



**ABRIR RESULTADOS**

**EMBRION O-288**

EMBRION: O-288

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 8 Z, 10 pares de somitos) en línea mediodorsal del diencéfalo de un embrión de pollo (E: 10 HH).

Se reincuba durante 15 días. Al abrir el huevo, el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 6 horas posteclosión.

Estadio teórico del Receptor: 42+ HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión está perfectamente desarrollado y ha alcanzado un estadio 41 HH.

Observamos que en la región craneal de la cabeza han crecido esbozos pigmentados de plumas. Después de quitar las plumas vemos que entre los globos oculares del receptor y en el extremo posterior de la cresta (bífida), aparece una pequeña elevación que está pigmentada solamente en su mitad derecha.

En la línea media, dorsal al injerto y en el interior, se aprecia una tonalidad oscura. (figuras 1 y 2)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

Observamos que a partir del injerto se ha desarrollado una cavidad tapizada por tejido cutáneo. En su interior han crecido gran cantidad de esbozos pigmentados de plumas. (figuras 3, 4, 6 y 7)

La mitad interna de la cavidad está rodeada por cartilago que surge parcialmente del tabique cartilaginoso que separa los ojos del embrión receptor. (figuras 3, 4 y 6)

Por fuera de la cavidad se ha desarrollado una estructura redondeada en la que observamos dos porciones, la interna presenta una tinción más oscura y tiene un aspecto similar al de las fibras cristalinas. Rodeando esta formación fibrilar y parcialmente separada de ella, existe una corona de un tejido que capta de forma tenue el colorante y que podría corresponder al epitelio anterior del cristalino. Por el aspecto parece que el corte histológico ha coincidido con el diámetro ecuatorial, por lo que toda la circunferencia presenta un grosor y aspecto histológico muy similar. (figuras 3 a 5)

La formación cristalina está limitada internamente por la cavidad epidérmica y externamente por otra cavidad ópticamente vacía y tapizada por epitelio pigmentado. De hecho, el presunto epitelio anterior y el epitelio pigmentado están en íntimo contacto. (figuras 3 a 5)

En cortes más dorsales, donde ya ha desaparecido el cristalino, continúa la presencia del epitelio pigmentado limitando por fuera la cavidad epidérmica, pero su aspecto cambia, pues adopta forma de "ovillo" como un plegamiento. (figuras 6 y 7)

En los alrededores de este acúmulo de epitelio pigmentado no se observan indicios de que se haya desarrollado retina. (figura 7)

La localización de la pigmentación que observabamos en las figuras macroscópicas, coincide con la situación y el trayecto que tiene el epitelio pigmentado, pues vemos que microscópicamente no está en la línea media, sino ligeramente a la izquierda. (figuras 2 a 6)

EMBRIÓN O-288

Fig.1: Visión superior de la cabeza, donde observamos la distribución de los esbozos pigmentados de plumas. (1x)

Fig.2: Detalle tras desplumar la cabeza. Vemos que la pigmentación se localiza en la mitad derecha del injerto (flecha) y que la cresta en su extremo dorsal tiene forma bífida. (1,3x)

Fig.3: Corte frontal oblicuo que muestra la localización y situación del injerto en relación a los globos oculares del receptor. (BB, 1x)

Fig.4: Corte donde se observa una cavidad que contiene esbozos de plumas (flechas) y por fuera el cristalino. (BB, 2x)

Fig.5: Detalle del cristalino limitado en su mitad externa por una cavidad tapizada por epitelio pigmentado. (BB, 10x)

Fig.6: Corte a otro nivel donde observamos la cavidad con esbozos de plumas (flecha) y un acúmulo o plegamiento del epitelio pigmentado que se sitúa junto a ella. (BB, 2x)

Fig.7: Detalle del plegamiento de epitelio pigmentado. En el interior de la cavidad vecina se aprecia con detalle el esbozo de una pluma (flecha). (BB, 10x)

Fig.1



Fig.2

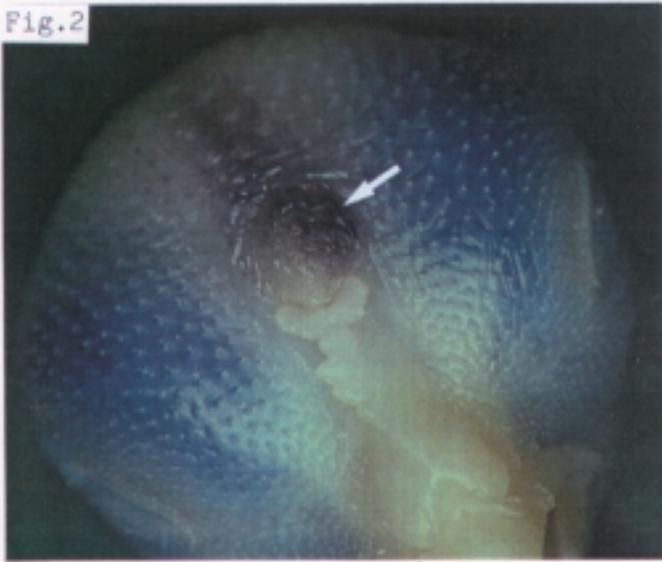


Fig.3

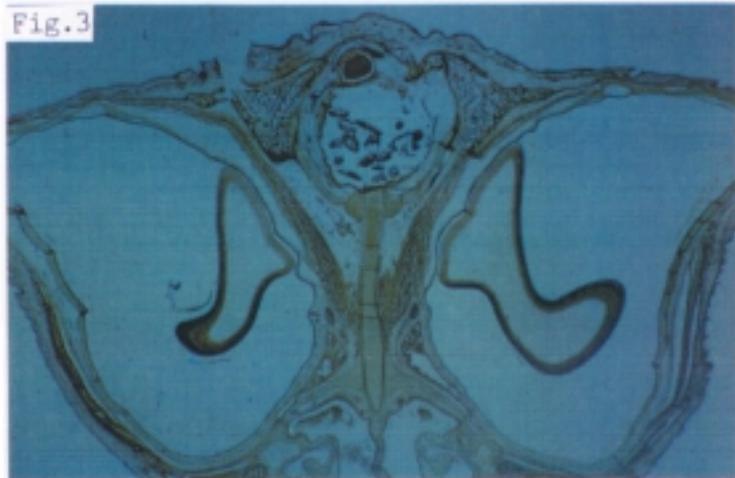


Fig.4



Fig.6

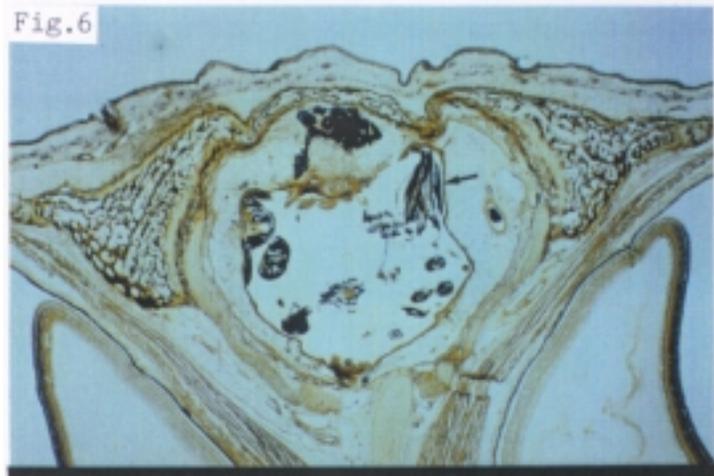
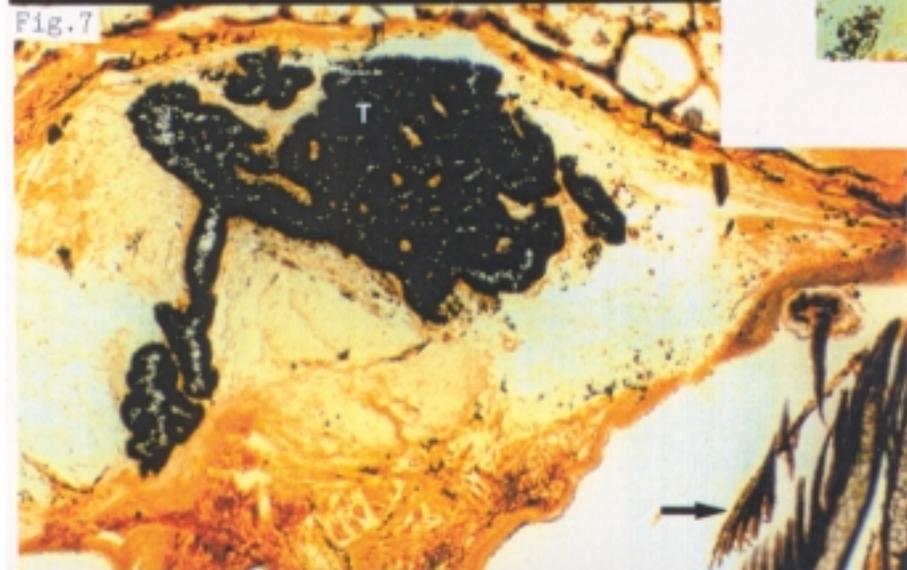


Fig.5



Fig.7



**EMBRION O-259**

### EMBRION: O-259

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 9 Z, 13 pares de somitos), en el neuroporo anterior de un embrión de pollo (E: 10 HH).

Se reincuba durante 16 días. Al abrir el huevo el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 34 horas posteclosión.

Estadio teórico del Receptor: 43+ HH.

### ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión se ha desarrollado normalmente y ha alcanzado un estadio 42 HH.

En la región más craneal de la cabeza observamos la presencia de esbozos pigmentados de plumas y en el centro una pequeña elevación blanquecina.

En los globos oculares del receptor no existe pigmentación ni de los esbozos de plumas ni en el borde palpebral. (figura 1)

### ESTUDIO MICROSCOPICO:

A partir del injerto y en la zona más craneal de la cabeza del receptor se han desarrollado varias estructuras que iremos describiendo. (figura 2)

La piel de la cabeza del receptor se abomba para recubrir el injerto. A ese nivel, la piel es más lisa que en el resto de la cabeza, donde existe gran cantidad de esbozos de plumas. (figuras 2, 3, 4 y 6)

Observamos la presencia de un tejido muy pigmentado. En unas zonas tiene la apariencia de grandes acúmulos de pigmento (figura 3), mientras que en otras zonas se asemeja más a un epitelio pigmentado muy plegado, como un "ovillo". (figuras 5 y 6)

Este tejido pigmentado se localiza preferentemente en las regiones profundas del injerto, en contacto con el sistema nervioso del receptor. (figuras 2 a 6)

Vemos la presencia de tejido óseo distribuido anárquicamente. La disposición y morfología es muy variada; en unas zonas tiene forma de "media luna", protegiendo una estructura nerviosa que existe a ese nivel (figuras 3 a 5). En otras zonas la forma es ovalada. (figura 6)

Ya hemos dicho que se ha desarrollado una estructura nerviosa y que está parcialmente rodeada por tejido óseo.

Si comparamos el color de esta estructura nerviosa con el sistema nervioso del receptor vemos que el tejido nervioso que deriva del injerto presenta una tinción mucho más oscura que la del receptor.

No existen conexiones de este tejido nervioso con ninguna estructura nerviosa del receptor. (figuras 2 a 6)

No hemos observado la presencia de ningún tejido que recuerde la morfología de la retina.

Existen dos estructuras ovaladas cuya morfología de alguna manera recuerdan a la del cristalino. (figura 6)

La estructura más profunda tiene el aspecto de fibras cristalinianas cortadas transversalmente, aunque carece de epitelio anterior.

En la estructura más superficial identificamos un epitelio anterior que rodea las fibras cristalinas, pero cortadas longitudinalmente. (figura 6)

EMBRIÓN O-259

Fig.1: Visión dorsal superior de la cabeza, donde observamos la distribución de los esbozos pigmentados de plumas que cubren parcialmente una pequeña protuberancia. (0,8x)

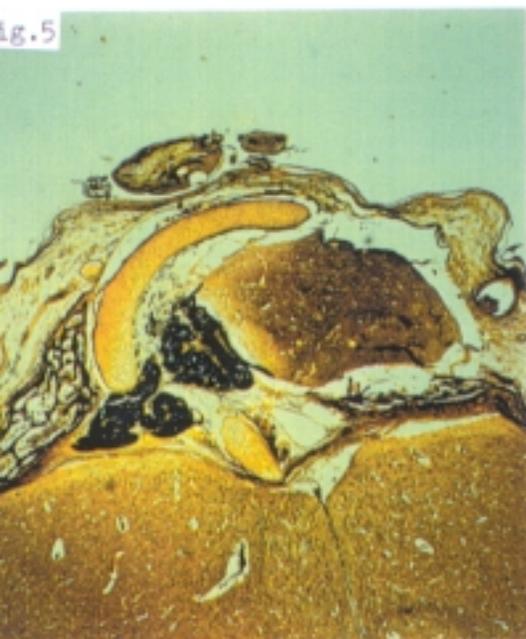
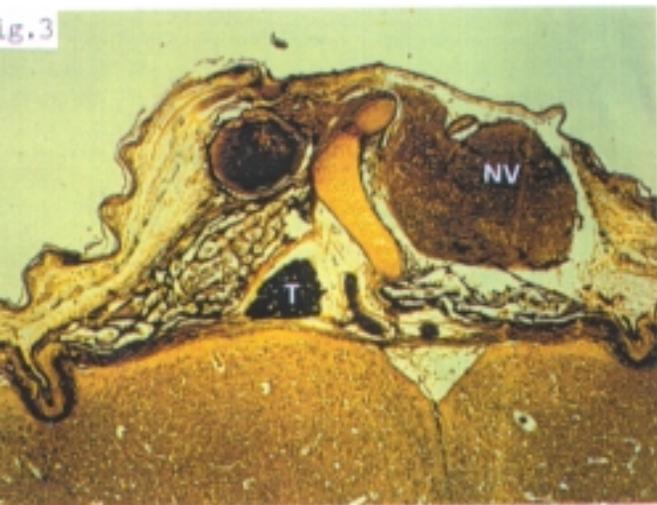
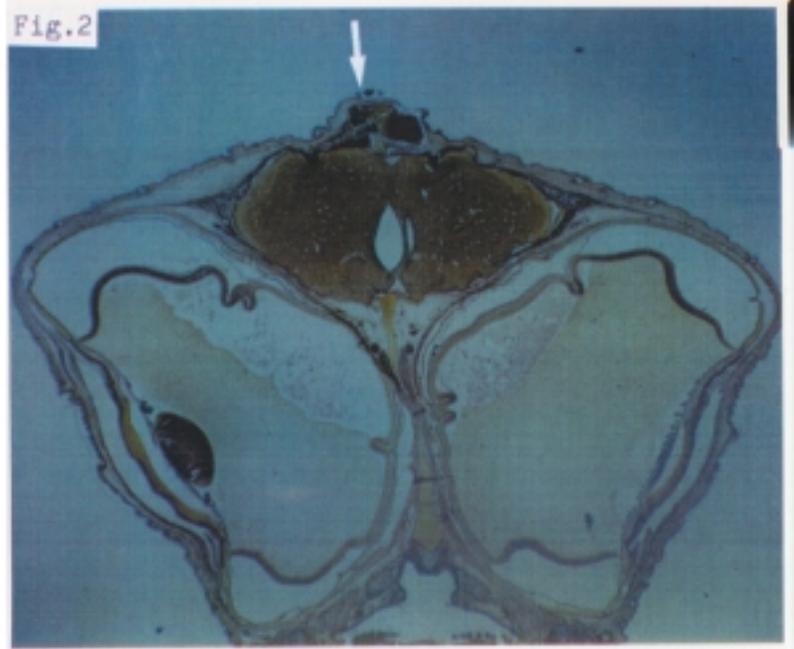
Fig.2: Corte frontal oblicuo que muestra la localización del injerto (flecha) en el embrión receptor. (BB, 0,75x)

Fig.3: Detalle donde vemos que a partir del injerto se han diferenciado, acúmulos de pigmento, tejido nervioso, tejido óseo y una estructura parecida a un cristalino. (BB, 4x)

Fig.4: Corte a otro nivel donde observamos que la piel que cubre el injerto presenta menos esbozos de plumas que el resto de la piel de la cabeza. (BB, 2x)

Fig.5: Corte donde vemos que el tejido óseo rodea parcialmente la estructura nerviosa y el epitelio pigmentado. (BB, 4x)

Fig.6: Detalle que muestra dos estructuras ovaladas que en cierta forma recuerdan la morfología del cristalino. También se observa el epitelio pigmentado muy plegado. (BB, 10x)



EMBRIÓN O-310

Fig.1: Visión lateral derecha de la cabeza donde vemos la distribución de los esbozos pigmentados de plumas y una estructura que hace relieve en la zona más craneal. (1x)

Fig. 2: Visión craneal de la cabeza desplumada donde se observa la pigmentación de los párpados (flechas) y en el centro la estructura pigmentada que hace relieve. (1,5x)

Fig.1



Fig.2



### EMBRION: O-310

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 9 Z, 13 pares de somitos), en el neuroporo anterior de un embrión de pollo (E: 10 HH).

Se reincuba durante 17 días. Al abrir el huevo, el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 57-58 horas posteclosión.

Estadio teórico del Receptor: 44+ HH.

#### ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión receptor está perfectamente formado y ha alcanzado un estadio 43 HH.

En la región más craneal de la cabeza se ha desarrollado una estructura pigmentada que hace protusión y cubierta por plumas pigmentadas.

En ambos ojos, el párpado inferior presenta una sola hilera de plumas ligeramente pigmentadas.

Las plumas más o menos pigmentadas se distribuyen de forma casi simétrica. Cubren la cabeza (excepto la zona dorsal), rodean ambos ojos (menos la parte caudal) y desde los orificios de las fosas nasales se dirigen dorsalmente atravesando el párpado superior.

El pico superior presenta una ligera tonalidad ocre, sobre todo alrededor de los orificios nasales. (figura 1)

Al desplumar la cabeza vemos que la estructura craneal está muy pigmentada excepto en la zona izquierda.

El extremo dorsal de la cresta, en el límite anterior del injerto, se divide en dos adoptando forma bífida.

La piel de los párpados superiores es más oscura que el resto. El borde de los párpados superiores e inferiores presentan un color negro. (figura 2)

#### ESTUDIO MICROSCOPICO:

En el interior de la cabeza existe una cavidad que ocupa el lado derecho y se extiende en profundidad entre el sistema nervioso del receptor. (figuras 3 y 4)

Esta cavidad tapizada por un tejido semejante a la piel, está ocupada por esbozos pigmentados de plumas. Aunque sólo podamos observarlas en la zona más profunda, existen señales de su implantación en la región superficial. (figuras 3 a 5)

La zona izquierda de la protuberancia, que macroscópicamente tenía un color blanco, está ocupada por el sistema nervioso del embrión receptor. (figura 3)

Junto a la parte más profunda de la cavidad se ha desarrollado una estructura ovalada en sentido vertical y que capta con intensidad en colorante.

En el interior de la estructura existen fibras que, aunque dispuestas de forma anárquica, tienen un gran parecido a las fibras del cristalino. En el interior de algunas fibras se observan pequeños puntos intensamente teñidos que recuerdan la morfología que presentan los núcleos picnóticos de las fibras cristalinianas en algunos momentos del desarrollo. (figuras 4 y 5)

Junto al cristalino, aunque más profundo, se ha desarrollado una estructura en la que distinguimos dos zonas. (figuras 4 y 7)

La externa, pigmentada de forma irregular, corresponde al epitelio pigmentado y la interna tiene una morfología semejante a la retina.

El lateral izquierdo de la capa externa es grueso y está muy pigmentado, mientras que el lateral derecho presenta una hilera de células con el pigmento situado en la superficie interna que está en contacto con la retina. (figuras 7 a 9)

En la retina se observan algunas capas. La externa, en contacto con el epitelio pigmentado, tiene un aspecto uniforme y corresponde a los fotorreceptores.

A continuación existe otra capa, más gruesa, integrada por células con prolongaciones (axones y dendritas).

La siguiente capa está formada por fibras y en la zona más interna se distinguen algunas células ganglionares. En el centro existe una condensación fibrosa de cuya identidad dudamos, aunque creemos que corresponde al vítreo. (figuras 7 a 9)

Junto al extremo interno del cristalino se ha desarrollado una estructura formada por tejido óseo y cartilaginoso. (figura 6)

Fig.3: Corte frontal que muestra la situación del injerto y de la cavidad que se ha desarrollado en el interior de la cabeza del receptor. (BB, 0,7x)

Fig.4: Corte donde observamos el cristalino y algunos esbozos pigmentados de plumas dentro de la cavidad (flecha). (BB, 2x)

Fig.5: Detalle del cristalino. Vemos las fibras y algunos núcleos picnóticos (flechas pequeñas). Junto a él existen esbozos pigmentados de plumas (flechas grandes). (BB, 10x)

Fig.6: Detalle del tejido óseo y cartilaginoso que se ha desarrollado debajo del cristalino. (BB, 10x)

Fig.7: Corte donde vemos el cristalino, retina y epitelio pigmentado. (BB, 40x)

Figs.8 y 9: Detalle del epitelio pigmentado y de la retina neurosensorial. En el centro se observa un acúmulo, posiblemente de vítreo. (BB, 20x y 40x)

Fig.3

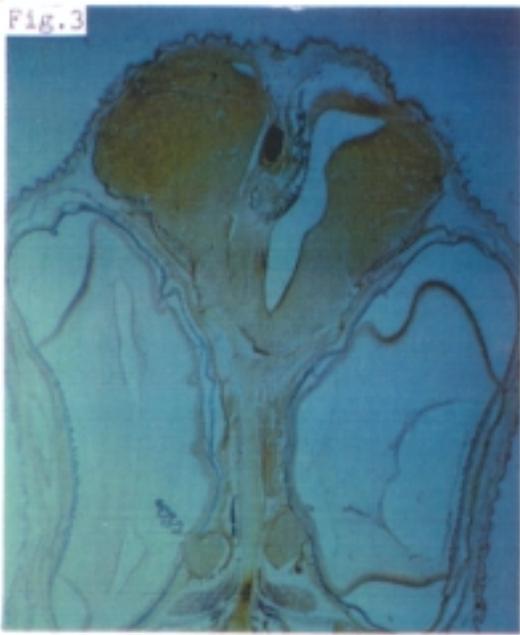


Fig.5



Fig.4

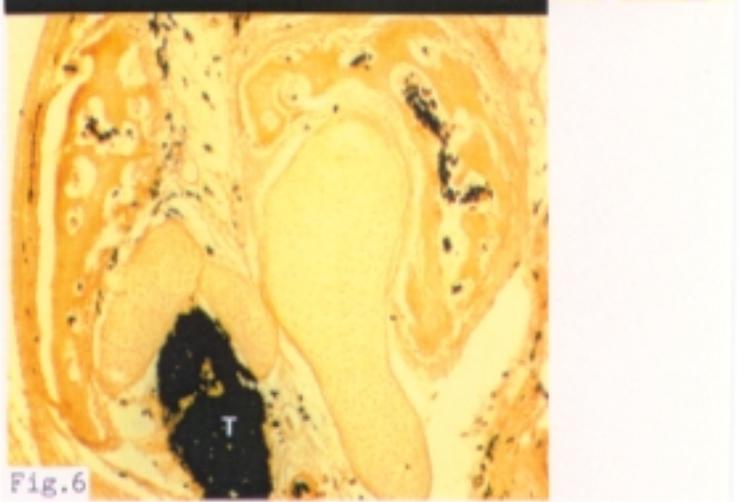


Fig.6

Fig.7

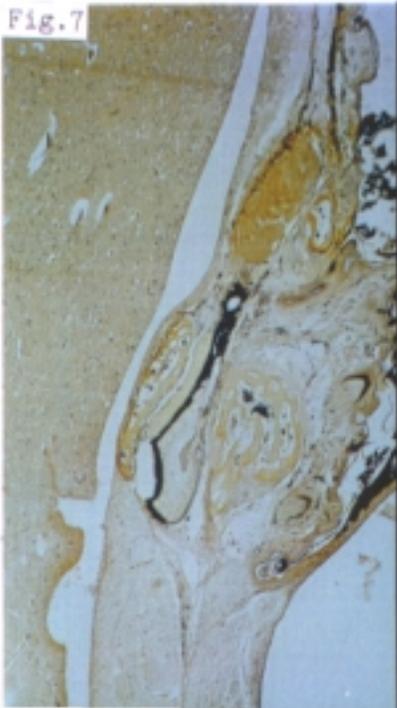


Fig.8

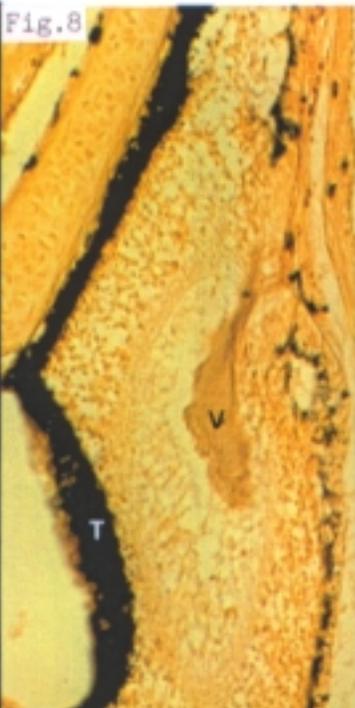
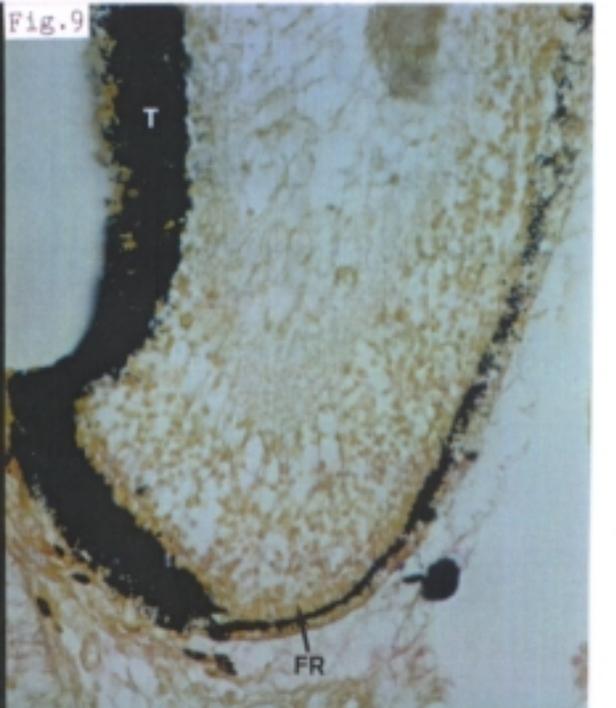


Fig.9



**EMBRION O-260**

### EMBRION: O-260

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 10 Z, 16 pares de somitos), en la línea mediodorsal del diencéfalo de un embrión de pollo (E: 10 HH).

Se reincuba durante 16 días. Al abrir el huevo, el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 36 horas posteclosión.

Estadio teórico del Receptor: 43+ HH.

### ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión está perfectamente desarrollado y ha alcanzado un estadio 43 HH.

En la zona craneal y media de la cabeza, dorsal al globo ocular izquierdo del embrión, han crecido algunos esbozos pigmentados de plumas.

Tras desplumar la cabeza observamos que en la línea media, entre ambos ojos y algo dorsal, se ha desarrollado una estructura blanca de consistencia dura.

Craneal y dorsal al ojo izquierdo observamos una zona de pigmentación oscura cubierta por la piel. (figura 1)

### ESTUDIO MICROSCOPICO:

La formación blanca de consistencia dura que veíamos macroscópicamente presenta una estructura histológica compatible con el pico. (figura 4)

En el interior de la cavidad craneal se han desarrollado varias estructuras derivadas del injerto. (figuras 2 y 3)

Existe una estructura redondeada semejante al cristalino, aunque las fibras que lo forman no tengan la ordenación típica de las fibras cristaliniánas. (figura 5)

Junto a la superficie interna del cristalino se ha desarrollado un epitelio pigmentado, que al no disponer de espacio para crecer libremente, se ha plegado. (figuras 5 y 6)

Este epitelio pigmentado engloba parcialmente a la retina en la que, a pesar de estar también plegada, existen zonas donde podemos identificar con nitidez casi todas sus capas.

