

La obra neuro-embriológica de Santiago Ramón y Cajal

LUIS ALFREDO BARATAS DÍAZ (*)

SUMARIO

1.—Introducción. 2.—Observaciones histológicas y embriológicas de Ramón y Cajal entre 1888 y 1893. 3.—Trabajos sobre regeneración nerviosa entre 1905 y 1908. 4.—Trabajos para la verificación de la hipótesis neurotrópica de 1910 a 1914. 5.—Otras interpretaciones sobre el desarrollo de las células nerviosas y evolución posterior de la concepción neurotrópica. 6.—Conclusiones.

RESUMEN

La obra neuro-embriológica de Santiago Ramón y Cajal comprendió tres etapas: A) Entre 1888 y 1893 las observaciones sobre el desarrollo de las prolongaciones neuronales condujeron a la observación del cono de crecimiento y la formulación de la hipótesis neurotrópica. B) Entre 1905 y 1908 el estudio de los fenómenos regenerativos en nervios y centros nerviosos presentó un cúmulo de hechos coherentes con la hipótesis neurotrópica. C) Entre 1910 y 1914 se desarrolló un programa experimental encaminado a comprobar la hipótesis neurotrópica, llegando a conclusiones sobre el origen y naturaleza química del factor estimulante del crecimiento. Estas aportaciones abrieron una importante línea de investigación, que ninguno de los discípulos de Ramón y Cajal pudo continuar; bien entrados los años cincuenta un grupo de investigadores, englobando tres áreas de estudio (bioquímica, embriología y neuro-histología) descubrieron la existencia del Factor de Crecimiento Nervioso (*NGF*), abriendo un nuevo y fértil campo de conocimiento en Biología Celular.

BIBLID [0211-9536(1997) 17; 259-279]

Fecha de aceptación: 3 de marzo de 1997

(*) Museo Nacional de Ciencia y Tecnología. Paseo de las Delicias, 61. 28045 Madrid.

1. INTRODUCCIÓN

Durante la segunda mitad del siglo XIX los anatomistas consideraban que el sistema nervioso estaba constituido por elementos cuyas prolongaciones se fusionaban formando una red responsable de la transmisión del impulso nervioso. Esta interpretación, conocida como teoría reticularista, sufrió una ligera redefinición gracias al trabajo del histólogo italiano Camilo Golgi (1843-1926). Golgi, utilizando un método desarrollado por él mismo, consistente en la inmersión de piezas de tejido nervioso en bicromato potásico y ácido ósmico y un posterior baño en nitrato argéntico, observó la independencia de las dendritas, a las que atribuyó funciones nutritivas, y formuló que la red estaba formada por los axones y colaterales axónicas. Pero la descripción del método de Golgi era muy imprecisa y los resultados que con él se obtenían muy inconstantes (1).

A mediados de la década de los ochenta Wilhelm His (1831-1904), conocedor de las dificultades de visualización de las prolongaciones nerviosas en adultos, estudió el desarrollo de los neuroblastos como mecanismo para corroborar o rechazar la interpretación reticularista (2). Sus observaciones sobre el desarrollo de los neuroblastos medulares del hombre le condujeron a formular la hipótesis neuronal. His propuso que cada fibra se originaba a partir de una célula, que se constituía, por tanto, en elemento genético, nutritivo y funcional independiente (3).

Pero los inespecíficos métodos histológicos utilizados por His no permitieron la aceptación plena de su teoría (4). A finales de la década de 1880, por tanto, las distintas posiciones (reticularista y neuronista) estaban claramente definidas, pero la inexistencia de técnicas histológicas específicas impedía la resolución del problema. La observación del desarrollo embrionario de las prolongaciones nerviosas se presentaba, entonces, como elemento clave en la resolución de la polémica.

-
- (1) SHEPHERD, GORDON M. *Foundations of the Neuron Doctrine*, Oxford, Oxford University Press, 1991, pp. 57-101.
 - (2) SHEPHERD, nota 1, pp. 106.
 - (3) SHEPHERD, nota 1, pp. 110.
 - (4) HAMBUGER, VICTOR. Ontogeny of Neuroembriology. *J. Neuroscience*, 1988, 8, 3537.

2. OBSERVACIONES HISTOLÓGICAS Y EMBRIOLÓGICAS DE RAMÓN Y CAJAL ENTRE 1888 Y 1893

El histólogo español Santiago Ramón y Cajal (1852-1934) conoció la técnica histológica desarrollada por Golgi en Madrid, en el domicilio del neurólogo Luis Simarro (1851-1922). En Valencia, donde era catedrático de la Facultad de Medicina, Ramón y Cajal se planteó el estudio sistemático de la técnica de Golgi con la intención de corregir su carácter aleatorio y determinar las condiciones óptimas de reacción para cada caso particular (5). Fruto de este programa de mejora fueron tres modificaciones introducidas en el protocolo de la técnica. En primer lugar, estableció detalladamente las condiciones en las que la reacción se producía: aumentó la concentración de dicromato potásico (del 2'5% indicado por Golgi a 3'5%) y prolongó la inmersión en el baño de nitrato argéntico (uno o dos días según Golgi, mientras que el histólogo español ensayó de uno a seis días) (6). En segundo lugar, ideó en 1889 el método de la doble impregnación, consistente en un segundo ciclo de tinción, que reafirmaba la coloración obtenida en el primer baño (7). La tercera mejora introducida, no afectaba a la técnica en sí misma, es, más bien, una estrategia investigadora, que denominó método ontogénico. Consiste, simplemente, en la aplicación de la técnica de Golgi sobre embriones o animales muy jóvenes en los cuales las prolongaciones de las células nerviosas no han alcanzado su plenitud,

-
- (5) RAMÓN Y CAJAL, SANTIAGO. *Recuerdos de mi vida. Tomo II. Historia de mi labor científica*, Madrid, Imp. Nicolás Moya, 1917, pp. 76-79. Existe una edición más reciente en Madrid, Alianza Editorial, 1981.
- (6) FELIPE, JAVIER DE; JONES, EDWARD G. Santiago Ramón y Cajal and methods in neurohistology. *Trends in Neurosciences*, 1992, 15, 238.
- (7) RAMÓN Y CAJAL, SANTIAGO (1889). Sobre la estructura de la médula embrionaria. Reproducido en: *Trabajos escogidos de D. Santiago Ramón y Cajal. (1880-1890)*, Madrid, Publicaciones de la Junta para el homenaje a Cajal, 1924, pp. 395. Las publicaciones en castellano de Ramón y Cajal durante sus primeros años aparecieron en revistas de muy escasa difusión y difícil localización; con motivo de su jubilación se reeditaron en un solo volumen de más fácil localización, por esta razón nuestras referencias se hacen sobre esta obra. RAMÓN Y CAJAL, S. Sur la structure de l'écorce cérébrale de quelques mammifères. *La Cellule*, 1891, 7, 130-131.

