

# Desarrollo embriológico precoz de la placoda ótica del embrión de codorniz

Villar Francos, A.\*

Moro Balbas, J. A.\*\*

Barbosa Ayúcar, E.\*\*\*

## INTRODUCCION Y PLANTEAMIENTO

Durante el proceso ontogenético de numerosos órganos, se ha comprobado la muerte de grupos celulares en un momento y lugar de los tejidos embrionarios, y, en muchas ocasiones, la alteración de este fenómeno biológico se ha traducido en una morfogénesis patológica; GLUCKSMANN (1951), SAUNDERS (1966), SAUNDERS y FALLON (1966), MENKES, SANDOR and JILLIES (1970).

El desarrollo de un órgano supone la adición e interacción de una serie de procesos básicos elementales, como son las influencias epitelio-mesenquimatosas, el crecimiento, la diferenciación, comunicación intercelular y muerte celular, que paradójicamente es uno de los mecanismos fundamentales del desarrollo embrionario; GLUCKSMANN (1951).

Si en un principio se pensó que la muerte celular en un ser en desarrollo sólo podía tener un significado mecánico, como es el esculpido de las formas embrionarias, desde los trabajos de SAUNDERS (1966) y SAUNDERS y FALLON (1966) se sabe que estos procesos no se limitan a la eliminación de estructuras embrionarias transitorias, como el pronefros de los mamíferos, sino que es un mecanismo normal en la histogénesis y aparece en aquellas zonas del embrión donde tienen lugar plegamientos, separación y confluencia de esbozos.

La presencia de muertes celulares a nivel del extremo anterior del tubo neu-

ral fueron citadas por GLUCKSMANN (1930) y ERNST (1926); así como más recientemente por SCHLUTER (1973), GEELLEN y LANGMAN (1977), en ratones, y SCHOENWOLF (1979), y LORENTE, R. (1980) en el pollo.

Resulta evidente pensar que el conocimiento de las áreas de muerte celular normales y su topografía no sólo aporta un mejor entendimiento teórico del desarrollo embrionario, sino que además nos permite comprender la patogenia de bastantes malformaciones.

Si bien se han realizado numerosos estudios sobre la presencia de muerte celular en el desarrollo de diversos órganos, sobre todo por la escuela de Saunders en EE. UU. y Menkes en Rumania, están prácticamente ausentes en la literatura trabajos dedicados al estudio de la muerte celular en la ontogenia del oído interno, salvo los realizados por nosotros en relación a la morfogénesis precoz de la placoda ótica; VALDECASAS (1975), VALDECASAS, BARBOSA, E., CAMPELO, BARBOSA, L. (1976), VALDECASAS (1976), REINOSO (1978), tanto en el embrión de *Gallus domesticus*; como en el embrión de ratón y embrión humano, REPRESENTA (1980); nos proponíamos así comprobar la presencia y comportamiento de las muertes celulares en la formación del oído interno.

En este trabajo hemos realizado un estudio descriptivo y topográfico del proceso de muerte celular durante las fases más precoces de la ontogenia del oído interno de la codorniz, tratando de analizar al mismo tiempo el papel morfogenético del mismo.

## MATERIAL Y METODOS

Durante la realización de nuestras experiencias, hemos empleado 36 embriones de codorniz, de la raza *Cotur-*

*nix coturnix japonica*, comprendidos entre los estadios 7 a 15 de A. ZACHEI (1960), obtenidos por incubación a 37,5° C de temperatura y 75% de humedad relativa.

El tiempo de incubación osciló según el estadio que deseábamos obtener, la fijación de los embriones, así como su posterior tratamiento y estudio se efectuó según las técnicas y métodos que a continuación se detallan.

## TECNICAS HISTOLOGICAS

Se han seguido los siguientes pasos:

- 1.º Fijación de los embriones en líquido de CARNOY, alcohol acético o BOUIN.
- 2.º Deshidratación de los mismos mediante pases sucesivos en alcoholes de gradación creciente.
- 3.º Inclusión en parafina y realización de bloques.
- 4.º Corte de los bloques que fueron realizados seriadamente, mediante microtomo y a un espesor de 8 micras.
- 5.º Desparafinación.
- 6.º Tinción de los cortes, con las técnicas de:  
— Feulgen.  
— Hematoxilina-eosina.
- 7.º Aclaramiento en alcoholes y montaje de los portas.

