J. comp. Neurol.* 12, 107-124.

- HAUG, H. (1967a). Probleme und methoden der strukturzählung im schnittpräparat. In: "Quantitative Methods in Morphology". (E.R. Weibel and H. Elias, eds.) pp. 57-78. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.
- HAUG, H. (1967b). Number of particles per unit volume. In: "Stereology" (Ed. by H. Elias), pp. 199-210. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.
- HAUG, H. (1970). Der makroskopische Aufbau des Grosshirns. *Ergebn. Anat. Entwickl. Gesch.* 43, 4.
- HAUG, H. (1972). Stereological methods in the analysis of neuronal parameters in the central nervous system. *J. Microscopy* 95, 165-180.
- HAUG, H. (1976). Experiences with optomanual automated evaluation systems in biological research, especially in neuromorphology. In: "Proceedings Fourth International Congress for Stereology". (E.E. Underwood, R. de Wit and G.A. Moore, eds.), p. 167. National Bureau of Standards, Special Publication 431, U.S. Government Printing Office, Washington.
- HAUG, H. (1982). The location and size distribution of neurons in the layered cortex. *Acta Stereol.* 1, 259-267.
- HAUSNER, H.H. (1966). Characterization of the powder particle shape. *Powder Metallurgy* 14, 75-84.
- HAYHOW, W.R. (1958). The cytoarchitecture of the lateral geniculate body in the cat in relation to the distribution of crossed and uncrossed optic fibers. *J. comp. Neurol.* 110, 1-64.
- HAYHOW, W.R.; SEFTON, A.; WEBB, C. (1962). Primary optic centers of the rat in relation to terminal distribution of the crossed and uncrossed optic fibers. *J. comp. Neurol.* 118, 295-322.

- HELLER, I.H.; ELLIOTT, K.A.C. (1954). Deoxyribonucleic acid content and cell density in brain and human brain tumors. *Canad. J. Biochem. Physiol.* 32, 584-592.
- HEMON, D.; BOURGEOIS, C.A.; BOUTEILLE, M. (1981). Analysis of the spatial organization of the cell: a statistical method for revealing the non-random location of an organelle. *J. Microscopy* 121, 29-37.
- HENDERSON, G.; TOMLINSON, B.E.; WEIGHTMAN, D. (1975). Cells counts in the human cerebral cortex using a traditional and an automatic method. *J. Neurol. Sci.*, 25, 129-144.
- HENNING, A. (1967). Fehlerbetrachtungen zur volumenbestimmung aus der integration ebener schnitte. In: "Quantitative Methods in Morphology". (E.R. Weibel and H. Elias, eds.) p. 99-129. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.
- HICKEY, T.L.; GUILLERY, R.W. (1974). An autoradiographic study of retinogeniculate pathways in the cat and the fox. *J. comp. Neurol.* 156, 239-254.
- HICKEY, T.L.; SPEAR, P.D. (1976). Retinogeniculate projections in hooded and albino rats: an autoradiographic study. *Exp. Brain Res.* 24, 523-529.
- HILLIARD, J.E.; CAHN, J.W. (1961). An evaluation of procedure in quantitative metallography for volume fraction analysis. *Trans. Am. Inst. Min. Engrs.* 221, 344-352.
- HITCHCOCK, P.F.; HICKEY, T.L. (1983). Morphology of C-laminae neurons in the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat: a Golgi impregnation study. *J. comp. Neurol.* 220, 137-146.

- HITCHCOCK, P.F.; HICKEY, T.L.; DUNKEL, C.G. (1984). Genesis of morphologically identified neurons in the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat. *J. comp. Neurol.* 228, 200-209.
- HOLCOMBE, V.; GUILLERY, R.W. (1984). The organization of retinal maps within the dorsal and ventral lateral geniculate nuclei of the rabbit. *J. comp. Neurol.* 225, 469-491.
- HOLLANDER, H. (1970). The projection from the visual cortex to the lateral geniculate body (LGB): An experimental study with silver impregnation methods in the cat. *Exp. Brain Res.* 10, 219-235.
- HOLLANDER, H. (1972). Autoradiographic evidence for a projection from the striate cortex to the dorsal part of the lateral geniculate nucleus in the cat. *Brain Res.* 41, 464-469.
- HOLLANDER, H. (1974). Projections from the striate cortex to the diencephalon in the squirrel monkey *Saimiri sciureus*. A light microscopic radioautographic study. *J. comp. Neurol.* 155, 425-440.
- HOLLANDER, H.; MARTINEZ MILLAN, L. (1975). Autoradiographic evidence from topographically organized projection from the striate cortex to the lateral geniculate nucleus in the rhesus monkey. *Brain Res.* 100, 407-411.
- HOLLANDER, H.; SANIDES, D. (1976). The retinal projections to the ventral part of the lateral geniculate nucleus. An experimental study with silver-impregnation methods and axoplasmic protein tracing. *Exp. Brain Res.* 26, 329-342.
- HOLMES, A. (1927). "Petrographic Methods and Calculations". Murby, London.
- HOUGARDY, H.P. (1976). Automatic image analysing instruments today. In: "Proceedings Fourth International Congress for Stereology". (E.E. Underwood, R. de Wit and G.A. Moore, eds.) p. 141-148. National Bureau of

Standards, Special Publication 431, U.S. Government Printing Office.
Washington.