confiriendo a la preparación un carácter esquemático(8). Algunos autores han señalado la influencia que la lectura de obras de Ernst Haeckel (1834-1919) y en especial el principio biogenético de éste autor pudieron tener en la formulación del método ontogénico (9). No obstante, si se tiene en cuenta que Ramón y Cajal no hacía referencia al evolucionista alemán y sí a causas estrictamente histológicas (la ausencia de mielina en embriones y el menor tamaño de las distancias intercelulares) y la mención expresa a los trabajos de His (10), parece razonable pensar que tal influencia provino directamente de His, quién como vimos utilizaba embriones para evitar las dificultades que la visualización en adultos entrañaba.

La importancia del método ontogénico para nuestro estudio reside en que su utilización condujo a la observación de fenómenos relacionados con el crecimiento de las prolongaciones nerviosas. En numerosos trabajos publicados a lo largo de 1889 y 1890 Ramón y Cajal realizó observaciones sobre el desarrollo de las expansiones neuronales en médula y cerebelo (11). Fruto de estas observaciones fue la descripción en 1890 del cono de crecimiento: la estructura apical de las prolongaciones neuronales que por elongación determina el creci-

(8) RAMÓN Y CAJAL, S. (1889). Estructura del lóbulo óptico de las aves, y origen de los nervios ópticos. En: *Trabajos escogidos...*, nota 7, pp. 377-392. RAMÓN Y CAJAL, S. Sur l'origine et les ramifications des fibres nerveuses de la moelle embryonnaire. *Anatomischer Anzeiger*, 1890, 5, 85-86.

(9) LAÍN ENTRALGO, PEDRO. Cajal en Barcelona (1887-1892). *Revista de la Reial Acadèmia de Medicina de Barcelona*, 1989, 4, 159.

(10) RAMÓN Y CAJAL, S. A quelle époque apparaissent les expansions des cellules nerveuses de la moëlle épinière du poulet?. *Anatomischer Anzeiger*, 1890, 5, 610.?

(11) RAMÓN Y CAJAL, S. (1889). Coloración por el método de Golgi de los centros nerviosos de los embriones de pollo. En: *Trabajos escogidos ...*, nota 7, pp. 374. RAMÓN Y CAJAL, S. (1889). Contribución al estudio de la estructura de la médula espinal. En: *Trabajos escogidos...*, nota 7, pp. 397-428. RAMÓN Y CAJAL, S. Sur l'origine et les ramifications des fibres nerveuses de la moelle embryonnaire. *Anatomischer Anzeiger*, 1890, 5, 85-95. RAMÓN Y CAJAL, S. (1890). Sobre ciertos elementos bipolares del cerebelo joven y algunos detalles más acerca del crecimiento y evolución de la fibras cerebelosas. En: *Trabajos escogidos...*, nota 7, pp. 517-535. RAMÓN Y CAJAL, S. Sur les fibres nerveuses de la couche granuleuse du cervelet et sur l'évolution des éléments cérébelleux. *Internationale Monatsschrift für Anatomie und Physiologie*, 1890, 7, 12-31.

miento (12). El trabajo de Ramón y Cajal hasta este momento era estrictamente descriptivo y no planteaba ninguna explicación hipotética al crecimiento de las expansiones celulares. Sería en 1893, en un artículo sobre la constitución histológica de la retina, cuando formulase una hipótesis para explicar el crecimiento y la orientación de las prolongaciones nerviosas: la hipótesis neurotrópica.

«Sans nier l'importance des influences mécaniques, surtout dans le phénomène de la pénétration le long du pédicule optique des fibres nerveuses qui proviennent tant du cerveau que de la rétine, nous croyons que l'on pourrait aussi admettre des conditions analogues à celles qui entrent en jeu dans le phénomène appelé par Pfeffer Chimiotaxie et dont l'influence a été constatée pour les leucocytes par Massart et Bordet, Gabritchewsky, Buchner et Metchnikoff. Le dernier savant explique même par la chimiotaxie le fait si singulier de la réunion des pointes d'acrossaïment des raisseaux embryonnaires. [...] Si l'on admet la sensibilité chimiotaxique dans les neuroblastes, on doit supposer que ces éléments sont doués de mouvements amiboïdes, et qu'ils sont excitables par les substances sécrétés par certaines cellules nerveuses, épithéliales ou mésodermiques. Les expansions des névroblastes s'orienteraient dans le sens des courants chimiques, et iraient à la rencontre des corpuscules sécréteurs» (13).

Tras formular esta hipótesis, presentaba hechos coherentes con ella (la migración de los cuerpos celulares, crecimiento recíproco de las células nerviosas asociadas, crecimiento en distintas direcciones de dendritas y axones..., etc.), pero reconocía las limitaciones de su interpretación y las dificultades para la contrastación experimental:

«Quant à la propriété chimiotaxique, il est impossible de la constater actuellement par des observations ou des expériences directes» (14).

-
- (12) RAMÓN Y CAJAL, S. (1890). Notas anatómicas. I. Sobre la aparición de expansiones celulares en la médula embrionaria. En: *Trabajos escogidos...*, nota 7, pp. 584. RAMÓN Y CAJAL, nota 10, 612-613.
- (13) RAMÓN Y CAJAL, S. La rétine des Vertébrés. *La Cellule*, 1893, 9, 236-237. Hay una traducción inglesa: RAMÓN Y CAJAL, SANTIAGO *The structure of the Retina*, Springfield, Illinois, Charles C. Thomas, 1972.
- (14) RAMÓN Y CAJAL, nota 13, p. 237.