En la superficie de la retina que se relaciona con el epitelio pigmentado, observamos los fotorreceptores con los artículos externos y en la zona central de los pliegues se distingue una capa, ligeramente más pigmentada que probablemente corresponde a las fibras ópticas. Junto a ellas existen algunas células ganglionares y otra capa más ancha que identificamos como la plexiforme interna. (figuras 5 y 6)

La piel que cubre al cristalino capta con intensidad el colorante. (figura 5)

Junto a la retina y al epitelio pigmentado se han desarrollado algunos fragmentos de cartilago. (figuras 3 y 5)

EMBRIÓN O-260

Fig.1: Visión dorso-craneal de la cabeza donde vemos la distribución de los esbozos pigmentados de plumas y debajo de la piel cubierta por esas plumas aparece una pigmentación oscura. Entre los ojos del receptor observamos una estructura blanca que corresponde a un pico (flecha). (0,83x)

Fig.2: Corte frontal oblicuo donde observamos la situación de algunas estructuras que se han desarrollado a partir del injerto (flecha). (BB, 0,9x)

Fig.3: Corte que muestra la presencia de un acúmulo de pigmento y junto a él estructuras cartilaginosas. (BB, 2x)

Fig.4: Detalle del fragmento de pico que se ha desarrollado entre los dos ojos del receptor. (BB, 10x)

Fig.5: Detalle del injerto donde vemos el epitelio pigmentado y la retina muy plegados. También se ha desarrollado un cristalino en contacto con la superficie del embrión. (BB, 10x)

Fig.6: Detalle del epitelio pigmentado y de la retina. En esta última se distinguen algunas capas como la de los fotorreceptores y otra muy fina situada en el centro que identificamos como fibras ópticas. (BB, 20x)

Fig.1



Fig.2

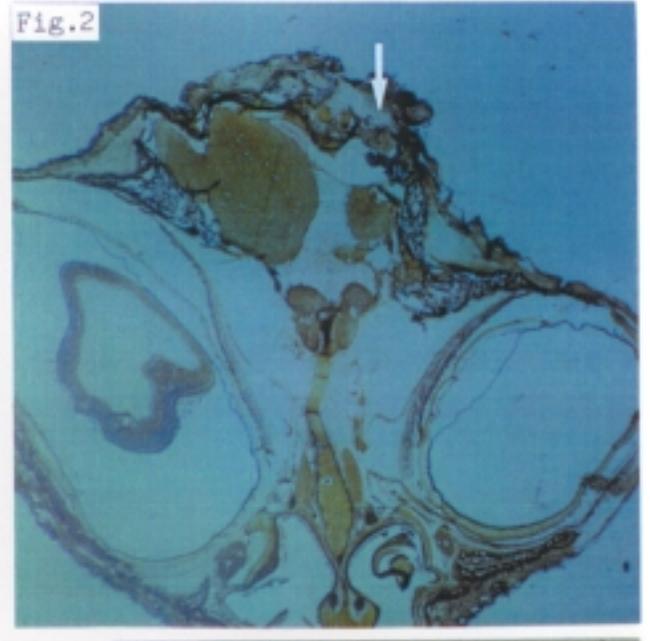


Fig.4



Fig.3

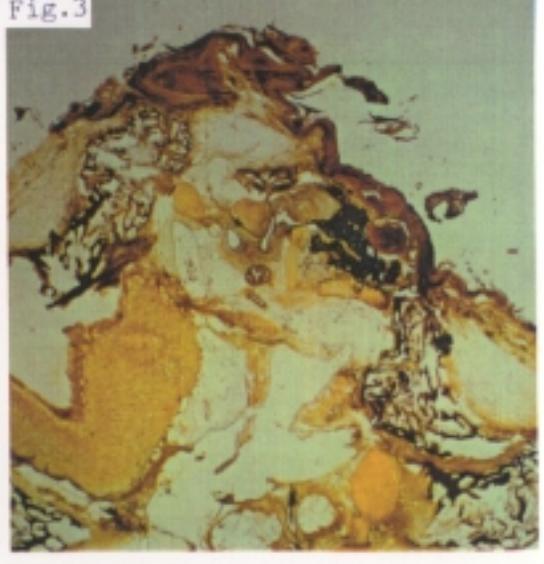


Fig.5

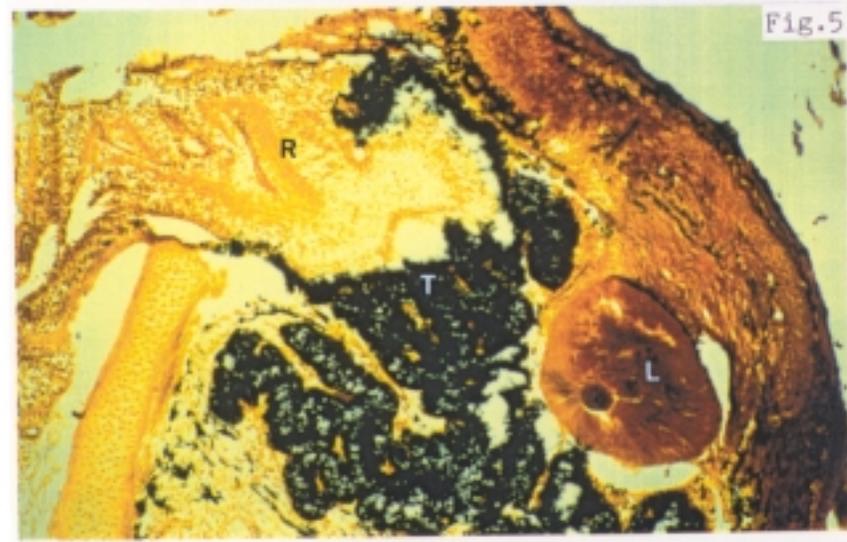
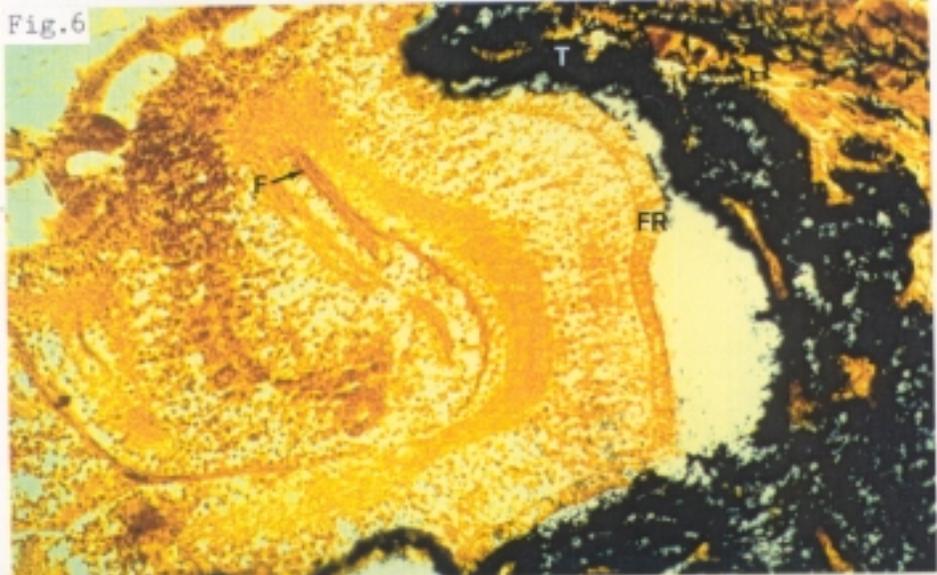


Fig.6





EMBRION O-263

Fig.1: Visión craneal de la cabeza donde se observa que en la zona media se han desarrollado algunos esbozos pigmentados de plumas y cubierta por la piel una estructura de pigmentación muy oscura. (0,83x)

### EMBRION: O-263

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 10 Z, 16 pares de somitos), en línea mediodorsal del diencéfalo de un embrión de pollo (E: 13 HH).

Se reincuba durante 15 días. Al abrir el huevo, el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 12 horas posteclosión.

Estadio teórico del Receptor: 43 HH.

#### ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión receptor está perfectamente formado y ha alcanzado un estadio 43 HH.

En la región más craneal y media de la cabeza se ha desarrollado una estructura de color oscuro que protuye ligeramente y cubierta de piel. A ese nivel aparecen algunos esbozos pigmentados de plumas. (figura 1)

#### ESTUDIO MICROSCOPICO:

Cubierto por la piel del receptor se ha desarrollado parte de un globo ocular orientado hacia el interior de la cavidad craneal. (figuras 2, 3, 6, 14 y 17)

En el globo ocular faltan algunas estructuras importantes como la córnea, el iris y el pecten. Sin embargo, otras como la retina y el epitelio pigmentado presentan algunas características interesantes.

La pared del ojo está formada por esclera, coroides, epitelio pigmentado y retina. (figuras 3, 14 y 16)

Rodeando la esclera y cubiertos por la piel, se han desarrollado algunos músculos oculares extrínsecos que se insertan en la propia esclera. (figuras 3, 14 y 16)

La esclera tiene, en general, forma ovoide; sus bordes (ligeramente engrosados) dejan un orificio cuyo diámetro varía de unas zonas a otras del injerto. (figuras 3 y 14)

La presencia del cristalino coincide con el menor diámetro del orificio escleral, por lo que a veces observamos que la región ecuatorial del cristalino está comprimida por los bordes de la esclera. (figura 17)

A ese nivel vemos que la superficie interna y externa de los bordes está tapizada por unos pliegues formados por epitelio pigmentado y retina ciega que corresponden a los procesos ciliares. (figuras 3, 4, 10, 11 y 17)

Antes de seguir con las estructuras propiamente oculares, queremos destacar la presencia de otras formaciones que se han desarrollado por fuera de la esclera. En la región lateral del ojo vemos una estructura de naturaleza nerviosa junto a otra formada por tejido óseo (figuras 14 y 15) y en cortes sucesivos observamos que se ha desarrollado otra, cuya estructura histológica corresponde a tejido glandular. (figuras 17 y 18)

El cristalino está bien desarrollado aunque, debido a la dirección de los cortes, en algunas zonas sólo vemos la región ecuatorial en uno de los laterales (figura 3). Como ya hemos descrito anteriormente en algunas zonas, el cristalino está comprimido por los bordes de la esclera. (figura 17)

Entre la esclera y el epitelio pigmentado se ha desarrollado la coroides en cuyo espesor destaca el pigmento y los vasos sanguíneos, algunos de ellos de gran tamaño. (figura 16)

La retina y el epitelio pigmentado se han desarrollado tanto por dentro como por fuera del límite escleral (figuras 2, 3, 6 y 17)

El epitelio pigmentado junto a la coroides tapiza la superficie interna de la esclera. A nivel de los bordes se pliega (formando parte de los procesos ciliares), sobrepasa el orificio escleral y fuera ya del globo ocular cubre parte de su superficie externa. Por último poco después desaparece. (figuras 3, 4, 10, 11 y 17)

Hemos observado que fuera del globo ocular existen algunas islas de epitelio pigmentado, pero son muy escasas. (figuras 6, 7, 13, 14 y 18)

En algunas zonas vemos que en el interior del globo ocular, el epitelio pigmentado presenta pliegues que acompañan, en parte, a pliegues de la retina neurosensorial. (figura 14)

En el interior del globo ocular, la retina neurosensorial conserva una morfología uniforme (figuras 3 y 17). La mayor parte está separada del epitelio pigmentado y en algunas zonas presenta pliegues. (figura 14)

En las zonas donde no ha perdido contacto con el epitelio pigmentado se observan numerosas interdigitaciones entre los artículos externos de los fotorreceptores y las células del epitelio pigmentado. (figura 8)

En el espesor de la retina neurosensorial vemos pocas células ganglionares y no distinguimos la capa de fibras ópticas. (figura 8)

La *pars terminalis retinae* se realiza de forma brusca, dentro y fuera del globo ocular. Prácticamente no existe *pars plana retinae*, ya que después de la transición, la retina ciega se pliega para formar la *pars ciliaris retinae* que a su vez rodea el borde escleral. (figuras 3, 10 y 11)

Aunque la retina neurosensorial desarrollada fuera del globo ocular ha crecido formando una cavidad cerrada (como un compartimento estanco) (figuras 5 y 17), presenta diferentes aspectos morfológicos.

Unas veces tiene una estratificación similar a la que veíamos en la retina diferenciada dentro del ojo; pero aquí las células ganglionares son más escasas y a pesar de no existir epitelio pigmentado se han desarrollado los artículos externos de los fotorreceptores que están libres. (figura 9)

En la zona donde aparece el cristalino, existen grandes y numerosos pliegues. (figuras 2, 4 y 17)

En regiones periféricas del injerto la cavidad cerrada que forma la retina, se colapsa por lo que ambas superficies internas (capa de células ganglionares) se ponen en contacto (figuras 7 y 12). En la zona más profunda se une al sistema nervioso del receptor de tal forma que es difícil independizar ambas estructuras. (figuras 13 y 19)

El cuerpo vítreo se ha desarrollado dentro y fuera del globo ocular. (figuras 3, 5 y 17)

Fig.2: Corte frontal oblicuo que muestra la situación del injerto en el interior de la cabeza del embrión. (BB, 1x)

Fig.3: Corte del injerto donde vemos que en el globo ocular se ha desarrollado el cristalino y fuera existen grandes pliegues de retina neurosensorial. (BB, 4x)

Fig.4: Detalle de la retina neurosensorial que ha crecido plegada fuera del globo ocular. (BB, 10x)

Fig.5: Dentro de la cavidad que forma la retina fuera del globo ocular, se ha desarrollado vítreo. (BB, 4x)

Fig.6: Corte a otro nivel donde vemos que la retina neurosensorial crece al interior de la cavidad craneal y se une al sistema nervioso del receptor. (BB, 1x)

Fig.7: Detalle de las dos retinas neurosensoriales fusionadas y su unión con el sistema nervioso del receptor (flecha). (BB, 10x)

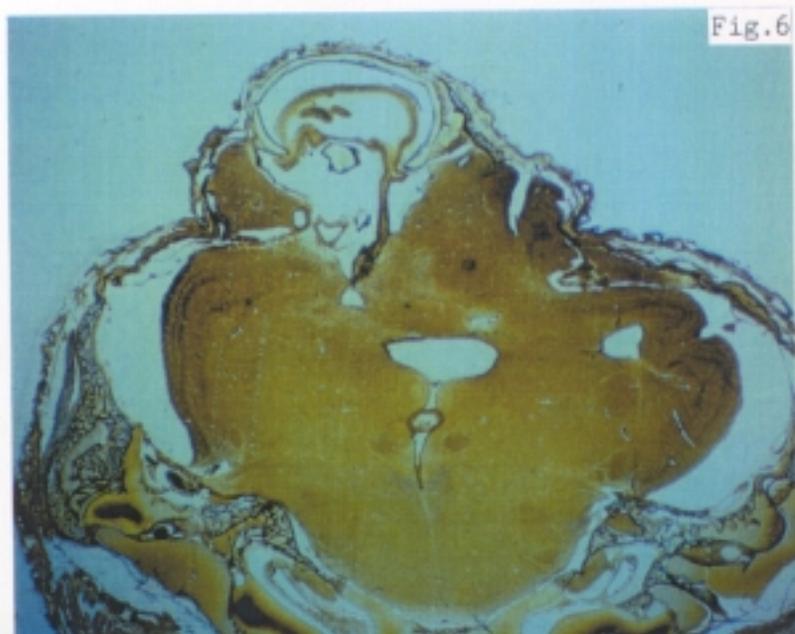
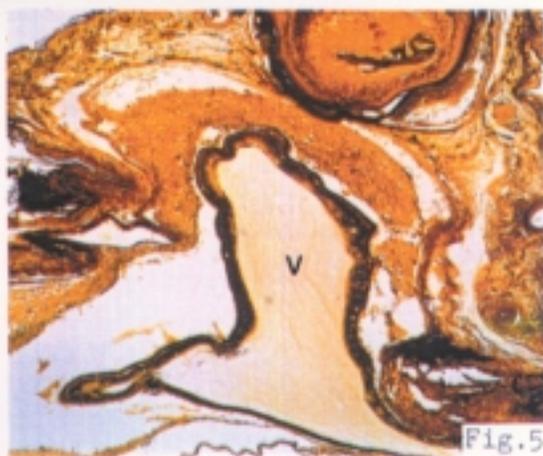
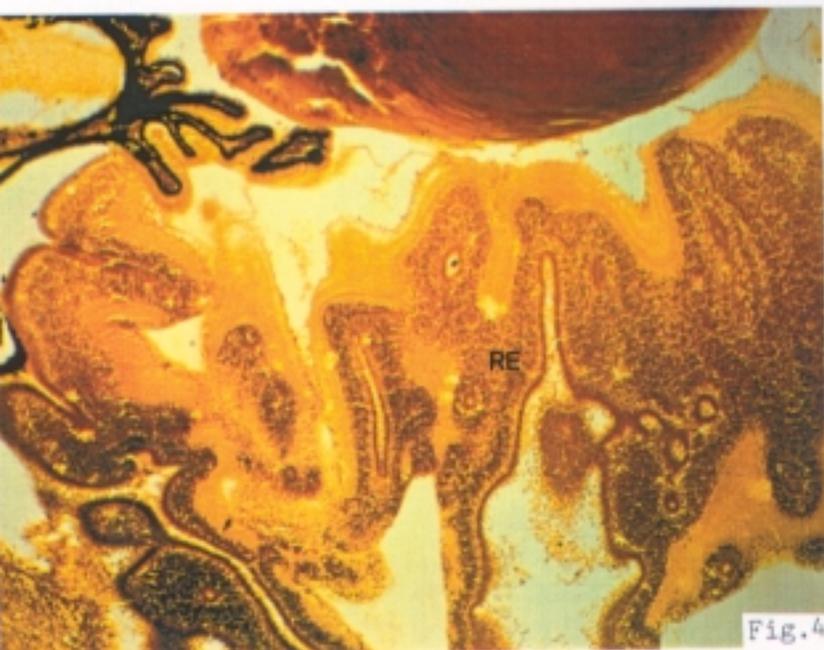
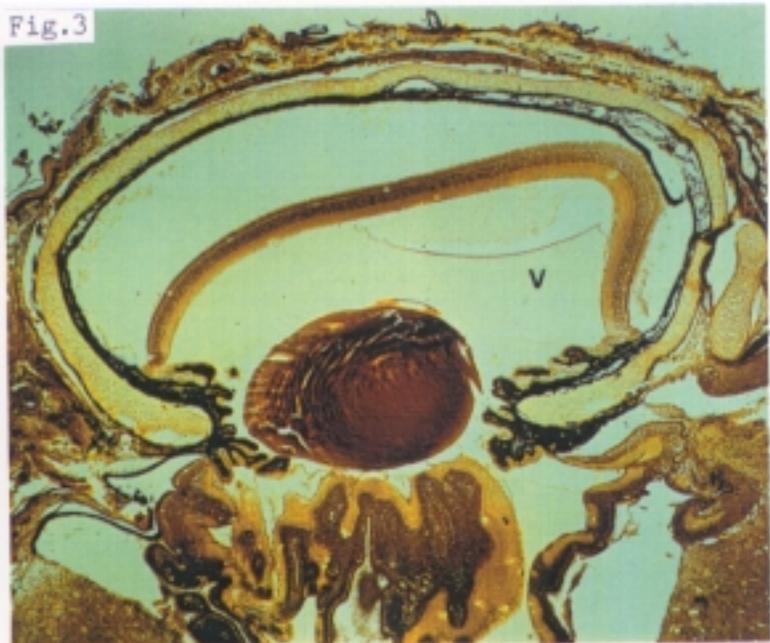
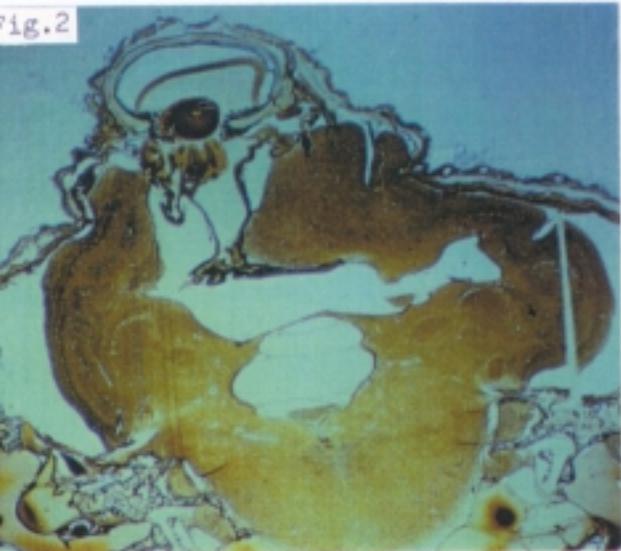


Fig.8: Detalle de la retina neurosensorial que se ha desarrollado en el interior del globo ocular. (BB, 40x)

Fig.9: Detalle de la retina neurosensorial que se ha desarrollado fuera del globo ocular. (BB, 40x)

Fig.10: Detalle de la *pars terminalis retinae* del interior del globo ocular. (BB, 40x)

Fig.11: Detalle de la *pars terminalis retinae* fuera del globo ocular. Vemos también algunos procesos ciliares. (BB, 40x)

Fig.12: Detalle de las dos retinas neurosensoriales (unidas por su superficie interna) donde destacan los artículos externos de los fotorreceptores haciendo relieve en la superficie de ambas. (BB, 40x)

Fig.13: Corte que muestra la unión de la retina neurosensorial con el sistema nervioso del receptor. (BB, 10x)

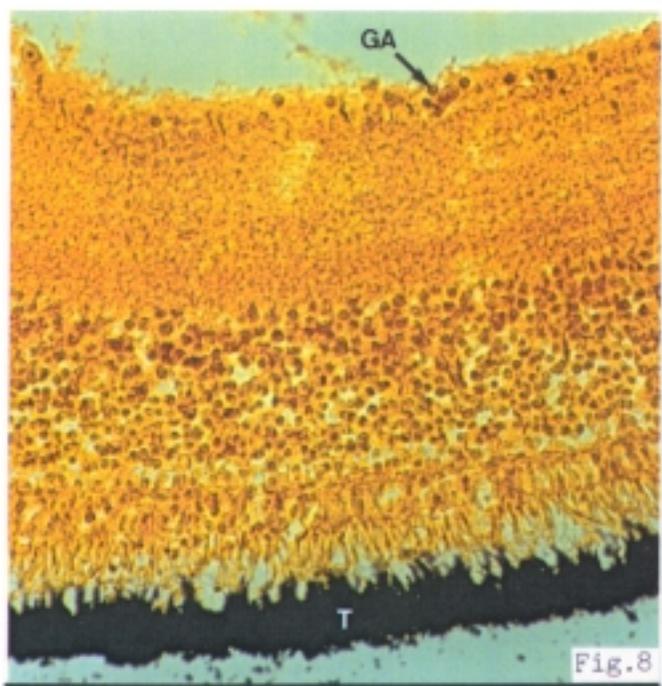


Fig.8

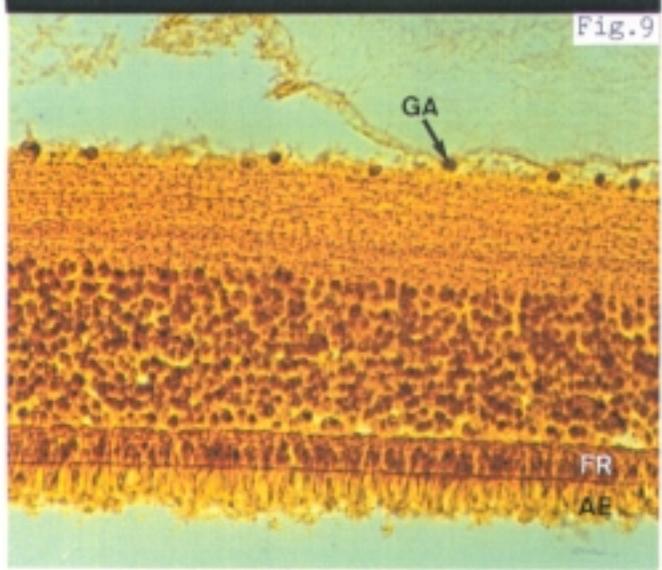


Fig.9

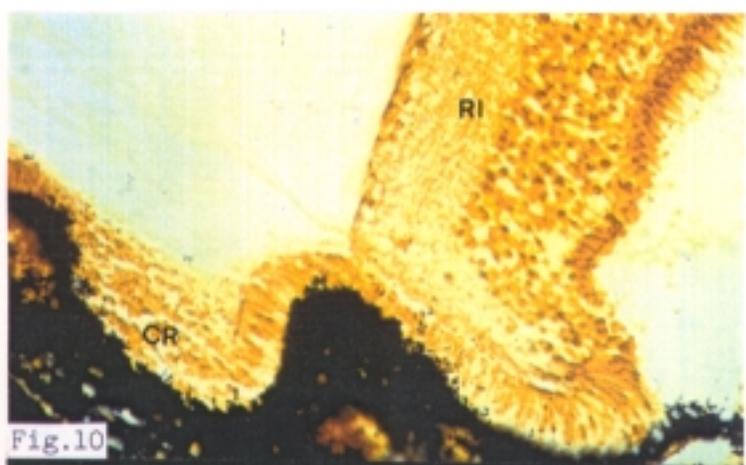


Fig.10

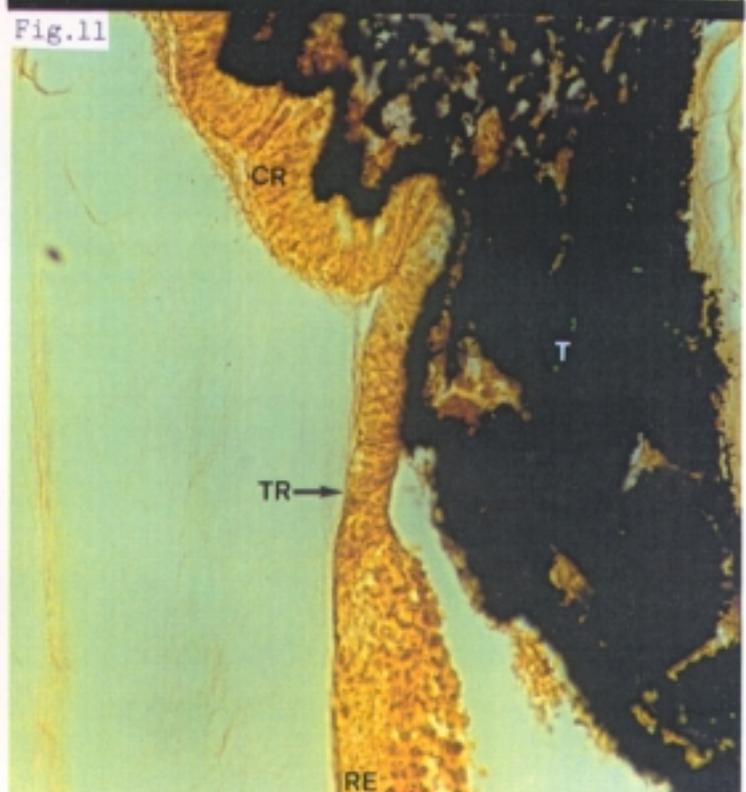


Fig.11

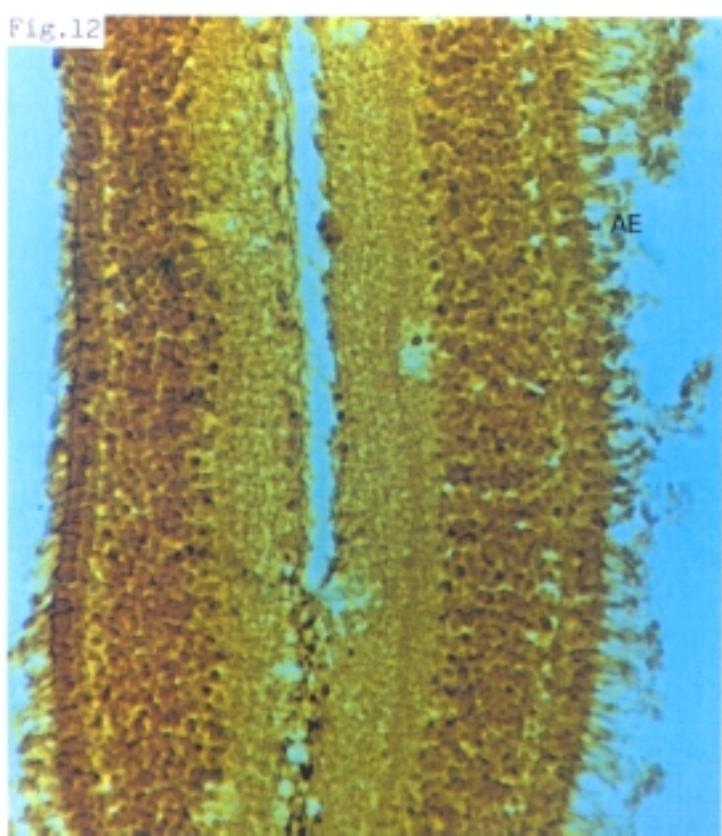


Fig.12



Fig.13

Fig.14: Corte que muestra algunos pliegues del epitelio pigmentado y en el lateral del globo ocular dos estructuras, una cartilaginosa y otra formada por tejido nervioso. (BB, 4x)

Fig.15: Detalle de la estructura formada por tejido nervioso. (BB, 20x)

Fig.16: Detalle de la pared del globo ocular donde vemos la musculatura ocular extrínseca, la esclera, la coroides (con pigmento y grandes vasos sanguíneos) y el epitelio pigmentado. (BB, 20x)

Fig.17: Corte del injerto a otro nivel que muestra ambas retinas neurosensoriales (dentro y fuera del globo ocular). También vemos una estructura fuera del ojo que parece una glándula (asterisco). (BB, 2x)

Fig.18: Detalle de la estructura glandular y de la unión de la retina neurosensorial con el sistema nervioso del receptor. (BB, 10x)

Fig.19: Detalle de la unión de la retina neurosensorial con el sistema nervioso del receptor. (BB, 10x)

Fig.14 Fig.15

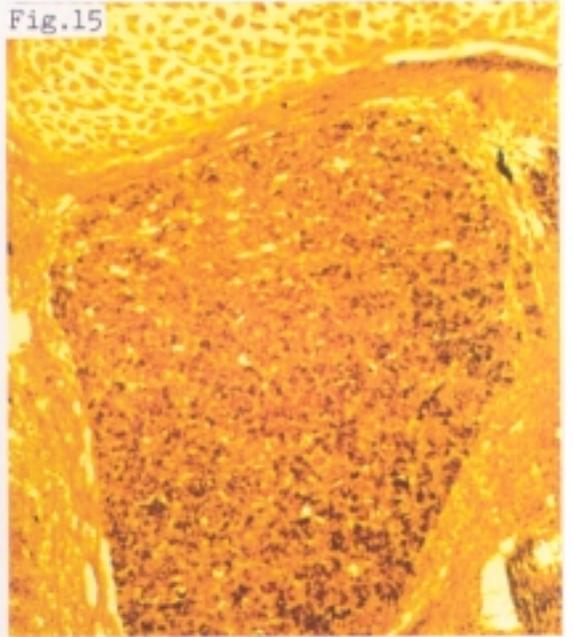
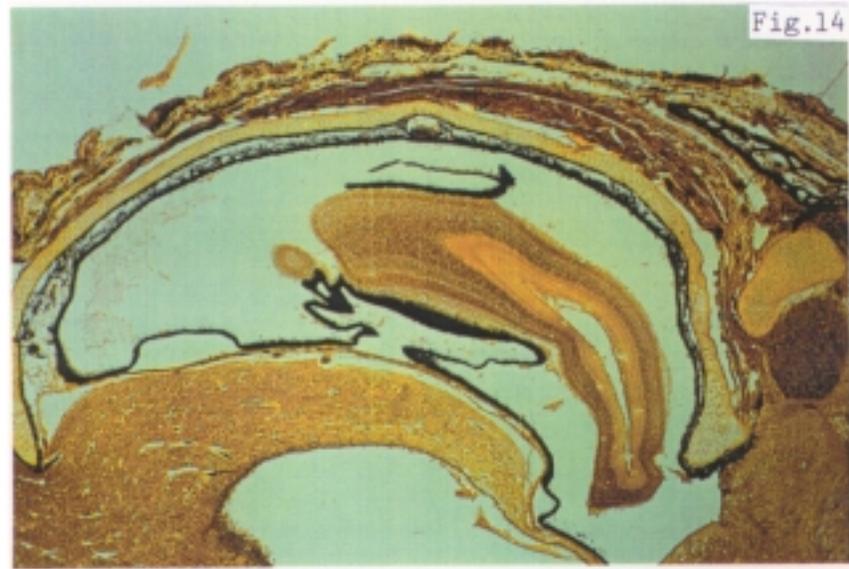
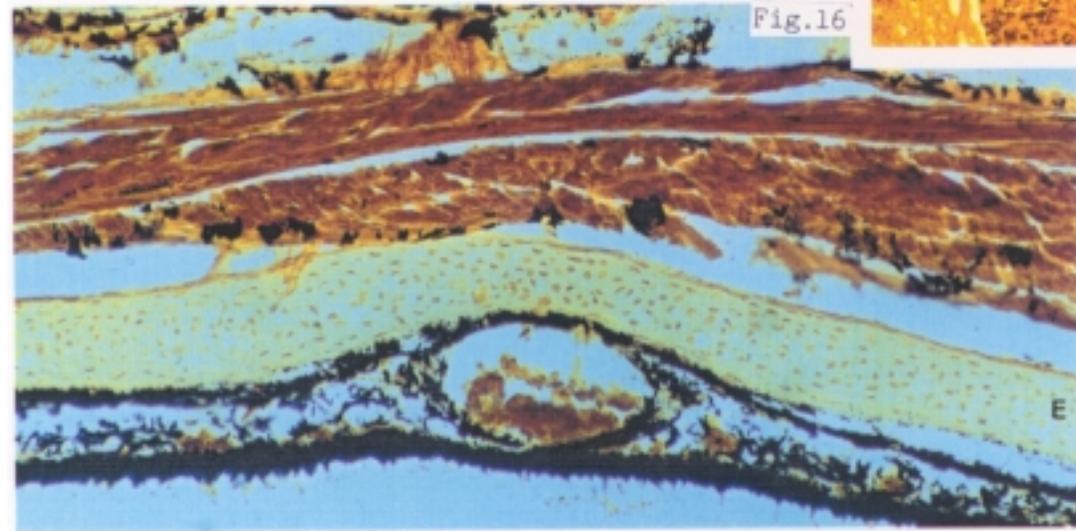


Fig.16



MO

E

CO

Fig.17 Fig.18

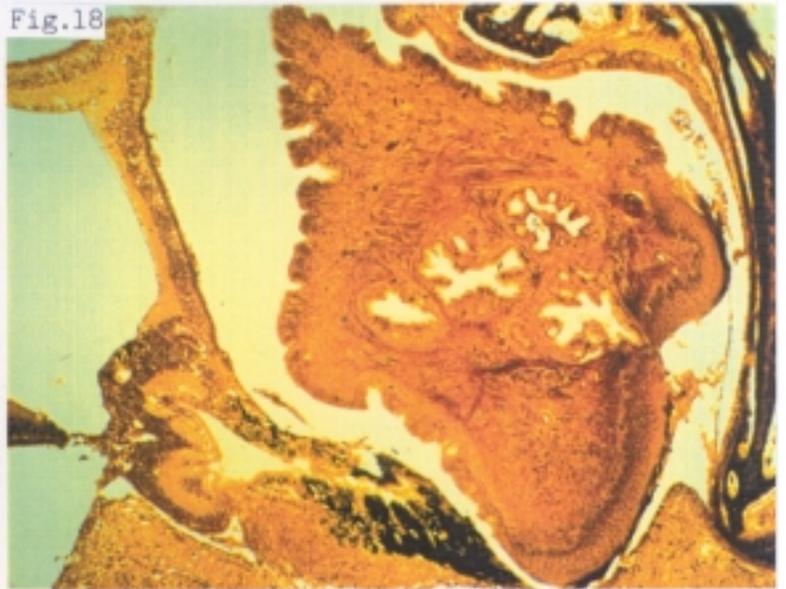
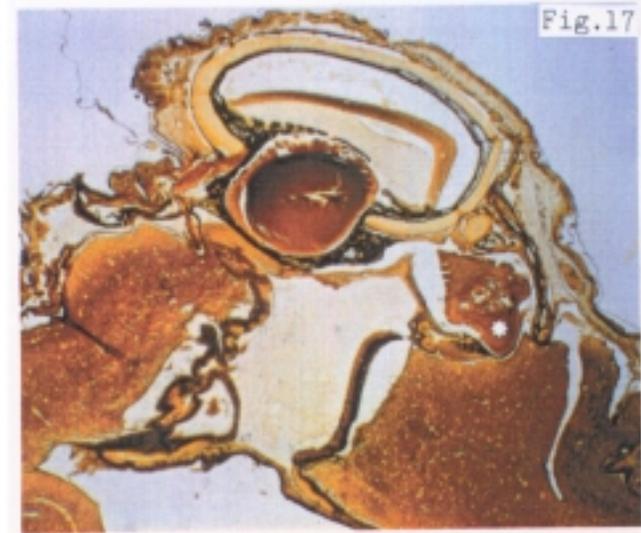


Fig.19



RE

EMBRION O-173

Figs.1 y 2: Visiones craneales de la cabeza donde se observa la situación de los esbozos pigmentados de plumas y de la estructura redonda y pigmentada que se ha desarrollado a partir del injerto. (0,83x y 1,8x)



EMBRION: O-173

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 11 Z, 19 pares de somitos) en línea mediodorsal del diencéfalo de un embrión de pollo (E: 12 HH).