HUBEL, D.H.; WIESEL, T.N. (1979). Mecanismos cerebrales de la visión.
Investigación y Ciencia (Nov. 1979).

HUGHES, A. (1971). Topographical relationships between the anatomy and
physiology of the rabbit visual system. *Doc. Ophthalmol.* 30, 33-159.

IRVING, R.; HARRISON, J.M. (1967). The superior olivary complex and
audition: A comparative study. *J. comp. Neurol.* 130, 77-86.

JEFFERSON, J.M. (1940). A study of the subcortical connexion of the optic
tract system of the ferret, with special reference to gonadal activation
by retinal stimulation. *J. Anat. (Lond.)* 75, 106-134.

JONES, A.E. (1966). The lateral geniculate complex of the owl monkey *Aotes
trivirgatus*. *J. comp. Neurol.* 126, 171-180.

JONES, R.L. (1937). Split nucleoli as a source of error in nerve cell
counts. *Stain Technol.* 12, 91-95.

JORDAN, H.; HOLLANDER, H. (1972). The structure of the ventral part of the
lateral geniculate nucleus. A cyto- and myeloarchitectonic study in the
cat. *J. comp. Neurol.* 145, 259-272.

KAAS, J.H.; GUILLERY, R.V.; ALLMAN, J.M. (1972a). Some principles of organi-
zation in the dorsal lateral geniculate nucleus. *Brain Behav. Evol.* 6,
253-299.

KAAS, J.H.; GUILLERY, R.V.; ALLMAN, J.M. (1973). Discontinuities in the
dorsal lateral geniculate nucleus corresponding to the optic disc: a
comparative study. *J. comp. Neurol.* 147, 163-179.

- KAAS, J.H.; HALL, W.C.; DIAMOND, I.T. (1972b). Visual cortex of the grey squirrel *Sciurus carolinensis*: architectonic subdivision and connections from the visual thalamus. *J. comp. Neurol.* 145, 273-306.
- KAHLE, W.; LEONHARDT, H.; PLATZER, W. (1977). "Atlas de Anatomía. Tomo 3: Sistema nervioso y órganos de los sentidos". pp. 302-311. Ed. Omega, Barcelona, 1977.
- KALISNIK, M.; PAJER, Z. (1983). The validity and economy of the direct method for the estimation of the absolute number of particles. *Acta Stereol.* 2/SUPPL I, 139-144.
- KAPPERS, C.U.A.; HUBER, G.C.; CROSBY, E.C. (1967). "The comparative anatomy of the nervous system of vertebrates, including man". Hafner Publishing Company, New York, 1967
- KAWAMURA, S.; FUKUSHIMA, N.; HATTORI, S.; TASHIRO, T. (1978). A ventral lateral geniculate nucleus projection to the dorsal thalamus and the midbrain in the cat. *Exp. Brain Res.* 31, 95-106.
- KAYE, B.H. (1978). Fractal dimensions and fineparticle science. Powtech Conference, Chicago, May 1978.
- KLÖVER, H.; BARRERA, E. (1953). A method for the combined staining of cells and fibers in the nervous system. *J. Neuropath.* 12, 400-403.
- KONIGSMARK, B.W. (1970). Methods for the counting of neurons. In: "Contemporary Research Methods in Neuroanatomy". (W.J. Nauta y S.O.E. Ebbesson, eds.). Springer Verlag, New York, pp. 315-340.
- KONIGSMARK, B.W.; KALYANARAMAN, U.P.; COREY, P.; MURPHY, E.A. (1969). An evaluation of techniques in neuronal population estimates. The Vith nerve nucleus. *Johns Hopk. med. J.* 125, 146-158.

