

ANNALES DE ANATOMIA



ANALES DE ANATOMIA

Fundador:
J. ESCOLAR

Director:
R. SARRAT

Secretario de Redacción:
J.L. NIETO AMADA

Consejo de Redacción:

E. Agüera (Córdoba)
P. Amat (Salamanca)
J. Astruc (Richmond, U.S.A.)
G. Bernal (Córdoba)
A. Carrato (Madrid)
F. Doñate (Bilbao)
E. Ferres Torres (Valencia)
R. Ferres Torres (La Laguna)
L.M. Gonzalo Sanz (Pamplona)
M. Guirao (Granada)
J. Jiménez Castellanos (Sevilla)
R. Krstic (Lausana)
M. Lafarga (Santander)
J.L. Lancho (Córdoba)
I. Lawzewitsch (Argentina)
A. Llamas (Madrid)
F. Marín Girón (Málaga)
L. Martínez Millán (Bilbao)
E. Martínez Moreno (Madrid)
P. Mestres (Hamburg, R.F.A.)

A. Mitro (Checoslovaquia)
M. Montesinos (Valencia)
L. Muñoz Barragán (Salamanca)
N. Murillo (Zaragoza)
G. Palomero (Oviedo)
Chr. Pilgrim (R.F.A.)
F. Reinoso (Madrid)
J.M. Rivera Pomar (Bilbao)
S. Rodríguez García (Soria)
D. Ruano (Barcelona)
F. Sánchez del Campo (Alicante)
J. Sandoval (León)
J. Sanz Esponera (Madrid)
J.M. Smith-Agreda (Málaga)
V. Smith-Agreda (Valencia)
J. Soler Viñolo (Granada)
R. Vázquez (Salamanca)
J.L. Velayos (Madrid)
A. Vera (Zaragoza)

Correspondencia:

Departamento de Ciencias Morfológicas
Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza
Domingo Miral s/n (Ciudad Universitaria)
50009 – ZARAGOZA

© Universidad de Zaragoza

ISSN: 0569-9894

Depósito legal: Z-598-88

Composición y maquetación: Concha Relancio. Secretariado de Publicaciones. Universidad de Zaragoza

Edita y distribuye: Secretariado de Publicaciones
Universidad de Zaragoza

Con la colaboración financiera de:

Universidad de Barcelona (Central)
Universidad de Córdoba
Universidad de Oviedo
Universidad de Salamanca
Universidad de Zaragoza

ANALES DE ANATOMIA

Volumen XXXV

Junio 1989

Núm. 91

ESTUDIO MORFOLOGICO Y CARIOMETRICO DEL CALLO DE FRACTURA EXPERIMENTAL TRAS LA IRRADIACION CON LUZ LASER He-Ne DE 632,8 nm.

MORPHOLOGIC AND CARYOMETRIC STUDY OF THE EXPERIMENTAL FRACTURE CALLOS FOLLOWING IRRADIATION WITH SOFT LASER He-Ne 632,8 nm.

T. HERNANDEZ GIL DE TEJADA; M. MONTESINOS y V. SMITH-AGREDA

Departamento de Ciencias Morfológicas. Universitat de Valencia

RESUMEN

Se realiza un estudio morfológico y cariométrico del callo de fractura experimental, en fémur de la rata albina cepa Wistar. Se han utilizado un total de 50 animales divididos en dos grupos, uno de los cuales es irradiado durante 5 minutos diarios, con luz Laser He-Ne de 632,8 nm. y 6 mW. (5 sesiones por semana), quedando el otro grupo sin irradiar. Los animales son sacrificados en series de 5 a los 7, 14, 21, 28 y 35 días postfractura, comparando siempre los resultados con un grupo testigo no irradiado. Los resultados morfológicos muestran, en el grupo irradiado, una aceleración del proceso de reparación de las fracturas y mayor madurez del tejido de granulación. En el estudio cariométrico se aprecia un incremento de los volúmenes del grupo experimental, en relación con el testigo desde la 2ª semana con diferencias estadísticamente significativas.

PALABRAS CLAVE: Callo de fractura, laser, morfología, cariometría.

SUMMARY

We have produced closed femur diaphyseal fractures through inflexion in the rat, and study the morphologic and caryometric behaviour of the consolidation process following percutaneous soft He-Ne laser irradiation in comparison to a non-irradiated control group.