Se reincuba durante 16 días. Al abrir el huevo, el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 36 horas posteclosión.

Estadio teórico del Receptor: 44 HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión receptor está perfectamente formado y ha alcanzado un estadio 43 HH.

En la zona más craneal de la cabeza se observa un penacho de esbozos pigmentados de plumas. Debajo de estas plumas y cubierta por la piel se ha desarrollado una estructura redonda y pigmentada. (figuras 1 y 2)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

En el interior de la cabeza se ha desarrollado un globo ocular cubierto por piel y rodeado parcialmente por el sistema nervioso del receptor. (figuras 3 y 4)

La especial dirección del corte nos permite ver en un lado del cristalino, la zona central del epitelio anterior (desprendido) y en el lado opuesto se puede observar, como del ecuador se originan las fibras secundarias con sus núcleos aún visibles y como se incorporan al interior del cristalino. (figuras 4 y 5)

La mayor parte del cristalino está fuera de la cavidad ocular. Sin embargo, hay zonas donde los bordes de la vesícula óptica se unen a la región preecuatorial del epitelio anterior. (figura 5)

Los procesos ciliares presentan grandes y numerosos pliegues. En el espesor de los pliegues observamos el epitelio pigmentado tapizado por la retina ciega (*pars ciliaris retinae*). (figura 6)

A partir de la capa externa de la vesícula óptica se ha diferenciado el epitelio pigmentado. En la mayoría del injerto presenta un grosor inferior cuando se relaciona con la retina neurosensorial, que cuando forma parte de los procesos ciliares y del resto de retina ciega. (figuras 5 a 8)

A partir de la capa interna de la vesícula óptica se ha desarrollado la retina (neurosensorial y ciega).

En la retina neurosensorial identificamos con claridad todas las capas, incluso los fotorreceptores con sus artículos externos y las células ganglionares. Sin embargo, la capa de fibras ópticas es muy fina. (figuras 6 a 8)

La retina neurosensorial presenta numerosos pliegues a los que no acompaña el epitelio pigmentado. Estos pliegues tienen, en general, un desarrollo normal. (figura 6)

Observamos que a nivel de la *pars terminalis retinae* se fija la hialoides vítrea. (figura 8)

La limitante interna acompaña a la hialoides vítrea en el colapso que sufre el vítreo. (figuras 6 a 8)

En algunas zonas, el epitelio pigmentado está rodeado por una capa vascularizada y parcialmente pigmentada, que puede corresponder a la coroides. (figuras 7 y 8)

No hemos observado indicios del nervio óptico ni esbozos del pecten y no se ha desarrollado ni la córnea ni la esclera.

Fig.3: Corte frontal oblicuo donde vemos que el injerto se ha desarrollado en el interior de la cabeza, cubierto por la piel (flecha). (BB, 0,8x)

Fig.4: Corte donde observamos que, rodeado por el sistema nervioso del receptor, existe un globo ocular con cristalino, retina y epitelio pigmentado. (BB, 2x)

Fig.5: Detalle del cristalino donde vemos el epitelio anterior y la perfecta ordenación de las fibras. (BB, 20x)

Fig.6: Corte donde observamos que en el globo ocular se han desarrollado los procesos ciliares. En el interior existe vítreo. (BB, 10x)

Fig.7: Detalle de la retina neurosensorial donde distinguimos con claridad todas sus capas. También vemos el epitelio pigmentado. (BB. 40x)

Fig.8: Detalle de la *pars terminalis retinae*. A ese nivel observamos la presencia de la limitante interna y la hialoides vítrea (flechas). (BB, 40x)

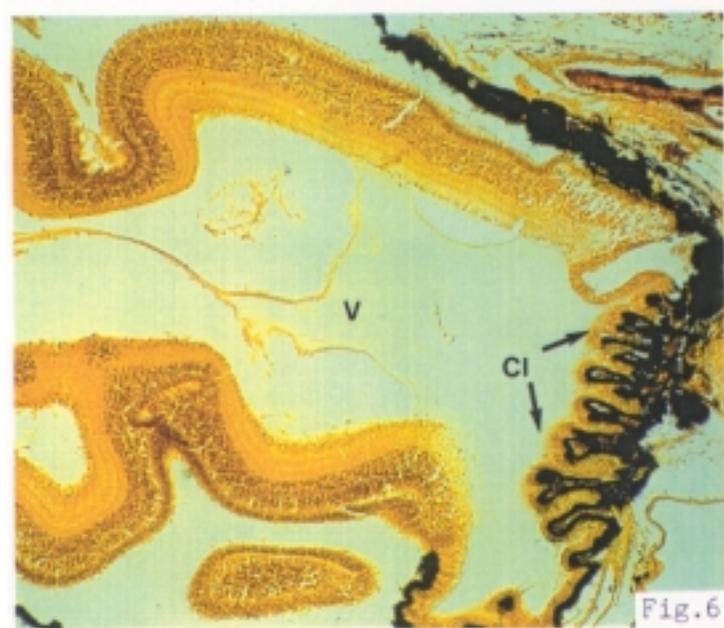
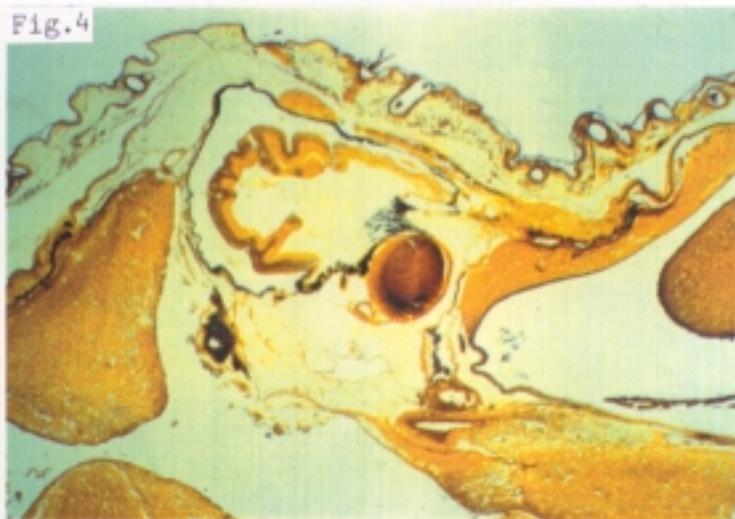
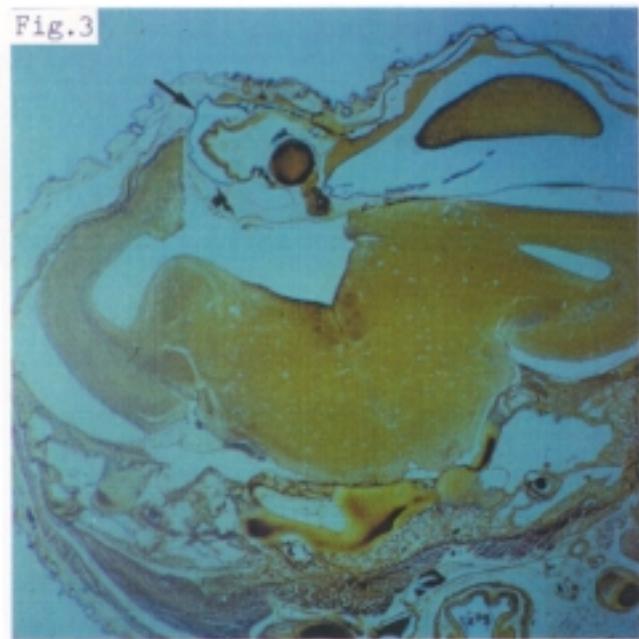
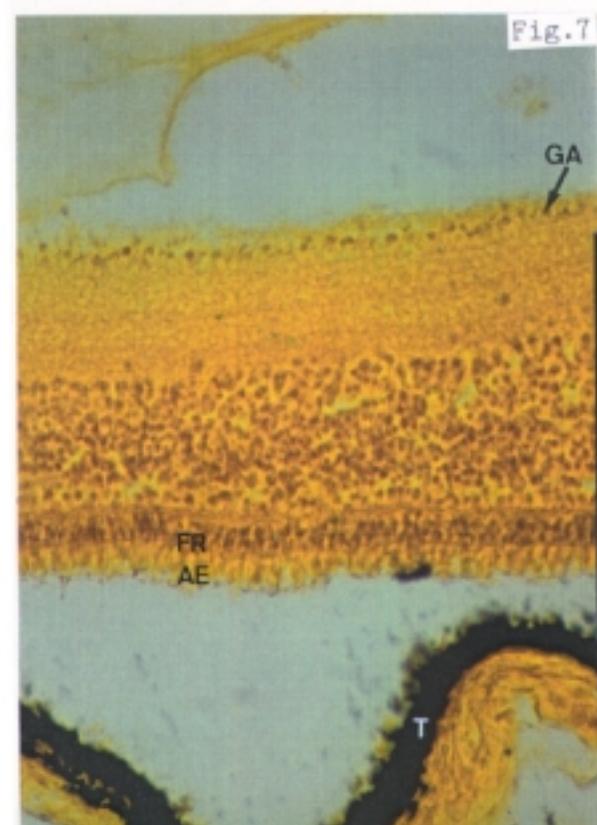
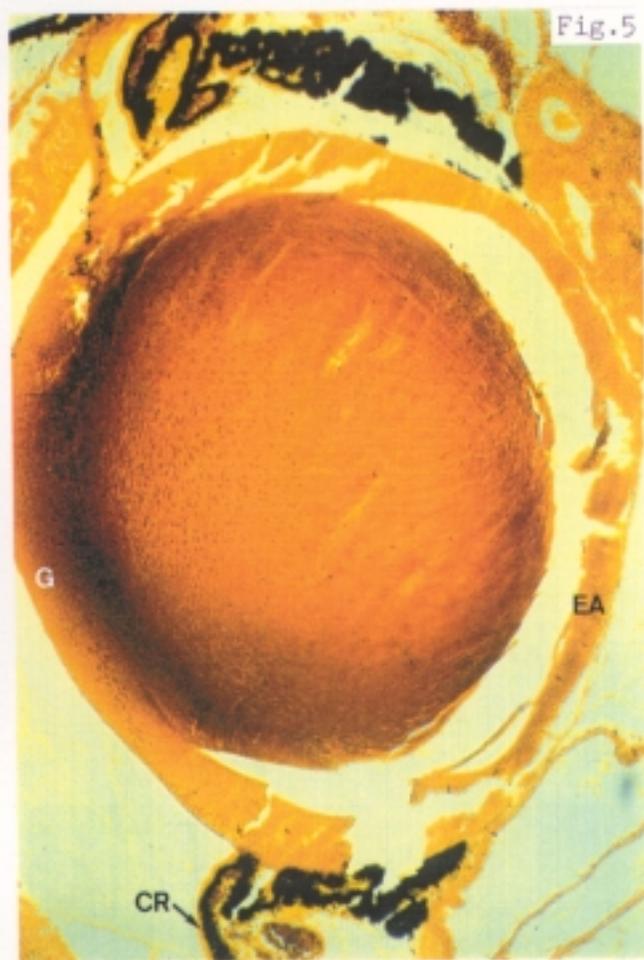


Fig.6



EMBRION O-227

EMBRION: O-227

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 12 Z, 22 pares de somitos), en la región craneal y media del diencéfalo de un embrión de pollo (E: 11 HH).

Se reincuba durante 16 días. Al abrir el huevo, el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 40-42 horas posteclosión.

Estadio teórico del Receptor: 43-44 HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión receptor está perfectamente formado, excepto por la microftalmia izquierda que presenta y ha alcanzado un estadio 41 HH.

El orificio del conducto auditivo externo izquierdo tiene aspecto piriforme y está orientado hacia el ojo.

El pico superior es más corto que el inferior y está desviado a la izquierda. El borde libre de la cresta también se ha desplazado a la izquierda.

Los esbozos pigmentados de plumas cubren el ojo microftálmico; también se han desarrollado junto a los orificios de las fosas nasales y a ambos lados de la cresta. (figura 1)

Tras desplumar completamente la cabeza vemos que la hendidura palpebral izquierda se reduce a un pequeño orificio cuyo reborde está muy pigmentado.

Debajo de la piel existe una pigmentación oscura que es más intensa en la zona dorsal al reborde pigmentado. (figura 2)

### ESTUDIO MICROSCOPICO:

No observamos ninguna estructura ocular compatible con el desarrollo del injerto, pero existe una microftalmía izquierda.

El tectum óptico derecho es mucho más pequeño que el izquierdo. (figura 3)

El ojo microftálmico presenta, a nivel del segmento anterior, la retina ciega y el epitelio pigmentado cubriendo la cápsula posterior del cristalino, no existiendo iris.

El epitelio anterior del cristalino tiene un grosor parecido, tanto en la zona central como a nivel ecuatorial y preecuatorial. Está fusionado a la córnea.

La córnea presenta una morfología atípica si la comparamos con la córnea contralateral. (figura 3)

La retina ciega y el epitelio pigmentado, forman unos pequeños pliegues parecidos al esbozo de los procesos ciliares.

Existe un plegamiento del epitelio pigmentado que hace relieve en el interior del globo ocular.

En la zona de los pliegues, la retina es más delgada que en el resto, pierde la estratificación en capas y desaparecen los fotorreceptores. (figuras 4 y 5)

EMBRIÓN O-227

Fig.1: Visión lateral izquierda de la cabeza donde se observa la microftalmía izquierda y la distribución de los esbozos pigmentados de plumas. (1x)

Fig.2: Detalle del globo ocular izquierdo tras quitar los esbozos de plumas. Vemos que la hendidura palpebral es un pequeño orificio parcialmente rodeado por un reborde muy pigmentado (flecha). (1,3x)

Fig.3: Corte frontal oblicuo que muestra la microftalmía izquierda. (BB, 0,8x)

Fig.4: Detalle del ojo microftálmico donde vemos que en el cristalino, la cápsula posterior está tapizada por el epitelio pigmentado y la retina ciega; y el epitelio anterior está parcialmente fusionado a la córnea. También observamos unos pliegues del epitelio pigmentado (flecha). (BB, 2x)

Fig.5: Detalle de los pliegues del epitelio pigmentado que hacen relieve en el interior del globo ocular. A ese nivel desaparecen los fotorreceptores de la retina neurosensorial (flecha). (BB, 10x)

Fig.1



Fig.2

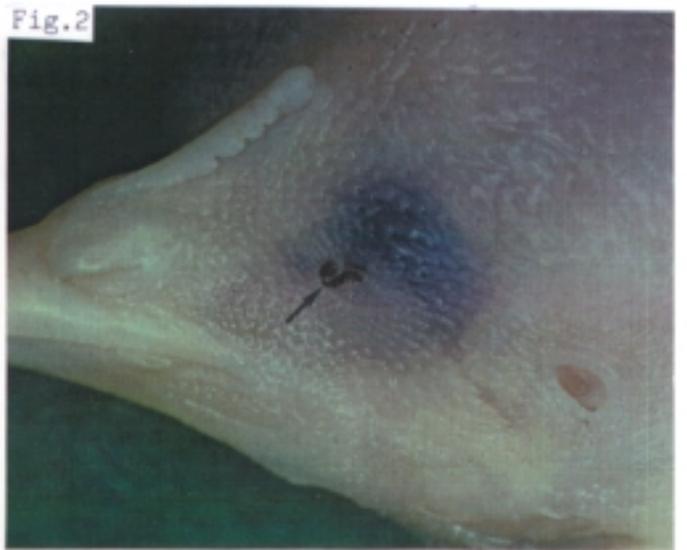


Fig.3

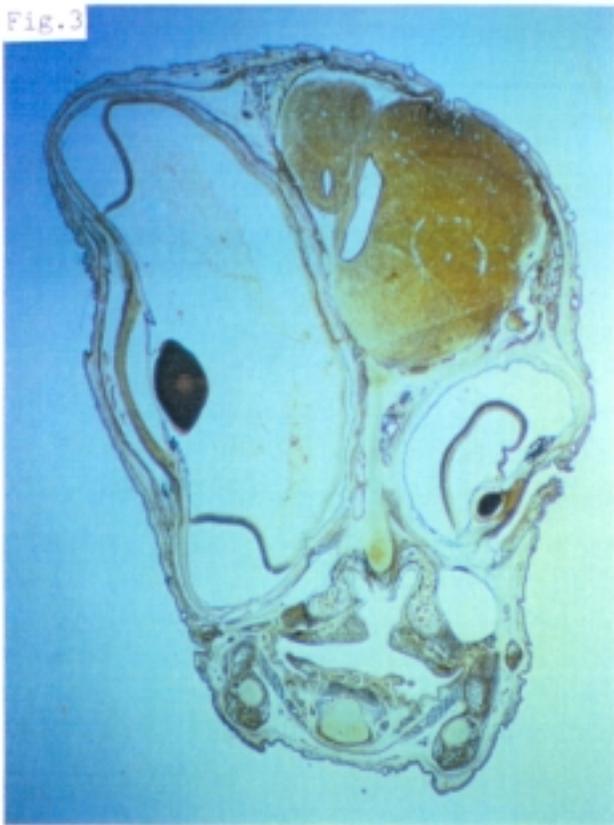


Fig.4

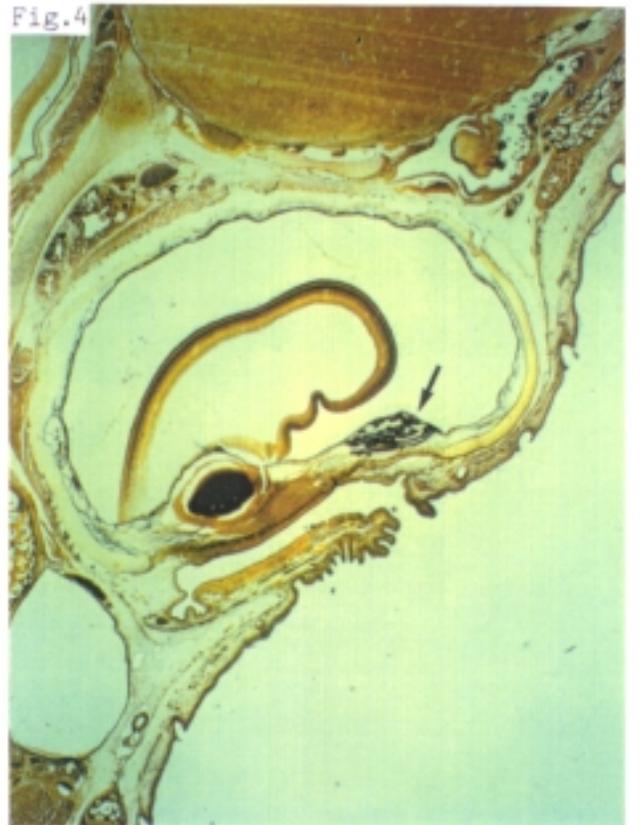
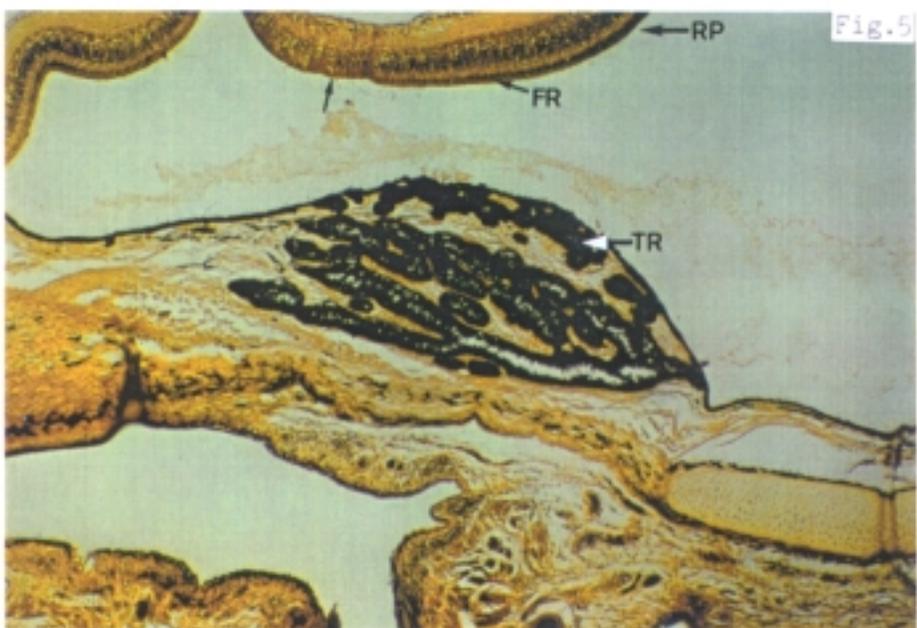


Fig.5



**EMBRION O-230**

### EMBRIÓN: O-230

Injerto de la vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 12 Z, 22 pares de somitos), en la región craneal y media del diencéfalo de un embrión de pollo (E: 11+ HH)

Se reincuba durante 16 días. Al abrir el huevo, el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 40-42 horas posteclosión.

Estadio teórico del Receptor: 43-44 HH.

### ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión receptor está perfectamente formado, excepto por la microftalmia izquierda que presenta y ha alcanzado un estadio 41 HH.

El orificio del conducto auditivo externo izquierdo tiene aspecto ovalado y está orientado hacia el ojo.

El pico superior es más corto que el inferior y está desviado a la izquierda. El borde de la cresta también está desplazado a la izquierda.

Los esbozos pigmentados de las plumas cubren parcialmente el ojo microftálmico.

La hendidura palpebral se reduce a un pequeño orificio cuyos bordes están ligeramente pigmentados.

Debajo de la piel de los párpados observamos una ligera pigmentación oscura. (figuras 1 y 2)

### ESTUDIO MICROSCOPICO:

No observamos ninguna estructura ocular que haya podido desarrollarse a partir del injerto, pero existe una microftalmia izquierda. (figura 3)

La superficie interna del cristalino está parcialmente rodeada por un pliegue de la retina ciega y del epitelio pigmentado que parecen haberse fusionado a una zona del ecuador del epitelio anterior. (figura 4)

La córnea presenta una morfología atípica al compararla con la del ojo derecho; además está parcialmente fusionada al epitelio anterior del cristalino. Por este motivo no existe cámara anterior.

El borde del pliegue de retina ciega y epitelio pigmentado tiene una morfología que recuerda al iris. (figura 4)

La retina presenta una estratificación normal, aunque la capa de fibras ópticas es muy fina si la comparamos con la retina contralateral.

La retina ciega y el epitelio pigmentado forman algunos pliegues de escaso tamaño que parecen el esbozo de los procesos ciliares.

En el lado opuesto existe un plegamiento del epitelio pigmentado que hace relieve en el interior del globo ocular. (figuras 4 a 7)

La retina neurosensorial que se sitúa frente al plegamiento del epitelio pigmentado, disminuye de grosor, pierde la estratificación en capas y desaparecen los fotorreceptores. (figuras 5 y 6)

EMBRION O 230

Fig.1: Visión lateral izquierda de la cabeza donde se observa la microftalmía y la distribución de los esbozos pigmentados de plumas. (1x)

Fig.2: Visión craneal donde observamos la asimetría de la cabeza. (1x)

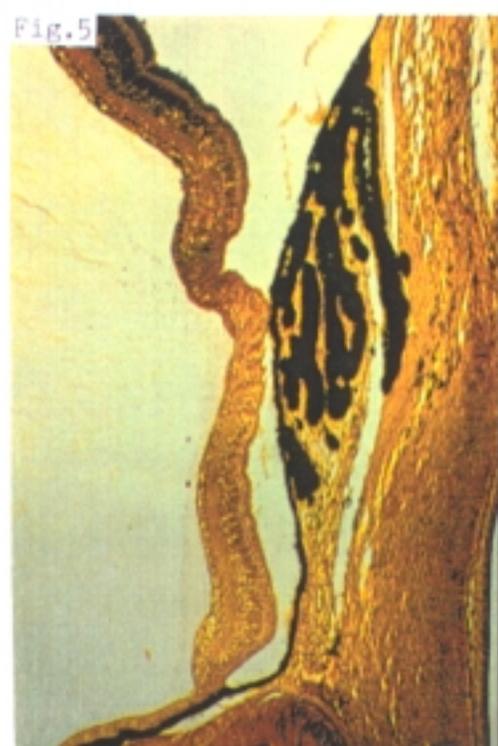
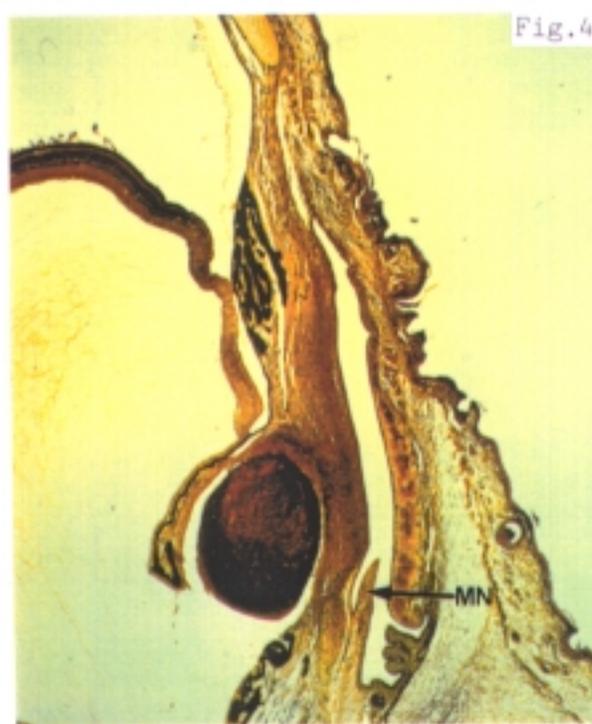
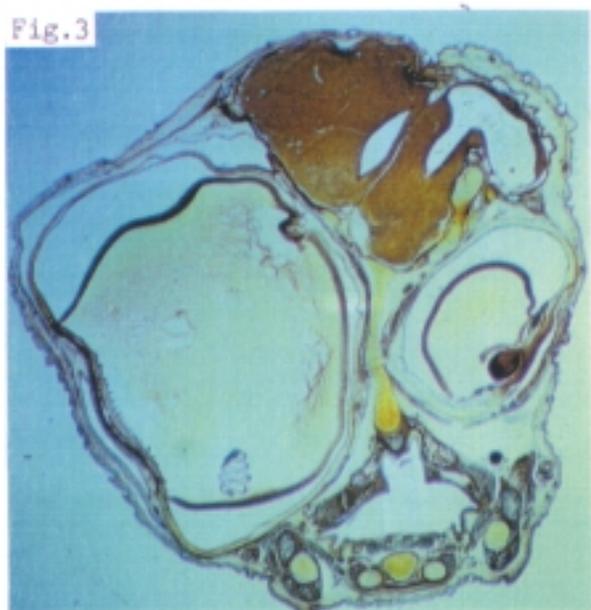
Fig.3: Corte frontal oblicuo que muestra la diferencia de tamaño entre ambos ojos. (BB, 0,8)

Fig.4: Detalle del segmento anterior del ojo microftálmico donde vemos el esbozo de la membrana nictitante y como el cristalino está unido, por su cara interna a un pliegue de retina ciega y epitelio pigmentado, y por su cara externa a la córnea. (BB, 4x)

Fig.5: Detalle del plegamiento del epitelio pigmentado que hace relieve en el interior del globo ocular. (10x)

Fig.6: Detalle de la figura anterior donde vemos la alteración que presenta la retina (perdiendo la capa de fotorreceptores), a nivel del plegamiento del epitelio pigmentado (flecha). (BB, 20x)

Fig.7: Detalle a nivel del inicio de los pliegues del epitelio pigmentado. (BB, 40x)



## ABREVIATURAS INJERTOS

AE.....	Artículos externos de los fotorreceptores
BB(V).....	Bielchowsky en bloque (Virado)
BI.....	Pico inferior
BP.....	Pico superior pigmentado
C.....	Córnea o esbozo
CA.....	Cámara anterior o esbozo
CC.....	Cajal-Castro
CI.....	Procesos ciliares
Cl.....	Cámara cristaliniiana
CO.....	Coroides
CR.....	<i>Pars ciliaris retinae</i>
D.....	Diamante del pico
E.....	Esclera. Cartilago escleral
EA.....	Epitelio anterior del cristalino
ED.....	Ectodermo del injerto
EDP.....	Ectodermo del receptor
EN.....	Endotelio corneal o esbozo
EP.....	Epitelio corneal o esbozo
ES.....	Estrato acelular o estroma corneal
F.....	Fibras ópticas
F1.....	Fibras primarias del cristalino
F2.....	Fibras secundarias del cristalino
FE.....	Feulgen
FR.....	Fotorreceptores
G.....	Ecuador del cristalino
GA.....	Células ganglionares
GO.....	Globo ocular del injerto
GOP.....	Globo ocular del receptor
HC.....	Hematoxilina de Carazzi
I.....	Iris o esbozo
J.....	Injerto
L.....	Cristalino o esbozo
MD.....	Mesodermo del injerto
MN.....	Membrana nictitante
MO.....	Músculos oculares extrínsecos
MP.....	Mesodermo del receptor
NO.....	Fascículo óptico
NV.....	Estructura nerviosa
P.....	Pecten
PI.....	Estructura compatible con pico
PO.....	Pediculo óptico
PPR.....	<i>Pars plana retinae</i>
R.....	Retina del injerto
RE.....	Retina externa del injerto
RI.....	Retina interna del injerto
RN.....	Retina transformada del epitelio pigmentado.
RP.....	Retina del receptor
SM.....	Sevier-Munger
T.....	Epitelio pigmentado del injerto

TP.....Epitelio pigmentado del receptor  
TR.....*Pars terminalis retinae*  
V.....Cuerpo vítreo  
VO.....Ventrículo óptico

# DISCUSSION

## 1. EMBRION DE CODORNIZ

En primer lugar vamos a comentar las diferencias que existen entre nuestro trabajo y el de ZACCHEI (1961), en cuanto al desarrollo del órgano de la visión. Sólo podemos comparar con ella los aspectos macroscópicos.