- KRIEBEL, R.M. (1973). A Golgi study of the dorsal lateral geniculate nucleus in the albino rat. *Anat. Rec.* 175, 363-364.
- KRIEBEL, R.M. (1975). Neurons of the dorsal lateral geniculate nucleus of the albino rat. *J. comp. Neurol.* 159, 45-68.
- LASHLEY, K.S. (1934). The mechanism of vision. VII. The projection of the retina upon the primary optic centers in the rat. *J. comp. Neurol.* 59, 341-373.
- LASSEK, A.M. (1940). The human pyramidal tract. *Arch. Neurol. Psychiat. (Chic.)* 44, 718-724.
- LASSEK, A.M.; RASMUSSEN, G.L. (1938). A quantitative study of the newborn and adult spinal cords of man. *J. comp. Neurol.* 69, 371-379.
- LEGG, C.R. (1979). An autoradiographic study of the efferent projections of the ventral lateral geniculate nucleus of the hooded rat. *Brain Res.* 170, 349-352.
- LE VAY, S.; FERSTER, D. (1979). Proportion of interneurons in the cat's lateral geniculate nucleus. *Brain Res.* 164, 304-308.
- LEVERE, T.E. (1978). The primary visual system of the rat: A primer of its anatomy. *Physiol. Psychol.* 6, 142-169.
- LEVINTHAL, C.; MACAGNO, E.; TOUNTAS, C. (1974). Computer-aided reconstruction from serial sections. *Fed. Proc.* 33, 233-240.
- LIEBERMAN, A.R. (1973). Neurons with presynaptic perikarya and presynaptic dendrites in the rat lateral geniculate nucleus. *Brain Res.* 59, 35-59.
- LIN, C.S.; KRATZ, K.E.; SHERMAN, S.M. (1977). Percentage of relay cells in the cat's lateral geniculate nucleus. *Brain Res.* 131, 167-173.

- LINDSTRÖM, S. (1982). Synaptic organization of inhibitory pathways to principal cells in the lateral geniculate nucleus of the cat. *Brain Res.* 234, 447-453.
- LO, F.S. (1981). Synaptic organization of the lateral geniculate nucleus of the rabbit: lack of feed-forward inhibition. *Brain Res.* 221, 387-392.
- LOEPP, W.H. (1911). Ueber die zentralen opticusendigungen beim kaninchen. *Anat. Anz.* 40, 309-323.
- LUND, R.D.; CUNNINGHAM, T.J. (1972). Aspects of synaptic and laminar organization of the mammalian lateral geniculate body. *Invest. Ophthalm.* 11, 291-301.
- LUND, R.D.; LUND, J.S.; WISE, R.P. (1974). The organization of the retinal projection to the dorsal lateral geniculate nucleus in pigmented and albino rats. *J. comp. Neurol.* 158, 383-404.
- MADARÁSZ, M.; GERLE, J.; TÖMBÖL, T. (1976). Quantitative analysis of cell types in the lateral geniculate body. *Hungarian EEG Society, Cl. Neur.* 41, 215-229.
- MAGNIN, M.; KENNEDY, H. (1979). Anatomical evidence of a third ascending vestibular pathway involving the ventral lateral geniculate nucleus and the intralaminar nuclei of the cat. *Brain Res.* 171, 523-529.
- MANDELBROT, B.B. (1977). "Fractals. Form, Chance, and Dimension". Freeman and Company, San Francisco.
- MARRABLE, A.W. (1962). The counting of cells and nuclei in microtome sections. *Quart. J. micr. Sci.* 103, 331-347.
- MASLAND, R.H. (1987). Arquitectura funcional de la retina. *Investigación y Ciencia* (Febr. 1987).

- MATHERON, E. (1972). Random sets theory and its applications to stereology. *J. Microscopy* 95, 15-22.
- MATHIEU, O.; CLAASSEN, H.; WEIBEL, E.R. (1978). Differential effect of glutaraldehyde and buffer osmolarity on cell dimensions. A study on lung tissue. *J. Ultrastruct. Res.* 63, 20-34.
- MAZZIOTTA, J.C.; HAMILTON, B.H. (1977). Tree-dimensional computer reconstruction and display of neuronal structure. *Comput. Biol. Med.* 7, 265-279.
- MEDALIA, A.I. (1967). Morphology of Aggregates. *J. of Colloid and Interface Science* 24, 393-404.
- MEDALIA, A.I. (1970). Dynamic shape factors of particles. *Powder Techn.* 4, 117-138.
- MEYER, G.; ALBUS, K. (1981). Topography and cortical projections of morphologically identified neurons in the visual thalamus of the cat. *J. comp. Neurol.* 201, 353-374.
- MILES, R.E.; DAVY, P.J. (1977). On the choice of quadrats in stereology. *J. Microscopy* 110, 27-44.
- MINKOWSKI, M. (1913). Experimentelle untersuchungen über die beziehungen der grosshirnrinde und der netzhaut zu den primären optischen zentren. Besonders zum corpus geniculatum externum. *Arb. Hirnanat. Inst. Zürich* 7, 255-362.
- MOATAMED, F. (1966). Cell frequencies in the human inferior olivary nuclear complex. *J. comp. Neurol.* 128, 109-116.
- MOENS, P.B. (1970). Serial sectioning in electron microscopy. *Proc. Canad. Fed. Biol. Soc.* 13, 160-167.