Mediante una cámara clara modelo Leitz, acoplada a un microscopio Leitz dialux-20, se realizaron reconstrucciones gráficas, dibujando a 25 aumentos la silueta de los cortes pertenecientes a las 72 placodas estudiadas. Posteriormente, en dichos dibujos se situaron las mitosis y las muertes celulares verificadas con objetivo de inmersión.

Esto nos ha permitido delimitar el tamaño de las áreas de muerte celular, valorar la intensidad de la muerte y comprobar la localización de las mitosis.

\* Teniente Médico. Servicio Medicina Intensiva. Hospital Militar «Gómez Ulla».

\*\* Profesor Ayudante Anatomía. Facultad Medicina de Valladolid.

\*\*\* Profesor Agregado Anatomía. Facultad Medicina de Valladolid.

## RESULTADOS

Basados en la descripción que del desarrollo del oído interno de la codorniz realiza A. ZACCHEI (1960) y en las aportaciones propias que con nuestras experiencias hemos obtenido, podremos ver cómo el desarrollo del oído interno de la codorniz comienza en el estadio 7 (embriones de 7 a 9 pares de somites), como un ligero engrosamiento ectodérmico en una zona circunscrita del mismo, a ambos lados del rombencéfalo.

Este ligero engrosamiento de la placoda va aumentando poco a poco durante el siguiente estadio, que abarca embriones de 10 a 12 pares de somites, para comenzar a sufrir una débil invaginación en el estadio 9 (embriones de 13 a 14 pares de somites) (Figs. 1 y 2).

El ectodermo auditivo comienza a invaginarse, de manera más ostensible en embriones con 15, 16 y 17 pares de somites, que corresponden al estadio 10.

Durante el estadio 11 (embriones con 19 a 21 pares de somites), la placoda se encuentra en pleno proceso de invaginación, progresando de tal manera que llega a constituir una auténtica fóvea, cuyas paredes están formadas por un epitelio cilíndrico estratificado, de mayor grosor en el fondo de la invaginación que en las paredes.

Se pueden apreciar en este momento, y posteriormente en los estadios 12 y 13, la asimetría que presentan las paredes de la placoda en su hundimiento, dato descrito ya en el pollo por REINOSO (1978) y confirmado por nosotros en la placoda ótica de la codorniz (Fig. 3).

A partir de este momento, y durante el estadio 14, el otocisto, que es ya una auténtica vesícula, permanece en un primer momento unido al ectodermo, para ir poco a poco separándose de él hasta su aislamiento, quedando al final de este estadio completamente cerrado y separado del ectodermo embrionario.

Al mismo tiempo podemos localizar en embriones de 25 a 26 pares de somites, y a nivel ventral y anterior, el esbozo de nacimiento del ganglio estato-acústico (Fig. 4).

Durante el estadio 15 (embriones de 36 a 40 pares de somites) comienza ya a marcarse sobre la superficie externa el apéndice endolinfático, como un receso dorsal, de la cavidad ótica, que crece rápidamente al final del estadio (Fig. 5).

## DISCUSION

En la codorniz, durante el desarrollo de la placoda ótica, vemos hacer su aparición a las diferentes áreas de muerte celular, que ya vieron otros

