

Estudio experimental de la regeneración y regulación del tubo neural y trayecto de los pares craneales oculomotores en el embrión de pollo tras la extirpación y/o injerto heterotópico de la vesícula prosencefálica.

J.M. Doménech Mateu

Departament d'Anatomia. Facultat de Medicina. Universitat Autònoma. Bellaterra.

Introducción

Dos problemas importantes, entre otros, quedan planteados en la embriología experimental del Sistema Nervioso. Primero, la capacidad de regeneración y regulación que tiene en las fases iniciales de su desarrollo. Segundo, la constitución del patrón de organización de los pares craneales haciendo posible gracias a su compleja disposición que se establezcan las anastomosis, que son utilizadas por las fibras nerviosas para llegar a sus territorios de distribución. Son varios los procedimientos morfológico-descriptivos y experimentales utilizados, con mayor ó menor fortuna, para intentar resolver éstas cuestiones. Sin embargo, lejos de llegar a conclusiones definitivas, parece que cada uno de estos trabajos deja planteados nuevos y más complejos interrogantes. Con el ánimo de intentar esclarecer algunos de ellos se ha realizado el presente trabajo, en donde se pretende: por una parte, evidenciar la regeneración y regulación del sistema nervioso y, por otro, estudiar el camino que siguen los pares craneales cuando experimentalmente se les priva de su normal trayecto.

### Material y Metodos

Se operan 500 embriones de pollo (*Gallus Domesticus*) de la raza Leghorn Cornish.

En la primera serie (100 embriones) se procede a liberar el material neural en embriones del estadio 5 a 7 de H.H. en cultivo liquido de New. En la segunda serie (400 embriones) estadio 9,11 de H.H., se secciona la vesícula prosencefálica y se injerta heterotópicamente en el mismo embrión 6 en un receptor homocrónico (Fig. 1.A y B).

Los embriones operados se fijan a los 6 días de incubación en formol neutro al 10%. Inclusión en parafina y coloración según técnica de Bielschowsky.

### Técnica Operatoria: Injertos

Una vez expuesto el embrión, por fenestración de la cáscara del huevo, con el microbisturí de tungsteno, preparado "ad hoc", se procede a seccionar la vesícula prosencefálica en el límite prosen-mesencefálico. Una vez liberada la vesícula se la traslada con pinzas de relojero suizo (Rubí, nº5) a la parte lateral (Fig. 1.A) ó rostral (Fig. 1.B) de la vesícula mesencefálica. Este momento es el más delicado del acto micro-operatorio, pues con una finísima hebra de cristal debe de asegurarse el contacto entre la región mesencefálica y la base de la vesícula prosencefálica, cuidando de que no se pierda la correcta orientación de la misma. Una vez operado se cierra la ventana con cinta adhesiva estéril y se reintro