- MONTERO, V.M.; BRUGGE, J.F.; BEITEL, R.E.** (1968). Relation of the visual field to the lateral geniculate body of the albino rat. *J. Neurophysiol.* 31, 221-236.
- MONTERO, V.M.; GUILLERY, R.W.** (1968). Degeneration in the dorsal lateral geniculate nucleus of the rat following interruption of the retinal or cortical connections. *J. comp. Neurol.* 134, 211-242.
- MOREST, D.K.** (1964). The neuronal architecture of the medial geniculate body of the cat. *J. Anat. (Lond.)* 98, 611-630.
- MOREST, D.K.** (1971). Dendrodendritic synapses of cells that have axons: the fine structure of the Golgi type II cell in the medial geniculate body of the cat. *Z. Anat. Entwickl.* 133, 216-246.
- MÜNZER, E.; WIENER, H.** (1902). Das zwischen- und mittelhirn des kaninches und die beziehungen dieser teile zum übrigen centralnervensystem, mit besonderer berücksichtigung der pyramidenbahn und schleife. *Monatschr. f. Psychiat. u. Neurol.* 12, 241.
- NAGATA, T.; HAYASHI, Y.** (1984). The visual field representation of the rat ventral lateral geniculate nucleus. *J. comp. Neurol.* 227, 582-588.
- NAUTA, W.J.H.; BUCHER, F.V.M.** (1954). Efferent connections of the striate cortex in the albino rat. *J. comp. Neurol.* 100, 257-286.
- NAVASCUES, J.** (1976). Densidad neuronal en el área visual primaria del cerebro del gato. Tesis doctoral. Univ. Granada.
- NAVASCUES, J.; ALMENDROS, A.; ABADIA-FENOLL, F.** (1979). Descripción de un método para la valoración de la retracción tisular. *Morfol. Norm. Patol. Sec. A.* 3, 107-114.

- NICHOLSON, W.L. (1978). Application of statistical methods in quantitative microscopy. *J. Microscopy*. 113, 223-239.
- NIIMI, K.; KANASEKI, T.; TAKIMOTO, T. (1963). The comparative anatomy of the ventral nucleus of the lateral geniculate body in mammals. *J. comp. Neurol.* 121, 313-323.
- NODA, H.; IWAMA, K. (1967). Unitary analysis of retino-geniculate response time in rats. *Vision Res.* 7, 205-213.
- NUMBERGER, J.I. (1958). Direct enumeration of cells of the brain. In: "Biology of Neuroglia" (Windle, W.F., ed.), pp. 193-211. Springfield, Illinois: Ch.C. Thomas 1958.
- OGAWA, T.; ITO, S.; KATO, H. (1981). P- cells and I- cells in vitro slices of the lateral geniculate nucleus of the cat. *J. exp. Med. (Tohoku)* 130, 359-368.
- O'LEARY, J.L. (1940). A structural analysis of the lateral geniculate nucleus of the cat. *J. comp. Neurol.* 73, 405-430.
- OSTOS, M.V. (1980). Estudio citomorfométrico en las neuronas del núcleo geniculado lateral dorsal del ratón albino. Tesis doctoral. Univ. Granada.
- PAKKENBERG, H. (1966). The number of nerve cells in the cerebral cortex of man. *J. comp. Neurol.* 128, 17-20.
- PEINADO HERREROS, M.A. (1980). Determinación estereológica sobre la constitución del geniculado lateral de *Mus musculus*. Tesis doctoral Univ. Granada.
- POLYAK, S. (1932). "The main afferent fiber systems of the cerebral cortex in primates". Univ. of California Press, Berkeley, 1932.

- POLYAK, S. (1933). A contribution to the cerebral representation of the retina. *J. comp. Neurol.* 57, 541-617.
- POLYAK, S. (1957). "The vertebrate visual system". Univ. of Chicago Press, Chicago, 1957.
- POWEL, T.P.S.; GUILLERY, R.V.; COWAN, W.M. (1957). A quantitative study of the fornix-mamillo-thalamic system. *J. Anat. (Lond.)* 91, 419-435.
- PUTNAM, T.J. (1926a). Studies on the central visual system. II. A comparative study of the form of the geniculo-striate visual system of mammals. *Arch. Neurol. Psychiat.* 16, 285-299.
- PUTNAM, T.J. (1926b). Studies on the central visual connections. III. The general relationships between the external geniculate body, optic radiation and visual cortex in man: report of two cases. *Arch. Neurol. Psychiat.* 16, 566-596.
- PUTNAM, T.J.; PUTNAM, I.K. (1926). Studies on the central visual system. I. The anatomic projections of the retinal quadrants on the striate cortex of the rabbit. *Arch. Neurol. Psychiat.* 16, 1-20.
- RAFOLS, J.A.; VALVERDE, F. (1973). The structure of the dorsal lateral geniculate nucleus in the mouse. A Golgi and electron microscopy study. *J. comp. Neurol.* 150, 303-332.
- RALSTON, H.J. (1971). Evidence for presynaptic dendrites and a proposal for their mechanism of action. *Nature* 230, 585-587.
- RAMBOURG, A.; CLERMONT, Y.; MARRAUD, A. (1974). Three dimensional structure of the osmium-impregnated Golgi apparatus as seen in the high voltage electron microscope. *J. Anat.* 140, 27.