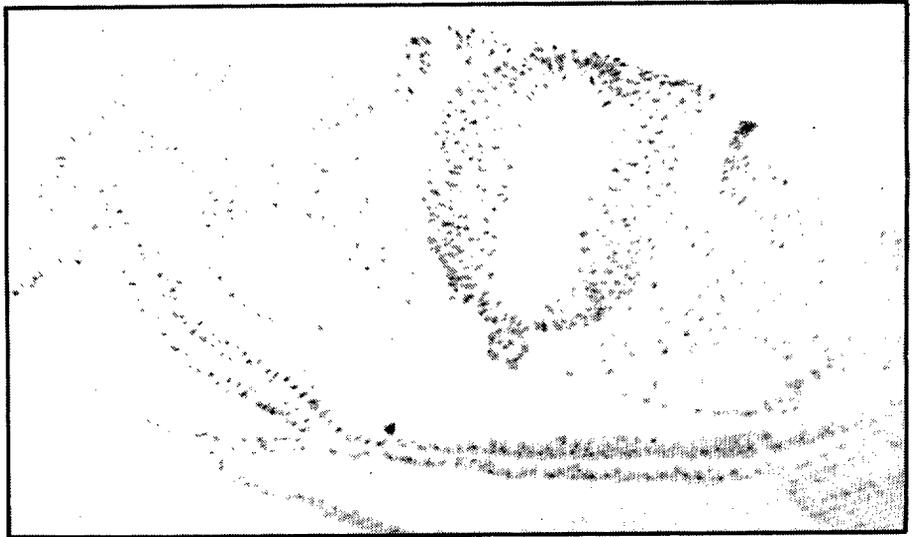


Fig. 1. Embrión de codorniz. Estadio 9.

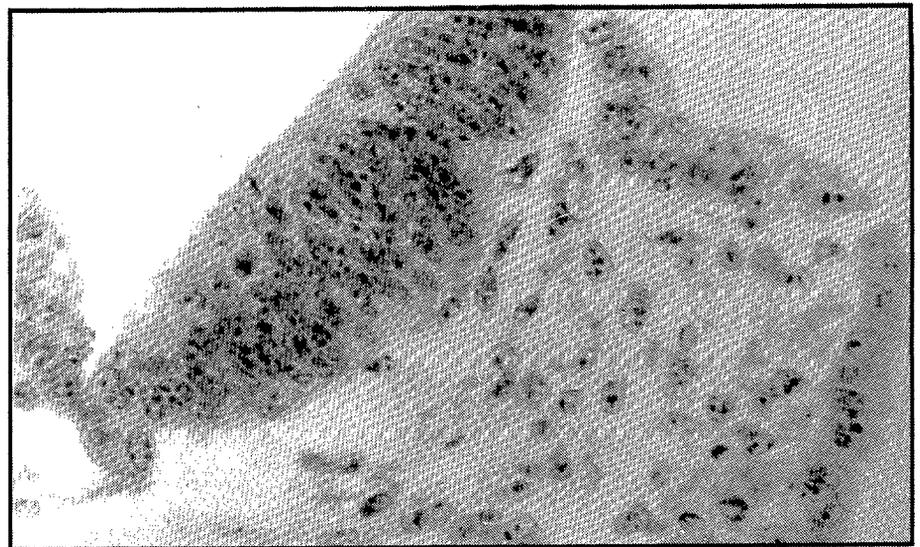


Fig. 2. Embrión de codorniz. Estadio 9. Placoda derecha.

autores, REPRESA (1980), en el ratón; REINOSO (1978) en las aves, así como su localización precisa y constante, que va a sugerirnos su primordial papel en la morfogénesis precoz del esbozo auditivo.

De esta manera vamos a poder apreciar la aparición en el estadio 10 de un área de muerte celular localizado de forma aislada y que se sitúa preferentemente en la transición entre el engrosamiento placodial y el ectodermo de cubierta, futuro labio externo de la fóvea auditiva.

Al igual que sucede en el pollo o en el ratón, este «área necrótica auditiva primaria» parece tener una significación claramente morfogenética, sobre todo si contemplamos las modificaciones formales que a nivel del esbozo acontecen de forma simultánea a su aparición.

La situación característica y asimétrica de las muertes celulares en este estadio pueden constituir una zona de

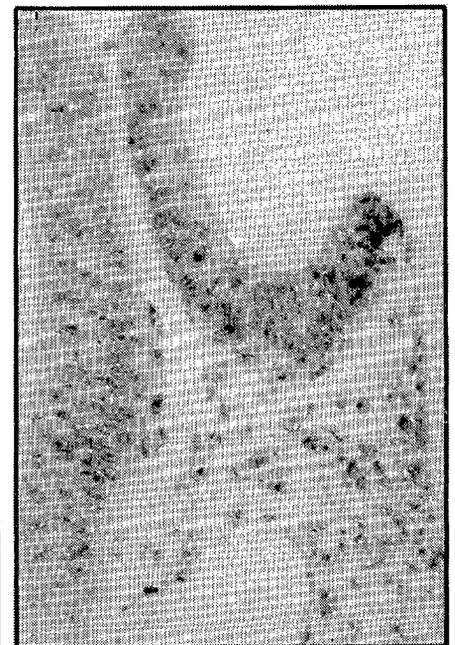


Fig. 3. Estadio 11. Fóvea ótica.