Antes creemos que es necesario mencionar lo que pensamos puede ser una errata del trabajo de ZACCHEI.

En el Estadio (E) 27 Z, esta autora afirma que el pico mide entre 2,1 y 2,2 mm., igual o inferior al estadio 26 Z (2,2 mm.); sin embargo, en todos los embriones control del estadio 27 Z estudiados por nosotros, la longitud del pico osciló entre 2,3 y 2,4 mm.

Nosotros observamos el primer esbozo de la placoda cristaliniiana en el estadio 10 Z (16 somitos) y ZACCHEI en el 11 Z (19 somitos).

ZACCHEI no distingue la invaginación de la vesícula óptica primaria y de la placoda cristaliniiana hasta el E: 13 Z (24-26 somitos); aunque nosotros la hemos visto en el E: 12 Z (22 somitos).

En nuestros embriones los primeros indicios de pigmentación macro (por el efecto de aposición) y microscópica, aparecen en el E: 16 Z; sin embargo, ZACCHEI afirma que se inicia en el E: 15 Z y hasta el 18 Z no se observa nítidamente a simple vista.

Para ZACCHEI, los primeros esbozos de las papilas esclerales se distinguen en el E: 21 Z y para nosotros en el 22 Z.

Finalmente los párpados se cierran completamente en el E: 30 Z (ZACCHEI) y en el 31 Z en nuestra serie.

Si tenemos en cuenta que nuestros embriones han sido datados según los criterios de ZACCHEI, la mayor discrepancia, aunque no es importante, está relacionada con el inicio de la pigmentación ocular.

Queremos destacar aquí que las únicas referencias microscópicas encontradas sobre el embrión de codorniz, son de JIMENEZ COLLADO y cols. (1978) y tratan sobre la aparición de los primeros pliegues de los procesos ciliares. Estos autores los sitúan en el 6º día de incubación, que según ZACCHEI corresponde al estadio 22 Z; sin embargo, nosotros no hemos encontrado ningún pliegue hasta el estadio 24 Z (7 días de incubación).

Un capítulo interesante en este apartado es conocer las diferencias que existen entre el desarrollo del embrión de pollo y de codorniz.

Guiandonos por el trabajo de ZACCHEI (1961) que equipara los estadios de ambas especies (Tabla 1), si bien esta autora no hace referencia a los aspectos microscópicos de las estructuras oculares; vamos a comparar el desarrollo de las estructuras oculares más importantes insistiendo únicamente en las que presenten algún "desfase", ya sea a favor o en contra.

En nuestra exposición referiremos los datos morfológicos al estadio de pollo según HH y a continuación pondremos, entre paréntesis (-> ), el estadio que le correspondería según la Tabla 1.

TABLA 1

CODORNIZ (2).....POLLO (HH)

1.....	3+
2.....	4
3.....	5
4.....	6
5.....	7
6.....	8
7.....	9
8.....	10
9.....	11
10.....	12
11.....	13
12.....	14
13.....	15-16
14.....	16-18
15.....	19-20
16.....	21-22
17.....	23-24
18.....	25
19.....	26
20.....	27-28
21.....	29
22.....	30-31
23.....	32-34
24.....	35
25.....	36-37
26.....	38
27.....	39
28.....	40
29.....	41-42
30.....	43
31.....	44
32.....	45
33.....	46

Tomada de ZACCHEI (1961).

En el embrión de pollo en ventrículo óptico se oblitera en el estadio 17 HH (-> 14 Z); sin embargo, en nuestros embriones control de codorniz no desaparece hasta los estadios 15 y 16 Z, incluso quedan restos del ventrículo óptico en los bordes de la vesícula óptica.

Con las técnicas histológicas empleadas no es posible realizar el estudio exhaustivo de la estratificación en capas de la retina. Utilizando Hematoxilina de Carazzi observamos una fina capa de fibras ópticas en el estadio 18 Z, cuando debería verse entre los estadios 14 y 16 Z si nos guiamos por las equivalencias con el embrión de pollo.

En los controles de codorniz distinguimos todas las capas de la retina en el estadio 24 Z; mientras que en el pollo esta característica se aprecia en el E: 36 HH (-> 25 Z).

Hasta el E: 16 Z no observamos los primeros granos de pigmento en la capa externa de la vesícula óptica. En el embrión de pollo están descritos en los E: 18 y 19 HH (-> 14 y 15 Z). Macroscópicamente no existen diferencias. También en ambas especies, la pigmentación se inicia en la zona central y avanza hacia los bordes de la vesícula óptica; lo contrario que en el gorrión (SLONAKER, 1921).

En el embrión de pollo las primeras células que entran en la cavidad ocular acompañando a la arteria *cupulae opticae* (esbozo del pecten), se distinguen entre los estadios 26 HH (-> 19 Z) para SZILY (1922) y ROMANOFF (1960) y 28 HH (-> 20 Z) para O'RAHILLY y MEYER (1955). Nosotros en el embrión de codorniz lo localizamos en el estadio 17 Z. Sin embargo, los primeros pliegues del pecten se observan antes en el embrión

de pollo (35 HH -> 24 Z) que en el de codorniz (26 Z).

En el E: 40 HH (-> 28 Z), el pecten del pollo está completamente pigmentado y presenta un desarrollo histológico semejante al del animal adulto. En el embrión de codorniz el desarrollo se completa entre los estadios 28 y 30 Z.

Las distintas fases del desarrollo y diferenciación del cristalino (formación de la placoda, fosa y vesícula cristaliniiana; desaparición de la luz y degeneración de los núcleos de las fibras) coinciden en los embriones de pollo y codorniz según las equivalencias expuestas en la Tabla 1.

En la córnea hemos encontrado pequeñas diferencias.

Las oleadas mesodérmicas con la formación del endotelio y del estroma, la aparición de la cámara anterior y el cambio de curvatura de la córnea en relación al resto del globo ocular, coinciden en ambas especies.

Respecto a las membranas de Bowman y de Descemet existen discrepancias, pues con microscopía óptica, en el embrión de pollo la membrana de Bowman se distingue en el E: 37 HH (-> 25 Z) y la membrana de Descemet en el E: 38 HH (-> 26 Z). Sin embargo, nosotros hemos observado por primera vez en el estadio 23 Z la presencia de unas líneas densas que identificamos como membranas de Bowman y Descemet.

En el embrión de pollo los primeros pliegues de los procesos ciliares aparecen, según los autores, entre los E: 28-30 HH (-> 20-22 Z) para NUSSBAUM (1901) y ORTS LLORCA (1975); 33-34 HH (-> 23 Z) para LEWIS (1903); y a partir del E: 35 HH (-> 24 Z) para COULOMBRE (1956b). Nuestras observaciones determinan que los pliegues de los procesos

ciliares en el embrión de codorniz se distinguen en el E: 24 Z; aunque ya comentamos que JIMENEZ COLLADO y cols. (1978) los observan en el 6º día de incubación (22 Z).

## 2. INJERTOS. GENERALIDADES

Antes de pasar a la discusión de los resultados obtenidos en los injertos, es necesario hacer una breve referencia a varios factores relacionados con la técnica quirúrgica como el método, condiciones de éxito, supervivencia o mortalidad y retraso en el desarrollo de los injertos.

Son muy pocos los autores que realizan injertos de vesícula óptica entre diferentes especies de aves, McKEEHAN (1951) utiliza embriones de pollo y pato y PUCHADES ORTS y JIMENEZ COLLADO (1973), JIMENEZ COLLADO y cols. (1978, 1981 y 1983) y PUERTA FONOLLA y cols. (1984), embriones de pollo y codorniz.

Por la similitud con los Métodos A y B, queremos destacar los trabajos de BOYDSTON y SOHAL (1979a y b); pues aunque utilizan embriones de pollo, sitúan los injertos junto a la vesícula óptica derecha del receptor.

En la bibliografía hemos encontrado muy pocas referencias sobre los porcentajes de éxito y menos aún de las condiciones que deben cumplirse para ser consideradas como tal.

El éxito es un parámetro que varía con cada autor y con la finalidad de sus trabajos.

Así, ALEXANDER (1937) obtiene un 90% de éxitos, pues únicamente considera el desarrollo de tejido ocular en el lugar del injerto.

Sin embargo, como BOYDSTON y SOHAL (1979a y b) necesitan que las vesículas ópticas injertadas estén incluidas en la órbita derecha del receptor, que tengan movimiento ocular, que alcancen un tamaño normal y que exista una buena

diferenciación histológica de retina y cristalino, sólo obtienen un 8% de éxitos.

Excepto algún caso, nosotros hemos incluido en los resultados todos aquellos embriones quimera donde macro y microscópicamente pudimos observar el desarrollo de varias estructuras oculares procedentes del injerto de codorniz. Por supuesto, a lo largo del trabajo experimental encontramos un gran número de embriones que macroscópicamente cumplían esta condición, pero que no era posible su proceso histológico por el estado de maceración que presentaban los tejidos.

Si consideramos únicamente los embriones utilizados en los resultados, vemos que hemos obtenido un porcentaje global de éxito del 6,3% (10% en el Método A; 4,3% en el B y 4,6% en el C).

Aunque no guarda relación directa con el presente trabajo queremos destacar que HEATON (1973), realizando heterotransplantes homotópicos de vesícula óptica obtiene un 78% de incorporaciones al receptor. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la mortalidad oscila entre el 43% y el 82% según el tiempo que se considere tras la cirugía.

No hemos encontrado cifras sobre la supervivencia o mortalidad de los injertos. Por este motivo vamos a tomar como referencia los trabajos sobre transplantes.

Estamos de acuerdo con MARTINOVITCH y PAVLOVIC (1958) y MARTINOVITCH (1958), cuando afirman que la mortalidad de sus embriones se debe a la delicada estructura que manejan. Estos autores, como nosotros en el Método C, manipulan el cerebro anterior.

Coincidimos plenamente con HEATON (1973), cuando concluye que las causas de la alta mortalidad de sus heterotransplantes homotópicos son el trauma quirúrgico, la alteración de la integridad del embrión y la apertura del huevo que dificulta los giros normales, disminuyendo la viabilidad de los embriones, sobre todo de los más desarrollados.

Nosotros creemos que para completar las causas de mortalidad, es necesario añadir el riesgo de infección y el conflicto de espacio que crean los injertos dentro del receptor. Así en el Método C, al gran crecimiento que experimentan las vesículas ópticas se añade la importancia vital de la zona receptiva; es decir, del sistema nervioso central.

Para finalizar, queremos mencionar que estamos de acuerdo con los autores que afirman sobre la existencia de un retraso en el desarrollo y crecimiento, tanto de los transplantes (MARTINOVITCH y PAVLOVIC, 1958; MARTINOVITCH, 1958) como de los injertos (JIMENEZ COLLADO y cols, 1978), en relación al estadio teórico que deberían alcanzar.

El retraso en el desarrollo de las distintas estructuras que pertenecen al injerto, se debe al periodo de latencia originado por la intervención, unido al tiempo que transcurre hasta que se normaliza de nuevo el desarrollo. En los embriones muertos *in ovo*, el retraso es mayor ya que es necesario añadir el intervalo que va desde la muerte hasta la fijación. En nuestros resultados, este periodo está incluido dentro del tiempo de reincubación.

## 2.1. METODO A

Para el estudio del Método A, hemos escogido 9 embriones vivos y 1 embrión muerto no macerado (O-77), donde el injerto prendió y se desarrolló.

Todas las vesículas ópticas, excepto la del O-20, se han desarrollado en la parte supero-dorsal o dorsal del globo ocular derecho del embrión receptor. Aquellos que han sobrevivido más tiempo (12 días), el injerto aparece cubierto parcial o totalmente por la piel y los párpados.

No hemos incluido los embriones macerados ni los que a pesar de estar vivos el injerto había prendido, éste no se había desarrollado.

Vamos a estudiar cada estructura en todos los embriones, viendo en conjunto las características comunes y especiales que presentan.

### 2.1.1. CORNEA

La córnea se ha diferenciado en todos los casos, excepto en dos (O-45 y O-77).

Normalmente, el grado de desarrollo de la córnea guarda relación con el estadio teórico alcanzado, si lo comparamos con el de los embriones control; pero existen dos casos donde ésto no se cumple, uno por defecto (O-8) y otro por exceso (O-15).

El esbozo corneal del embrión O-8, presenta una sola capa que corresponde al epitelio; aunque según el estadio teórico alcanzado, debería tener dos capas (epitelio y endotelio)

separadas por el estrato acelular. Periféricamente se une, sin solución de continuidad, con el ectodermo del receptor en unas zonas (figuras 4, 6, 12 y 13) y con la retina externa del injerto en otras (figuras 4 a 6 y 11a a 11c).

El aspecto del epitelio corneal en el embrión 0-8 (figura 10) es muy parecido al del embrión control del estadio 16 (figura 4).

El retraso en el desarrollo corneal puede explicarse por dos motivos; en primer lugar, la ausencia de mesodermo en gran parte de la periferia corneal (figura 5), impide o dificulta que se realice la primera oleada mesodérmica (esbozo del endotelio). El otro motivo se basa en que el epitelio anterior del cristalino y sobre todo la zona central, influye en el desarrollo y estratificación normal de la córnea (GENIS GALVEZ, 1966). Este autor demostró que la córnea detiene su desarrollo cuando se rota el cristalino 180° en el interior de la vesícula óptica; es decir, cuando se impide la relación normal entre el epitelio anterior del cristalino y el esbozo corneal. Así el desarrollo de la córnea continúa solamente cuando el cristalino se reestructura; o lo que es igual, cuando las fibras se transforman en epitelio anterior y el epitelio anterior en fibras.

En el embrión 0-8, el esbozo corneal tiene mayor relación con las regiones ecuatorial y preecuatorial (figuras 5 y 11d) que con la zona central del epitelio anterior (figura 10). Esto, unido a que en la mayor parte del injerto la pared de la vesícula óptica se interpone entre la córnea y el cristalino (figuras 6 y 11a a 11c), puede explicar el retraso en el

desarrollo corneal.

A pesar de la ausencia de endotelio, el espacio ópticamente vacío limitado por el esbozo corneal, el cristalino y los bordes de la vesícula óptica, pensamos que corresponde al esbozo de la cámara anterior (figuras 5 y 11d)

En la zona central de la córnea del embrión 0-15, se observa el estroma corneal (figura 6) aunque, según el estadio teórico alcanzado (20 Z), no debería existir pues no tendría que haberse producido la segunda oleada mesodérmica. Es decir, que el desarrollo de la córnea se ha adelantado y se parece más al estadio 21 Z (figura 5) o 22 Z (figura 4).

El embrión receptor ha alcanzado el estadio 33 HH y sus córneas presentan tres capas celulares perfectamente delimitadas.

Las tres capas de la córnea del embrión 0-15 derivan del receptor, pues el epitelio se continúa periféricamente con el ectodermo superficial del receptor y el estroma y endotelio con el mesodermo del receptor.

Si la córnea deriva de los tejidos del receptor, puede estar más influenciada por su origen que por su situación y no tiene porque seguir el desarrollo cronológico del injerto. Esto podría explicar el grado más avanzado de diferenciación corneal (JIMENEZ COLLADO y cols., 1978).

Vamos a referirnos ahora a los dos embriones quimera donde no se ha desarrollado ninguna estructura que corresponda a la córnea (0-45 y 0-77).

Ambos comparten una característica común; prácticamente todo el injerto está rodeado por la retina y/o por el epitelio pigmentado (O-45, figuras 3 y 8a a 8f; O-77, figuras 4 a 6). Es decir, entre el cristalino y el ectodermo se sitúa la pared de la vesícula óptica.

La extirpación del cristalino en estadios precoces del desarrollo detiene la histogénesis normal de la córnea (GENIS GALVEZ y cols., 1969). Cuando se extirpa en estadios más avanzados, la córnea pierde progresivamente su estructura (COULOMBRE, 1965); es decir, la influencia del cristalino sobre la morfogénesis corneal no es puntual, sino que se realiza durante un largo periodo del desarrollo embrionario.

Por lo tanto, si se impide desde el principio la relación normal entre el cristalino y el ectodermo superficial (primordio de la córnea), no se diferenciará la córnea. En estos casos, podemos equiparar la extirpación del cristalino con la existencia de una barrera (la pared de la vesícula óptica) entre cristalino y ectodermo.

En otros experimentos de GENIS GALVEZ y cols. (1967), encaminados a esclarecer la existencia de "regeneración de WOLFF" del cristalino en embriones de ave (pollo), observaron que en los casos donde se regeneraba cristalino a partir de los bordes de la vesícula óptica, sobre todo a partir del epitelio pigmentado, únicamente se formaba cámara anterior delante de aquellas zonas del cristalino que habían perdido completamente el pigmento. Y la cámara anterior es fundamental en la diferenciación del endotelio y la membrana de Bowman (HAGEDOORN, 1928; COULOMBRE, 1965).

En el embrión O-45 existe otro detalle no menos importante que los anteriores y que podría explicar por sí solo la ausencia del esbozo corneal. El cristalino está orientado hacia el interior del injerto (figuras 3, 8b y 8c) y como ya hemos comentado, cuando el cristalino se gira  $180^\circ$  en el interior de la vesícula óptica, la córnea detiene su desarrollo hasta que se reestructura el cristalino (GENIS GALVEZ, 1966). Es decir, las pocas zonas donde no existe una barrera entre cristalino y ectodermo este último no recibe la influencia del epitelio anterior, sino de las fibras cristalinas que no participan en la morfogénesis corneal.

Tres embriones quimera (O-35, O-37 y O-10) presentan parecido desarrollo en relación al esbozo de la cámara anterior y de la córnea. Todos muestran el epitelio y endotelio separados por el estrato acelular.

En relación al origen de cada una, también existen coincidencias entre ellos.

El esbozo del epitelio corneal tiene una o dos hileras de células cúbicas que se continúan periféricamente con el ectodermo superficial del embrión receptor (O-35, figura 3; O-37, figura 4 a 7; O-10, figura 6). Con la tinción de Feulgen (O-35 y O-37) prácticamente no se observan células con nucleolos evidentes. Aunque el embrión O-10 está teñido con Bielchowsky en bloque y no se puede constatar este detalle, es significativa la relación entre el epitelio y el ectodermo.

Si al estudiar el esbozo endotelial seguimos los esquemas de los embriones O-35 y O-37 así como sus figuras correspondientes, vemos que no existe ninguna duda sobre el origen de esta estructura, ya que deriva del mesodermo del injerto.

En el embrión O-10 no se puede afirmar categóricamente el origen del endotelio; pero si tenemos en cuenta lo visto en los casos anteriores y que el mesodermo de donde surge el endotelio (el que recubre los bordes de la vesícula óptica, figuras 4 y 6) es más denso que el resto; sí podemos incluirlo con los dos embriones teñidos con Feulgen.

La causa de que el esbozo epitelial derive del embrión receptor, se debe a que las vesículas ópticas se injertan entre los estadios 10 y 11 Z (estadio de placoda cristaliniana). Durante el desarrollo del injerto en el embrión quimera, la placoda se transforma en fosa y ésta en vesícula. Esto provoca que el ectodermo injertado se utilice en la formación del esbozo cristaliniano; en el proceso de invaginación y cierre es muy probable que en las zonas periféricas de estas estructuras participe el ectodermo del receptor.

A continuación vamos a comentar las córneas de los tres últimos embriones (O-39, O-20 y O-88).

La córnea del embrión O-39 presenta diferentes grados de desarrollo; por eso la hemos dividido en tres partes (figura 11).

En la zona 1, que corresponde a la de mayor grosor de la córnea, se observan las tres capas celulares típicas del estadio teórico alcanzado por el injerto (21 Z). Es decir, se está iniciando la segunda oleada mesodérmica con células procedentes del tejido mesodérmico que rodea el borde de la vesícula óptica y que pertenece al injerto (con nucleolos evidentes). Estas células se introducen entre el epitelio y el endotelio para formar el estroma.

El endotelio (capa interna) presenta una hilera de células planas, también con nucleolos evidentes, pues deriva del mismo mesodermo. Sin embargo, el epitelio (capa externa) se continúa con el ectodermo del receptor y en sus células no se observan los nucleolos.

En la periferia de la zona 2 existen dos capas celulares, el epitelio y por debajo se inicia la formación del endotelio (como en el estadio control 17 Z); pero en las células de esta primera oleada mesodérmica no se observan los nucleolos pues el mesodermo pertenece al receptor.

Finalmente en la zona 3 sólo hay una capa celular que corresponde al epitelio; es decir, por su aspecto morfológico corresponde al estadio control 16 Z.

Como hemos podido ver el estadio teórico (21 Z) únicamente se cumple en la zona 1.

El retraso en el desarrollo del resto de la córnea puede ser debido, en primer lugar al íntimo contacto que existe entre la región preecuatorial del epitelio anterior del cristalino y el epitelio corneal en la zona 2. Esto dificultaría físicamente la entrada de células mesodérmicas

entre ambas estructuras e impediría la formación normal del endotelio. Y en segundo lugar, puede deberse a que el mesodermo pertenece al receptor y no al injerto.

Si admitimos que la causa del retraso en la morfogénesis corneal se debe a este último motivo, podemos pensar que existe una relación especie-específica entre ambas especies similar a la que describen JIMENEZ COLLADO y cols. (1981 y 1983) con relación a la afinidad que tienen las fibras ópticas del nervio óptico de codorniz por el mesencéfalo de su misma especie.

Aunque no podemos descartar completamente esta explicación, hay que tener en cuenta el contacto entre cristalino y epitelio corneal. Además en los embriones quimera O-35, O-37 y O-10, hemos visto que en el esbozo corneal el epitelio pertenece al receptor y el endotelio al injerto. Por lo tanto en esos casos no podemos hablar de relación especie-específica en la córnea.

En el embrión O-20 la estructura que hemos identificado como la córnea (figuras 4 y 5) tiene una morfología parecida a las córneas de los estadios control 21 (figura 5) y 22 Z (figuras 4 y 5), aunque algo desestructurada, pues no existe una clara delimitación del estroma con el epitelio y el endotelio.

El esbozo de la cámara anterior es una pequeña franja ópticamente vacía entre la córnea y el cristalino. Una de las causas que ha podido contribuir a ello es la escasa cantidad de mesodermo que existe en el injerto.

Es normal que cuando se explica el desarrollo de la córnea, se haga en base a un globo ocular que se encuentra formando parte de un todo, que es el embrión.

Así para que disminuya el radio de curvatura corneal y por lo tanto para un buen desarrollo corneal, es necesario (dejando aparte interacciones, inducciones, etc...) que aumente la presión intraocular y que se condrifique el anillo cartilaginoso situado en el limbo córneo-escleral (WEISS y AMPRINO, 1940; COULOMBRE, 1957; COULOMBRE y C, 1958 y 1961; O'RAHILLY, 1962). Nosotros hemos observado que en el embrión de codorniz esta modificación del radio aparece entre los estadios 23 y 24 Z.

Pero, ¿qué ocurre en los estadios anteriores con la presión intraocular y la comprensión de los tejidos periorbitales?; simplemente que ambos factores están compensados, lo que contribuye al normal desarrollo de la córnea.

Si aislamos el globo ocular del armazón que representan las estructuras periorbitales, modificamos las condiciones normales. Esto es lo que de forma casual ha ocurrido con el injerto en el embrión quimera O-20.

Nosotros pensamos que uno de los factores que ha contribuido a la desestructuración corneal es el crecimiento del injerto, sin compresiones de los tejidos externos.

La presión intraocular que en condiciones normales existe durante el desarrollo, repercute más sobre la córnea porque es la única formación que no está protegida por ninguna estructura. En nuestro caso la presión se aplica por igual

sobre toda la esfera del globo ocular, con lo que disminuye la que se ejerce sobre la córnea.

En el embrión O-88, algunas zonas del epitelio anterior del cristalino están en íntimo contacto con parte de la superficie interna de la córnea. A ese nivel no se identifica el endotelio corneal; además en esas zonas el estroma y el endotelio están alterados (figura 5).

El estroma alterado presenta un gran espesor, a expensas sobre todo de la mitad externa donde existen numerosas vacuolas ópticamente vacías. El epitelio aparece desestructurado y parcialmente desprendido.

El aspecto microscópico de esta zona coincide con el de un edema corneal por lesión endotelial.

La córnea sana tiene un aspecto homogéneo en todas las capas. En el estroma no se observa la banda densa central, aunque en el tercio externo existe mayor concentración de queratocitos. La morfología en esta zona es similar a la que presenta la córnea del estadio control 31 Z (figura 3).

Todas las características que observamos en la córnea desestructurada indican que la zona de contacto con el cristalino no son artefactos debidos a la técnica histológica; pues la morfología de las alteraciones y la ausencia de endotelio señalan que la fusión entre ambas estructuras se realizó en los estadios anteriores al que presenta en el momento de la fijación.

### 2.1.2. CRISTALINO

En todos los embriones se ha diferenciado un cristalino más o menos desarrollado. Normalmente el grado de desarrollo coincide o está ligeramente retrasado, en relación a los estadios teóricos que deberían haberse alcanzado.

A causa de que los cristalinos presentan detalles particulares y comunes a otros, no podemos hacer una división clara para su estudio. Sin embargo, hay dos embriones (O-45 y O-8) donde existe una relación especial entre las capas de la vesícula óptica y el cristalino. Por esta razón comenzamos con ellos.

Cuando hablamos del embrión O-45, ya comentamos la ausencia de córnea y cámara anterior; además la mayor parte del injerto está rodeado por el epitelio pigmentado.

El grado de diferenciación del cristalino no se corresponde con el estadio teórico que debería haberse obtenido. Se observan varias alteraciones en el desarrollo de las fibras y del epitelio anterior.

En el interior existen áreas completamente desestructuradas (vacuolas), que provocan una desorganización de las fibras primarias y secundarias; además sus núcleos aún son visibles (figuras 3, 8b y 8c). También queda algún resto de la cámara cristaliniana (figura 8b).

En algunas zonas el epitelio anterior rodea en más de las tres cuartas partes la circunferencia del cristalino (figura 8b). Normalmente el epitelio anterior acompaña al epitelio pigmentado.

Por el contrario en las zonas donde la retina contacta con el cristalino se han diferenciado fibras (figuras 8d y 8f).

ALEXANDER (1937) y AMPRINO (1949b), demostraron que el epitelio pigmentado puede inducir la formación del cristalino, pero es incapaz de continuar su diferenciación. Esta característica puede justificar no sólo el retraso en el desarrollo, sino también la desestructuración del núcleo cristaliniano.

Cuando el esbozo cristaliniano está rodeado de retina se transforma completamente en fibras (LOPASHOV, 1960; REYER, 1962).

Similares resultados obtienen en embriones de pollo GENIS GALVEZ (1966) y GENIS GALVEZ y cols. (1967), al rotar 180° el esbozo del cristalino dentro de la vesícula óptica (*in ovo*); pues las zonas que se ponen en contacto con la retina se transforman en fibras. Por lo tanto nuestros resultados concuerdan con los de estos autores.

El cristalino del embrión O-45 presenta otras características. El epitelio anterior está parcialmente pigmentado pues se une, sin solución de continuidad, con el epitelio pigmentado (figuras 3 y 8c a 8f). Al mismo tiempo el cristalino adopta una morfología bilobulada. El lóbulo más interno se une, sin solución de continuidad, con la retina (figuras 8d a 8f) que a ese nivel no se ha desarrollado entre el cristalino y el epitelio pigmentado (figuras 3 y 8a a 8d).

Han sido muchos los experimentos realizados para aclarar la existencia de regeneración de WOLFF del cristalino; es decir, la formación del cristalino a partir de los bordes de

la vesícula óptica.

Actualmente, en anfibios, no hay dudas sobre la regeneración de WOLFF (REYER, 1950; EGUCHI, 1967; STONE, 1967; YAMADA y cols., 1973). Sin embargo, en embriones de ave los trabajos son más escasos y hay discrepancias sobre la existencia de este fenómeno.

Las primeras descripciones de la regeneración de WOLFF en embriones de pollo fueron realizadas por BARFURTH y DRAGENDORFF (1902).

ALEXANDER (1937), obtiene fibras cristalinas a partir del epitelio pigmentado y del borde del iris, pero observa que es necesaria la presencia del ectodermo. Por el contrario, DORRIS (1938a) en cultivos de vesícula óptica, obtiene fibras cristalinas en ausencia de ectodermo.

VAN DETH (1940), afirma que en el embrión de pollo existe regeneración de WOLFF. Pero fué GENIS GALVEZ (1962) quien tras realizar numerosos experimentos de extirpación del esbozo cristalino entre los estadios 13 a 17 HH, obtiene cristalinos morfológica y funcionalmente normales, aunque ligeramente más pequeños.

Sin embargo, McKEEHAN (1961) con similares experimentos, pero utilizando embriones entre los estadios 18 a 23 HH, no observa regeneración de WOLFF en ningún caso.

Han sido varios los investigadores que han puesto en duda, no los resultados de estos experimentos, sino la interpretación que se ha hecho de ellos (ORTS LLORCA, 1975).

La morfología y estructura del cristalino desarrollado en el embrión O-45, indica que al menos una parte deriva de los bordes de la vesícula óptica.

Los trabajos de McKEEHAN (1961) y GENIS GALVEZ (1962), parecen insinuar la existencia de un límite (E: 18 HH), a partir del cual la regeneración de WOLFF es imposible.

Las vesículas ópticas injertadas por nosotros se encuentran entre los estadios 10 y 13 Z (12-16 HH, según ZACCHEI, 1961) y en el caso concreto que nos ocupa (O-45) pertenece al estadio 10+ Z (12+ HH); por lo tanto es más "joven" aún que los utilizados por GENIS GALVEZ.

Es decir, los bordes de la vesícula óptica injertada en el embrión O-45, al estar menos diferenciada deben tener mayor capacidad de transformación (de diferenciación).

Por último, las relaciones específicas entre estructuras concretas de la vesícula óptica y del cristalino parecen demostrar que el epitelio anterior deriva del epitelio pigmentado y que las fibras cristalinianas derivan de la retina.

El cristalino del embrión O-8 presenta un gran tamaño (figuras 11b y 11c) si lo comparamos con el estadio control 18 Z (figura 4).

Lo primero que destaca es la relación tan estrecha que existe entre gran parte de la circunferencia cristaliniana y la retina interna. (figuras 6 y 11a a 11d). Entre ambas estructuras no existe solución de continuidad.

Esta unión se mantiene desde que comenzamos a observar el cristalino (figura 11a) hasta que desaparece (figura 11d); aunque el mayor contacto se aprecia en los cortes donde el cristalino es más voluminoso (figuras 11b y 11c). A ese nivel, el proceso histológico retrae los tejidos y la retina se desgarran, por lo que más que un contacto es un desarrollo común.