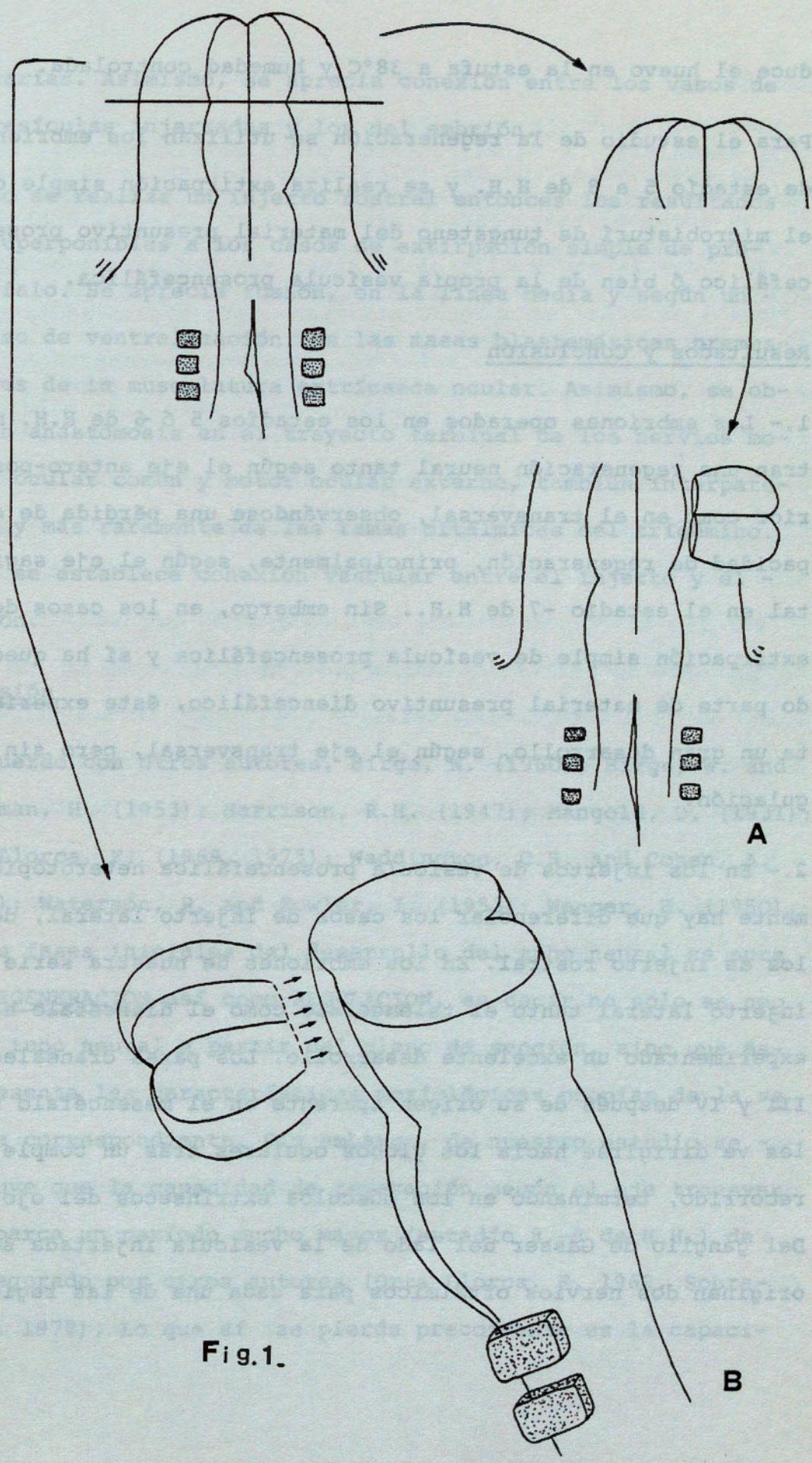


Fig. 1.

B

duce el huevo en la estufa a 38°C y humedad controlada.

Para el estudio de la regeneración se utilizan los embriones de estadio 5 a 8 de H.H. y se realiza extirpación simple con el microbisturí de tungsteno del material presuntivo prosencefálico ó bien de la propia vesícula prosencefálica.

### Resultados y Conclusión

1.- Los embriones operados en los estadios 5 ó 6 de H.H. muestran una regeneración neural tanto según el eje antero-posterior como en el transversal, observándose una pérdida de capacidad de regeneración, principalmente, según el eje sagital en el estadio -7 de H.H.. Sin embargo, en los casos de extirpación simple de vesícula prosencefálica y sí ha quedado parte de material presuntivo diencefálico, éste experimenta un gran desarrollo, según el eje transversal, pero sin regulación.

2.- En los injertos de vesícula prosencefálica heterotópicamente hay que diferenciar los casos de injerto lateral, de los de injerto rostral. En los embriones de nuestra serie con injerto lateral tanto el telencéfalo como el diencefalo han experimentado un excelente desarrollo. Los pares craneales III y IV después de su origen aparente en el mesencéfalo se les ve dirigirse hacia los globos oculares trás un complejo recorrido, terminando en los músculos extrínsecos del ojo. - Del ganglio de Gasser del lado de la vesícula injertada se originan dos nervios oftálmicos para cada una de las regiones

orbitarias. Asimismo, se aprecia conexión entre los vasos de las vesículas injertadas y los del embrión.

Cuando se realiza un injerto rostral entonces los resultados son superponibles a los casos de extirpación simple de prosencéfalo. Se aprecia fusión, en la línea media y según un proceso de ventralización, de las masas blastemáticas premusculares de la musculatura extrínseca ocular. Asimismo, se observan anastomosis en el trayecto terminal de los nervios motores ocular común y motor ocular externo, también interpatéticas y más raramente de las ramas oftálmicas del trigémino. Nunca se establece conexión vascular entre el injerto y el embrión.

#### Discusión

De acuerdo con otros autores, Birge, W. (1960); Birge, W. and Hilleman, H. (1953); Harrison, R.H. (1947); Mangold, D. (1931); Orts Llorca, F. (1969, 1975); Waddington, C.H. and Cohen, A. (1936); Waterson, R. and Fowler, I. (1953); Wenger, E. (1950), en las fases iniciales del desarrollo del tubo neural se aprecia REGENERACION así como REGULACION, es decir no solo se neoforma tubo neural a partir del plano de sección, sino que éste presenta las características morfológicas propias de la vesícula correspondiente. Sin embargo, de nuestro estudio se concluye que la capacidad de regeneración según el eje transversal abarca un período mucho mayor (estadio 8,-9 de H.H.) de lo asegurado por otros autores (Orts Llorca, F. 1969, Sobrado, J. 1978). Lo que sí se pierde precozmente es la capaci-

dad de regulación.