anclaje o de fijación y permitir así el hundimiento progresivo de las restantes paredes del esbozo por proliferación celular de las mismas; en este sentido, la localización preferente de las mitosis, lejos de las muertes celulares, son un dato a favor de esta interpretación, REPRESA (1980).

En un segundo momento, la presencia del «área necrótica auditiva secundaria», focalizada en la pared ventral del otocisto y la relación de vecindad de estas células en degeneración con el ganglio estato-acústico nos han inclinado a denominarla de una forma más correcta como «área necrótica ganglionar».

El hecho de que las degeneraciones celulares que constituyen el área necrótica ganglionar hacen su aparición correlativamente a la presencia evidente de la masa ganglionar, es muy posible que ambos hechos estén condicionados entre sí.

La presencia de mitosis celulares salpicando el área necrótica ganglionar, contiguas a células muertas, parece «a priori» cuestionar la posibilidad de que las degeneraciones celulares sean debidas a mitosis anormales, KALLEN (1965); por otra parte, la presencia de estas mitosis coincide siempre con la presencia del área de muertes, y la de éste íntimamente vinculada al momento de inicio de la masa ganglionar.

Si analizamos estos sucesos, no podemos dejar de sugerir la posibilidad de que la población celular de la pared ventral del otocisto prolifera para aumentar el número de sus componentes, que adquieren una diferenciación, la cual estaría vinculada a su posterior emigración hacia el ganglio, cuyo fracaso y degeneración celular subsiguiente explicaría la presencia de las necrosis celulares.

El área del conducto endolinfático, al igual que el de las otras áreas, REINOSO (1978), es de reducido tamaño, situándose en el pliegue de separación de este esbozo, de la pared externa de la esfera auditiva. La aparición, localización y evolución espacio-temporal de esta pequeña área necrótica es totalmente similar en el embrión de pollo y en el embrión de codorniz, y su papel parece ser el de constituir un límite entre las dos poblaciones celulares, la del otocisto y la del conducto endolinfático.

Este hecho, asociado a la casi total ausencia de mitosis celulares a este nivel, nos permite sugerir que el conducto endolinfático se origina por un mecanismo de reordenamiento de los elementos celulares que constituyen la pared externa del otocisto.

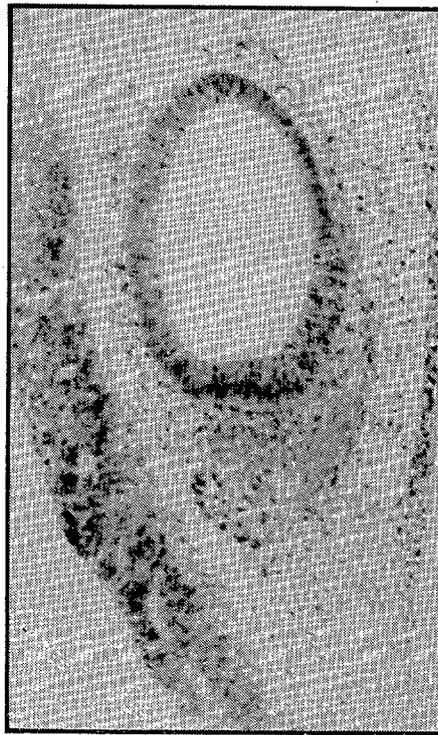


Fig. 4. Estadío 14. Cierre del otocisto. Aparición del esbozo ganglionar.