Si analizamos estos detalles, debemos pensar que el cristalino deriva de la retina que se ha desarrollado dentro del receptor. Es decir, probablemente estemos ante otro caso de regeneración de WOLFF.

Vemos que los núcleos de las fibras se disponen en forma de "media luna"; pero están muy cerca del epitelio anterior. Esta situación especial de los núcleos no la hemos observado en ningún embrión control, pues normalmente se mantienen en la zona media hasta que degeneran y desaparecen.

Si estudiamos con detenimiento estos detalles encontramos que guardan una relación directa.

Cuando la retina está fuertemente unida a la superficie interna del cristalino, los núcleos se alejan más de esa zona y se acercan al epitelio anterior (figuras 6, 11b y 11c). Sin embargo, cuando la relación entre ambas estructuras es mínima (figura 5), los núcleos no están tan cerca del epitelio anterior.

En las zonas donde la retina también está unida al epitelio anterior (figura 11c), éste disminuye de forma importante su espesor.

También hemos observado que en las zonas de mayor contacto entre la retina y la superficie posterior del cristalino (figuras 6, 11b y 11c), aparece una vacuola "polar posterior".

Al estudiar el embrión O-45, ya mencionamos los trabajos de LOPASHOV (1960) y REYER (1962) en anfibios y de GENIS GALVEZ (1966) y GENIS GALVEZ y cols. (1967) en embriones de pollo, donde se demostraba que la retina induce la diferenciación de las fibras cristalinianas, incluso a partir del epitelio anterior (cuando ambas se ponen en contacto).

Esto justifica que el epitelio anterior disminuya de grosor cuando la retina contacta con él (figura 11c).

La única explicación que encontramos para que los núcleos de las fibras estén tan cerca del epitelio anterior, se basa precisamente en el contacto entre la retina y la superficie posterior del cristalino.

En condiciones normales (embriones control), la retina induce la diferenciación de las fibras, pero esa acción se ejerce a distancia; pues entre ambas estructuras se encuentra el esbozo del cuerpo vítreo. Sin embargo, en este embrión no se interpone nada entre ellas.

En el embrión O-35, el cristalino (figura 3) ha alcanzado un tamaño y grado de desarrollo similar al estadio teórico 19 Z (figura 4).

El epitelio anterior se engruesa en las regiones ecuatorial y preecuatorial. Los núcleos de las fibras presentan la forma de "media luna".

Pero en una zona del ecuador, el borde de la vesícula óptica se sitúa detrás del cristalino y en contacto con él.

En ese punto los núcleos de las fibras se alejan de la superficie cristaliniana y se introducen en el interior adoptando una forma de "media luna", pero a menor escala. Los núcleos desplazados comprimen el epitelio anterior que a ese nivel disminuye de grosor.

Aunque de forma localizada, podríamos comparar la zona de contacto entre el borde de la vesícula óptica y el cristalino con la que observábamos en el embrión 0-8. Vemos que guardan una similitud; es decir, la capa interna de la vesícula óptica (retina) no sólo induce la diferenciación de las fibras cristalinianas, sino que también parece "repeler" los núcleos de las fibras.

El cristalino del embrión 0-77 no está incluido dentro de la cavidad vítrea, se ha desarrollado entre la retina y el epitelio pigmentado (figuras 4 y 5). El grado de diferenciación coincide en general con el estadio teórico (30 2) que debería haber alcanzado (figura 3), aunque es ligeramente más pequeño.

En algunas zonas el epitelio pigmentado se relaciona con el epitelio anterior, que además rodea gran parte de la circunferencia cristaliniana.

Las deformidades que observamos se deben a la muerte del embrión *in ovo*, lo que provocó alteración de los tejidos.

En el embrión O-37, el cristalino (figura 5) presenta un desarrollo más parecido al estadio 19 Z (figura 4) que al 21 Z (figura 6) que debería haber alcanzado.

En algunas zonas la retina ciega está en contacto con la región ecuatorial del epitelio anterior y con la cápsula posterior.

En cortes periféricos (figura 13) el cristalino se relaciona con la retina y sobre todo con el epitelio pigmentado; pero no hemos observado que esta circunstancia modifique o altere el desarrollo del cristalino.

En el embrión O-20 se conjugan una serie de detalles que le otorgan un carácter especial.

El cristalino (figura 3) ha alcanzado un grado de desarrollo similar a los estadios control 18-19 Z (figuras 4 en ambos) y presenta una forma redondeada, casi esférica.

En él se distinguen perfectamente, el epitelio anterior ligeramente engrosado en el ecuador y las fibras cristalinas con los núcleos situados en forma de "media luna". Sin embargo, la delimitación entre cada estructura (epitelio y fibras) no es tan nítida (figuras 4 y 5) como en los embriones control (18 Z, figura 5; 19 Z, figura 4).

Pensamos que el origen de la forma redondeada del cristalino y de la escasa delimitación entre sus estructuras está relacionada con la menor presión que se ejerce sobre él; pues ya se comentó que el crecimiento aislado de la vesícula óptica, provoca que la presión intraocular se reparta por igual en todo el globo ocular.

En algunas zonas, el epitelio anterior del cristalino del embrión O-88 ha crecido en íntimo contacto con la córnea; esto ha provocado que durante el proceso histológico se separe del núcleo cristaliniano (figuras 4 y 5).

El grado de desarrollo coincide con el estadio teórico (30 Z) que debería haber alcanzado (figura 3), aunque de menor tamaño. Sin embargo, la zona central del epitelio anterior presenta un grosor sensiblemente mayor que en el cristalino control.

Las fibras primarias situadas en el centro del núcleo están ligeramente deformadas, pues no muestran el aspecto uniforme que vemos en el embrión control.

Pensamos que el contacto entre cristalino y córnea es el origen de las alteraciones en el epitelio anterior (más grueso) y en las fibras (deformadas).

Hemos agrupado los tres últimos embriones (O-10, O-15 y O-39) para estudiarlos en conjunto, pues presentan un desarrollo normal aunque ligeramente retrasado en relación al estadio teórico que deberían haber alcanzado.

El cristalino del embrión O-10 (figuras 4 y 6) corresponde al estadio 18 Z (figura 4); mientras que el de los embriones O-15 (figuras 2 y 3) y O-39 (figura 5) corresponden al estadio 19 Z (figura 4). Según esto, el retraso en el desarrollo del cristalino ha sido de unas 12 horas en el embrión O-15; 18 horas en el O-10 y 24 horas en el O-39.

### 2.1.3. RETINA Y EPITELIO PIGMENTADO

En todos los embriones de este método se han diferenciado la retina y el epitelio pigmentado. Como sucede con el resto de las estructuras oculares, presentan una serie de características particulares y otras que son comunes a varios embriones.

Es difícil agrupar los embriones, por lo que en primer lugar vamos a estudiar los más característicos.

A partir de la vesícula óptica injertada en el embrión O-45 se ha desarrollado la retina (ciega y neurosensorial) y el epitelio pigmentado.

Ya vimos que en este embrión la retina estaba ausente en la región más rostral del injerto.

En algunas zonas la retina ciega ha crecido separada del epitelio pigmentado (figuras 5, 8a y 8d a 8f). Este detalle no lo hemos observado en ningún embrión control, salvo en la codorniz de dos días de vida (2+, figura 7).

La retina ciega se continúa con la retina neurosensorial que a veces presenta pliegues. No creemos que estos pliegues tengan su origen en una disminución de la presión intraocular como experimentalmente han descrito algunos autores (WEISS y AMPRINO, 1940; COULOMBRE 1956a; JIMENEZ COLLADO, 1977); pues en el injerto se han desarrollado los procesos ciliares (figura 4, 8g y 8f) y ya comentamos que para su formación es necesario que exista una buena presión intraocular (COULOMBRE, 1956a y 1957).

Por lo tanto, pensamos que estos detalles se deben a las especiales características que presenta el injerto en esa zona del globo ocular.

Prácticamente toda la retina neurosensorial está separada de la capa externa de la vesícula óptica (figuras 2 y 10). Por el aspecto no parece que la causa fundamental sea la retracción de los tejidos (incluido el cuerpo vítreo) por el proceso histológico, como ocurre en los embriones control. Por el contrario creemos que el origen está sobre todo en la transformación del epitelio pigmentado en retina neurosensorial.

La morfología de la retina neurosensorial que deriva de la capa interna de la vesícula óptica varía de unas zonas a otras. Donde existe epitelio pigmentado (figuras 2, 5 a 7, 9 y 10) ha alcanzado un grado de diferenciación similar al del estadio control 21 Z (figura 9), pues sólo podemos identificar con nitidez la capa de fibras ópticas y una mayor concentración de células en la zona central. Esto quiere decir que presenta un menor desarrollo que el estadio teórico que debería haber alcanzado.

Sin embargo, la retina pierde su estructura coincidiendo con el punto de transformación del epitelio pigmentado en retina neurosensorial (o neuroepitelio retiniano), pues observamos gran cantidad de vacuolas (figura 13) y un gran adelgazamiento (figuras 11 y 12).

Ya vimos que la diferenciación y desarrollo de la retina neurosensorial está sujeta a varios factores. En primer lugar la existencia de ectodermo superficial (LOPASHOV, 1960) y el

contacto de la vesícula óptica con ese ectodermo superficial (DORRIS, 1938a; GAYER, 1942). Y en segundo término el soporte del epitelio pigmentado (WEISS y AMPRINO, 1940; COULOMBRE, 1955 y 1956a; FUJISAWA, 1971; FUSISAWA y cols., 1974; JIMENEZ COLLADO, 1977).

Las observaciones de FUJISAWA al injertar células de retina disociadas en corioalantoides demostraban únicamente la ausencia de fotorreceptores (que explicó por la falta del epitelio pigmentado) y las alteraciones de las células ganglionares por no existir un órgano diana a donde dirigirse sus axones.

En el embrión O-45 creemos que en algunas zonas (figura 13), la retina neurosensorial está degenerando tras haber alcanzado un buen desarrollo. Por lo tanto al aspecto histológico se correspondería con una retina que ha perdido el soporte de un epitelio pigmentado normal. Sin embargo, en otras zonas (figuras 11 y 12) parece que el desarrollo de la retina se ha detenido al carecer de un epitelio pigmentado normalmente constituido.

A partir de la capa externa de la vesícula óptica se ha diferenciado el epitelio pigmentado, pero en la mayor parte del injerto esta capa se ha transformado en retina neurosensorial (figuras 2, 6, 7 y 9 a 13).

Sabemos que hasta el estadio 18 HH (36 somitos), ambas capas de la vesícula óptica del embrión de pollo, tienen la facultad de diferenciarse, indistintamente tanto en retina como en epitelio pigmentado (ALEXANDER, 1937; DORRIS, 1938a; REINBOLD, 1958; COULOMBRE y COULOMBRE, 1965). Por otro lado,

ZACCHEI (1961) indicó que el estadio 18 HH de pollo corresponde o equivale al estadio 14+ 2 de codorniz (Tabla 1). Por lo tanto si todos nuestros injertos los obtuvimos de embriones hasta el estadio 13 Z, las vesículas ópticas tienen la posibilidad de presentar aquella característica.

En la zona rostral del globo ocular el epitelio pigmentado forma parte, junto a la *pars ciliaris retinae*, de los procesos ciliares (figuras 4, 8g y 8h) y recubre algunas zonas de la *pars plana retinae* (figuras 3 a 5).

En el punto de transformación, que coincide con la separación del epitelio pigmentado del ojo derecho del embrión receptor (figuras 2, 6, 7 y 9), esta capa pierde bruscamente el pigmento y se engruesa alcanzando a veces un espesor similar (figura 11) al de la retina neurosensorial bien desarrollada (figuras 9 y 10). Sin embargo, no se observa ninguna estratificación en capas, aunque la superficie interna capta más intensamente el colorante (figuras 11 a 13) y en los dos tercios internos existe una mayor densidad celular (figura 10).

No encontramos una explicación clara por la que el epitelio pigmentado se haya transformado en retina neurosensorial.

Para ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ (1960a), MURILLO FERROL (1964a) y COULOMBRE y COULOMBRE (1965), la capa interna de la vesícula óptica ejerce una inhibición sobre la capa externa para que ésta no se transforme en retina. En nuestro caso no existe ningún cuerpo extraño ni estructura que se interponga entre ambas capas de la vesícula óptica; simplemente están

separadas por un espacio ópticamente vacío. Además, este detalle no puede justificar la transformación, pues en algunas zonas donde retina y epitelio pigmentado están separadas, éste mantiene íntegras todas sus características (figuras 9 y 10).

Una de las razones por las que la capa externa de la vesícula óptica se diferencia en epitelio pigmentado es el contacto con el mesénquima periocular. Esta afirmación ha sido comprobada en animales de distintas escalas filogenéticas; anfibios (LOPASHOV, 1948 y 1960), aves (ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ, 1960a) y mamíferos (STROEVA, 1956).

Esta característica fue corroborada por JIMENEZ COLLADO y cols. (1978), demostrando que el epitelio pigmentado se transforma en retina neurosensorial en ausencia de mesénquima periocular; sin embargo, el contacto directo con vasos sanguíneos no sólo puede sustituir la acción del mesénquima, sino que provoca un engrosamiento y una mayor pigmentación de esta capa.

Ante la discordancia de nuestros resultados con las afirmaciones de estos autores, nos planteamos varias respuestas:

En primer lugar, como en algunas zonas la retina no ha alcanzado un buen desarrollo histológico, no puede impedir que la capa externa de la vesícula óptica se transforme en retina.

En segundo lugar, es posible que sea necesaria una cierta cantidad de tejido mesodérmico para impedir que la capa externa de la vesícula óptica se transforme en epitelio pigmentado.

Por último, otra respuesta para explicar este fenómeno, es que el mesénquima se haya relacionado con la capa externa, cuando ésta ya ha comenzado la transformación en retina neurosensorial; por lo que ya no podría inducir su diferenciación en epitelio pigmentado.

A partir de la vesícula óptica injertada en el embrión quimera O-88 se ha diferenciado la retina (ciega y neurosensorial) y el epitelio pigmentado.

La retina ciega incluye la *pars plana retinae* y la *pars ciliaris retinae* (figuras 5, 9 y 10), pero como en los estadios control 30 Z (figuras 2 y 3) y 31 Z (figuras 2 y 5). la *pars iridae retinae* ha desaparecido.

La retina neurosensorial (figuras 7 a 9) ha alcanzado un grado de diferenciación similar a los estadios control 30 Z (figuras 5 y 6) y 31 Z (figuras 4 y 5), aunque existen menos células ganglionares y la capa de fibras ópticas es más fina.

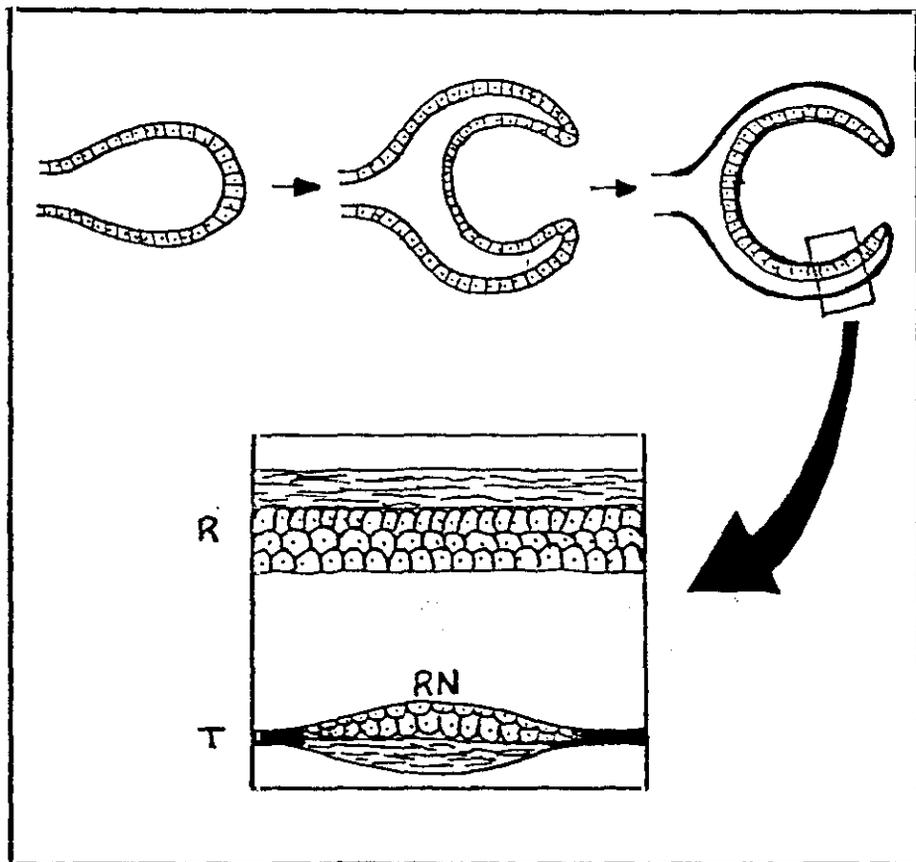
El detalle más interesante se observa al estudiar el epitelio pigmentado, pues aunque presenta un desarrollo normal, en algunas zonas (figuras 4 y 6) pierde bruscamente el pigmento y se engruesa transformandose en un esbozo de retina neurosensorial.

Al comparar esta estructura (figura 6) con la retina neurosensorial que se encuentra justo enfrente (figura 7), observamos que representa su imagen especular; parece una retina invertida a la que le faltan la capa de fotorreceptores y de fibras ópticas.

El aspecto histológico que presenta esta retina transformada a partir del epitelio pigmentado, parece indicar que existe una cierta predisposición en las superficies interna y externa de las capas de la vesícula óptica. De tal forma que en la superficie externa de la capa interna y en la interna de la capa externa, tiendan a concentrarse mayor número de células que en las superficies opuestas.

Esta predisposición podría estar determinada desde el estadio de vesícula óptica primaria como exponemos en el esquema 1.

ESQUEMA 1:



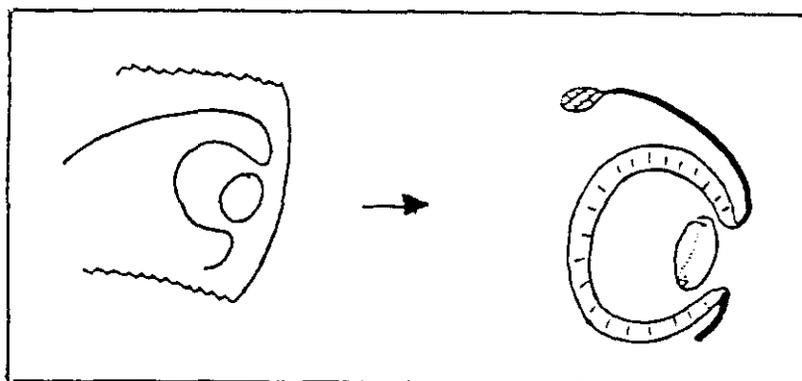
Sin embargo, en el resto de embriones quimera en los que el epitelio pigmentado se ha transformado en retina neurosensorial (como hemos visto y veremos mas adelante) no se observa la misma estratificación que en el embrión 0-88.

Ya hemos comentado, al hablar del embrión O-45, que el epitelio pigmentado puede transformarse en retina neurosensorial cuando pierde contacto con la retina (ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ, 1960a ; MURILLO FERROL, 1964; COULOMBRE y COULOMBRE, 1965) y/o en ausencia del mesénquima periocular (LOPASHOV, 1948; STROEVA, 1956; JIMENEZ COLLADO y cols., 1978). Pero en este embrión (O-88) no se cumplen ninguna de las condiciones expuestas por estos autores, pues si bien el epitelio pigmentado y la retina están separados y el mesénquima entre ambos globos oculares es muy escaso, ambos detalles se observan en otras zonas tanto del receptor como del injerto y no vemos que el epitelio pigmentado se transforme en retina neurosensorial.

Además en este caso la retina tampoco presenta una escasa diferenciación histológica.

En el embrión O-15 falta la mayor parte del epitelio pigmentado (figura 2). En las regiones donde se ha desarrollado (figuras 3 y 9) presenta un aspecto similar al estadio control 19 Z (figuras 6 y 8) por lo que observamos que se ha retrasado en relación al estadio teórico que debería haber alcanzado.

ESQUEMA 2:



La ausencia del epitelio pigmentado en algunas zonas puede tener su origen en el momento de la cirugía; pues al ser el injerto muy grande (E: 13 Z) hubo que manipularlo excesivamente y pudo perder parte de la capa externa de la vesícula óptica, como vemos en el esquema 2.

En uno de los bordes libres, el epitelio pigmentado se une, sin solución de continuidad, con un "boton" de tejido nervioso que presenta mayor densidad celular en la superficie externa (figuras 2, 9 y 10).

Debido al escaso desarrollo histológico de este tejido, no podemos afirmar a qué tipo de estructura corresponde. Además la situación (en uno de los extremos del epitelio pigmentado) y la presencia en la vecindad de mesénquima procedente del injerto, justifica que esta estructura no sea retina transformada a partir del epitelio pigmentado; sino parte del diencéfalo que fue incluido en el injerto.

La capa interna de la vesícula óptica se ha diferenciado en retina visual y ciega (figuras 2 y 3), aunque su desarrollo está retrasado en relación al estadio teórico que debería haber alcanzado. Igual que veíamos con el epitelio pigmentado, la retina presenta un aspecto más parecido a los estadios control 18 y 19 Z (figuras 6 y 8 en ambos).

En la retina neurosensorial se observan diferentes grados de desarrollo directamente relacionados con su situación y con las estructuras vecinas.

La máxima diferenciación la ha alcanzado en las zonas donde existe epitelio pigmentado (figura 9). Al desaparecer éste y relacionarse directamente con el mesénquima periocular

presenta un desarrollo algo más retrasado (figura 8); aunque este retraso se acentúa y el espesor se reduce a menos de la mitad cuando crece junto al ectodermo y carece de mesénquima (figura 7).

Observamos que la retina se ha diferenciado a partir de la capa de la vesícula óptica que está íntimamente relacionada con el mesénquima. Este detalle no se corresponde con los autores como LOPASHOV (1948 y 1960), ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ (1960a) y STROEVA (1956), cuando afirman que la capa de la vesícula óptica que crece aislada del mesénquima es la que se transforma en retina.

En el embrión O-37 y a partir de la capa externa de la vesícula óptica injertada que ha crecido junto al globo ocular derecho del receptor, se ha diferenciado el epitelio pigmentado con un desarrollo histológico normal (figuras 4, 10 y 13 a 15) y muy semejante al aspecto que presenta el estadio teórico control 21 Z (figuras 7 y 9) que ha alcanzado.

Sin embargo, en el lado opuesto donde se relaciona directamente con el mesénquima periorcular, pierde parcial (figuras 4 y 11 a 13) o totalmente (figuras 14 y 15) el pigmento y se engruesa, transformándose en retina neurosensorial.

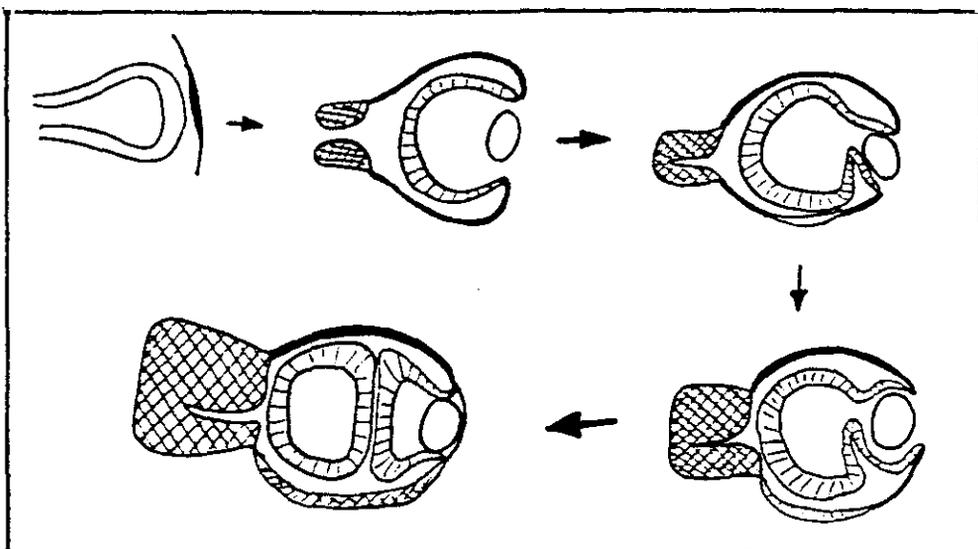
Esta característica del epitelio pigmentado ya la hemos observado en mayor o menor escala en otros embriones quimera (O-45 y O-15). La transformación surge a partir del epitelio pigmentado que está en contacto con el mesénquima periorcular. Los últimos granos de pigmento permanecen en la superficie

interna que está en contacto con la retina.

Por lo tanto los hallazgos en este embrión son similares a los observados en los embriones O-45 y O-88.

En la región posterior, el epitelio pigmentado se continúa con una estructura nerviosa (figuras 4, 8 y 9). El aspecto es muy parecido al que aparece en la figura 8 del estadio control 20 Z. Por lo tanto pensamos que en el injerto se incluyó parte del diencéfalo unido al pedículo óptico y éste se ha desarrollado parcialmente, como podemos observar en el esquema 3.

ESQUEMA 3:



En el injerto aparecen algunos detalles como las dos cavidades que forma la retina (figuras 13 a 15) que intentamos explicar en el esquema 3 y el mayor desarrollo que ha alcanzado la retina que ha crecido en contacto con el epitelio pigmentado típico (figura 10), en relación con aquella que lo ha hecho junto al epitelio pigmentado transformado en retina neurosensorial (figuras 11 y 12).

La retina desarrollada junto al epitelio pigmentado presenta en la superficie interna una capa acelular (fibras ópticas) y en la externa una hilera de células que corresponde a los neuroblastos de los fotorreceptores. El aspecto corresponde al estadio control 21 2 (figura 9) que ha alcanzado.

La retina desarrollada junto al epitelio pigmentado transformado en retina es más delgada, carece de capa de fibras ópticas y en la superficie externa aparecen algunas células aisladas que pueden corresponder a los esbozos de los fotorreceptores.

Ambas se adelgazan en los bordes de la vesícula óptica cuando se separan del epitelio pigmentado (figura 5).

En cortes periféricos del injerto observamos pliegues de la retina neurosensorial a los que no acompaña el epitelio pigmentado. En el esquema 3 intentamos explicar su mecanismo de producción.

En la figura 13 vemos que la retina plegada y la que está junto al epitelio pigmentado diferenciado en retina neurosensorial es algo más delgada que la del resto del injerto. No vamos a insistir en la explicación pues ya la hemos comentado en los embriones anteriores; sin embargo, queremos aclarar que si este detalle no se observa en las figuras 14 y 15 se debe a que la retina se ha cortado en bisel y tangencialmente.

La retina y el epitelio pigmentado del embrión 0-10 presentan algunas características semejantes a los embriones vistos hasta ahora. En general ambas capas (figuras 4 a 6) han alcanzado un desarrollo parecido al del estadio control 19 Z (figuras 6 y 8) que ha alcanzado.

En la superficie interna de la retina neurosensorial observamos una estrecha banda que corresponde a la capa de fibras ópticas (figura 5). En cortes periféricos del injerto vemos como los axones de las células ganglionares salen por el pedículo óptico (figura 11) de igual forma que en el estadio control 19 Z (figura 7). En esos mismos cortes, la retina neurosensorial se adelgaza ligeramente en las zonas que se relaciona con el pedículo óptico y donde el epitelio pigmentado altera su estructura normal (figuras 9 a 11).

En la mayor parte del injerto el epitelio pigmentado presenta un desarrollo histológico normal; sin embargo, cerca de la salida del fascículo óptico existen zonas donde se observa una pérdida de pigmento y un aumento de grosor (figuras 9 a 11).

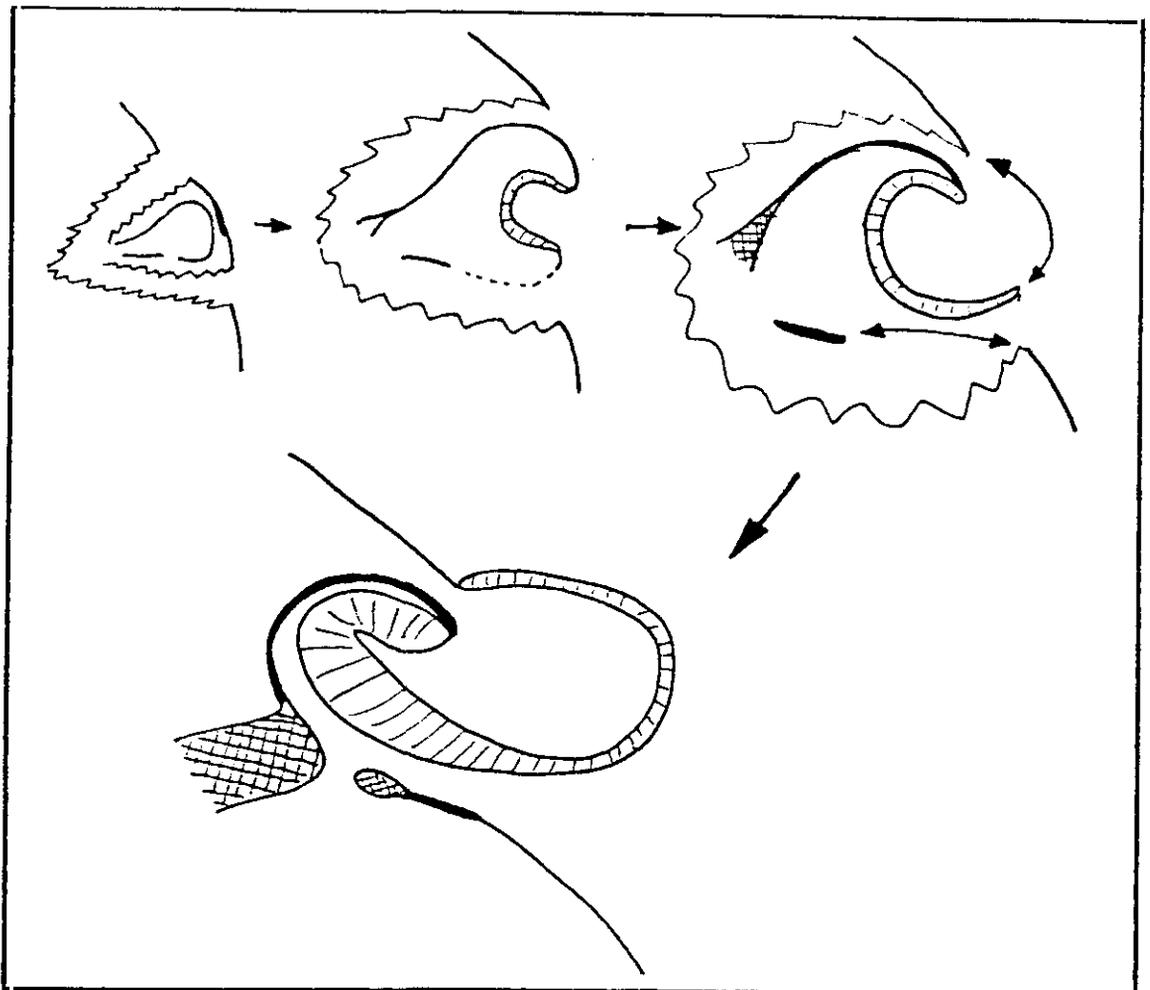
El pedículo óptico finaliza en el interior de la estructura nerviosa (figuras 3 a 9). Pensamos que con la vesícula óptica se pudo injertar parte del diencéfalo unido al pedículo óptico, como en el embrión 0-37.