- RAMON Y CAJAL, S. (1911). "Histologie du systeme nerveux de l'homme et des vertebres". Ed. Norbert Maloine.
- RAMON-MOLINER, E. (1962). An attempt at classifying nerve cells on the basis of their dendritic patterns. *J. comp. Neurol.* 119, 211-227.
- RIBAK, C.E.; PETERS, A. (1975). An autoradiographic study of the projections from the lateral geniculate body of the rat. *Brain Res.* 92, 341-368.
- RINK, M. (1976). A computerized quantitative image analysis procedure for investigating features and an adapted image process. *J. Microscopy* 107, 267-286.
- RIOCH, D. Mc K. (1929). Studies on the diencephalon of carnivora. I. The nuclear configuration of the thalamus, epithalamus, and hypothalamus of the dog and cat. *J. comp. Neurol.* 49, 1-120.
- RIOS, A.; PEINADO, M.A.; OSTOS, M.V.; ABADIA-FENOLL, F. (1981). About cytomorphometry in neurons of the lateral geniculate body of the mouse. Proc. 3RD Eur. Symp. 1981. *Stereol. Jugosl.* 3/SUPPL. 1, 491-496.
- RODIECK, R.W. (1979). Visual pathways. *Annu. Rev. Neurosci.* 2, 193-225.
- ROHR, H.P. (1976). A new opto-manual semi-automatic evaluation system. In: "Proceedings Fourth International Congress for Stereology". (E.E. Underwood, R. de Wit and G.A. Moore, eds.), p. 193-195. National Bureau of Standards, Special Publication Nr. 431, U.S. Government Printing Office, Washington.
- ROSE, J.E. (1942). The ontogenetic development of the rabbit's diencephalon. *J. comp. Neurol.* 77, 61-129.

- ROSE, J.E.; MALIS, L.I. (1964). Geniculo-striate connections in the rabbit. I. Retrograde changes in the DLGB after destruction of cells in various layers of the striate region. *J. comp. Neurol.* 125, 95-120.
- ROSE, J.E.; MALIS, L.I. (1965). Geniculo-striate connections in the rabbit. II. Cytoarchitectonic structure of the striate region and of the dorsal lateral geniculate body: organization of the geniculo-striate projections. *J. comp. Neurol.* 125, 121-140.
- ROSE, M. (1935). Das Zwischenhirn des Kaninchens. *Mon. Acad. Pol. Sc. Lett., Series B*, 1-108.
- ROSENQUIST, A.C.; EDWARDS, S.B.; PALMER, L.S. (1974). An autoradiographic study of the projections of the dorsal lateral geniculate nucleus and the posterior nucleus in the cat. *Brain Res.* 80, 71-93.
- ROSIWAL, A. (1898). Ueber geometrische Gesteinsanalysen. *Verh. K. K. Geol. Reichsanst. Wien.* 6, 143-175.
- ROWLAND, L.P.; METTLER, F.A. (1949). Cell concentration and laminar thickness in the frontal cortex of psychotic patients; studies on cortex removed at operation. *J. comp. Neurol.* 90, 255-280.
- RUSS, J.C.; HUNS, M. (1982). Image acquisition for feature detection with graphics tablet and video output. In: "Microbeam Analysis". 1982 (Ed. by K.F.J. Heinrich), pp. 504-508. San Francisco Press, San Francisco.
- RUSS, J.C.; STEWART, W.D. (1983). Quantitative image measurement using a microcomputer system. *Amer. Lab.* 15, 70-75.
- RUSS, J.C.; RUSS, J.C. (1984). Image processing in a general purpose micro-computer. *J. Microscopy.* 135, 89-102.

- RYZEN, M. (1956). A microphotometric method of cell enumeration within the cerebral cortex of man. *J. comp. Neurol.* 104, 233-245.
- SAKAKURA, H. (1968). Spontaneous and evoked unitary activities of cat lateral geniculate neurons in sleep and wakefulness. *J. Physiol. (Jap.)* 18, 23-42.
- SALTIKOV, S.A. (1946). *Zavodskaja laboratorija* 12, 816.
- SANDERSON, K.J. (1975). Retinogeniculate projections in the rabbits of the albino allelomorphic series. *J. comp. Neurol.* 159, 15-28.
- SANTALO, L.A. (1976). "Integral Geometry and Geometric Probability". Vol. 1 of Encyclopedia of Mathematics and its Applications. Addison-Wesley, Reading, Mass.
- SCALIA, F. (1972). The termination of retinal axons in the pretectal region of mammals. *J. comp. Neurol.* 145, 223-257.
- SCHÖBER, W.; BRAUER, K. (1973). Qualitative und quantitative untersuchungen am corpus geniculatum laterale (Cgl) der laborratte. II. Quantitative untersuchungen an den neurontypen des Cgl. *J. Hirnforsch.* 14, 463-471.
- SCHÖBER, W.; WERNER, L.; BRAUER, K. (1985). Das corpus geniculatum laterale des meerschweincheus *Cavia aperea f. domestica*. Seine gliederung unter berücksichtigung der retinalen afferentierung. *J. Hirnforsch.* 26, 73-84.
- SCHWARZ, H. (1980). Two-dimensional feature-shape indices. *Mikroskopie (Wien)* 37, 64-67.
- SEFTON, A.J.; BRUCE, I.S.C. (1971). Properties of cells in the lateral geniculate nucleus. *Vision Res.* 3, 239-252.