Hamburger ha señalado la influencia de los trabajos del fisiólogo vegetal Wilhelm Pfeffer (1845-1920), estudioso de los tropismos vegetales, sobre la concepción neurotrópica. Como hemos visto Ramón y Cajal hacía referencia a Pfeffer, pero también a los trabajos de Elie Metchnikoff (1845-1916) sobre los fenómenos quimiotácticos de leucocitos; si tenemos en cuenta que la referencia a Pfeffer en el artículo cajalano es exactamente igual a la de Metchnikoff en su pequeño manual sobre los procesos infecciosos (15) y el interés mostrado por Ramón y Cajal en los primeros momentos de su carrera investigadora por las infecciones y los movimientos leucocitarios (16), parece razonable concluir que la influencia directa en la formulación de la hipótesis neurotrópica proviene de Metchnikoff y sólo de forma secundaria de la obra del fisiólogo vegetal (17).

En los años siguientes Ramón y Cajal no profundizó en la comprobación de su hipótesis neurotrópica, se ocupó preferentemente del estudio anatómico de los centros nerviosos, la corroboración de sus hallazgos con una técnica a base de azul de metileno (menos controvertida que la de Golgi) y la redacción de diversos manuales de neurohistología. En el más notable de sus manuales de esta etapa, *Textura del Sistema Nervioso del Hombre y los Vertebrados*, que significó la culminación de los trabajos científicos de su primera etapa investigadora, no aportó nueva información de relevancia sobre la hipótesis neurotrópica, incluyendo, simplemente, algunas consideraciones sobre la secreción de las sustancias estimulantes del crecimiento y la sensibilidad celular ante ellas (18);

-
- (15) METCHNIKOFF, ELIE. *Leçons sur la Pathologie Comparée de l'inflammation*, Paris, G. Masson Editeur, 1892, pp. 35-42, 139-146.
- (16) RAMÓN Y CAJAL, S. (1924). Investigaciones experimentales sobre la génesis inflamatoria y especialmente sobre la emigración de los leucocitos. En: *Trabajos escogidos...*, nota 7, pp. 1-51.
- (17) En igual sentido se manifiesta: TELLO, FRANCISCO. *Ideas actuales sobre el Neurotropismo*, Madrid, Jiménez Molina Impr., 1923, pp. 20. Hay traducción alemana: TELLO, FRANCISCO. *Gegenwärtige Anschauungen über den Neurotropismus. Vorträge und Aufsätze über Entwicklungsmechanik der Organismen*, 1923, 33, 1-73.
- (18) RAMÓN Y CAJAL, S. *Textura del Sistema Nervioso del Hombre y los Vertebrados. Estudios sobre el plan estructural y composición histológica de los centros nerviosos, adicionados de consideraciones fisiológicas fundadas en los nuevos descubrimientos*, Madrid, Imprenta de Nicolás Moya, 1899, I, pp. 554-561.

planteando, además, diversos interrogantes sobre la biología del crecimiento de las prolongaciones nerviosas, y afirmando que sólo se podrían resolver en el futuro mediante la reducción a factores físico-químicos(19).

3. TRABAJOS SOBRE REGENERACIÓN NERVIOSA ENTRE 1905 Y 1908

En los primeros años del siglo XX uno de los principales intereses de la Neurohistología era el estudio de las neurofibrillas, pero las técnicas para su observación distaban de ser plenamente satisfactorias. El médico español Luis Simarro había ideado una técnica que utilizaba nitrato argéntico para su tinción, pero ésta carecía de la constancia y regularidad necesaria para estudios sistemáticos. Experto en el uso de técnicas argénticas, Ramón y Cajal analizó el proceder técnico de Simarro, modificándolo sustancialmente y desarrollando una nueva técnica, la técnica del nitrato argéntico reducido. Descrita por primera vez en 1903, consiste en líneas generales en la inmersión de piezas o bloques de tejido nervioso en un baño de nitrato argéntico y una posterior reducción en ácido pirogálico con o sin formol (20). Tras una primera descripción y aplicación al estudio de las neurofibrillas (21), Ramón y Cajal desarrolló en 1904 variantes de la técnica para la visualización de cilindro-ejes con y sin mielina (22). Dotado de esta herramienta técnica inició una segunda etapa de su labor científica, entre 1903 y 1914, en la que el procedimiento investigador fue fundamentalmente experimental (23).

(19) RAMÓN Y CAJAL, nota 18, pp. 561. Una valoración de las conclusiones neuroembriológicas de Cajal en su trabajo sobre la retina puede verse en: BARTAS DÍAZ, LUIS ALFREDO. Significación histórica de *La retina de los Vertebrados* de Santiago Ramón y Cajal: Síntesis de su primera etapa investigadora. *Asclepio*, 1994, 46, 249-253.

(20) RAMÓN Y CAJAL, nota 5, pp. 418-421.

(21) RAMÓN Y CAJAL, S. Un sencillo método de coloración del retículo protoplasmático y sus efectos en los diversos centros nerviosos de vertebrados e invertebrados. *Trabajos del Laboratorio de Investigaciones Biológicas*, 1903, 2, 129-222. En citas posteriores abreviado como: *Trab. Lab. Inv. Biol.*

(22) RAMÓN Y CAJAL, S. Algunos métodos de coloración de los cilindros-ejes, neurofibrillas y nidos nerviosos. *Trab. Lab. Inv. Biol.*, 1904, 3, 1-8.

(23) CASTRO, FERNANDO DE. Santiago Ramón y Cajal (1852-1934). En: *Cajal y la*

En esta segunda etapa el núcleo de la investigación cajaliana se centró en el estudio de la degeneración y regeneración nerviosa. La observación de los procesos de reconstitución de la continuidad funcional observada tras la sección de un nervio habían dado lugar a una revitalización de la polémica entre reticularistas y neuronistas. En los primeros años del siglo XX los partidarios de la teoría reticularista mantenían una interpretación poligenista para la regeneración, consideraban que la recomposición funcional se producía por diferenciación y transformación en las células que revestían los tubos nerviosos distales, que formarían unos «puentes intracelulares» responsables de la regeneración de la prolongación nerviosa. Frente a esta interpretación los partidarios de la teoría neuronal mantenían el monogenismo, la recuperación funcional del nervio por crecimiento del extremo unido al cuerpo celular. Principal valedor de la teoría neuronal en la última década del siglo XIX, Ramón y Cajal aplicó su recién desarrollada técnica del nitrato de plata al estudio de la regeneración nerviosa, asumiendo su equivalencia con los fenómenos normales de neurogénesis (24).