En el embrión 0-8 parte de la retina se ha desarrollado vesiculada fuera del receptor y el resto en el interior (figuras 3 a 6).

La retina externa en unas zonas se continúa con la retina interna (figuras 12 y 14); sin embargo, en otras se une al ectodermo superficial (figuras 11a a 11c).

Esta característica está directamente relacionada con el hecho de que en algunas regiones del injerto, el epitelio pigmentado también se une, sin solución de continuidad, con el ectodermo superficial (figuras 4, 6, 12 y 13).

ESQUEMA 4:



Pensamos que las uniones del ectodermo superficial con la retina externa (por una parte) y con el epitelio pigmentado (por otra), tiene su origen en el momento de la cirugía y en las primeras horas de reincubación como explicamos en el

esquema 4.

La vesícula óptica se injerta parcialmente rota. Si a ésto añadimos que el ectodermo y la vesícula óptica tienen un origen común (neuroectodérmico en el caso de la retina y el epitelio pigmentado), podemos explicar el proceso seguido por el injerto y el aspecto final que presenta.

Existen diferencias importantes entre la retina externa e interna; ésta que se ha desarrollado rodeada por el epitelio pigmentado es gruesa (figura 7) y presenta algunos pliegues de menor grosor a los que no acompaña el epitelio pigmentado (figuras 4, 11a y 12).

Aunque en la retina interna se observa mayor grado de diferenciación que en la externa, no se distinguen signos de estratificación. Sin embargo, en la superficie interna existe una franja acelular que identificamos como la capa de fibras ópticas (figura 7), pues es similar a la que presenta la retina del estadio control 18 Z (figura 8) que corresponde al estadio teórico que debería haber alcanzado.

Por el contrario la retina externa (figura 8) y los pliegues de la retina interna (figura 12), muestran un menor grado de desarrollo y en su espesor no se distingue ningún tipo de organización celular.

La capa interna de la vesícula óptica que ha crecido fuera del embrión se ha diferenciado en retina porque para ello no es necesaria la diferenciación de la capa externa (JOHNSON, 1935; ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ, 1960b; MURILLO FERROL, 1964a). Sin embargo, no ha alcanzado un desarrollo histológico normal porque para ello necesita el contacto con

el epitelio pigmentado (COULOMBRE, 1955; FUJISAWA, 1971; FUJISAWA y cols., 1974) o al menos la presencia del mesénquima periocular como veíamos en el embrión O-15. Si a esto le añadimos que la tensión que existe en el interior del injerto tiene que influir casi exclusivamente sobre la retina externa, ésta se distiende, se adelgaza y alcanza un menor grado de diferenciación.

En el esquema 4 ya hemos explicado el origen más probable por el cual el epitelio pigmentado se continúa con el ectodermo superficial; pero queda por comentar la relación con la estructura nerviosa derivada del injerto (figuras 3, 4, 9, 14 y 15).

Si observamos las figuras 14 y 15, vemos que tienen un gran parecido con la figura 8 del estadio control 20 Z. Probablemente en el injerto se incluyó parte del diencéfalo en uno de los extremos del pedículo óptico y por ello en algunas zonas se ha diferenciado el fascículo óptico y el sistema nervioso central.

En la figura 15, el epitelio pigmentado situado junto al vaso sanguíneo, aparece más oscuro. Este detalle corrobora las afirmaciones de DABAGHIAN (1958) y JIMENEZ COLLADO y cols. (1978), cuando observan que el epitelio pigmentado es más grueso y presenta mayor cantidad de pigmento en las zonas donde existen penachos vasculares.

En el embrión O-20 el injerto ha crecido aislado (figuras 1 y 2). Excepto a nivel del segmento anterior (figuras 2 y 6), el tejido mesodérmico que rodea el epitelio pigmentado es

muy escaso (figura 7) e incluso en algunas zonas se reduce a una sola hilera de células mesenquimales (figura 8).

El grado de desarrollo del epitelio pigmentado parece guardar una relación directa con la cantidad de mesodermo que lo recubre. El aspecto histológico del epitelio pigmentado en las zonas donde existe mayor cantidad de pigmento (figura 7) podría corresponder a un estadio intermedio entre los controles 18 y 19 Z (figura 8 en ambos). Sin embargo, no hemos encontrado ningún embrión control cuyo epitelio pigmentado se parezca al del injerto donde el mesodermo prácticamente está ausente (figura 8), pues a veces carece de pigmento y es difícil de identificar.

El desarrollo del epitelio pigmentado está relacionado con la cantidad de mesénquima. Así LOPASHOV (1948, 1960), STROEVA (1956) y ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ (1960a), observaron que el epitelio pigmentado se diferencia a partir de la capa de la vesícula óptica que está en contacto con el mesénquima periocular. Además JIMENEZ COLLADO y cols. (1978), describen una relación directa entre el grado de desarrollo del epitelio pigmentado y la vascularización del mesodermo.

En nuestro caso la escasez de mesodermo va acompañada de una menor vascularización.

La morfología de la retina neurosensorial también guarda una relación directa con el grado de diferenciación del epitelio pigmentado.

En las zonas donde el epitelio pigmentado está más desarrollado, la retina (figura 7) es gruesa y en su espesor se observan sobre todo, los fotorreceptores y una delgada capa de fibras ópticas. Sin embargo, en el espesor de la retina que se relaciona con el epitelio pigmentado poco desarrollado (figura 8) existe escasa celularidad y apenas se distinguen algunos fotorreceptores.

Si a lo expuesto, añadimos que la presión intraocular se ejerce por igual sobre todo el globo ocular, es fácil comprender el aspecto de la retina y del epitelio pigmentado.

Como el embrión O-77 murió *in ovo*, la mayor parte de las estructuras están alteradas histológicamente. Este detalle justifica la desestructuración de los tejidos.

En el segmento anterior del globo ocular observamos que el epitelio pigmentado (figura 4) es algo más grueso que en el estadio teórico control 30 Z (figura 2) que debería haber alcanzado y además está mucho más pigmentado que en el resto del injerto (figura 5). A ese nivel no sólo forma parte de los esbozos del iris y de los procesos ciliares, sino que existe una prolongación que se dirige al cristalino (figuras 5 y 6).

En la mayor parte del globo ocular la retina neurosensorial y ciega está separada del epitelio pigmentado (figuras 4 y 5). Sin embargo, la *pars ciliaris retinae* forma parte del esbozo de los procesos ciliares (figura 7).

En la retina neurosensorial las células ganglionares son muy escasas y no existen fibras ópticas; pero se observan perfectamente la capa nuclear externa y los fotorreceptores poco diferenciados (figuras 5 y 8). Con todos estos detalles es difícil encontrar una retina similar entre los estadios control; sin embargo, podríamos compararla, salvando las diferencias, a la del estadio 23 Z (figura 6).

En el embrión 0-35 ambas capas de la vesícula óptica injertada muestran un retraso en el desarrollo.

La retina (figuras 5 y 6) es similar a la que observamos en el estadio control 17 Z (figuras 6 y 7).

En la capa externa se distingue una ligera pigmentación en la zona central (figuras 5 y 7) parecida a la que presenta el estadio control 18 Z (figuras 7 y 8); sin embargo, en los bordes es difícil encontrar granos de pigmento (figuras 6 y 7), por lo tanto los comparamos con el 17 Z (figuras 4 y 7).

El detalle más interesante se observa en uno de los bordes, donde ambas capas de la vesícula óptica están separadas (figura 7). El espacio entre la retina y el epitelio pigmentado y los cambios morfológicos que presentan nos indican que no corresponde al ventrículo óptico (como en el lado opuesto); por el contrario pensamos que a ese nivel, ambas capas de la vesícula óptica nunca han estado en contacto.

El epitelio pigmentado pierde el pigmento y aumenta de espesor siendo incluso mayor que en el borde. Parece el inicio de la transformación en retina.

La capa interna se adelgaza bruscamente, disminuyendo el número de células.

La imagen que mostramos en las figuras 3 y 7 son parecidas a las que obtienen ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ (1960a), cuando en sus experimentos introducen entre las dos capas de la vesícula óptica un hilo de Nylon.

Podemos decir que espontáneamente hemos obtenido un modelo experimental similar a la introducción de un cuerpo extraño, pero sin cuerpo extraño.

En el injerto del embrión 0-39, ambas capas de la vesícula óptica presentan un retraso en el desarrollo; pues el epitelio pigmentado (figuras 7 a 10) tiene un aspecto más parecido al estadio control 18 Z (figuras 6 y 8) que al estadio teórico 21 Z, que debería haber alcanzado.

Lo mismo sucede en la capa interna de la vesícula óptica, donde únicamente se distingue una estrecha capa de fibras ópticas (figuras 8 a 10) de similar morfología a la que vemos en el estadio control 18 Z (figura 8).

#### 2.1.4. CUERPO VITREO. PROCESOS CILIARES. IRIS

El único injerto de este método donde no hemos observado ningún esbozo de cuerpo vítreo ha sido en el embrión O-8.

En los injertos menos desarrollados (O-35, O-10, O-39, O-37, O-20 y O-15) aparecen solamente algunos esbozos de esta estructura; pues como ocurre en los embriones control entre los estadios 19 a 21 Z, el proceso histológico provoca la desaparición de la mayor parte del vítreo.

Según nuestros resultados, en el embrión de codorniz los procesos ciliares comienzan a plegarse en el 7º día de incubación (E: 24 Z); sin embargo, para JIMENEZ COLLADO y cols. (1978) este proceso tiene lugar un día antes, en el 6º (E: 22 Z).

En el Método A únicamente tres embriones han superado el estadio 23 Z (O-45, O-88 y O-77) y en los tres se distingue esta estructura.

En el O-45 los procesos ciliares (figuras 4 y 8h) presentan un aspecto similar al del estadio teórico control 24 Z (figura 5) que debería haber alcanzado. De la misma forma en los embriones O-88 (figuras 4 y 5) y O-77 (figuras 5 y 7), los procesos ciliares tienen una morfología parecida a la del estadio teórico control 30 Z (figuras 2 y 7) que deberían haber alcanzado; sin embargo, insistimos que en el embrión O-77 existe una desestructuración derivada de la muerte *in ovo*.

El iris es una estructura cuya valoración es menos objetiva que otras, pues los bordes de la vesícula óptica son su primer esbozo. Hablamos de esbozo iridiano cuando ambas capas de la vesícula óptica se ponen en contacto (E: 15-16 Z).

Según esto, todos los injetos del Método A deben tener el iris o al menos un esbozo. Por las especiales características de los embriones O-8 y O-45 no es posible identificar esta estructura.

En los embriones O-35, O-77, O-37 y O-20 el iris está deformado al menos en algunas zonas; mientras que en el resto presentan una morfología normal y un grado de diferenciación similar o ligeramente retrasado en relación al estadio teórico que deberían haber alcanzado.

## 2.2. METODO B

De los 69 embriones operados según el Método B hemos elegido tres, dos vivos (O-150 y O-106) y uno muerto pero no macerado (O-146).

Siguiendo los mismos criterios que para el Método A desestimamos los embriones macerados (con o sin injerto) y los que a pesar de estar vivos no presentaban injerto o éste no se había desarrollado.

En algunas ocasiones las zonas correspondientes a la intervención estaban cubiertas por plumas pigmentadas o por sus esbozos; sin embargo, tras el estudio histológico no se observó ninguna estructura derivada del injerto.

El injerto se localizó junto al globo ocular derecho del receptor (O-146) o sobre él (O-150 y O-106) y excepto en el O-146, el resto presentaban esbozos pigmentados de plumas de codorniz.

En los embriones O-150 (figuras 3 a 5) y O-106 (figuras 2 a 4), se ha desarrollado una estructura cuyo aspecto histológico es similar al tejido nervioso. La aparición de estas formaciones solamente puede justificarse (como en algunos embriones del Método A) por la inclusión con el injerto de un fragmento de la pared del diencéfalo.

Por otro lado, en el embrión O-150, creemos que con la vesícula óptica se incluyó parte de tejido presuntivo del proceso mandibular; pues se ha desarrollado una estructura que histológicamente corresponde al pico de las aves (figura 8).

### 2.2.1. CORNEA

En el injerto del embrión O-146 se ha diferenciado la córnea (figuras 3 a 5) cuyo grado de desarrollo corresponde al estadio control 18 Z (figura 5); pues en su espesor observamos el epitelio, el estrato acelular y el endotelio. Por lo tanto se ha retrasado, ya que debería haber alcanzado un estadio teórico 21 Z.

Si al periodo de latencia originado por la intervención, añadimos las horas desde la muerte (*in ovo*) hasta la fijación; podemos explicar al menos parte del retraso en el desarrollo que presenta la córnea del injerto.

La cámara anterior ha alcanzado una buena diferenciación en la mayor parte del injerto; sin embargo, hay zonas donde es muy extensa (figura 4) y zonas cuyo límite interno no es el cristalino, sino el borde de la vesícula óptica (figura 3).

Si en esta zona se ha desarrollado la cámara anterior es debido a que la capa externa de la vesícula óptica aún no se ha pigmentado en los bordes (figura 8). Pues GENIS GALVEZ y cols. (1967), observaron que el pigmento inhibe la formación de la cámara anterior.

En el embrión O-150 (figuras 6 y 7), se distingue una formación cuya estructura histológica guarda cierta semejanza con la córnea del estadio control 26 Z (figura 4).

La situación de la córnea y su relación con las estructuras vecinas no favorecen su normal desarrollo, pues a partir de la vesícula óptica injertada no se ha desarrollado el globo ocular sino únicamente la córnea y el cristalino. Si

a ello añadimos que no existe cámara anterior y que la superficie interna está en contacto con el esbozo cristalino, es fácil comprender que el aspecto histológico que presenta esté tan retrasado y únicamente tenga un cierto parecido con las córneas de los estadios control.

### 2.2.2. CRISTALINO

El cristalino del injerto desarrollado en el embrión O-146 (figuras 3 a 5 y 8) ha alcanzado un grado de diferenciación semejante al estadio control 18 Z (figura 4); aunque es ligeramente mayor de tamaño y el límite entre epitelio anterior y fibras cristalinas no es tan nítido.

El retraso entre el estadio real (18 Z) y el teórico que debería haber alcanzado (21 Z) creemos que se debe, como en la córnea, al tiempo de latencia originado por la cirugía y a la muerte del embrión horas antes de fijarlo.

En el injerto del embrión O-150, se ha desarrollado una estructura que recuerda al cristalino aunque sin el epitelio anterior (figuras 6 y 7). Sólo pueden identificarse las fibras.

Si hacemos referencia únicamente al tamaño, vemos que es similar al cristalino del estadio 19 Z (figura 4).

Por el aspecto que presenta esta estructura creemos que es más correcto utilizar el término cuerpo lenticular o cuerpo cristalino empleado por ALEXANDER (1937). Este autor observa que la vesícula óptica puede inducir el crecimiento de hasta cinco estructuras cristalinas a partir del ectodermo del injerto y/o del receptor.

En este embrión la única estructura que se relaciona con el cristalino es el epitelio pigmentado del receptor.

### 2.2.3. RETINA Y EPITELIO PIGMENTADO

En el injerto del embrión O-146 se ha desarrollado la retina neurosensorial y el epitelio pigmentado.

La retina presenta una celularidad uniforme sin signos de estratificación (figura 7). Podemos compararla con la retina del estadio control 18 Z (figura 8); sin embargo, en la superficie interna es difícil identificar la capa de fibras ópticas. Este detalle puede tener su origen en la alteración de los tejidos por la muerte *in ovo*, o simplemente porque no se han diferenciado las fibras.

La mayor parte de los pliegues de la retina son de escaso tamaño y están tapizados por el epitelio pigmentado (figuras 3, 4 y 7).

En cortes periféricos observamos que en unas zonas no se ha desarrollado el epitelio pigmentado y en otras, éste se ha transformado en retina (figura 6). En ambos casos y sobre todo en ausencia de la capa externa, la retina presenta un grosor inferior al resto e incluso aparece parcialmente rota. La rotura coincide con la zona de menor grosor y creemos que se originó cuando en embrión permaneció muerto dentro del huevo y se acentuó durante el proceso histológico.

Si el globo ocular se hubiese desarrollado parcialmente roto, estaría colapsado, los pliegues de la retina serían más acentuados y no estarían cubiertos por el epitelio pigmentado como afirman WEISS y AMPRINO (1940), COULOMBRE (1956a) y JIMENEZ COLLADO (1977). Además en el interior del globo ocular se observa parte del cuerpo vítreo.

Por el contrario, si el proceso histológico fuese la única causa de la rotura no existirían pliegues de la retina y del epitelio pigmentado.

La capa interna de la vesícula óptica injertada comienza a desarrollarse, pues para ello no necesita la diferenciación de la capa externa (JOHNSON, 1935; ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ, 1960b; MURILLO FERROL, 1964a). Sin embargo, como carece del epitelio pigmentado no puede diferenciarse histológicamente en retina (WEISS y AMPRINO, 1940; COULOMBRE, 1955 y 1956a; FUJISAWA, 1971; FUJISAWA y cols., 1974; JIMENEZ COLLADO, 1977).

Observamos que se ha desarrollado un quiste de retina en la zona donde ésta se apoya sobre el epitelio pigmentado transformado en retina (figura 6). El espesor de su pared coincide, como es natural, con el de la retina que carece del soporte de la capa externa. Aunque es el único caso de quiste retiniano que hemos encontrado en nuestros injertos, pensamos que no es casual que aparezca en la retina que se ha desarrollado junto al epitelio pigmentado transformado en retina.

En la mayor parte del injerto el epitelio pigmentado (figuras 3 y 4) ha alcanzado un grado de diferenciación similar a los estadios control 17 Z (figuras 7 y 8) y 18 Z (figuras 5, 6 y 8).

El epitelio pigmentado se engruesa, pierde el pigmento y se transforma en retina (figura 6), en la periferia del injerto; ésto corrobora la equipotencialidad que presentan ambas capas de la vesícula óptica y que fue expuesta por ALEXANDER (1937).

El punto donde comienza la transformación, coincide con la desaparición de la mayor parte del mesénquima; éste detalle coincide con las observaciones de LOPASHOV (1948 Y 1960), STROEVA (1956), ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ (1960a) y JIMENEZ COLLADO y cols. (1978); pero no con algunos de nuestros injertos del Método A.

En el injerto del embrión O-106, observamos que se ha desarrollado un esbozo de retina neurosensorial en forma de vesícula, unida a la pared del globo ocular derecho del receptor por un pedículo de epitelio pigmentado. En su interior se distingue el vítreo (figuras 3 y 4).

La retina está muy desestructurada y no recuerda a la de ningún estadio control. En su espesor se observan una o dos capas de células según las zonas; sin embargo, en la superficie interna no se identifican las células ganglionares y en la externa existe una hilera de células que puede corresponder a los fotorreceptores, pero en los que no se han diferenciado los artículos externos.

Pensamos que la morfología y estructura que presenta la retina se debe a un doble motivo. En primer lugar creemos que el traumatismo sufrido por el embrión antes de ser fijado ha podido influir en el aspecto microscópico.

En segundo término ya hemos mencionado los trabajos de COULOMBRE (1955 y 1956a), FUJISAWA (1971) y FUJISAWA y cols. (1974); estos autores observan que la capa interna de la vesícula óptica necesita el apoyo del epitelio pigmentado para alcanzar un perfecto desarrollo histológico de todas sus

capas. La ausencia del epitelio pigmentado influye directamente sobre los fotorreceptores y en ellos no se diferencian los artículos externos. De la misma forma, si no existe un órgano diana, las células ganglionares o no se diferencian o su desarrollo es atípico.

En el injerto del embrión O-150, se observa una capa de pigmento que tapiza la superficie interna del cristalino (figura 7). Debido a que histológicamente es imposible distinguir el origen de esta estructura y a causa de la estrecha relación que existe con el epitelio pigmentado del ojo derecho, pensamos que deriva del embrión receptor.

Las características del injerto en este embrión hacen imposible la presencia del vítreo, pues no se han diferenciado ni la retina ni el epitelio pigmentado. Sin embargo, es normal que se haya desarrollado en los embriones O-146 y O-106; no sólo por el estadio alcanzado, sino por la presencia de una cavidad rodeada de retina neurosensorial más o menos diferenciada.

### 2.3. METODO C

De los 149 embriones operados con el Método C, hemos escogido 9 vivos. En 7 el injerto prendió y se desarrolló en la región craneal y media de la cabeza; sin embargo, varía la orientación, el número de estructuras que han crecido y su grado de diferenciación.

Los otros dos embriones incluidos en el estudio (O-227 y O-230), presentan una microftalmía izquierda y en relación con el injerto sólo se observan esbozos pigmentados de plumas y pigmentación del borde palpebral en el lado de la microftalmía; por lo que hablaremos de ellos al final.

Antes de comenzar es necesario comprender el por qué los injertos presentan morfologías tan distintas dentro de la cavidad craneal.

Parece claro que en el embrión O-213, la vesícula óptica se introdujo bien orientada, mientras que en el O-173 y O-263 el injerto quedó orientado hacia el interior. Los tres conservan un aspecto idéntico o parecido al globo ocular.

Sin embargo, en el resto (O-310, O-260, O-159 y O-288) no sucede igual y el desarrollo desordenado de las estructuras oculares tiene su origen en la excesiva manipulación del injerto al introducirlo a nivel del neuroporo anterior.

### 2.3.1. EMBRION O-213

Como vimos en los resultados, a partir de la vesícula óptica injertada en el embrión O-213 ha crecido un globo ocular perfectamente desarrollado. Por este motivo y por la presencia de estructuras pertenecientes al injerto, pero no relacionadas con el órgano de la visión, hemos decidido estudiarlo globalmente al margen del resto.

El motivo que justifica el desarrollo de estas estructuras puede ser que el injerto se obtuvo de un embrión del estadio 8 Z; es decir, muy poco diferenciado, lo que supone un mayor riesgo de incluir tejidos vecinos con la vesícula óptica. El ejemplo más claro es la presencia de un pico superior (pigmentado) e inferior pertenecientes a la codorniz (figuras 1 a 3). Es lógico pensar que con la vesícula óptica se injertó tejido prospectivo de los procesos maxilar y mandibular.

A causa del trauma quirúrgico faltan algunos huesos del cráneo del receptor, por lo que es posible observar varias estructuras del sistema nervioso central. Es muy difícil asegurar, tanto macro como microscópicamente, si alguna de las estructuras nerviosas que han crecido fuera de la cavidad craneal pertenece o no al injerto. Únicamente el hecho de que el nervio óptico del injerto se dirija y contacte con la estructura nerviosa situada entre el globo ocular del receptor y el del donante, nos podría hacer pensar que esta estructura pertenece al injerto (figura 5).

En contra de esta posibilidad existen varios argumentos, no definitivos, que vamos a enumerar:

La tonalidad de todas las estructuras nerviosas, es similar (figura 5). Por el contrario en algunos injertos hemos observado que el tejido nervioso procedente del injerto y teñido con BIELCHOWSKI, tiene una coloración más oscura que el del receptor.

HEATON (1973), en sus heterotransplantes homotópicos de vesícula óptica, observó que el nervio óptico del donante (codorniz) contactaba con el sistema nervioso del receptor (pollo).

También ALVARADO-MALLART y SOTELO (1984), reconocen que los nervios ópticos de los embriones receptores (pollo) sinaptan en el tectum óptico de codorniz transplantado homo y heterotópicamente.

Aunque no podemos olvidar que estos autores basan sus conclusiones en trabajos realizados mediante transplantes, creemos que sus resultados al demostrar que no existe una influencia especie-específica entre el nervio óptico y el sistema nervioso central (tectum óptico), son significativos.

Por todo lo expuesto, uno de los métodos que nos permitiría confirmar sin ninguna duda cuál de las estructuras nerviosas pertenece al injerto, sería la tinción de los cortes con FEULGEN y observando el nucleolo de las células.

Otro método utilizado en Embriología consiste en inyectar sustancias, como la HRP o aminoácidos radiactivos, en uno de los globos oculares del embrión receptor (CONSTANTINE-PATON y CAPRANICA, 1976a y b; LAW y CONSTANTINE-PATON, 1978;

CONSTANTINE-PATON y LAW, 1978 y 1983; ALVARADO-MALLART y SOTELO, 1984; ALFONSO SANCHEZ, 1986).

El injerto del embrión O-213, es el único de todos los realizados (Métodos A, B y C), donde se han desarrollado normalmente el pecten (figuras 6 y 11) y el nervio óptico (figuras 12 a 18). El aspecto de ambos es similar al estadio control 1+ (figura 6).

La presencia de estas estructuras podemos justificarla basandonos en la cantidad de tejido injertado y en su correcta orientación en el receptor, lo que ha permitido un crecimiento completamente fisiológico. Además es significativo que en el embrión donde han crecido estructuras extraoculares perfectamente diferenciadas como el pico superior, sea donde la vesícula óptica haya alcanzado un grado de desarrollo tan completo.

Es el único embrión del Método C donde se ha desarrollado la córnea (figuras 7 y 8) que presenta un aspecto similar al estadio control 1+ (figuras 2 y 3). Pensamos que el crecimiento de la córnea se debe sobre todo a la perfecta orientación de la vesícula óptica en el lugar del injerto.

La retina neurosensorial muestra una estructuración en capas (figura 9) parecida a la retina del estadio control 33 Z (figura 5), aunque de menor grosor. En las pocas zonas donde no ha perdido el contacto con el epitelio pigmentado, se observan algunas interdigitaciones entre los artículos externos de los fotorreceptores y las células del epitelio pigmentado, similares a las que existen en el estadio control 33 Z (figura 5). Este detalle parece indicar que además de la

influencia del estímulo luminoso sobre la retina, hay una tendencia de tipo evolutivo que provoca la aparición de las interdigitaciones.

### 2.3.2. CRISTALINO

El cristalino aparece en los 7 embriones del Método C donde el injerto se ha desarrollado. En 4 ha crecido en el interior de la cavidad craneal, sin ningún contacto o relación con la retina; ya sea porque ésta no se ha desarrollado (O-259 y O-288) o porque se interpone alguna otra estructura (O-260 y O-310)

En el embrión O-259 se distinguen dos estructuras (figura 6) que identificamos como cuerpos cristalinos o cuerpos lentoides, pues su tamaño y aspecto histológico están muy lejos de parecerse al cristalino del estadio teórico que debería haber alcanzado.

Estos términos fueron acuñados por ALEXANDER (1937), al distinguir hasta cinco estructuras cristalinas diferenciadas a partir del ectodermo del injerto, del huesped o de ambos.

Años antes DANCHAKOFF (1924), observó que cuando la vesícula óptica mantiene un contacto continuo con el ectodermo, existe una tendencia a que se formen más de un cristalino.

Ambos autores consideran imprescindible la presencia de la vesícula óptica y en este embrión la única estructura derivada de la vesícula óptica es el epitelio pigmentado que se relaciona con uno de los cuerpos lentoides.

En el embrión O-260 sólo existe una estructura cristalina (figuras 3 y 5), pero el aspecto histológico y el tamaño tampoco recuerda al del estadio teórico; aunque en

este caso sí se ha desarrollado la retina, y el epitelio pigmentado se interpone entre ella y el cristalino.

El cristalino del embrión O-288 (figuras 4 y 5), también es pequeño en relación con el estadio teórico; sin embargo, al contrario que en los dos casos anteriores, presenta una corona de epitelio anterior rodeando las fibras.

En este embrión no existe retina, pues a partir de la vesícula óptica solamente se ha diferenciado el epitelio pigmentado y en algunas zonas está en íntimo contacto con parte del epitelio anterior.

Mucho más grande es el cristalino del embrión O-310 (figuras 4 y 5). En su interior se observan las fibras cristalinianas y en algunas distinguimos los núcleos picnóticos. En este caso el cristalino no se relaciona con ninguna de las estructuras que derivan de la vesícula óptica (retina y epitelio pigmentado).

Aunque la mayor parte de los autores están de acuerdo en que la presencia de la retina es necesaria para el desarrollo normal del cristalino, CLAVERT (1977) observó que en mamíferos el cristalino continúa desarrollándose en ausencia de la retina.

McKEEHAN (1954), cuando extirpa la vesícula óptica en estadios precoces obtiene cristalinios pequeños e indiferenciados.

Además los trabajos de ALEXANDER (1937) y AMPRINO (1949b), demostraron que el epitelio pigmentado puede inducir, en ausencia de retina, la formación del esbozo cristaliniano; pero es incapaz de continuar su desarrollo.

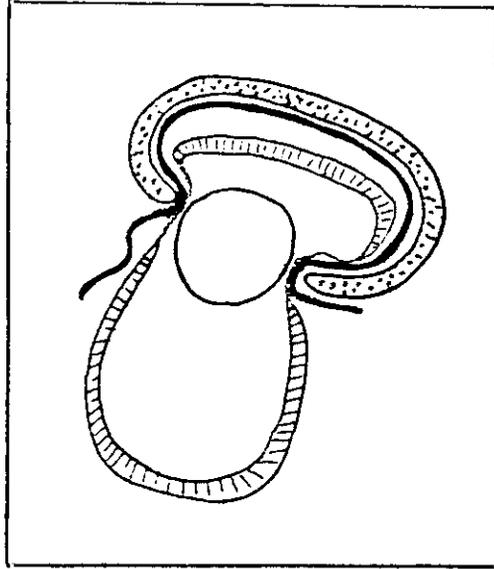
Las afirmaciones de estos autores pueden explicar, al menos en parte, la presencia de formaciones cristalinianas en los injertos de los embriones quimera O-259, O-260 y O-288; sin embargo, no así en el O-310.

Si extrapolamos al embrión O-310 los resultados de DRAGOMIROV (1924), cuando observa formaciones fibrilares en la superficie de la vesícula cristaliniana que contacta con una estructura nerviosa como el otocisto; vemos que el cristalino está en íntimo contacto con el sistema nervioso central. Esta relación podría explicar la presencia de fibras cristalinianas, aunque de distribución anárquica.

En los injertos de los embriones O-263 y O-173, el cristalino se ha desarrollado formando parte de un globo ocular más o menos diferenciado, que ha crecido orientado al interior de la cavidad craneal.

Por la morfología que adopta el injerto del embrión O-263 (Esquema 5), en algunas zonas el cristalino está completamente rodeado por la retina (figuras 3 y 17). Este detalle no influye en la estructuración del cristalino, al contrario de lo que afirman COULOMBRE y COULOMBRE (1963) y GENIS GALVEZ y cols. (1966 y 1967), cuando describen que la superficie del cristalino que se relaciona con la retina se transforma en fibras.

ESQUEMA 5:



Sin embargo, existen varios hechos que para nosotros pueden justificar la presencia del epitelio anterior a pesar de que el cristalino esté rodeado por retina. En primer lugar, el plano ecuatorial del cristalino no está orientado en el mismo sentido que el plano del teórico orificio pupilar (orificio formado por el cartílago escleral); en segundo término, el epitelio anterior se localiza sobre todo en las zonas de contacto con la retina ciega y el epitelio pigmentado, y no con la retina neurosensorial. Además es posible que en las primeras fases del desarrollo la retina no rodease el cristalino.

En el injerto del embrión O-173, se ha diferenciado un cristalino (figura 5) que presenta un tamaño similar al del estadio control 32 Z (figura 3). Igual que en el embrión anterior (O-263), la orientación del injerto (figura 4) hace que el cristalino se encuentre en el interior de la cavidad craneal.