- SEFTON, A.J.; MACKAY-SIM, A.; BAUR, L.A.; COTTEE, L.J. (1981). Cortical projections to visual centers in the rat: An HRP study. *Brain Res.* 215, 1-13.
- SERRA, J. (1972). Stereology and structuring elements. *J. Microscopy* 95, 93-102.
- SERRA, J. (1978). One, two, three,... infinity. In: "Geometric Probability and Biological Structures: Buffon's 200th Anniversary". (R.E. Miles and J. Serra, eds.), vol. 23: Lecture Notes in Biomathematics. pp. 137, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg- New York.
- SHEININ, J.J. (1930). Typing of the cells of the mesencephalic nucleus of the trigeminal nerve in the dog, based on Nissl-granule arrangement. *J. comp. Neurol.* 50, 109-131.
- SILVER, M.L. (1942). The motorneurons of the spinal cord of the frog. *J. comp. Neurol.* 77, 1-33.
- SNEDECOR, G.W. (1956). "Statistical Methods Applied to Experiments in Agriculture and Biology". The Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- SO, Y.T.; SHAPLEY, R.M. (1979). Spatial properties of X and Y cells in the lateral geniculate nucleus of the cat and conduction velocities of their inputs. *Exp. Brain Res.* 36, 533-550.
- SO, Y.T.; SHAPLEY, R.M. (1981). Spatial tuning of cells in and around lateral geniculate nucleus of the cat: X and Y relay cells and perigeniculate interneurons. *J. Neurophysiol.* 45, 107-120.
- STANFORD, L.R.; FRIEDLANDER, M.J.; SHERMAN, S.M. (1981). Morphology of physiologically identified W- cells in the C laminae of the cat's lateral geniculate nucleus. *J. Neurosci.* 1, 578-584.

- STEPHAN, H. (1967). Groessenaenderungen im olfaktorischen und limbischen system waehrend der phylogenetischen entwicklung der primaten. In: "Evolution of the Forebrain". (Ed. by Hassler and Stephan) pp. 377-388. Plenum. New York.
- STONE, J.; DREHER, B. (1973). Projection of X- and Y- cell of the cat's lateral geniculate nucleus to areas 17 and 18 of visual cortex. *J. Neurophysiol.* 36, 551-567.
- STOWELL, R.E. (1941). Effects on tissue volume of various methods of fixation, dehydration, and embedding. *Stain, Technol.* 16, 67-83.
- SULLIVAN, P.G. (1972). A method for the study of jaw growth using a computer-based three-dimensional technique. *J. Anat.* 112, 457-470.
- SULLIVAN, P.R.; KUTEN, J.; ATKINSON, M.S.; ANGEVINE, J.B.; YAKOVLEV, P.I. (1958). Cell count in the lateral geniculate nucleus of man. *Neurol.* 8, 566-567.
- SUR, M.; SHERMAN, S.M. (1982). Linear and nonlinear W- cells in C laminae of the cat's lateral geniculate nucleus. *J. Neurophysiol.* 47, 869-884.
- SUR, M.; STANFORD, L.R.; SHERMAN, S.M. (1981). W- cells in the C laminae of the cat's lateral geniculate nucleus: contrast sensitivity and other response measures. *Soc. Neurosci. (Abstr.)* 7, 25.
- SWANSON, L.W.; COWAN, W.M.; JONES, E.G. (1974). An autoradiographic study of the efferent connections of the ventral lateral geniculate nucleus in the albino rat and the cat. *J. comp. Neurol.* 156, 143-164.
- SZENTAGOTHAJ, J. (1963). The structure of the synapse in the lateral geniculate body. *Acta Anat.* 55, 166-185.