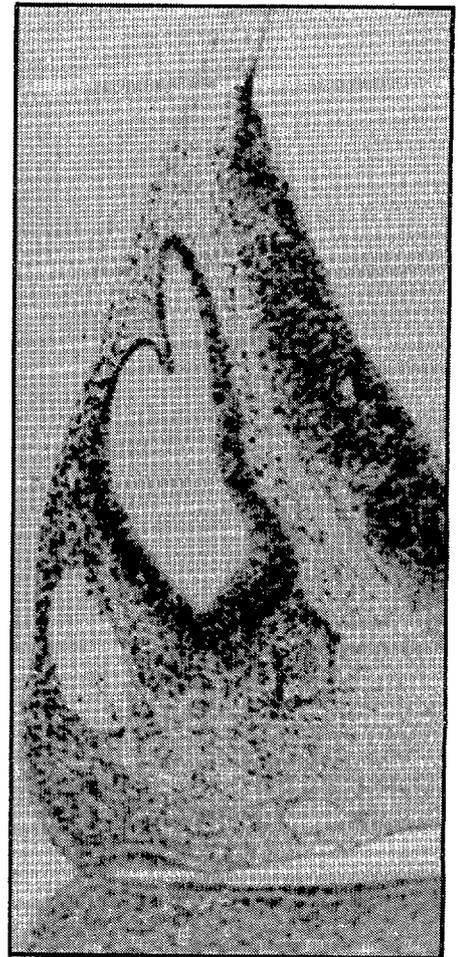


Fig. 5. Estadío 15. Aparición del conducto endolinfático.

## BIBLIOGRAFIA

1. BARBOSA, E.; CAMPELO, E.; VALDECASAS, J., y BARBOSA, L.: «Muerte celular en la placoda nasal del embrión de pollo». *Anal. Anat.*, 25, 93-98, 1977.
2. ERNST, M.: «Weber untergang von Zellen Während der normalen Entwicklung bei Wirbeltieren». *Z. Anat. Entwickl. Gesch.*, 79, 228, 1926.
3. GEELEN, JAN A. G., and LANGMAN, JAN: «Closure of the neural tube in the cephalic region of mouse embryo». *Anat. Rec.*, 189, 625-640, 1977.
4. GLUCKSMANN, A.: «Über die beolentung von zellorganen für die florbildung epitheliales organe». *Z. Ges. Anat. 1-2 Anat. Entw. Gesch.*, 93, 35-92, 1930.
5. GLUCKSMANN, A.: «Cell deaths in normal vertebrate ontogeny». *Bio. Rev.*, 26, 59-86, 1951.
6. KALLEN, B.: «Degeneration and regeneration in the vertebrate central nervous system, during embryogenesis». *Progress in Brain Res.*, 14, 77-96, 1965. Elsevier Publishing Company.
7. LORENTE, R.: Tesis Doctoral. «Muerte celular en la morfogénesis precoz del tubo nervioso». Fac. Med. Universidad de Valladolid, 1980.
8. MENKES, B.; SANDOR, S., and JILLIES, A.: «Cell death interatogenesis». In «Advances in Teratology». D. Wrollam ed., pp. 169-215, 1970.
9. REINOSO, A.: «Morfogénesis precoz de la placoda ótica del embrión de pollo». Tesis Doctoral. Fac. Med. Universidad de Valladolid, 1978.
10. REPRESA, J.: «Muerte celular en el desarrollo del oído interno». Tesis Doctoral. Fac. Med. Universidad de Valladolid, 1980.
11. SAUNDERS, J. W., and FALLON, J. F.: «Cell death in morphogenesis. In major problems in developmental biology». Ed. by Locke, pp. 289-314. Academic Press. N. Y. and London, 1966.
12. SAUNDERS, J. W.: «Death in embryonic systems». *Science*, 154, 604-610, 1966.
13. SCHLUTER, G.: «Ultrastructural observations on cell necrosis during formation of the neural tube in mouse embryos». *Z. Anat. Entw. Gesch.*, 141, 251-264, 1973.
14. SCHOENWOLF, GARY C.: «Observations on closure of the neuropores in the chick embryo». *Am. J. Anat.*, 155, 445-446, 1979.
15. VALDECASAS, J. M.: «Estudio de las fases iniciales del desarrollo del oído interno del Gallus domesticus». Tesis Doctoral. Fac. Med. Universidad de Valladolid, 1975.
16. ZACCHEI, A.: «Lo sviluppo embrionale della quaglia giapponese». *Rend. Acc. Naz. Lincei.*, 26, 753-756, 1960.