La presencia de núcleos en las fibras cristalinas, no debe confundirnos y hacernos pensar en un gran retraso en el grado de diferenciación de esta estructura; pues, aunque los núcleos desaparecen hacia el estadio 23 Z, la orientación del corte histológico nos muestra la incorporación de las fibras secundarias a partir de las células ecuatoriales del epitelio anterior y a ese nivel los núcleos son visibles en fases avanzadas del desarrollo.

El cristalino presenta una buena estructura histológica, pues no tiene conflicto de espacio con el sistema nervioso central y su relación con la retina y el epitelio pigmentado es muy similar a la que se observa en condiciones normales (embriones control).

### 2.3.3. RETINA Y EPITELIO PIGMENTADO

El epitelio pigmentado se ha desarrollado también en los 7 injertos del Método C.

Es comprensible que la manipulación excesiva afecte en mayor grado a las estructuras más complejas como la retina, que a las más simples como el epitelio pigmentado. Si a esto añadimos que en los embriones O-288 y O-259 las vesículas ópticas fueron injertadas entre los estadios 8 y 9 Z respectivamente, parece lógica la ausencia de retina en ambos casos.

Sin embargo, en el embrión O-310 sí se ha desarrollado la retina, pero aunque se injertó en el estadio 9 Z ha crecido rodeada por el epitelio pigmentado y por lo tanto aislada del mesénquima (figuras 7 y 8). Ya hemos mencionado como varios investigadores consideran que la retina se diferencia a partir de la capa de la vesícula óptica que crece aislada del mesénquima (LOPASHOV, 1948 y 1960; STROEVA, 1956; ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ, 1960).

Pensamos que la presencia de retina en el injerto del embrión O-260 (figura 6) es normal, si tenemos en cuenta que la vesícula óptica se injertó en el estadio 10 Z; por lo que su pared distal está más diferenciada que en el estadio 8 y 9 Z de los embriones anteriores.

En este embrión, la retina alcanza un mayor desarrollo histológico en las zonas donde se relaciona con el epitelio pigmentado. En el embrión O-310, también se aprecia este

detalle, pero solamente en aquellas regiones donde el epitelio pigmentado está más desarrollado (figuras 8 y 9). Estas observaciones coinciden con las afirmaciones de COULOMBRE (1956a), FUJISAWA (1971) y FUJISAWA y cols. (1974).

La retina correspondiente al injerto del embrión 0-173 (figuras 7 y 8), muestra un desarrollo similar a la retina del estadio teórico que debería haber alcanzado (1+, figuras 4 y 5); sin embargo, carece de interdigitaciones entre los artículos externos de los fotorreceptores y las células del epitelio pigmentado.

La presencia de los pliegues retinianos y su menor desarrollo histológico, guarda cierto parecido con los resultados obtenidos por WEISS y AMPRINO (1940), COULOMBRE (1956a) y JIMENEZ COLLADO (1977), cuando experimentalmente provocan una disminución de la presión intraocular.

Aunque en este injerto se han diferenciado los procesos ciliares (figuras 4 a 6) y por lo tanto existe secreción del humor acuoso, éste es incapaz de mantener un tono ocular adecuado ya que el globo ocular no ha crecido formando un compartimento estanco. Esto ha provocado, no sólo la presencia de pliegues retinianos sin el apoyo del epitelio pigmentado, sino que los propios pliegues de los procesos ciliares son más pronunciados.

El injerto del embrión 0-263, no solamente ha crecido orientado hacia el interior de la cavidad craneal, sino que la retina y el epitelio pigmentado se han desarrollado dentro y

fuera del globo ocular, sobrepasando los límites del orificio que forma el cartilago escleral.

En el interior del globo ocular, la retina (figuras 8 y 10) presenta un aspecto similar a la retina de los estadios teóricos que debería haber alcanzado (33 Z y 1+, figuras 4 y 5 en ambos), pero con pocas células ganglionares. Sin embargo, en las zonas donde no ha perdido el contacto con el epitelio pigmentado se observan interdigitaciones entre los artículos externos de los fotorreceptores y las células del epitelio pigmentado, que recuerdan a las que se ven en el embrión control 1+ (figura 5).

Esta circunstancia que no se aprecia en el embrión O-173, a pesar de que su retina presenta un mayor grado de diferenciación (según el estadio teórico alcanzado), puede tener un doble origen. En primer lugar, en el embrión O-263 la retina se ha desarrollado con una presión intraocular adecuada; y en segundo término, el injerto ha crecido en la superficie del receptor, por lo tanto es más probable que la retina haya sido influenciada por el estímulo luminoso. Creemos que estas características marcan la diferencia entre ambos embriones en relación a las interdigitaciones.

Mucho mayor interés tiene analizar la retina que ha crecido fuera del globo ocular, pero dentro de la cavidad craneal (figuras 9, 11 y 12).

En algunas regiones ha alcanzado un desarrollo histológico similar al estadio control 33 Z (figuras 4 y 5) con los fotorreceptores perfectamente diferenciados, pero con pocas células ganglionares y sin capa de fibras ópticas.

Queremos destacar que en esas zonas la retina no tiene el soporte del epitelio pigmentado (figuras 7 y 12). Este detalle no coincide con los resultados de FUJISAWA (1971) y FUJISAWA y cols. (1974), cuando observan la ausencia de fotorreceptores en la retina que crece sin el epitelio pigmentado.

Es necesario aclarar que estos autores injertan exclusivamente células disociadas de retina en corioalantoides y en nuestros embriones, la retina se relaciona con el sistema nervioso central y el líquido cefalorraquídeo. Además existe epitelio pigmentado, aunque se encuentre lejos de esas zonas.

La retina desarrollada fuera del globo ocular, presenta gran cantidad de pliegues (figuras 3, 4 y 17) y en algunas zonas se une, sin solución de continuidad, con el sistema nervioso central del receptor (figuras 7, 13, 18 y 19).

Los pliegues que presentan una menor diferenciación histológica se han formado: Por el gran espacio que tiene la retina para crecer, por la ausencia de una estructura cartilaginosa (esclera) que limite el crecimiento en extensión y porque los procesos ciliares diferenciados fuera del globo ocular (figura 4 y 11) no pueden mantener un tono adecuado.

Después de los trabajos ya mencionados de HEATON (1973) y ALVARADO-MALLART y SOTELO (1984), no es de extrañar que ambas estructuras contacten entre sí, a pesar de pertenecer a especies diferentes.

En los injertos se han desarrollado otras estructuras:

-Músculos oculares extrínsecos en los embriones O-213 (figura 6) y O-263 (figuras 14 y 16).

-Pico en el O-213 (figuras 1 y 5) y O-260 (figuras 1 y 4).

-Plumas en el interior de la cavidad craneal en el O-288 (figuras 3, 4, 6 y 7) y O-310 (figuras 4 y 5).

-Estructuras con aspecto histológico de tejido nervioso en el O-259 (figuras 3 a 6) y O-263 (figuras 14 y 15).

-Tejido óseo y/o cartilaginoso cuya morfología no recuerda a la esclera en el O-213 (figura 14), O-259 (figuras 3 a 6), O-310 (figuras 6 y 7), O-260 (figuras 3 y 5) y O-263 (figuras 3, 14 y 15).

-Una estructura de aspecto glandular en el O-263 (figuras 17 y 18).

La presencia de estas estructuras puede justificarse sobre todo por la inclusión, con la vesícula óptica, de tejido prospectivo de cada una de ellas. Aunque en menor medida, creemos que la localización del injerto en el Método C puede influir; pues en la cavidad craneal existe un menor conflicto de espacio que favorece el crecimiento de las estructuras.

El desarrollo, entre las estructuras nerviosas, de una cavidad tapizada por tejido dérmico y rellena de esbozos pigmentados de plumas, se observa en los embriones O-288 y O-310. Ambos están incluidos en el grupo donde hubo una excesiva manipulación del injerto, de la que también es patente la desorganización del resto de estructuras oculares.

#### 2.3.4. EMBRIONES O-227 Y O-230

Los embriones O-227 y O-230 (figuras 1 y 2 en ambos) presentan una microftalmía izquierda, pero no hay señales del injerto, excepto el desarrollo de algunos esbozos pigmentados de plumas y una ligera pigmentación del borde libre de los esbozos palpebrales izquierdos.

En el estudio microscópico se observa un acúmulo de pigmento que corresponde a un plegamiento de epitelio pigmentado en el ojo microftálmico de ambos embriones (O-227, figuras 4 y 5; O-230, figuras 4 a 7).

BENITEZ RUBIO (1986), en su extenso trabajo sobre malformaciones provocadas por la ligadura de las venas vitelinas derechas e izquierdas, utiliza algunos embriones de pollo pertenecientes a la raza Shaver blanca, y afirma que el porcentaje de microftalmías espontáneas en esta raza, es aproximadamente del 1%.

Son varios los factores que pueden provocar malformaciones oculares.

GRABOWSKI y PAAR (1958) obtienen, pero no describen, malformaciones oculares tras provocar una hipoxia durante el periodo de incubación del embrión de pollo.

DE LA CRUZ y cols. (1966), aumentan experimentalmente la temperatura de incubación (aproximadamente 2º C) y observan malformaciones oculares.

La pérdida de flujo sanguíneo en embriones de pollo de menos de 2 días de incubación es para RYCHTER y LEMEZ (1963) el origen de las microftalmías que obtienen ORTS LLORCA y cols. (1959), cuando ligan las venas vitelinas izquierdas.

En nuestro caso ambos embriones pertenecían a una misma puesta, se utilizaron el mismo día y fueron operados con el Método C en el que no existe el riesgo de pérdida de sangre. Además, fueron los únicos supervivientes pues el resto presentaban tal grado de reabsorción que era imposible distinguir estructuras embrionarias.

Por todo lo expuesto creemos que las microftalmías fueron espontáneas.

Sin embargo, a pesar de no presentar estructuras oculares procedentes del injerto, los hemos incluido por el plegamiento del epitelio pigmentado situado en la misma zona del ojo microftálmico. También se observa un defecto en el desarrollo histológico de la retina neurosensorial que se encuentra en frente del epitelio pigmentado alterado.

No hemos encontrado descritas este tipo de alteraciones en ojos microftálmicos y tampoco pensamos que puedan estar relacionadas con la técnica quirúrgica.

Sin embargo, la presencia de esbozos pigmentados de plumas en el lado izquierdo es comprensible pues el ectodermo del injerto (única estructura que prendió), con el crecimiento, se desplazó de la línea media a la izquierda por el menor tamaño del ojo izquierdo.

# CONCLUSIONES

Para el correcto análisis de los resultados experimentales, es necesario establecer una serie de referencias respecto al desarrollo normal macro y microscópico del globo ocular del embrión de codorniz y el estudio experimental.

#### DESARROLLO NORMAL DEL GLOBO OCULAR DEL EMBRION DE CODORNIZ:

1. El primer esbozo de la placoda cristaliniiana surge en el estadio 10 Z (16 pares de somitos).

2. La invaginación de la vesícula óptica primaria y de la placoda cristaliniiana se puede observar ya en el estadio 12 Z (22 pares de somitos).

3. Los primeros indicios macro y microscópicos de pigmentación aparecen en el estadio 16 Z.

4. En el estadio 24 Z, es posible distinguir todas las capas de la retina.

5. La diferenciación del pecten en el embrión de codorniz (E: 17 Z), se inicia antes que en el embrión de pollo (E: 26 HH -> 19 Z). Sin embargo, el desarrollo se completa más tarde en el embrión de codorniz (E: 28-30 Z) que en el embrión de pollo (E: 37-40 HH -> 25-28 Z).

6. En el estadio 23 Z, hemos observado los esbozos de las membranas de Bowman y de Descemet que separan el estroma corneal del epitelio y endotelio, respectivamente.

7. Los primeros pliegues de los procesos ciliares, se observan en el estadio 24 Z.

#### ANALISIS EXPERIMENTAL DE LOS HETEROINJERTOS:

8. Los injertos de vesículas ópticas de embriones de codorniz comprendidos entre los estadios 10 a 13 Z, en mesénquima periocular de embriones de pollo entre los estadios 17 a 21 HH (Método A), son los que ofrecen mayores porcentajes de éxito; entendiendo como éxito el desarrollo macro y microscópico de dos o más estructuras oculares procedentes del injerto, y pueden servir como base para estudios en este campo.

9. Para aumentar la viabilidad de los injertos, en todos los métodos, es necesario evitar que se hidrate durante la realización de la técnica; ello se consigue preparando el embrión receptor antes que el donante.

10. En general, existe un retraso en el desarrollo cronológico y en el crecimiento de los injertos con relación al estadio teórico que deben alcanzar. La mayor parte del retraso tiene su origen en el periodo de latencia provocado por los pasos quirúrgicos.

11. Para la morfogénesis normal de la córnea, es necesaria la presencia de tejido mesodérmico adyacente, aunque pertenezca al receptor y la correcta relación con el epitelio anterior del cristalino. Por otro lado, es necesario que la presión intraocular ejerza, desde que aparece el primer esbozo, una acción específica sobre la córnea; que vendrá condicionada por la correcta estructuración del globo ocular y los tejidos perioculares.

12. En ausencia de tejido mesodérmico en el injerto, las células mesodérmicas del embrión receptor participan en la morfogénesis corneal, formando parte ya sea del epitelio, del estroma o de ambos.

13. Confirmamos que en los injertos de estadios precoces del desarrollo (10+ a 12+ Z), existe regeneración del cristalino, a partir de los bordes de la vesícula óptica (regeneración de WOLFF). La capa externa de la vesícula óptica (Epitelio Pigmentado), da lugar al epitelio anterior del cristalino y la capa interna (Retina), a las fibras cristalinianas.

14. El contacto de la retina con el cristalino modifica la disposición de los núcleos de las fibras primarias; ya que en el punto donde contactan ambas estructuras, se orientan en sentido contrario.

15. En los injertos, el cristalino se ha desarrollado en ausencia de retina y epitelio pigmentado; pero su morfología es atípica.

16. La presión intraocular es un factor que influye en la morfología normal del cristalino, retina y epitelio pigmentado, según hemos podido comprobar estudiando los casos en los que el injerto se desarrolló independientemente de las demás estructuras perioculares.

17. La capa externa de la vesícula óptica y posteriormrnte el epitelio pigmentado, se transforma en retina neurosensorial. Normalmente esta característica la observamos cuando la capa externa se relaciona con el mesénquima periocular.

18. Los fotorreceptores de la retina pueden diferenciarse en ausencia del epitelio pigmentado; aunque para ello es necesario que la capa interna de la vesícula óptica se relacione con el sistema nervioso central y/o con el líquido cefalorraquídeo del receptor.

19. Las células ganglionares y sus axones (fibras ópticas) se diferencian cuando la retina del injerto se une con el sistema nervioso central del receptor.

20. En los injertos obtenidos de estadios precoces del desarrollo, pueden diferenciarse estructuras del embrión donante no relacionadas con el globo ocular. Su presencia se debe a la inclusión de tejidos próximos a la vesícula óptica.

21. No hemos observado la salida neta del nervio óptico en ninguno de los embriones quimera, excepto en el O-213. En este embrión, el nervio óptico se pierde en el interior de una estructura nerviosa cuyo origen no hemos podido determinar. El desarrollo del nervio óptico en este caso, creemos que es debido a la cantidad de material donante, que posiblemente incluía sistema nervioso central. Además, es el único injerto donde hemos observado el desarrollo del pecten.

# BIBLIOGRAFIA

ALEXANDER L.E.:

An experimental study of the role of the optic cup and overlying ectoderm in lens formation in the chick embryo. J. Exp. Zool., 1.937; 75:41-68.

ALFONSO SANCHEZ J.F.:

Análisis del desarrollo de la vía óptica en el embrión de pollo. Técnica de la H.R.P. Tesis Doctoral, Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, 1.987.

ALVARADO-MALLART R.M. y SOTELO C.:

Homotopic and heterotopic transplantations of quail tectal primordia in chick embryos: Organization of the retino-tectal projections in the chimeric embryos. Develop. Biol., 1.984; 103:378-398.

AMPRINO R.:

Ricerche sperimentali sulla morfogenesi del cristallino nell'embrione di pollo. Induzione e rigenerazione. Arch. Entwmech. Organ., 1.949a; 144:71-80.

AMPRINO R.:

Indipendenza della differenziazione istologica e della morfogenesi del cristallino. Arch. Entwmech. Organ., 1.949b; 144:81-87.

ANGELUCCI D.R.:

Über entwicklung und ban des vorderen uvealtractus der vertebrates. Av. F. Mikr. Anat., 1.881; 19:16

BABUCHIN F.:

Beiträge zur entwicklung des auges. Wurzburger Naturwissensch. Zeitschr, 1.863; 4

BACSICH P. y GELLERT A.:

Beiträge zur Kenntnis der Struktur und Funktion des pecten im Vogelauge. Arch. Ophthalmol. Graefe's, 1.935; 133:448-460.

BALINSKY BI.:

On the factors controlling the size of the brain and eyes in anuran embryos. J. Exp. Zool., 1.958; 139:403-442.

BALINSKY BI.:

Desarrollo de los ojos. En: Introducción a la Embriología. Ediciones Omega S.A.. Barcelona 1.983; pp 413-421.

- BALINSKY BI. y WALTHER H.:  
The immigration of presumptive mesoblast from the primitive streak in the chick as studied with the electron microscope.  
Acta Embryol. Morph. Exp., 1.961; 4:261-283.
- BARD J.B.L., HAY E.D. y MELLER S.M.:  
Formation of the endothelium of the avian cornea: A study of cell movement *in vivo*.  
Dev. Biol., 1.975; 42:334-361.
- BARFURTH D. y DRAGENDORFF O.:  
Versuche über regeneration des auges und der linse beim hühnerembryo.  
Anat. Anz., 1.902; 21:185-200.
- BEAULATON J. y LOCKSHIN R.A.:  
The relation of programmed cell death to development and reproduction: Comparative studies and an attempt at classification.  
Intl. Rev. Cytol., 1.982; 79:215-235.
- BENITEZ RUBIO M.R.:  
Análisis experimental de la influencia del factor hemodinámico en la septación cardiaca: Supresión del flujo a través de los vasos vitelinos.  
Tesis Doctoral, Facultad de Medicina Universidad Complutense de Madrid. Madrid, 1.986.
- BIANCHI L.:  
Alcuni dati sullo sviluppo della cornea del pollo.  
Atti. Soc. Ital. Anat., Monit. Zool. Ital. Suppl., 1.932; 42:117-119.
- BLOCHMANN F. y HUSEN E. von:  
Ist der Pecten des Vogelanges ein Sinnesorgan?.  
Biol. Zentralbe, 1.911; 31:150-156.
- BOYDSTON W.R. y SOHAL G.S.:  
Grafting of additional periphery reduces embryonic loss of neurons.  
Brain Res., 1.979a; 178:403-410.
- BOYDSTON W.R. y SOHAL G.S.:  
Prevention of embryonic cell death, after transplantation of an additional optic vesicle.  
Anat. Rec., 1.979b; 193:161 (abstract).
- BRINI A.:  
L'apparition du pigment dans la choroïde.  
Bull. Soc. Franc. Ophtal., 1.949; 474.

BRINI A., PORTE A. y STOECKEL M.E.:  
Etude au microscope électronique de quelques problèmes  
d'embryologie oculaire chez l'embryon de poulet a des  
stades précoces.  
Bull. Soc. Franc. Ophtal., 1.962; 75:192-201.

BRINI A., PORTE A. y STOECKEL M.E.:  
Développement des structures bordant de chambre antérieure  
chez l'embryon de poulet. Etude au microscope  
électronique.  
Bul. Soc. Franc. Ophtal., 1.965; 78:263-277.

BRINI A., PORTE A. y STOECKEL M.E.  
Développement de la cornée chez l'embryon de poulet.  
Etude au microscope électronique.  
Doc. Ophtal., 1966; 20: 309-332.

BURCH H.C.:  
Técnica Histológica.  
Editorial Paz Montalvo. Madrid 1.969.

COHEN A.I.:  
Electron microscopic observations of the developing mouse  
eye. I. Basement membranes during early development and  
lens formation.  
Dev. Biol., 1.961; 3:297-316.

COLLIN:  
Premiers stades du développement du m. sphincter de  
l'iris chez les oiseaux.  
C.R. Soc. Biol., 1.903; 55:1055.

CONSTANTINE-PATON M. y CAPRANICA R.R.:  
Axonal guidance of developing optic nerve in the frog.  
I. Anatomy of the projections from transplanted eye  
primordia.  
J. Comp. Neurol., 1.976a; 170:17-31.

CONSTANTINE-PATON M. y CAPRANICA R.R.:  
Axonal guidance of developing optic nerve in the frog.  
II. Electrophysiological studies of the projection from  
transplanted eye primordia.  
J. Comp. Neurol., 1.976b; 170:33-52.

CONSTANTINE-PATON M. y LAW M.I.:  
Eye-specific termination bands in tecta of three-eyed  
frogs.  
Science, 1.978; 202:639-641.

- CONSTANTINE-PATON M. y LAW M.I.:  
Desarrollo de mapas y bandas en el cerebro.  
Invest. y Ciencia, 1.983:30-39.
- COULOMBRE A.J.:  
Correlation of structural and biochemical changes in the  
developing retina of the chick.  
Amer. J. Anal. 1.955; 9:153-190.
- COULOMBRE A.J.:  
The role of intraocular pressure in the development of the  
chick eye. I. Control of eye size.  
J. Exp. Zool., 1.956a; 133:211-225.
- COULOMBRE A.J.:  
The eye. En: "Organogenesis". Dehaan and Urprung. Holz  
Rinehart and Winston. New York, Chicago, 1.956b.
- COULOMBRE A.J.:  
The role of intraocular pressure in the development of the  
chick eye. II. Control of corneal size.  
Arch. Ophthalmol., 1.957; 57:250-253.
- COULOMBRE A.J.:  
Problems in corneal morphogenesis.  
Adv. Morphogenesis, 1.965; 4: 81-109.
- COULOMBRE A.J.:  
The eye. En:"Organogenesis". Dehaan and Ursprung. Holt  
Rinehart and Winston. New York, Chicago, San Francisco,  
Toronto, Londres. 1.966.
- COULOMBRE A.J. y COULOMBRE J.L.:  
The role of intraocular pressure in the development of the  
chick eye. IV. Corneal curvature.  
Arch. Ophthalmol., 1.958; 59:502-506.
- COULOMBRE A.J. y COULOMBRE J.L.:  
The development of the structural and optical properties  
of the cornea.  
En: "The structure of the eye" (Academic press, New  
York), 1.961:405-420.
- COULOMBRE A.J. y COULOMBRE J.L.:  
Growth of the lens of the embryonic chick eye.  
Anat. Rec., 1.963; 145:219.
- COULOMBRE J.L. y COULOMBRE A.J.:  
Regeneration of neural retina from pigmented epithelium in  
the chick embryo.  
Dev. Biol., 1.965; 12:79-92.

- COWAN W.M., ADAMSON L. y POWELL T.P.S.:  
An experimental study of the avian visual system.  
J. Anat., 1.961; 95:545-563.
- DABAGHIAN N.V.:  
The role of the mesenchyme in the development of pigmented epithelium of the eyes in *Acipenser güldenstädti*.  
Dokl. Akad. Nauk. SSSR, 1.958; 119:391-394.
- DANCHAKOFF V.:  
Grafts in allantois of embryonic anlagen of the chick.  
Anat. Rec., 1.922; 23:14 (abstract).
- DANCHAKOFF V.:  
Wachstum transplantiertes embryonales Gewebe in der allantois.  
Zeitschr. Anat. Entwickl., 1.924; 74:401-431.
- DANCHAKOFF V.:  
Lens ectoderm and optic vesicles in allantois grafts.  
Contrib. Embryol. (Carnegie Inst.), 1.926; 18:65-78.
- DEJEAN C.:  
Embryologie des diverses parties de l'appareil oculaire.  
I. Développement de corps vitré et de la zonule de Zinn.  
II. Développement du cristallin.  
Traité Ophtalmol., 1.939; 1:128
- DEJEAN C., HERVOVET F. y LEPLAT G.:  
Embryologie du corps vitré.  
En: L'embryologie de l'oeil et sa tératologie.  
Masson. Paris, 1.958; 220-308.
- DE LA CRUZ M.V., CAMPILLO-SAINZ C., MUÑOZ-ARMAS S.,  
PALLARES G. y ZAMUDIO-BANDERA R.:  
congenital heart defects in chick embryos subjected to temperature variations.  
Circ. Res., 1.966; 18:257-262.
- DELONG G.R. y COULOMBRE A.J.  
The specificity of retino-tectal connections studied by retinal grafts onto the optic tectum in chick embryos.  
Develop. Biol., 1.967; 16:513-531.
- DETWILLER S.R.:  
On the hyperplasia of nerve centers resulting from excessive peripheral loading.  
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.), 1.920; 6:96-101.

- DORRIS F.:  
Differentiation of the chick eye *in vitro*.  
J. Exp. Zool., 1.938a; 78:385-416.
- DORRIS F.:  
The production of pigment *in vitro* by chick neural crest.  
Arch. F. Entwmech., 1.938b; 138:323-334.
- DORRIS F.:  
The production of pigment by chick neural crest in grafts  
to the 3 day limb bud.  
J. Exp. Zool., 1.939; 80:315-345.
- DRAGOMIROW N.:  
Über die entwicklung von augenbecher aus transplantierten  
stückchen embrionalen tapetum.  
Roux. Arch. Entwmech., 1.932; 126:636-662.
- DUKE-ELDER S.S.:  
En: "System of ophthalmology". Vol. I: The eye in  
evolution.  
Kimpton, London 1.958.
- EGUCHI G.:  
*In vitro* analisis of wolffian lens regeneration:  
Differentiation of the regenerating lens rudiment of the  
newt. *Triturus pyrrhogaster*.  
Embryologia, 1.967; 9:246-266.
- FERNANDEZ-VEGA L.:  
Morfogénesis de la cámara anterior en especímenes humanos.  
Tesis Doctoral, Facultad de Medicina, Universidad  
Complutense de Madrid. Madrid, 1.978.
- FISCHEL A.:  
Über die Regeneration der linse.  
Anat. Hefte., 1.900; 14.
- FISCHEL A.:  
Über den Einfluss des Auges auf die Entwicklung und  
Erhaltung de Hornhaut.  
Klin. Mbl. Augenheilk, 1.919; 62:1-5.
- FRANCOIS J., RABAEY M. y LAGASSE A.:  
Electron microscopic observations on the choroid, pigment  
epithelium and pecten of the developing chick in relation  
to melanin synthesis.  
Ophthalmol., 1.963; 146:415-431.

FRANZ V.:

Dar Pecten der Fächer im Auge der Vögel.  
Biol. Zentralblatt Bd., 1.908; 66.

FRANZ V.:

Die Akkommodation des Selachieranges und seine  
Abblendungsapparate nebst Befunden und der Retina.  
Zool. Jahrb. (Abt. Allg. Zool. Physio., Tiere),  
1.931; 52:118-178.

FRORIEP A.:

Die Entwicklung des Auges der Wirbeltiere.  
Handb. Entwicklungslehre Wirb., 1.906; 2:1-7.

FUSISAWA H.

A complete reconstruction of the neural retina of chick  
embryo grafted onto the chorio-allantoic membrane.  
Dev. Growth Differ., 1.971; 13:25-36.

FUJISAWA H., NAKAMURA H. y CHIN M.:

The fine structure of the reconstructed neural retina of  
chick embryos.  
J. Embryol. Exp. Morphol., 1.974; 31:139-149.

FUJITA S. y HORII M.:

Analysis of cytogenesis in chick retina by tritiated  
thymidine autoradiography.  
Arch. Histol. Jap., 1.963; 23:359-366.

GARCIA-PORRERO, J.A.; COLLADO J.A. y OJEDA J.L.:

Cell death during detachment of the lens rudiment from  
ectoderm in the chick embryo.  
Anat. Rec., 1.979; 163:791-804.

GARCIA-PORRERO, J.A.; COLVÉE E. y OJEDA J.L.:

The mechanisms of cell death and phagocytosis in the early  
chick lens morphogenesis: A S.E.M. and cytochemical  
approach.  
Anat. Rec., 1.983 (in press).

GARCIA-PORRERO, J.A.; COLVÉE A. y OJEDA J.L.:

Cell death in the dorsal part of the chick optic cup.  
Evidence for a new necrotic area.  
J. Embryol. Exp. Morphol., 1.984; 80:241-249.

GARCIA-PORRERO J.A. y OJEDA J.L.:

Cell death and phagocytosis in the neuroepithelium of the  
developing retina. A T.E.M. and S.E.M. study.  
Experientia, 1.979; 35:375-376.

GAYER K.:

A study of coloboma and other abnormalitien in transplant of eye primordia from normal and creeper chick embryos. J. Exp. Zool., 1.942; 89:103-145.

GENIS GALVEZ J.M.:

1.962. Citado por ORTS LLORCA en "Los finos mecanismos de regulación en la morfogénesis ocular". 1.975.

GENIS GALVEZ J.M.:

Role of the lens in the morphogenesis of the iris and cornea.

Nature (London), 1.966; 210:209-210.

GENIS GALVEZ J.M., CASTRO J.M. y BATTANER E.:

La importancia biológica del cristalino.

Arch. Soc. Oftalmol. Hisp-amer., 1.968; 28:69-111.

GENIS GALVEZ J.M., SANTOS L. y RIOS A.:

Causal factors in corneal development. An experimental analysis in the chick embryo.

Exp. Eye Res., 1.967; 6:48-56.

GLÜCKSMANN A.:

Cell death in normal vertebrate ontogeny.

Biol. Rev., 1.951; 26:59-86.

GRABOWSKI C.T. y PAAR J.A.:

The teratogenic effects of graded doses of hypoxia on the chick embryo.

Am. J. Anat., 1.958; 103:313-347.

HAGEDOORN A. von:

The early development of the endothelium of Descemet's membrane, the cornea and the anterior chamber of the eye.

Brit. J. Ophthalmol., 1.928; 12:479-495.

HAMBURGER V. y HAMILTON H.L.:

A series of normal stages in the development of the chick embryo.

J. Morphol., 1.951; 88:49-92.

HAMILTON H.L.:

Lillie's development of the chick.

Holt, Rinehart and Winston, New York. 1.952.

HARRISON J.R.:

*In vitro* analysis of differentiation of retina pigment in the developing chick embryo.

Anat. Rec., 1.952; 113:557.

- HARRISON R.G.:  
Correlation in the development and growth of the eye studied by means of heteroplastic transplantation. Roux. Archiv., 1.929; 120:1-55.
- HARRISON R.G.:  
Heteroplastic grafting in embryology. Harvey Lect., 1.935; 29:1933-1934.
- HAY E.D.:  
Organization and fine structure of epithelium and mesenchyme in the developing chick embryo. En: "Epithelial-Mesenchymal Interactions". (Fleischmajer R. y Billingham R.E., eds.) Williams & Williams. Baltimore, 1.968; pp 31-35.
- HAY E.D. y REVEL J.P.:  
Fine structure of the developing avian cornea. En: "Monographs in Dev. Biol". (Wolsky A. y Chen P.S., eds.). S. Karger. Basel, 1.969; vol. 1.
- HEATON M.B.:  
Xenoplastic eye transplantation between chick and quail embryos: Some neuroanatomical and functional aspects. J. Comp. Neurol., 1.973; 151:359-376.
- HERINGA G.C. y LOHR H.A.:  
Sur la nature et la genese des fibres collagènes. Bull. Histol., 1.926; 3:125-141 y 201-211.
- HILFER S.R.:  
Development of the eye of the chick embryo. Scand. Electron Microsc., 1.983; 3:1353-1369.
- HINCHLIFFE J.R.:  
Cell death in embryogenesis. En: "Cell Death in Biology and Pathology". Ed. Bowen y Lockshin. London: Chapman y Hall. 1.981:35-78.
- HOADLEY L.:  
The independent differentiation of isolated chick primordia in chorioallantoic grafts. 1. The eye, nasal region, optic nerve and mesencephalon. Biol. Bull., 1.924; 46:281-315.
- HOLLYDAY H. y HAMBURGER V.:  
Reduction of naturally occurring motor neuron loss by enlargement of the periphery. J. Comp. Neurol., 1.976; 170:311-320.