- SZENTAGOTHAÏ, J. (1973). Neuronal and synaptic architecture of the lateral geniculate nucleus. *Handb. Sens. Physiol.* VII/3, 141-176.
- TABOADA, R.P. (1927). Note sur la structure du corps genouillé externe. *Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid*, 25, 319-329.
- TAKAHASHI, E.S.; HICKEY, T.L.; OYSTER, C.W. (1977). Retinogeniculate projections in the rabbit: an autoradiographic study. *J. comp. Neurol.* 175, 1-12.
- TAUCHI, M.; MASLAND, R.H. (1984). The shape and arrangement of the cholinergic neurons in the rabbit retina. *Proc. Royal Soc. Lond., Series B* 223, 101-119.
- TELLO, F. (1904). Disposición macroscópica y estructura del cuerpo geniculado externo. *Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid* 3, 39-62.
- THOMPSON, H.B. (1899). The total number of functional cells in the cerebral cortex of man, and the percentage of the total volume of the cortex composed of nerve cell bodies, calculated from Karl Hammarberg's data; together with a comparison of the number of giant cells with the number of pyramidal fibers. *J. comp. Neurol.* 9, 113-140.
- THOMSON, E. (1930). Quantitative microscopic analysis. *J. Geol.* 38, 193.
- THUMA, B.D. (1928). Studies on the diencephalon of the cat. The cytoarchitecture of the corpus geniculatum laterale. *J. comp. Neurol.* 46, 173-200.
- TIPPER, J.C. (1977). A method and FORTRAN program for the computerized reconstruction of three-dimensional objects from serial sections. *Comput. Geosci.* 3, 579-599.

- TÖMBÖL, T. (1967). Short neurons and their synaptic relations in the specific thalamic nuclei. *Brain Res.* 3, 307-326.
- TÖMBÖL, T. (1969). Two types of short axon (Golgi 2nd) interneurons in the specific thalamic nuclei. *Acta Morph. Acad. Sci. Hung.* 17, 285-297.
- TOMKEIEFF, S.I. (1945). Linear intercepts, areas and volumes. *Natura* 155, 24.
- TORREALBA, F.; PARTLOW, G.D.; GUILLERY, R.W. (1981). Organization of the projection from the superior colliculus to the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat. *Neurosci.* 6, 1341-1360.
- TOWER, D.B. (1954). Structural and functional organization of mammalian cerebral cortex: The correlation of neurone density with brain size. *J. comp. Neurol.* 101, 19-51.
- TOWNS, L.C.; BURTON, S.L.; KIMBERLY, C.J.; FETTERMAN, M.R. (1982). Projections of the dorsal lateral geniculate and lateral posterior nuclei to visual cortex in the rabbit. *J. comp. Neurol.* 210, 87-98.
- TUSA, R.J.; PALMER, L.A.; ROSENQUIST, A.C. (1978). The retinotopic organization of area 17 (striate cortex) in the cat. *J. comp. Neurol.* 177, 213-236.
- UCHIDA, K.; MIZUNO, N.; SUGIMOTO, T.; ITOH, K. (1982). Autoradiographic demonstration of retinal projections to the brain-stem structures in the rabbit using transneuronal tracing technique with special reference to the retinal projections to the inferior olive. *Exp. Neurol.* 78, 369-379.
- UNDERWOOD, E.E. (1968). Particle size distribution. In: "Quantitative Microscopy" (R.T. De Hoff and F.N. Rhines, eds.), pp. 149. McGraw-Hill, New York.

- UNDERWOOD, E.E. (1970). "Quantitative Stereology". Addison-Wesley, Reading, Mass.
- UNDERWOOD, E.E. (1980). Stereological analysis of particle characteristics. In: "Testing and Characterization of Powders and Fine Particles" (Ed. J.K. Beddow and T. Meloy, Heyden and Son Ltd.) pp. 77, London 1980.
- UNDERWOOD, E.E. (1983). Stereological analysis of particle characteristics. *Acta Stereol.* 2, 7-16.
- VAN ESSEN, D.C.; NEWSOME, W.T.; MAUNSELL, J.H.R. (1984). The visual field representation in striate cortex of the macaque monkey: asymmetries, anisotropies, and individual variability. *Vision Res.* 24, 429-448.
- VEEN, A.; PEACHEY, L.D. (1977). TROTS: a computer graphics system for three-dimensional reconstruction from serial sections. *Comput. Graph.* 2, 135-150.
- VOGT, C. (1909). La myeloarchitecture du thalamus du cercopithèque. *J.f. Psychol u. Neurol.* 12, 275.
- VON ECONOMO, C.F.; KOSKINAS, G.N. (1925). "Die cytoarchitektonik der hirnrinde des erwachsenen menschen". Wien u. Berlin, Springer.
- WAGOR, E.; MANGINI, N.J.; PEARLMAN, A.L. (1980). Retinotopic organization of striate and extrastriate visual cortex in the mouse. *J. comp. Neurol.* 193, 187-202.
- WALLER, W.H.; BARRIS, R.W. (1937). Relationships of thalamic nuclei to the cerebral cortex in the cat. *J. comp. Neurol.* 67, 317-339.
- WALLEY, R.E. (1967). Receptive fields in accessory optic system of rabbit. *Exp. Neurol.* 17, 27-43.