Los trabajos desarrollados a partir de 1905 consistían en la sección del nervio ciático de animales jóvenes, llevando a cabo diversas manipulaciones con los extremos nerviosos (dejados libremente, suturas sobre la musculatura, ligaduras,...) realizando observación histológica posterior. Estas experiencias permitieron distinguir dos fenómenos sucesivos en la regeneración nerviosa: la destrucción y reabsorción del axón y mielina del cabo distal (no unido al cuerpo neuronal) y el crecimiento del nuevo axón a partir del extremo proximal hasta la reconstitución de la continuidad anatómico-fisiológica del nervio (25).

Escuela Neurológica Española, Madrid, Editorial de la Universidad Complutense, 1981, pp. 36.

- (24) RAMÓN Y CAJAL, S. *Estudios sobre la Degeneración y Regeneración del Sistema Nervioso*, Madrid, Imp. Nicolás Moya, 1913-1914, I, 381. Puede verse una traducción inglesa: *Degeneration and Regeneration of the Nervous System*, London, Oxford University Press, 1928. Esta traducción ha sido recientemente reproducida en: FELIPE, JAVIER DE; JONES, EDWARD G. *Cajal's Degeneration and Regeneration of the Nervous System*, Oxford, Oxford University Press, 1991.
- (25) RAMÓN Y CAJAL, S. Mecanismo de la regeneración de los nervios. *Trab. Lab. Inv. Biol.*, 1905-1906, 4, 192-193.

Paralelamente, la aplicación del método del nitrato argéntico reducido sobre embriones condujo a la publicación en 1906 de un trabajo en el que se corroboraba el mecanismo de crecimiento a partir de las prolongaciones primarias de los neuroblastos (26). Este trabajo fue contestado por diversos valedores del poligenismo (27), lo que dió lugar a una réplica de Ramón y Cajal en 1907, con un artículo en francés titulado: *Nouvelles observations sur l'évolution des neuroblastes avec quelques remarques sur l'hypothèse de Hensen-Held* (28), en el cual reafirmó sus observaciones sobre el desarrollo de los axones de forma independiente de otros elementos celulares.

Por tanto, la investigación de Ramón y Cajal durante estos años tiene una doble faceta: una experimental, cuando altera el estado natural de los nervios para observar su reacción, y otra meramente de observación, cuando aplica sus métodos histológicos sobre embriones y realiza descripciones del desarrollo normal de las prolongaciones nerviosas.

De forma simultánea e independiente, el embriólogo norteamericano Ross Harrison (1870-1959) planteó el estudio experimental del desarrollo de las fibras nerviosas y rechazó la simple observación histológica de los fenómenos normales de neuro-embriogénesis como estrategia capaz de resolver el problema (29). En 1907 Harrison introdujo la técnica de cultivo in vitro de células nerviosas y demostró la existencia de crecimiento de las prolongaciones nerviosas en ausencia de elementos celulares accesorios, descartando definitivamente la teoría de los puentes intracelulares (30).

-
- (26) RAMÓN Y CAJAL, S. Génesis de las fibras nerviosas del embrión y observaciones contrarias a la teoría de la catenaria. *Trab. Lab. Inv. Biol.* 1905-1906, 4, 227-294.
- (27) HELD, H. Kritische Bemerkungen zu der Verteidigung der Neuroblasten und der Neurontheorie durch Ramon y Cajal. *Anatomischer Anzeiger*, 1907, 30, 369-391.
- (28) RAMÓN Y CAJAL, S. Nouvelles observations sur l'évolution des neuroblastes avec quelques remarques sur l'hypothèse neurogénétique de Hensen-Held. *Trab. Lab. Inv. Biol.* 1907, 5, 169-214.
- (29) HARRISON, ROSS GRANVILLE. Further experiments on the development of peripheral nerves. *American Journal of Anatomy*, 1906, 5, 121.
- (30) HARRISON, ROSS GRANVILLE. Observations on the living developing nerve fiber. *The Anatomical Record*, 1907, 1, 5.

Si bien algunos autores han subestimado la aportación cajaliana a la resolución de la polémica sobre el desarrollo de las ramificaciones nerviosas, confiriendo el mérito a Harrison (31), consideramos que ambos científicos llegaron a conclusiones semejantes, partiendo de tradiciones investigadoras diferentes: Harrison desde la Embriología experimental y Ramón y Cajal desde la Histología, a la que incorporó planteamientos experimentales para la verificación de sus hipótesis.

Simultáneamente a sus trabajos sobre regeneración de los nervios y sus observaciones sobre el desarrollo de los neuroblastos, el histólogo español estudió los fenómenos de regeneración de los centros nerviosos, produciendo lesiones en la médula, cerebelo y cerebro (32). Estos trabajos le permitieron observar incipientes fenómenos regenerativos que no prosperaban y describir dos procesos, la «degeneración traumática» inducida por la lesión y la «degeneración trófica», la reabsorción del cabo proximal hasta la primera colateral axónica, que quedaba constituida en rama terminal. Además, en colaboración con su discípulo Francisco Tello (1880-1958), Ramón y Cajal abordó el estudio de variados aspectos de la regeneración nerviosa: evolución de las neurofibrillas, regeneración de las placas motrices, y otros (33).

En todos los trabajos de esta etapa, encaminados a dilucidar el mecanismo de crecimiento y regeneración de los nervios, Ramón y

-
- (31) BILLINGS, SUSAN M. Concepts of Nerve Fiber Development, 1839-1930. *J. Hist. Biol.*, 1971, 4, 275-305. WITKOWSKY, J. A. Ross Harrison and the experimental analysis of nerve growth: The origins of tissue culture. En: T. J. Horder, J. A. Witkowsky, y C. C. Wylie (eds.) *A history of embryology: the Eighth Symposium of the British Society for Developmental Biology*, Cambridge, Cambridge University Press, 1986, pp. 149-178.
- (32) RAMÓN Y CAJAL, S. Notas preventivas sobre la degeneración y regeneración de las vías nerviosas centrales. *Trab. Lab. Inv. Biol.*, 1905-1906, 4, 295-301. RAMÓN Y CAJAL, S. Note sur la dégénérescence traumatique des fibres nerveuses du cervelet et du cerveau. *Trab. Lab. Inv. Biol.*, 1907, 5, 105-116.
- (33) RAMÓN Y CAJAL, S. Les métamorphoses précoces des neurofibrilles dans la régénération et la degeneration des nerfs. *Trab. Lab. Inv. Biol.*, 1907, 5, 47-104. TELLO, FRANCISCO. La régénération dans les fuseaux de Kühne. *Trab. Lab. Inv. Biol.*, 1907, 5, 227-236. TELLO, F. La régénération dans les voies optiques. *Trab. Lab. Inv. Biol.*, 1907, 5, 237-248. TELLO, F. Dégénération et régénération des plaques motrices après la section des nerfs. *Trab. Lab. Inv. Biol.*, 1907, 5, 117-149.