Young male Wistar rats were used. All animals were sacrificed in groups of five after 7, 14, 21, 28 and 35 days.

The optical and electron microscopy study revealed an acceleration of the consolidation process in all the experimental fractures after the 14 days; osteoid trabeculae undergoing both periosteal and endosteal mineralization were observed.

The analysis of the results shows that He-Ne laser irradiation favours the fracture consolidation process. It acts fundamentally on the microcirculation, with the appearance of hyperplastic endothelial cells in the experimental animals.

A caryometric study of the callus periosteal chondral transformation zone was also carried out; the results show more voluminous nuclei in the experimental group during the five weeks: the differences were statistically significant during the second, third and fifth weeks.

KEY WORDS: Callus, soft laser, morphometry, caryometric.

Introducción

No hemos encontrado en la literatura trabajos que reflejen el efecto de la irradiación con luz laser sobre el proceso reparador de las fracturas. La acción estimulante de la irradiación con fotones coherentes ha sido puesta de manifiesto en múltiples trabajos: Kana (1981), Mester (1982) en heridas cutáneas; Karu (1983) en la síntesis de ácidos nucleicos; Miró (1984) en estudios capilaroscópicos; Kami (1985) en injertos cutáneos; Asencio (1986) en anastomosis de colon.

Por este motivo hemos realizado un estudio morfológico (microscopía óptica y electrónica) y cariométrico de la evolución del callo de fractura experimental tras la irradiación percutánea con laser de He-Ne de 632,8 nm. y 6 mW. de potencia.

Material y Métodos

Se han utilizado un total de 50 animales (rata Wistar), machos jóvenes de 162 ± 25 gm., divididos en 2 grupos de 25 cada uno. A todos se les fracturó el fémur izquierdo por inflexión mediante traumatismo directo, consiguiendo fracturas cerradas de 1/3 medio. Los controles radiográficos permitieron rechazar los animales cuyas fracturas no presentaban las características señaladas anteriormente. Un grupo de animales fue irradiado por vía percutánea en sesiones de 5 minutos diarios, 5 días a la semana, con un laser He-Ne de 632,8 nm. de longitud de onda y 6 mW. de potencia de la casa ATEIM mod. "Soft Laser 632". El otro grupo tras la producción de la fractura fue introducido en las jaulas en condiciones de habitat y alimentación idénticas a las del grupo irradiado. Los animales fueron sacrificados en series de 5, a los 7, 14, 21, 28 y 35 días en ambos grupos. El cálculo de la dosis de irradiación administrada en superficie se realizó según el criterio de Polany (1983):

$$E = \text{Potencia (vatios)} \times \text{Tiempo (segundos)}$$

$$E = 0,006 \text{ W} \times 300 \text{ seg.} = 1,8 \text{ Julios/sesión}$$

La dosis de energía total aplicada a lo largo de la experiencia fue de 9, 18, 27, 36 y 45 Julios durante las 5 semanas estudiadas.

De cada grupo de animales, uno se destinó al estudio ultraestructural y los otros al estudio a microscopía óptica y cariométrico, mediante microscopio NIKON mod. Labophot adaptado con cámara clara, realizando las mediciones sobre un mínimo de 100 células, de la zona de transformación condral periostal y aplicando la fórmula de Jacoby (1935) Vol. = $\pi/6 (A B^2) K$.

El estudio estadístico se realizó mediante ordenador aplicando el T-Test a los resultados obtenidos. Estudios previos demostraron que los resultados no varían en $\pm 10\%$ de los obtenidos tras 500 mediciones. El protocolo para ambas técnicas fue el habitual, intercalando el proceso de decalcificación mediante solución de EDTA al 14% para electrónica y formol-fórmico 10% para el estudio a M.O. La coloración histológica utilizada ha sido el azul de Toluidina y el Policromo F1 de Cabanes (1976).

Resultados

El estudio a microscopía electrónica muestra, en el grupo irradiado, una neovascularización evidente de la zona de transformación condral periostal, presencia de células endoteliales hiperplásicas y gran cantidad de células mesenquimales osteoprogenitoras desde la 2ª semana. En el grupo no irradiado las células endoteliales presentan un aspecto normal siendo la cantidad y madurez de las células osteoprogenitoras sensiblemente inferior.