- WALTON, W.H. (1948). Feret's statistical diameter. *Nature* 162, 329.
- WEBER, A.J.; KALIL, R.E. (1983). The percentage of interneurons in the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat and observations on several variables that affect the sensitivity of horseradish peroxidase as a retrograde marker. *J. comp. Neurol.* 220, 336-346.
- WEIBEL, E.R. (1979). "Stereological Methods. I. Practical Methods for Biological Morphometry". Academic Press, Londres.
- WEIBEL, E.R.; BOLENDER, R.P. (1972). "Stereological techniques for electron microscopy" (Ed. by M.A. Hayat), Vol. 3, pp. 237. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- WEIBEL, E.R.; FISHER, C.; GHAM, J.; SCHAEFFER, A. (1972). Current capabilities and limitations of available stereological techniques. *J. Microscopy* 95, 367-375.
- WEIBEL, E.R.; GOMEZ, D.M. (1962). A principle for counting tissue structures on random sections. *J. Appl. Physiol.* 17, 343-348.
- WEIBEL, E.R.; KNIGHT, B.W. (1964). A morphometric study on the thickness of the pulmonary air-blood barrier. *J. Cell Biol.* 21, 367-384.
- WEIBEL, E.R.; PAUMGARTNER, D. (1978). Integrated stereological and biochemical studies on hepatocytic membranes. II. Correction of section thickness effect on volume and surface density estimates. *J. Cell Biol.* 77, 584-597.
- VERNER, L.; KRÜGER, G. (1973). Qualitative und quantitative untersuchungen am corpus geniculatum laterale (Cgl) der laborratte. III. Differenzierung von projektions- und interneuronen im Nissl-präparat und deren topographie. *Z. Mikrosk. Anat. Forsch.* 87, 701-729.

- WERNER, L.; KÖHN, G.; KRÜGER, B.; WILKE, A. (1984). Morphometrische untersuchung an den neuronen des CGLd von *Sigmodon hispidus* in Nissl-präparaten. *Z. Mikrosk. Anat. Forsch.*, **98**, 673-684.
- WERNER, L.; WILKE, A. (1985). Zur neuronalen organisation des CGLd von *Cavia porcellus*. Eine morphometrische untersuchung an Nissl-präparaten unter berücksichtigung identifizierter neuronentypen. *J. Hirnforsch.* **26**, 1-16.
- WICKSELL, S.D. (1925). The corpuscle problem I. *Biometrika* **17**, 84-99.
- WICKSELL, S.D. (1926). The corpuscle problem II. *Biometrika* **18**, 151-172.
- WILLIAMS, M.A. (1977). "Quantitative Methods in Biology". (A.M. Glauert, ed.) North-Holland Publishing Co. Amsterdam. pp. 5-83.
- WILSON, M.E.; CRAGG, B.C. (1967). Projections from the lateral geniculate nucleus in the cat and monkey. *J. Anat.* **101**, 677-692.
- WILSON, P.D.; ROWE, M.H.; STONE, J. (1976). Properties of relay cells in the cat's lateral geniculate nucleus. A comparison of W- cells with X- and Y- cells. *J. Neurophysiol.* **39**, 1193-1209.
- WILSON, P.D.; STONE, J. (1975). Evidence of W- cell input to the cat's visual cortex via the C-laminae of the lateral geniculate nucleus. *Brain Res.* **92**, 472-478.
- WINKLER, C.; POTTER, A. (1911). "An anatomical guide to experimental researches in the rabbit's brain". Amsterdam, Verluys.
- WINKLER, C.; POTTER, A. (1914). "An anatomical guide to experimental researches on the cat's brain". Amsterdam, Verluys.

- WONG-RILEY, M.T.T. (1972). Neuronal and synaptic organization of the normal dorsal lateral geniculate nucleus of the squirrel monkey, *Saimiri sciureus*. *J. comp. Neurol.* 144, 25-60.
- WYNFORD-THOMAS, D.; GARRAHAM, N.; JASANI, B.; WILLIAMS, E.D. (1982). Automated cell counting in tissue sections: a new approach by "multiple grey-level analysis". *J. Microscopy* 127, 175-184.
- YAMADA, M.; YOSHIDA, S. (1972). Graphic stereo-reconstruction of serial sections. *J. Microscopy* 95, 249-256.
- ZILLES, K.; SCHLEICHER, A.; KRETSCHMANN, H.J. (1976). Semi-automatic morphometric analysis of the nucleolar development in the nucl. N. oculomotorii of *Tupaia belangeri* during ontogenesis. *Anat. Embryol.* 149, 15-28.
-

Figura III-5._ Diagrama de flujo del programa desarrollado en lenguaje BASIC para la determinación del volumen correspondiente a cada una de las zonas de estudio del NGLd.