Cajal hizo referencias a la hipótesis neurotrópica formulada en 1893. Consideró que el éxito de la regeneración de los nervios podía deberse a la existencia del factor estimulante en el cabo distal (34) y que la incapacidad de los nacientes brotes regenerativos en centros nerviosos seccionados para orientarse eficazmente y reconstituir su funcionalidad podría deberse a la ausencia de la sustancia estimulante (35). No se incluían, por tanto, en estos trabajos consideraciones sobre la naturaleza de la sustancia neurotrópica; solamente en su artículo un 1906 el histólogo español realizó algunas conjeturas acerca de la naturaleza no miélinica del factor estimulante y el posible papel de las células de Schwann como secretoras de aquel (36). En el trabajo que pone fin a este primer momento de sus estudios sobre regeneración, publicado en 1908, y que fue el discurso de apertura de la Sección de Ciencias Naturales del Congreso de la Asociación Española para el Progreso de las Ciencias, Ramón y Cajal exponía la hipótesis neurotrópica y la aplicaba como explicación a algunos fenómenos regenerativos descritos en los años inmediatamente anteriores, pero no había un planteamiento experimental encaminado a demostrar la veracidad de su hipótesis, simplemente se presentaban hechos coherentes con ella (37).

4. TRABAJOS PARA LA VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS NEUROTRÓPICA DE 1910 A 1914

Tras su discurso de 1908 se abrió, de nuevo, un breve paréntesis en los trabajos neuro-embriológicos de Ramón y Cajal. Hasta 1910, año en que retomó la cuestión, su atención se dedicó preferentemente a la preparación de su manual *Histologie du Système Nerveux de l'homme et des Vertébrés* y al estudio del Aparato de Golgi con su técnica del nitrato argéntico reducido.

(34) RAMÓN Y CAJAL, nota 25, 205.

(35) RAMÓN Y CAJAL, Notas preventivas..., nota 32, 301.

(36) RAMÓN Y CAJAL, nota 25, 195-196.

(37) RAMÓN Y CAJAL, S. La influencia de la quimiotaxis en la génesis y evolución del sistema nervioso. En: *Congreso de la Asociación Española para el Progreso de la Ciencia. Zaragoza 1908*, Madrid, Imp. Eduardo Arribas, 1908, I, 101-126.

En 1910 publicó un artículo titulado: *Algunas observaciones favorables a la hipótesis neurotrópica*, en el que se desarrollan planteamientos experimentales dirigidos explícitamente a contrastar la concepción neurotrópica formulada en 1893 (38). Se percibe claramente, por tanto, un cambio de objetivo en sus trabajos científicos, no se tratará, como en la etapa anterior, de observar y describir los procesos de regeneración y neurogénesis normal mediante sencillos experimentos y observación microscópica; en este segundo momento de los estudios de regeneración nerviosa se diseñaron experimentos de mayor complejidad con la intención de contrastar la hipótesis neurotrópica.

Entre los experimentos diseñados en este trabajo cabe destacar la realización de incisiones en la médula, en la zona próxima a las raíces, pero sin afectarlas, que determinaba el crecimiento de colaterales axónicas hacia el tejido cicatrizal, o el aplastamiento de las raíces anteriores medulares, que inducía la formación de una masa de tejido cicatrizal, hacia la que se orientaban fibras nerviosas neoformadas. Ramón y Cajal atribuía en ambos casos el crecimiento hacia el tejido cicatrizal a la actividad neurotrópica de éste. Pero los experimentos más significativos presentados en este artículo eran los de trasplante de ganglios; inspirado en trabajos previos de Lugaro, Marinesco y Nageotte (39), efectuaba injertos de ganglios lumbares de un animal bajo la piel de la región abdominal de otro, observando posteriormente la existencia de prolon-

-
- (38) RAMÓN Y CAJAL, S. Algunas observaciones favorables a la hipótesis neurotrópica. *Trab. Lab. Inv. Biol.*, 1910, 8, 65-66.
- (39) LUGARO, E. Sul neurotropismo e sui trapianti dei nervi. *Rivista di Patologia Nervosa e Mentale*, 1906, 11, 320-327. MARINESCO, G. Quelques recherches sur la transplantation des ganglions nerveux. *Revue Neurologique*, 1907, 15, 241-252. MARINESCO, G.; GOLDSTEIN, M. Recherches sur la transplantation des ganglions nerveux. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences*, 1907, 144, 400-401. MARINESCO, G.; MINEA, J. Nouvelles Recherches sur la transplantation des ganglions nerveux. (Transplantation chez la grenouille). *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences*, 1907, 144, 450-451. NAGEOTTE, J. Recherches expérimentales sur la morphologie des cellules et des fibres des ganglions rachidiens. *Revue Neurologique*, 1907, 15, 357-369. NAGEOTTE, J. Neurophagie dans les greffes de ganglions rachidiens. *Revue Neurologique*, 1907, 15, 933-944. NAGEOTTE, J. Étude sur la greffe des ganglions rachidiens; variations et tropismes du neurone sensitif. *Anatomischer Anzeiger*, 1907, 31, 225-245.

gaciones nerviosas del ganglio trasplantado que, abriéndose paso a través de su cápsula periganglionar, se distribuían por el tejido conectivo del animal receptor. De nuevo, concluía, la presencia de factor neurotrópico en los tejidos del receptor se presentaba como la explicación plausible al fenómeno observado.

Como colofón a este trabajo Ramón y Cajal incluyó un último apartado titulado «Leyes que rigen la formación, crecimiento y dirección de las fibras regeneradas», en el cual recogía algunas reglas generales sobre el crecimiento de las fibras nerviosas y, lo que es más importante, algunas consideraciones acerca de la naturaleza de la sustancia neurotrópica. Tras manifestarse partidario del examen de la cuestión en términos químicos (poniendo como ejemplo el estudio de los anticuerpos por parte de los bacteriólogos, evidenciando así la influencia —ya comentada— de éstos en la formulación de la concepción neurotrópica) (40), se pronunciaba en favor de la «hipótesis de los catalizadores de Loeb», afirmando que:

«Comenzamos por imaginar que la materia reclamo liberada por los diversos elementos de acción neurotrópica representa una sustancia actuante sobre las mazas, al modo de diastasas o enzimas, o los agentes catalíticos, es decir, activando las reacciones químicas del protoplasma, y, por tanto, la asimilación y el crecimiento del extremo axónico» (41).