Levi-Montalcini, R. (1947), entre otros investigadores, ha realizado experiencias de extirpación de vesículas encefálicas; sin embargo, en la consulta bibliográfica no se ha encontrado ninguna referencia de injertos heterotópicos en el mismo embrión. Esta técnica, original nuestra, Doménech Mateu J.M. (1977), nos pone en evidencia el importante papel que el lecho vascular ejerce en el establecimiento de los patrones de constitución de los pares craneales. Ello fué intuido por Tello. J.F. (1948), pero precisaba de confirmación experimental. En los casos de injerto heterotópico rostral, el desarrollo del globo ocular, en el punto de unión con el embrión, hace de barrera mecánica para la progresión de las células de la cresta neural cefálica impidiendo la emigración de las mismas, según un patrón fijo y predeterminado, que ha quedado bien establecido después de los trabajos de Noden, D.M. (1975) y el muy reciente de Adela D'Amico Martel (1983), utilizando injertos de codorniz ó bien técnica de autorradiografía. Además se interfiere también la unión entre el lecho vascular del embrión y el del injerto. Por ello, los resultados en este tipo de injertos son superponibles a los de sección simple de la vesícula prosencefálica; en donde, no existen, logicamente, ni derivados telencefálicos ni diencefálicos, pero sí los anexos oculares, produciéndose fusión de las masas blastemáticas premusculares, posiblemente, por afectación en el acto operatorio de la placa precordial y las anastomosis anómalas de los pares craneales con total alte-

ración de su normal patrón de constitución. Disclos, P. (1967) reimplantando el prosencéfalo en el renacuajo de *Alytes* para demostrar la capacidad regenerativa del tejido nervioso en el período larvario, muestra en su trabajo unas imágenes de fibras nerviosas, que van hacia el injerto y que el autor dice no saber interpretar, nosotros creemos se trata de imágenes completamente superponibles a las obtenidas por nosotros y con el significado ya comentado.

En conclusión, podemos afirmar que en la constitución de los patrones de formación de los pares craneales juega un importantísimo papel el lecho vascular; así como, los patrones de emigración de las células de la cresta neural cefálica, matriz de las células satélites de los nervios craneales y de la parte neural, no la placodal, de sus ganglios sensitivos y/o parasimpáticos.

Bibliografía

BIRGE W., (1960). An analysis of differentiation and regulation in the mesencephalon of the chick embryo. Am. J. Anat 104:43, 460.

BIRGE W., HILLEMANN H.H. (1953). Metencephalic development - and differentiation following experimental lesions in the - early chick. J. exp. Zool. 124: 546, 562.

D'AMICO MARTEL A., NODEN D.M. (1983). Contributions of placodal and neural crest cells to avian cranial peripheral ganglia. Am. J. Anat. 166, 445-468.

DISCLOS P., (1967). Reimplantation du prosencephale chez le têtard d'alytes. Comptes Rendus Ass. Anat. 138, 429-433.

DOMENECH MATEU J.M., (1977). Experimental analysis of the chicken embryo prosencephalon that has been extirpated and the grafted heterotopically or under the vitelline membrane of the same embryo. Acta Anat. 99, 3, 260.

HARRISON R.H., (1947). Wound healing and reconstitution of the central nervous system of the amphibian embryo, after removal of parts of the neural plate. J. Exp. Zool. 2, 27-76.

LEVI-MONTALCINI R., AMPRINO R., (1947). Recherches expérimentales sur l'origine du ganglion ciliaire dans l'embryon de poulet. Arch. Biol. 58, 265-288.

MANGOLD D., (1931). Das determination problem. III. Das Wirbeltierauge in der Entwicklung und Regeneration. *Ergem. Siol.* 7, 193-403.

NODEN D.M. (1975). An analysis of the migratory behavior of avian neural crest cells. *Devel. Biol.* 42, 106-130.

ORTS LLORCA F., NAVARRINA GAMEZ F., (1969). Hemiextirpación del esbozo encefálico en las aves, en estadios de 5 a 13 de Hamilton Hamburger. *Rev. Med. Galicia* 7, 395-406.

ORTS LLORCA, F. (1975). Los finos mecanismos de regulación en la morfogénesis ocular. Discurso Real Academia Nacional de Medicina.

SOBRADO J., ACIN F., (1978). Analisis experimental de la regulación neural. *Anales del desarrollo* 53, 93-95.

TELLO F.J. (1948). Sobre las células satélites en los nervios motores oculares y sobre la formación de los nervios motores y sus esbozos musculares. *Trabajos Instituto Cajal Investigaciones Biológicas* 40, 2-119.

WADDINGTON C.H., COHEN A., (1936). Experiments of the development of the head of the chick embryo. *J. Exp. Biol.* 13, 119.

WATERSON R.L., FOWLER I., (1953). Regulative development in lateral plates of chick neural tubes. *Anat. Record* 117, 773-792.

WENGER E., (1950). Correlations and development in different parties of neural systems. *Arch. Biol.* 56, 71-83.