HORDER T.J. y MASHKAS A.:  
The developmental program for retinal embryogenesis with special reference to the chick.  
Bibliotheca Anat. (Switzerland), 1.982; 0:102-123.

HUGHES W.F. y LAVELLE A.:  
On the synaptogenic sequence in the chick retina.  
Anat. Rec., 1.974; 179:297-301.

HUGHES W.F. y LAVELLE A.:  
The effects of early tectal lesions on development in the retinal ganglion cell layer of chick embryos.  
J. Comp. Neurol., 1.975; 163:265-284.

HUNT T.E.:  
An experimental study of the independent differentiation of the isolated Hensen's node and its relation to the formation of axial and not axial parts in the chick embryo.  
J. Exp. Zool., 1.931; 59:395-427.

HUSCHKE E.:  
Über die erste Entwicklung des Auges und die damit zusammenhängen de Cyklopie.  
Meckel's Arch. Anat. Physiol., 1.832; 6:1-47.

HUSCHKE E.:  
Comentatio de pectinis in oculo avium potestate anatomica et physiologica.  
Jena, 1.827.

IKEDA Y.:  
Über die wechselscitigen bezichungen der sinnesorgane untereinander in ihrer normalen und experimentell bedinglan Entwicklung.  
Arb. Anat. Inst. Sendai, 1.938; 21:1-44.

JACOBSON A.G.:  
The roles of the optic vesicle and other hear tissues in lens induction.  
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1.955; 41:522-525.

JIMENEZ COLLADO J.:  
Regulation of intraocular pressure mechanism morphogenetics.  
Enviado a: Acta Anat., 1.977.

JIMENEZ COLLADO J. y PUCHADES ORTS A.:  
Homoinjertos de vesícula óptica en embriones de aves.  
Comunicación del IX Congr. Soc. Anat. Esp. y Luso-Hisp.  
Oporto, 1.973.

- JIMENEZ COLLADO J. y PUCHADES ORTS A.:  
Does the mesencephalon exert an attraction with respect to the fibres of the optic nerve. Experimental analysis. Trabajos Inst. Embriol., 1.983; vol.I, n°2:28-31.
- JIMENEZ COLLADO J., PUCHADES ORTS A., RUIZ MORENO J.E. y SOBRADO PEREZ J.:  
L'analyse experimentale de la capacite du mesencephale pendant le développement et la differentiation du nervoux opticus. Trabajos Inst. Embriol., 1.981, 1.
- JIMENEZ COLLADO J., PUERTA FONOLLA A.J., FDEZ-VEGA L. y CARCELES J.A.:  
Injertos de vesícula óptica en embriones de aves. Arch. Soc. Esp. Oftalmol., 1.978; 38:1275-1288.
- JOHNSON M.L.:  
Visual cells of the amphibian retina in absence of the epithelial pigment layer. Anat. Rec., 1.935; 63:53-75.
- KAHN A.J.:  
An autoradiographic analysis of the time of appearance of neurons in the developing chick neural retina. Dev. Biol., 1.974; 38:30-40.
- KAHN A.J.:  
Ganglion cell formation in the chick neural retina. Brain Res., 1.973; 63:285-290.
- KARKINEN-JAASKELAINEN M.:  
Permissive and directive interactions in lens induction. J. Embryol. Exp. Morphol., 1.978; 44:167-179.
- KEIBEL F. y ABRAHAM K.:  
Normentafel zur Entwicklungsgeschichte des Huhnes (*Gallus domesticus*).  
En: "Normentafel zur Entwicklungsgeschichte der Wirbelties". F. Keibel, Fischer, Jena 1.900.
- KESSLER L.:  
Zur Entwicklung des Auges der Wirbelthiere. F. C. W. Vogel Leipzig, 1.877.
- KNAPE E.V. von:  
Über die Entwicklung der Hornhaut des Hühnchens. Anat. Anz., 1.909; 34:417-424.

- KUSAGAWA S.:  
Über die experimentelle erzeugung angeborenem star bei hühnern und seine vererbung.  
Graeph. Arch. Ophtal., 1.927; 118:401-422.
- LADIJENSKI V. DE:  
Sur l'evolution de la structure fibrillaire de la cornée chez l'embryon de poule.  
Compt. Rend. Soc. Biol., Paris, 1.915; 78:307-308.
- LAGUESSE E.:  
Sur le membrane vitrée sous-épidermique.  
C. R. de Biol., 1.919; 82:438-443.
- LANGUESSE E.:  
Development de la cornée chez le poulet. Role du mesostroma; son importance generale, les membranes basales.  
Arch. Anat. Microsc., 1.926; 22:216-265.
- LANGMAN J.:  
The appearance of specific antigens during development of the lens.  
En: "The shucture of the eye". Ed: G.K. SMELSER Acad. press, New York; 1.961:235-247.
- LASH :  
1.963, citado por ORTS LLORCA en "Los finos mecanismos de regulación en la morfogénesis ocular". 1.975.
- LAW M.I. y CONSTANTINE-PATON M.:  
Alternating retinal ganglion cell termination bands in doubly innervated frog optic tecta.  
Neurosci., 1.978; 4:118.
- Le DOUARIN N.:  
Particularites du noyan interphasique chez la caille japonaise. (*Coturnix coturnix japonica*).  
Bull. Biol. Fr. Belg., 1.969; 103:435-452.
- Le DOUARIN N.:  
Caractéristiques ultrastructurales du noyau interphasique chez la caille (*Coturnix coturnix japonica*) et le poulet (*Gallus gallus*) par le méthode de coloration régressive à l'EDTA.  
C.R. Hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris, 1.971; 272:2337-2384.
- Le DOUARIN N.:  
A biological cell labelling technique and its use in experimental embriology.  
Dev. Biol., 1.973; 30:217-222.

Le DOUARIN N. y TEILLET M.A.:  
Experimental analysis of the migration and differentiation  
of neuroblasts of the autonomic nervous system and of  
neurectodermal mesenchymal derivatives, using a biological  
cell marking technique.  
Dev. Biol., 1.974; 41:162-184.

Le DOUARIN N., RENAUD D., TEILLET M.A. y Le DOUARIN G.:  
Cholinergic differentiation of presumptive adrenergic  
neuroblast in interspecific chimeras after heterotopic  
transplantations.  
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1.975; 72:728-732.

Le LIEVRE C. y Le DOUARIN N.:  
Mesenchymal derivatives of the neural crest: Analysis of  
chaemic quail and chick embryos.  
J. Embryol. Exp. Morphol., 1.975; 34:125-254.

Le LIEVRE C., SCHWEIZER G.G. y ZILLER C.M.:  
Restrictions of developmental capabilities in neural  
crest cell derivatives as tested by *in vivo*  
transplantation experiments.  
Dev. Biol., 1.980; 77:362-378.

LENHOSSEK M. VON:  
Die entwicklung und beieutung der zonula-fasern nach  
untersuchongen am huhnchen.  
Arch. Mik. Anat. Entwick., 1.911; 77:280-310.

LEPLAT G.:  
Sur quelques point d'embryologie de l'oeil des oiseaux.  
C. R. Ass. Anat., 1.911, 13.

LEPLAT G.:  
Développement et structure de la membrane vasculaire de  
l'oeil des oiseaux.  
Arch. Biol., 1.912; 27:403-524.

LEPLAT G.:  
Embryologie de l'appareil oculaire, developpment générale  
de l'appareil visual.  
Traité Ophtalmol., 1.939; 1:87.

LEWIS M.R. y LEWIS W.H.:  
The growth of embryonic chick tissues in artificial  
media, agar and Bouillon.  
Johns Hopkins Hosp. Bull., 1.911a; XXII, 241.

LEWIS M.R. y LEWIS W.H.:  
The cultivation of tissues from chick embryos in solutions  
of NaCl, CaCl<sub>2</sub>, KCl and NaHCO<sub>3</sub>.  
Anat. Rec., 1.911b, V.

LEWIS W.H.:  
Wandering primordiated cells arising from the epithelium of  
the optic cup, with observations on the origin of the  
sphincter pupillar in the chick.  
Amer. J. Anat., 1.903; 2:405.

LEWIS W.H.:  
Experimental studies on the cleavage of the eye in  
amphibia. I: Origin of the lens.  
Amer. J. Anat., 1.904; 3:505-536.

LEWIS W.H.:  
Experiments on the origin and differentiation of the optic  
vesicle in amphibia.  
Amer. J. Anat., 1.907; 7:259.

LIEBERKHUN J.:  
Veber das auge des wirbeltierembryos.  
Sitzung Marburger Naturwissensch, 1.872; X.

LILLIE F.R.:  
The development of the chick.  
2<sup>a</sup> Edition. Henry Holt and Co., New York, 1.919.

LINDAHL C.:  
Die entwicklung der vorderen augenkammer.  
Anat. Hefte., 1.915; 52:195-276.

LINDAHL C. y JOKL A.:  
Die Entwicklung der Sehnerveninsertion und die Anlage des  
Pecten bei Vögeln.  
Z. Entwicklungsgeschichte, 1.922; 63:227-342.

LOPASHOV G.V.:  
Significance of mesenchyme envelopes in the development  
of the eyes in amphibians.  
Dokl. Akad. Nauk. SSSR, 1.948; 60:1281-1284.

LOPASHOV G.V.:  
Developmental mechanism in eyes rudiments of vertebrate  
embryon.  
London. Pergamon press, 1.960.

LOPASHOV G.V.:  
Developmental mechanisms of vertebrate eye.  
London. Pergamon press., 1.963.

LOPASHOV G.V. y STROEVA O.G.:  
Morphogenesis of the vertebrate eye.  
En: "Advances in Morphogenesis".(Ed. M. Abercrombie y  
J.Brachet). New York. Academic press, 1.961; 1:331-377.

MANGOLD O.:  
Das Determinationsproblem. III. Das Wirbeltierauge in der  
Entwicklung und Regeneration.  
Ergebn. Biol., 1.931; 7:193-403.

MANN I.C.:  
The pecten of *Gallus domesticus*.  
Quart. J. Micros. Soc., 1.924a; 68:413-442.

MANN I.C.:  
The function of the pecten.  
Brit. J. Ophthalmol., 1.924b; 8:209-226.

MANN I.C.:  
Developpement de l'oeil human.  
Clin. Ophthalmol., 1.928; 32:324-337.

MANN I.C.:  
The development of the cornea.  
Trans. Ophthalmol. Soc. UK, 1.931; 51:63-88.

MANN I.C.:  
The development of the human eye.  
Ed: Brit. Med. Ass. London, 1.949.

MARTIN C., BEAUPAIN D. y DIETERLEN-LIEVRE:  
A study of the development of the hemopoietic system using  
quail-chick chimeras obtained by blastoderm recombination.  
Dev. Biol., 1.980; 75:303-314.

MARTINEZ ALVAREZ M.C.:  
Desarrollo embrionario del otocisto en heteroinjertos  
heteroespecificos rata-pollo.  
Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad  
Complutense de Madrid. Madrid, 1.987.

MARTINOVITCH P.N.:  
Transplantation of the forebrain region in bird embryos  
before the establishment of a circulation: Heteroplasic  
Nature, 1.958; 182:572 y 589.

MARTINOVITCH P.N. y PAVLOVIC M.R.:  
Transplantation of the forebrain region in bird embryos  
before the establishment of a circulation: Homoplasic  
Nature, 1.958; 182:571-572.

- McKEEHAN M.S.:  
Cytological aspects of embryonic lens induction in the chick.  
J. Exp. Zool., 1.951; 117:31-64.
- McKEEHAN M.S.:  
A cuantitative study of self-differentiation of transplanted lens primordia in the chick.  
J. Exp. Zool., 1.954; 126:157.
- McKEEHAN M.S.:  
The relative ribonucleic acid content of lens and retina during lens induction in the chick.  
Amer. J. Anat., 1.956; 99:131-156.
- McKEEHAN M.S.:  
Induction of portions of the chick lens without contact with the optic cup.  
Anat. Rec., 1.958; 132:297-306.
- McKEEHAN M.S.:  
1.961. Citado por ORTS LLORCA en "Los finos mecanismos de regulación en la morfogénesis ocular". 1.975.
- MEYER D.B. y O'RAHILLY R.:  
The development of the cornea in the chick.  
J. Embriol. Exp. Morphol., 1.959; 7:303-315.
- MIGAZZO C.:  
Origine del mesostroma della cornea nell'embrione di pollo.  
Monit. Zool. Ital., 1.932; 43:333-335.
- MIGAZZO C.:  
Sviluppo ed istogenesis della cornea nell'embrione di pollo.  
Monit. Zool. Ital., 1.935; 46:220-227.
- MIYASHITA S.:  
Electron microscopic studies on the corneal of fetuses. II. The corneal stroma and Bowman's membrane of the chick embryos.  
Acta Soc. Ophthal. Jap., 1.964; 68:513-525.
- MIZUNO T.:  
Induction de cristallin *in vitro*, chez le poulet, en absence de la vésicule optique.  
C.R. Hebd. Séanc. Acad. Sci. Paris, 1.970; 271:2190-2192.

MIZUNO T. y KATOH Y.:  
Immunohistological studies on lens differentiation  
experimentally induced *in vitro* in the epiblast of chick  
blastoderm.  
Proc. Japan Acad., 1.972; 48:522-527.

MORRIS V.B. y COWAN R.:  
A growth curve of cell numbers in the neural retina of  
embryonic chicks.  
Cell Tissue Kinet., 1.984; 17:199-208.

MURILLO FERROL N.:  
Contribución al conocimiento de la diferenciación del  
epitelio pigmentario de la retina.  
Anal. Des., 1.964a; 12:51-61.

MURILLO FERROL N.:  
Implantation heterotopica de la placode otique chez  
l'embryon de poulet.  
Bullet. Ass. Anat., 1.964b; 49:1245-1250.

MURILLO FERROL N.:  
Obtención de macroftalmías tras la interrupción de los  
vasos vitelinos derechos. Estudio experimental en el  
embrión de pollo.  
Trabajos de Investigación. Becas de la Fac. Med.  
Madrid, 1.965; 331:341.

NAGEOTE J. y GUYON L.:  
Considerations générales sur la trame collagène.  
Arch. Biol., 1.931; 41:1-35.

NARAYANAN C.H.:  
An experimental analysis of peripheral nerve pattern  
development in the chick.  
J. Exp. Zool., 1.964; 156:49-60

NARAYANAN C.H. y NARAYANAN Y.:  
On neural hyperplasia in the chick ciliary ganglion  
resulting from peripheral overloading.  
Anat. Rec., 1.975: 181:434(abstract).

NARAYANAN C.H. y NARAYANAN Y.:  
Neuronal adjustment in developing nuclear centers of the  
chick embryo following transplantation of an additional  
optic primordium.  
J. Embryol. Exp. Morphol., 1.978a; 44:53-70.

- NARAYANAN C.H. y NARAYANAN Y.:  
On the origin the ciliary ganglion in birds studied by the method of interspecific transplantation of embryonic brain regions between quail and chick.  
J. Embryol. Exp. Morphol., 1.978b; 47:137-148.
- NEIFACH A.A.:  
The role of some form-producing relations between the different parts of the growing cornea.  
Dokl. Akad. Nauk. SSSR; 1.952; 85:1411-1414.
- NUSSBAUM L.:  
Die *pars ciliaris retinae* des Vögelauges.  
Arch. Mikros. Anat., 1.901; 57:346-353.
- NUSSBAUM L.:  
Entwicklungs eschichte des menschlichen auges.  
Graege Saemisch Hand. Opht., 1.908; 2:1-79.
- OHKURA T.:  
Electron microscope observation on Descemet's membrane formation of the developing chick embryo.  
Arch. Histol. Japan, 1.963; 22:283-294.
- O'RAHILLY R.:  
The development of the sclera and the choroid in staged chick embryos.  
Acta Anat., 1.962; 48:335-346.
- O'RAHILLY R.:  
The early development of the eye in staged human embryo.  
Contr. Embriol. Washington, 1.966; 38:5-42.
- O'RAHILLY R. y MEYER D.B.:  
Correlation between the development of the eye and embryonic staging in the chick.  
Anat. Rec., 1.955; 121:346.
- O'RAHILLY R. y MEYER D.B.:  
The early development of the eye in the chick. *Gallus domesticus* (stages 8 to 25).  
Acta Anat., 1.959; 36:20-58.
- O'RAHILLY R. y MEYER D.B.:  
The development and histochemisty of the pecten oculi.  
En: "The structure of the eye". Academic. press, New York and London, 1.961:207-219.

ORTS LLORCA F.:

Los finos mecanismos de regulación en la morfogénesis ocular.

Discurso de ingreso en la Real Academia Nacional de Medicina. Madrid 1.975.

ORTS LLORCA F. y GENIS GALVEZ J.M.:

Experimental production of retinal septa in the chick embryo. Differentiation of pigment epithelium into neural retina.

Acta Anat., 1.960a; 42:31-70.

ORTS LLORCA F. y GENIS GALVEZ J.M.:

Pliegues congénitos de la retina "retinal septa o ablatio falciformis retinal". Mecanismo patogénico.

Arch. Soc. Hisp.-amer. Oftalmol., 1.960b; 20:91-110.

ORTS LLORCA F., GENIS GALVEZ J.M. y RUANO GIL D.:

Malformations encéphaliques et microphthalmie gauche après section des vaisseaux vitellins gauches chez l'embryon de poulet.

Acta Anat., 1.959; 38:1-34.

ORTS LLORCA F. y NAVARRINA F.:

Hemiextirpación del esbozo encefálico en las aves en estadios 5, 8, 10, 11 y 13 de Hamburger-Hamilton.

Rev. Med. Galicia, 1.969; 7:395-406.

PADGETT C.A. y IVEY W.D.:

Coturnix quail as a laboratory research animal.

Science, 1.959; 129:267-268.

PANDER C.H.:

Beiträge zur Entwicklungsgeschichte de Hühnchens im Ei.

Stahel., Würzburg., 1.817.

(citado por O'RAHILLY, 1.966).

PEARSON R.:

The avian eye and vision.

En: "The avian brain". Academic press, London and New York, 1.972: 279-318.

PETIT F.:

Mem. Acad. Sci. Paris, 1.735: 123-152.

(citado por SMELSER, 1.961).

PHILPOTT G.W. y COULOMBRE A.J.:

Cytodifferentiation of precultured embryonic chick lens epithelial cells *in vitro* and *in vivo*.

Exp. Cell. Res., 1.968; 52:140-146.

PIATT J.:

Studies on the problem of nerve pattern. II. Innervation of the intact forelimb by different parts of the central nervous system in Amblystoma.

J. Exp. Zool., 1.957; 134:103-125.

PORTE A., BRINI A. y STOECKEL M.E.:

Early stages of the development of the vitreous body in the chick embryo.

En: "The structure of the eye. II. Symposium". Ed: Rohen J.W., Schattaver-Verlag, Stuttgt., 1.965a:515-519.

PORTE A., STOECKEL M.E. y BRINI, A.:

Formation de la chambre antérieure chez l'embryon de poulet. Etude au microscope électronique.

C.R. Soc. Biol., 1.965b.

POULIQUEN, Y.:

Fibrillogenese sous-épithéliale au cours du développement de la cornée de l'embryon de poulet.

Arch. Ophthalmol. Paris, 1.965; 25:241-256.

POULIQUEN, Y., FAURE J.P., BISSON J. y OFFRET G.:

La zona fibrillaire acellulaire sous-épithéliale de la cornée de l'embryon de poulet. Ses rapports avec la formation de la membrane basale de l'épithélium et de la membrane de Bowman.

Arch. Ophthalmol. Paris, 1.966; 26:59-68.

PUCHADES ORTS A. y JIMENEZ COLLADO J.:

Homoinjerto de vesícula óptica en embriones de ave.

Comunicación IX Soc. Anat. Esp. y Luso-Hisp-Amer. Oporto, 1.973.

PUERTA FONOLLA J., RIAÑO GRANERO M. y ALFONSO SANCHEZ J.:

Heterografts of optic vesicle in chick embryos.

Trabajos del Instituto Cajal. Madrid, 1984; LXXV sup1.:93

RABL C.:

Ober den Bau und die Entwicklung der linse, T 3. Die linse der Saugetiere.

Z. Wiss. Zool., 1.889; 65:257-267.

RABAEY M.:

Exp. Eye Res., 1.962; 1:310-316.

Citado por GENIS GALVEZ y cols. en "La importancia biológica del cristalino". 1.968.

- RAMON Y CAJAL S.  
Morfología y conexiones de los elementos de las retinas de las aves.  
Rev. Trim. Histol. Norm. Patol., 1.888; 2:1-10.
- RAMON Y CAJAL S.  
Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés. II Maloine, Paris 1.911.
- RAVIOLA E. y RAVIOLA G.:  
A light and electron microscopy study of the pecten of the pigeon eye.  
Amer. J. Anat., 1.967; 120:427-462.
- REDSLOB E.:  
Le développement de la cornée.  
Arch. Anat. Histol. Embryol., 1.935; 19:135-230.
- REINBOLD R.:  
Régulation de l'oeil et régénération du cristallin chez l'embryon de poulet opéré en culture *in vitro*.  
Arch. Anat. Micr. Morphol. Exp., 1.958; 47:341-357.
- REINBOLD R.:  
Role du tapetum dans la différentiation de l'esclerotique chez l'embryon de poulet.  
J. Embryol. Exp. Morphol., 1.968; 19:43-47.
- REVEL J.P. y HAY E.D.:  
Fine structure of the developing chick cornea.  
Anat. Rec., 1.965; 151:492.
- REVERBERI G.:  
Risultati di esperimenti di asportazione parziale e totale della vescicola ottica nell'embrione di pollo.  
Boll. Ist. Zool. Univ. Roma, 1.929; 7:1-51
- REYER R.W.:  
An experimental study of lens regeneration in *Triturus viridescens*. II. Lens development from the iris in the absence of the embryonic lens.  
J. Exp. Zool., 1.950; 113:317-353.
- REYER R.W.:  
Regeneration in the amphibian eye.  
En: "Regeneration". Ed: Rumick. New York. Ronald press, 1.962:211-265.

REYER R.W.:  
Stimulation and inhibition of the growth and differentiation of embryonic and regenerating lenses.  
En: "The structure of the eye. II Symposium". Ed: Rohen J.W., Schattaver-Verlag, Stuttgart., 1.965:495-513.

REYER R.W., WOOLFITT R.A. y WITHERSTY L.T.:  
Stimulation of lens regeneration from the newt dorsal iris when implanted into the blastema of regenerating limb.  
Dev. Biol., 1.973; 32:258-281.

RIANO GRANERO M., ALFONSO SANCHEZ J.  
Heteroinjertos de vesícula óptica en embriones de ave: Resultados preliminares.  
Comunicación en cartel, presentada en el XX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Oftalmología. Pamplona, 1.986.

ROGERS K.T.:  
Early development of the optic nerve in the chick.  
Anat. Rec., 1.957; 127:97-107.

ROMANOFF A.L.:  
The eye.  
En: The avian embryo. New York: The McMillan Company, 1.960:381-418.

ROUX W.M.:  
Ueber das Künstliche Hervorbringen halber Embryonen durch Zerstörung einer der beiden ersten furchungskugeln.  
U.S.W. Virchow's Arch., 1.888; 116.

RYCHTER Z.:  
The development of the size ratio of the left and right eye in chick embryos.  
Morph., 1.963; 4:317-326.

RYCHTER Z. y LEMEZ L.:  
The vascular system of the chick embryo. XIII. The influence of some experimental intervention on the development of the size-ratio of the left and right eye tiel the 8th day of incubation.  
Morph., 1.963; 4:328-336.

SCHOOK P.:  
Morphogenetic movements during the early development of the chick eye. A light microscopic and spatial reconstructive study.  
Acta Morphol. Neerl. Scand., 1.980a; 18:1-30.

SCHOOK P.:

Morphogenetic movements during the early development of the chick eye. An ultrastructural and spatial reconstructive study. B. Invagination of the optic vesicle and fusion of its walls.

Acta Morphol. Neerl. Scand., 1.980b; 18:159-180.

SCHOOK P.:

Morphogenetic movements during the early development of the chick eye. An ultrastructural and spatial reconstructive study. C. Obliteration of the lens stalk lumen and separation of the lens vesicle from the surface ectoderm.

Acta Morphol. Neerl. Scand., 1.980c; 18:195-211.

SEEFELDER T. y WOLFRUM M.:

Zur entwicklung der harnhaut des menschen.

Dr. F. Augenh. 1.926:156-162.

SHEFFIELD J.B. y FISCHMAN D.A.:

Intercellular junction in the developing neural retina of the chick.

Z. Zellforsch., 1.970; 104:405-418.

SILVER J. y HUGHES A.F.W.:

The role of cell death during morphogenesis of the mammalian eye.

J. Morphol., 1.973, 140:159-170.

SILVER P.H.:

Orientation of the choroid fissure in bird embryos.

J. Physiol., 1.966; 184:1.

SILVER P.H.:

Experiments concerning the initiation of the choroid in *Gallus domesticus*.

J. Anat., 1.977; 123:219-225.

SLONAKER J.R.:

A physiological study of the anatomy of the eye and its accessory parts in the English sparrow.

J. Morphol., 1.918; 31:351-459.

SLONAKER J.R.:

The development of the eye and its accessory parts in the English sparrow (*Passer domesticus*).

J. Morphol., 1.921; 35:263-357.

- SMELSER G.K.:  
The structure of the eye.  
Academic Press. New York and London, 1.961.
- SPEMANN H.:  
Ueber korrelationen in der Entwicklung de Auges.  
Verh. Anat. Ges. Jena Verslg. Bonn, 1.901; 15:61-79.
- STEIN K.F.:  
Early embryonic differentiation of the chick hipophysis as shown in corioallantoic grafts.  
Anat. Rec., 1.933; 43:221-237.
- STONE L.S.:  
Neural retina degenetation followed by regenetation from surviving retinal pigment cells in grafed adult salamander eyes.  
Anat. Rec., 1.950a; 106:89-110.
- STONE L.S.:  
The role of retinal pigment cells in regenerating neural *retinae* of adult salamander eyes.  
J. Exp. Zool., 1.950b; 113:9-32.
- STONE L.S.:  
Normal and reversed vision in transplanted eyes.  
Arch. Ophthal., 1.953; 49:28-35.
- STONE L.S.:  
An investigation recording all salamanders which can and cannot regenerate a lens from the dorsal iris.  
J. Exp. Zool., 1.967; 164:89-104.
- STROEVA O.G.:  
Experimental study of the conditions determining the development of the pigmented epithelium and the retina in mammals.  
Dokl. Akad. Nawk. SSSR, 1.956; 109:657-660.
- STROEVA O.G.:  
The role of the lens epithelium in the induction of iris and ciliary body tissue.  
Dokl. Akad. Nawk. SSSR, 1.962; 151:464-467.
- STUDNICKA F.K.:  
Das mesenchym und das mesostroma dertroschlarven und dessen produkte.  
Anat. Anz., 1.911; 40:33-62.

- STURKIE P.D.:  
 Avian physiology.  
 Cornell University press. Ithaca, New York, 1.965.
- SZILY von:  
 Arch. Ophthalmol., 1.922; 107:317-431.  
 Citado por ROMANOFF, en: "The avian embryo". 1.960.
- TELLO J.F.:  
 Les différenciations neuronales dans l'embryon de poulet,  
 pendant les premiers jours de l'incubation.  
 Travaux du Lab. Recher. Biol. l'Universite Madrid, 1.923;  
 21:1-93.
- TOSCHI A.:  
 La quaglia.  
 Ric. Zool. Appl. Caccia, 1.959; III:(suppl).
- TRELSTAD R.L. y COULOMBRE A.J.:  
 Morphogenesis of the collagenous stroma in the chick  
 cornea.  
 J. Cell. Biol., 1.971; 50:840-858.
- TWITTY V.C.:  
 Influence of the eye on the growth of its associated  
 structures, studied by means of heteroplastic  
 transplantations.  
 J. Exp. Zool., 1.932; 61:333-374.
- VAN DETH J.H.M.G.:  
 Induction et régénération du cristallin chez l'embryon de  
 la poule.  
 Acta Needr. Morphol., 1.940: 3:151.
- VAN DOORENMAALEN W.J.:  
 Acta. Morph. Neerl. Scand., 1958; 2:1-12.  
 Citado por ZWAAN e IKEDA en: "Interkinetik nuclear  
 migration during the early stages of lens formation in  
 the chicken embryo". 1.969.
- WALLS G.L.:  
 The vertebrate eye and its adaptative radiation.  
 Cranbrook Inst. Sci. (Bloomfield, Hills). Michigan, 1.942.
- WADDINGTON C.H. y COHEN A.:  
 Experiments on the development of the head of the chick  
 embryo.  
 J. Exp. Biol., 1.936; 13:219-236.

WATERMAN A.J. y EVANS H.J.:  
Morphogenesis of the avian ear rudiment in  
chorio-allantoic grafts.  
J. Exp. Zool., 1.940; 84:53-71.

WATZKA M.:  
Ober die Entwicklung der Cornea und der linsenkapsel des  
Hühnchens.  
Z. Anat. Entwgesch. 1.935; 104:424-439.

WEISS P. y AMPRINO R.:  
The effect of mechanical stress on the differentiation of  
scleral cartilage *in vitro* and in the embryo.  
Growth, 1.940; 4:245-258.

WEISS P. y JACKSON S.F.:  
Fine structural changes associated with lens determination  
in the avian embryo.  
Dev. Biol., 1.961; 3:532-554.

WENGER B.S.:  
Determination of structural patterns in the spinal cord of  
the chick embryo studied by transplantation between  
brachial and adjacent levels.  
J. Exp. Zool., 1.951; 116:123-163.

WESTON J.A.:  
A radioautographic analysis of the migration and  
localization of trunk neural crest cells in the chick.  
Dev. Biol., 1.963; 6:279-310.

WESTON J.A. y BUTLER S.L.:  
Temporal factors affecting localization of neural crest  
cells in the chicken embryo.  
Dev. Biol., 1.966; 14:246-266.

WEYSSE A.W. y BURGESS W.S.:  
Histogenesis of the retina.  
Amer. Natur., 1.906; 40:611-637.

WOOD C.A.:  
The fundus oculi of birds, especially as viewed by the  
ophthalmoscope (a study in comparative anatomy and  
physiology).  
The Lakeside press. Chicago, 1.917.

YAMADA T.; REESE D.H. y McDEVITT D.S.:  
Transformation of iris into lens *in vitro* and its  
dependency on neural retina.  
Differentiation, 1.973; 1:65-82.

ZACCHEI A.M.:

Lo sviluppo embrionale della quaglia giapponese. (*Coturnix coturnix japonica* T. e S.).

Arch. Italian Anat. Embriol., 1.961; vol. LXVI, 1:36-62.

ZWAAN J.:

Immunochemical analysis of the eye lens during development.

Thesis, University of Amsterdam, 1.963.

ZWAAN J. e IKEDA A.:

An immunochemical study on the beta-crystallins of the chicken lens: Ontogenetic and phylogenetic aspects.

En: "The structure of the eye. II Symposium". Ed: Rohen J.W., Schattner-Verday Stuttgt., 1.965:419-429.

ZWAAN J. e IKEDA A.:

Interkinetik nuclear migration during the early stages of lens formation in the chicken embryo.

J. Exp. Morphol., 1.969; 21:71-83.