Posteriormente, en 1913, Ramón y Cajal publicó un trabajo titulado: *El neurotropismo y la trasplatación de los nervios*, en el cual continuaba la línea experimental trazada en 1910, realizando injertos de fragmentos nerviosos con distinto grado de vitalidad (desde nervios recién seccionados a nervios muertos por diversos procedimientos) sobre nervios sanos o seccionados. En este trabajo, además, realizó injertos nerviosos sobre piel y músculos, e incluso, llevó a cabo prácticas típicas de la embriología de principios de siglo, injertando miembros enteros sobre larvas de batracios. Pero el objetivo experimental en esta ocasión no era determinar la existencia del factor neurotrópico, sino aclarar el

(40) RAMÓN Y CAJAL, nota 38, 126.

(41) RAMÓN Y CAJAL, nota 38, 127.

origen del mismo y las condiciones en que actúa. Mediante estos experimentos Ramón y Cajal concluyó que la acción estimulante del crecimiento es ejercida por las células de Schwann y que su intensidad depende directamente de la vitalidad de dichas células (42). En este trabajo, además, mostró como ciertas fibras nerviosas pueden crecer a lo largo de fragmentos nerviosos injertados aunque se encuentren fuertemente dislocados, presentando serias objeciones a los partidarios del crecimiento en el sentido de la menor resistencia.

Paralelamente, Francisco Tello publicó en 1911 diversos experimentos de injertos nerviosos sobre corteza cerebral, corteza cerebelosa y nervio óptico. En este trabajo, Tello realizó un experimento definitivo en favor de la hipótesis neurotrópica. Tras realizar una sección en la corteza cerebral introducía un trozo de material poroso empapado con homogeneizado de nervio ciático, introduciendo en los animales control un volumen semejante de tierra de diatomeas. La observación microscópica posterior mostraba la existencia de fenómenos de recrecimiento intensísimos en la corteza cerebral del animal con injerto de ciático homogeneizado, mientras que en los animales control la regeneración era nula. Con este elegante experimento Tello mostró que la capacidad regenerativa de los centros nerviosos podía ser estimulada artificialmente y presentó nuevos fenómenos explicables mediante la aplicación de la hipótesis neurotrópica (43).

Simultáneamente a sus trabajos experimentales para demostrar la hipótesis neurotrópica, Ramón y Cajal continuó la línea de investigación trazada en su etapa anterior, realizando experiencias sobre regeneración y degeneración en diversos centros nerviosos: médula, cerebelo y cerebro (44). Estos trabajos le permitieron confirmar de nuevo las

(42) RAMÓN Y CAJAL, S. El neurotropismo y la trasplatación de los nervios. *Trab. Lab. Inv. Biol.*, 1913, 11, 102.

(43) TELLO, F. La influencia del neurotropismo en la regeneración de los centros nerviosos. *Trab. Lab. Inv. Biol.*, 1911, 9, 123-160.

(44) RAMÓN Y CAJAL, S. Observaciones sobre la regeneración de la porción intramedular de las raíces sensitivas. *Trab. Lab. Inv. Biol.*, 1910, 8, 177-196. RAMÓN Y CAJAL, S. Algunos hechos de regeneración parcial de la substancia gris de los centros nerviosos. *Trab. Lab. Inv. Biol.*, 1910, 8, 197-236. RAMÓN Y CAJAL, S. Los fenómenos precoces de la degeneración neuronal en el cerebelo. *Trab. Lab. Inv. Biol.*,

conclusiones obtenidas en 1906 y 1907, describiendo fenómenos de hipertrofia de la última colateral axónica previa a la interrupción traumática, fenómeno que denominó de compensación, y presentando nuevos hechos coherentes con la hipótesis neurotrópica.

Como culminación de todos los trabajos sobre regeneración nerviosa, que Fernando de Castro consideró constitutivos de la segunda gran etapa en la labor investigadora de Ramón y Cajal, y que nosotros hemos subdividido en dos momentos (uno dedicado a la descripción de fenómenos de regeneración y otro dedicado preferentemente a la contrastación experimental de la hipótesis neurotrópica), Ramón y Cajal publicó en 1914 *Estudios sobre la Degeneración y Regeneración del Sistema Nervioso*. En esta monumental obra sintetizó el investigador español el conjunto de sus trabajos sobre regeneración y resumió su concepción neurotrópica:

«En cuanto a la naturaleza de la materia excitadora, es difícil en el estado actual de la ciencia, imaginar algo seguro. A guisa de hipótesis de tanteo, hemos supuesto que la substancia contenida en las vainas de Schwann del cabo periférico debe ser concebida, no cual principio fijo, quiescente, capaz de ser neutralizado, a modo de un álcali, por algún cuerpo ácido encerrado en el cono de crecimiento, sino como un fermento o agente catalítico excitador de la asimilación del protoplasma axónico e incapaz de consumirse al obrar sobre el protoplasma nervioso [...].

Claro es que la concepción neurotrópica carece todavía de la precisión y claridad de las buenas hipótesis científicas. Para prestarle la determinación y corporeidad que le falta y elevarla al rango de doctrina científica, fuera necesario puntualizar mejor los elementos o fuentes de acción neurotrópica; aislar las materias reclamos, o al menos determinar su naturaleza y modo de acción [...]: descubrir las leyes reguladoras de su producción y apagamiento; esclarecer, en fin, el mecanismo de las reacciones y equilibrios químicos provocados en las substancias receptoras residentes en el axón joven y maza terminal

1911, 9, 1-38. RAMÓN Y CAJAL, S. Alteraciones de la substancia gris provocadas por conmoción cerebral y aplastamiento. *Trab. Lab. Inv. Biol.*, 1911, 9, 217-254. RAMÓN Y CAJAL, S. Los fenómenos precoces de la degeneración traumática de los cilindro-ejes del cerebro. *Trab. Lab. Inv. Biol.*, 1911, 9, 339-396.

por los encimas excitadores contenidos en los corpúsculos activos, equilibrios variables en cada fase del proceso regenerador» (45).

Formulada en su forma definitiva la hipótesis neurotrópica en 1914, Ramón y Cajal polarizó su atención hacia otros problemas neurohistológicos, especialmente hacia los centros ópticos de insectos y cefalópodos y al estudio de las células de glía con la técnica del oro sublimado (46). Sólo en algunos artículos, en 1919 y 1920, retomó la hipótesis neurotrópica como explicación para ciertos fenómenos histológicos observados. Desgraciadamente, aunque Ramón y Cajal planteó la hipótesis neurotrópica y señaló la orientación que deberían tomar las investigaciones para su demostración y estudio completo, ninguno de sus discípulos en la naciente escuela neurohistológica retomó la cuestión: Francisco Tello, hombre de formación histológica y bacteriológica fue absorbido por la investigación microscópica y tareas docentes y administrativas; Nicolás Achúcarro (1880-1918) y Pío del Río Hortega (1882-1945), eran científicos de formación histopatológica y dedicaron el grueso de su investigación al estudio de las células de glía; entre los más jóvenes discípulos de Ramón y Cajal, Rafael Lorente de No (1902-1991), de sólida formación morfológica, evolucionó hacia la Neurofisiología y terminó emigrando a los Estados Unidos, y Fernando de Castro (1896-1967), tras unas notables investigaciones histo-fisiológicas sobre el cuerpo carotídeo, realizó una serie de trabajos sobre la regeneración heterógena del simpático que fueron interrumpidas bruscamente por el estallido de la Guerra Civil española.

Hay que considerar, también, que gran parte de la obra cajaliana sobre la hipótesis neurotrópica fue publicada en castellano, lo que dificultó su difusión entre la comunidad científica internacional. Cuando la obra *Estudios sobre la Degeneración y Regeneración del Sistema Nervioso* estuvo disponible en inglés, en 1928, gracias a la traducción de Robert M. May, su influencia quedó diluida parcialmente en el cúmulo de nuevos datos y experiencias aportadas en el intervalo.

(45) RAMÓN Y CAJAL, nota 24, I, 414.

(46) CASTRO, nota 23, 41-43.

5. OTRAS INTERPRETACIONES SOBRE EL DESARROLLO DE LAS CÉLULAS NERVIOSAS Y EVOLUCIÓN POSTERIOR DE LA CONCEPCIÓN NEUROTRÓPICA

A principios de los años treinta, desestimada totalmente la teoría de los puentes intracelulares, se mantenían tres teorías como posibles explicaciones del desarrollo de las prolongaciones nerviosas, todas ellas con antecedentes que se remontaban a los últimos años del siglo XIX: la hipótesis eléctrica, la hipótesis mecánica y la hipótesis neurotrópica (47).

La interpretación eléctrica había sido sugerida por Strasser en 1892 y formulaba la existencia de diferencias de potencial en el miotomo, que estimularían y atraerían a las terminaciones nerviosas en desarrollo, Cajal en su obra *Histologie du Système Nerveux de l'homme et des Vertébrés* rechazaba esta hipótesis considerándola gratuita (48) Esta interpretación eléctrica del crecimiento sería formulada de nuevo en 1917 por Ariens Kappers, que suponía la existencia de diferenciales de potencial originados por potasio, responsable del crecimiento del axón y las colaterales axónicas hacia el campo anódico y de las dendritas hacia el polo catiónico (49). Posteriormente, Charles M. Child aceptaría los puntos de vista expresados por Kappers, manifestándose en favor del papel de las diferencias de potencial como elementos determinantes del desarrollo neuronal (50). Pero ambas investigaciones carecían del fundamento empírico suficiente y esta interpretación fue rápidamente desestimada.

La interpretación mecánica había sido formulada en primera ins-

(47) DETWILLER, SAMUEL R. Experimental studies upon the development of the amphibian nervous system. *Biological Reviews*, 1933, 8, 269-272.

(48) RAMÓN Y CAJAL, S. *Histologie du Système Nerveux de l'homme et des Vertébrés*, Paris, A. Moline, Editeur, 1909, I, 657.

(49) KAPPERS, C. U. ARIENS Further contributions on Neurobiotaxis. IX: An attempt to compare the phenomena of Neurobiotaxis with other phenomena of taxis and tropism. The dynamic polarization of the neurone. *Journal of Comparative Neurology*, 1916-1917, 27, 261-298. KAPPERS, C. U. ARIENS On Structural Laws in the Nervous System: The principles of Neurobiotaxis. *Brain*, 1921, 44, 125-149.

(50) CHILD, CHARLES MANNING. *The Origin and Development of the Nervous System from a physiological viewpoint*, Chicago, Illinois, The University of Chicago Press, 1921, pp. 155-205.

tancia por Wilhelm His en 1887 y redefinida por su hijo en 1893 (51), que consideraban que la fibra nerviosa crecería en el sentido de la menor resistencia. Entrado el siglo XX, en 1914, Harrison realizó experimentos para demostrar la influencia de los factores mecánicos y químicos en el crecimiento, demostrando que sólo es posible el crecimiento en presencia de un sustrato sólido y realizó experiencias que parecían probar la inexistencia, o cuando menos el papel secundario, del estímulo químico en el crecimiento (52). Posteriormente, en 1935, en una comunicación ante la Royal Society de Londres, Harrison afirmaba que *mechanical strains are more likely to be the primary effective agent than the supposed chemical factors* (53). Harrison citaba unos experimentos realizados por Paul Weiss, publicados en 1934, en los cuales se introducían extractos de cerebro y de otros tejidos en cultivos celulares de neuroblastos, comprobando la inexistencia de influencia sobre el crecimiento (54). Weiss se convirtió en el valedor de la interpretación mecánica del crecimiento y en 1941, tras presentar nuevos experimentos, en esta ocasión *in vivo*, de resultados no compatibles con la concepción neurotrópica, formuló el principio de *contact guidance*. Este principio se basaba en la emisión por parte de los neuroblastos de fibras pioneras (*pioneer fibers*) responsables del establecimiento de la conexión nerviosa y de la orientación de nuevas fibras (55). Weiss mantuvo sus puntos de vista en las siguientes décadas y aún en 1976 se mostraba contrario a la interpretación neurotrópica (56).

En la década de los treinta no hubo prácticamente experiencias encaminadas a contrastar la concepción neurotrópica. Unos experi-

(51) RAMÓN Y CAJAL, nota 48. I, 655-657.

(52) HARRISON, ROSS GRANVILLE. The outgrowth of the nerve fiber as a mode of protoplasmic movement. *Journal of Experimental Zoology*, 1910, 9, 787-846.

(53) HARRISON, ROSS GRANVILLE. On the Origin and Development of the Nervous System Studied by the Methods of Experimental Embryology. *Proceedings of the Royal Society. Series B. Biological Sciences*, 1935, 118, 163. ?

(54) WEISS, PAUL. In vitro experiments on the factors determining the course of the outgrowing nerve fiber. *Journal Experimental Zoology*, 1934, 68, 393-448.

(55) WEISS, PAUL. Nerve patterns: The mechanism of nerve growth. *Growth*, 1941, 5, Supplement, 164-165.

(56) WEISS, PAUL. Neurobiology in Statu Nascendi. *Progress in Brain Research*, 1976, 45, 7-38.

mentos de Viktor Hamburger, publicados en 1934, demostraban que la destrucción en embriones de rana de las extremidades en desarrollo producía la atrofia del centro nervioso correspondiente. Hamburger establecía así la influencia de la extremidad en el desarrollo del centro nervioso y planteaba la existencia de axones *pathfinders*, que estimularían el desarrollo de nuevos axones una vez establecidas sus conexiones; no había, por tanto, en este trabajo referencias a la concepción neurotrópica de Cajal (57). Ya en 1942, Rita Levi-Montalcini demostró cuantitativamente, utilizando la técnica del nitrato argéntico reducido ideada por Ramón y Cajal, que el número de neuronas en centros correspondientes a extremidades extirpadas aumentaba en un primer momento, para disminuir posteriormente; fenómeno éste no coherente con la hipótesis de Hamburger (58). El trabajo conjunto de ambos, iniciado en 1947, concluyó la existencia en el miembro extirpado de algún factor determinante del crecimiento. La demostración de que los injertos de algunos tipos de tumores de ratón inducían el crecimiento reafirmó la convicción de la existencia de un factor promotor del crecimiento. La incorporación en 1953 del bioquímico Stanley Cohen al grupo de investigación determinó el inicio de los trabajos de aislamiento químico de la sustancia inductora del crecimiento nervioso; aislándose en 1954 una nucleoproteína y logrando, más adelante, separar la fracción proteica y demostrar su efecto sobre el crecimiento, por lo que fue bautizada como Factor de Crecimiento Nervioso (*NGF*) (59).

-
- (57) HAMBURGER, VIKTOR. The effects of wing bud extirpation on the development of the central nervous system in chick embryos. *Journal of Experimental Zoology*, 1934, 68, 449-494.
- (58) LEVI-MONTALCINI, RITA; LEVI, GIUSEPPE. Les conséquences de la destruction d'un territoire d'innervation périphérique sur le développement des centres nerveux correspondants dans l'embryon de Poulet. *Archives de Biologie*, 1942, 53, 537-545.
- (59) HAMBURGER, VIKTOR. Ontogeny of Neuroembriology. *Journal of Neuroscience*, 1988, 8, 3535-3540. HAMBURGER, V. The History of the Discovery of the Nerve Growth Factor. *Journal of Neurobiology*, 1993, 24, 893-897. LEVI-MONTALCINI, RITA. The nerve Growth Factor: Its Role in Growth, Differentiation and Function of the Sympathetic Adrenergic Neuron. *Progress in Brain Research*, 1976, 45, 235-258. LEVI-MONTALCINI, RITA. The Nerve Growth Factor Thirty-Five years later. *In Vitro Cellular & Developmental Biology*, 1987, 23, 227-238.

Viktor Hamburger ha señalado muy acertadamente que la investigación sobre el factor de crecimiento nervioso fue posible gracias a la confluencia de tres diferentes tradiciones de investigación biológica: la embriología experimental (representada por él mismo), la neurología (Rita Levi-Montalcini) y la bioquímica (Stanley Cohen) (60). El trabajo de este equipo culminaba una investigación planteada en la obra del neurohistólogo español Ramón y Cajal en las primeras décadas del siglo XX y abría un fecundo campo de investigación para la biología celular y del desarrollo modernas.

6. CONCLUSIONES

En la obra neuro-embriológica de Santiago Ramón y Cajal pueden distinguirse tres etapas. En una primera etapa, de 1888 a 1893, las observaciones sobre el desarrollo de las prolongaciones nerviosas derivan directamente de la utilización del método ontogénico, la utilización de embriones o animales jóvenes para la visualización de elementos celulares nerviosos y la comprobación de su independencia. Fruto de estas observaciones fue la descripción del cono de crecimiento y la formulación de la hipótesis neurotrópica.

En una segunda etapa, entre 1905 y 1908, Ramón y Cajal estudió el proceso de regeneración y degeneración de nervios y centros nerviosos y obtuvo, de forma simultánea e independiente a Ross Harrison, pruebas experimentales de la independencia neuronal y su crecimiento. En los trabajos de esta etapa, Ramón y Cajal hizo referencias constantes a su hipótesis neurotrópica y consideró que era coherente con los fenómenos observados.

En un tercer momento, de 1910 a 1914, Ramón y Cajal desarrolló planteamientos experimentales para contrastar su concepción neurotrópica, que reafirmaron su convicción en la realidad de la hipótesis y le condujeron a apuntar la dirección a que debían orientarse las futuras investigaciones en este terreno. Desgraciadamente la dedicación estrictamente histológica de sus discípulos más directos (Tello, Achúcarro, Río

(60) HAMBURGER, 1993, nota 59, 893.

Hortega), la orientación neurofisiológica de Rafael Lorente de No, emigrado, además, a Estados Unidos en 1931, y la interrupción de la labor científica de Fernando de Castro por el estallido de la guerra civil española, impidieron la continuación de una interesante línea de investigación.

Por último cabe considerar que si bien la naturaleza del problema (la elucidación del mecanismo de crecimiento de las prolongaciones nerviosas) superaba las posibilidades técnicas y metodológicas de Santiago Ramón y Cajal, este acertó a proponer una hipótesis y una línea de investigación, que retomada por Rita Levi Montalcini, Viktor Hamburger y Stanley Cohen culminó en la identificación del Factor de Crecimiento Nervioso.