En el grupo irradiado, el estudio a microscopía óptica señala la presencia precoz de trabéculas de osteoide tanto periostales como endostales en cantidad superior al grupo no irradiado. Así mismo se apreciaba la existencia de una trama arquitectónica más desarrollada, más precozmente en el grupo irradiado, con trabéculas en fase de mineralización.

El patrón de osificación en condral periostal se observa con una amplia zona de transformación, destacando el considerable aumento de la vascularización en el grupo experimental.

El estudio cariométrico de la zona de transformación condral periostal muestra (Gráfica 1) unos volúmenes nucleares superiores en el grupo irradiado durante las 5 semanas estudiadas. Dichas diferencias son estadísticamente significativas la 2ª ($p < 0,05$), la 3ª ($p < 0,001$) y la 5ª semanas ($p < 0,01$).

La evolución de dichos volúmenes presenta una clara tendencia a disminuir con el tiempo. Se aprecia una fase de mantenimiento de los volúmenes entre la 2ª y 3ª semanas en el grupo experimental, mientras que en el testigo dicha estabilización no acontece hasta una semana después, entre la 3ª y 4ª semanas.

La distribución porcentual semanal de dichos volúmenes muestra una clara tendencia a prevalecer los mayores en el grupo irradiado y los menores en el no irradiado, con diferencias significativas, desde la 2ª semana. A los 7 días los volúmenes nucleares presentan una distribución Gaussiana sin diferencias entre ambos grupos (Gráf. 2). A los 14 días el índice nuclear es significativamente superior en el grupo irradiado aunque su distribución porcentual todavía es similar (Gráf. 3). Es a los 21 días cuando se aprecia claramente la tendencia a prevalecer los volúmenes mayores en el grupo irradiado manteniéndose la distribución similar a la de la semana precedente, pero desplazándose en el testigo hacia los volúmenes menores (Gráf. 4). Ello hace que aparezcan diferencias significativas en todos los intervalos ($p < 0,01$), a excepción del correspondiente a 60-90 μm^3 .

Esta tendencia se mantiene durante la 4ª semana (Gráf. 5) y la 5ª y la última, en la que se observan volúmenes considerablemente superiores en el grupo irradiado (Gráf. 6) con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Discusión

Los resultados morfológicos tanto a microscopía óptica como electrónica sugieren la existencia de una aceleración del proceso reparador de las fracturas en el grupo irradiado con luz laser He-Ne. Dicha aceleración se pone de manifiesto por la presencia más precoz y más estructuralmente desarrollada de trabéculas de osteoide incluso en fase de mineralización. Por otra parte, los resultados obtenidos van a favor de que el efecto estimulante de la radiación laser está directamente relacionado con la microvascularización, apareciendo unos vasos neoformados en los que destaca la hiperplasia de las células endoteliales. Dichas observaciones apoyarían, en este sentido, las apreciaciones de Miró (1984) y Kami (1985) en relación con el efecto estimulante de la luz laser.

La relación entre el volumen nuclear y la actividad funcional celular ha sido demostrada por múltiples autores. Desde los clásicos de Caperson (1931), Jerusalem (1941) o Krantz (1951), hasta más modernos como Dung (1973) o Llombart (1975). En este sentido, el estudio cariométrico realizado en la zona de transformación condral periostal evidencia un incremento de los volúmenes nucleares del grupo experimental. Este incremento traduce el aumento de la actividad funcional celular que estaría en concordancia con los resultados morfológicos obtenidos. En este sentido cabe destacar el estudio realizado por Escribá (1974), quien tras fractura quirúrgica del fémur de la rata, irradia la hipófisis con luz no coherente (ultravioleta), observando un aumento de los índices cariométricos sólo en la primera fase del proceso de consolidación. Este hecho podría explicarse en función de la acción hormonal precoz sobre el callo, consecuente a la acción directa de la hipófisis estimulada. El que en nuestros resultados el aumento del índice cariométrico aparezca en fases posteriores, estaría indicando una acción estimulante directa sobre el proceso reparador de la fractura. Dicho efecto se mantendría hasta el día 35, último considerado por nosotros.

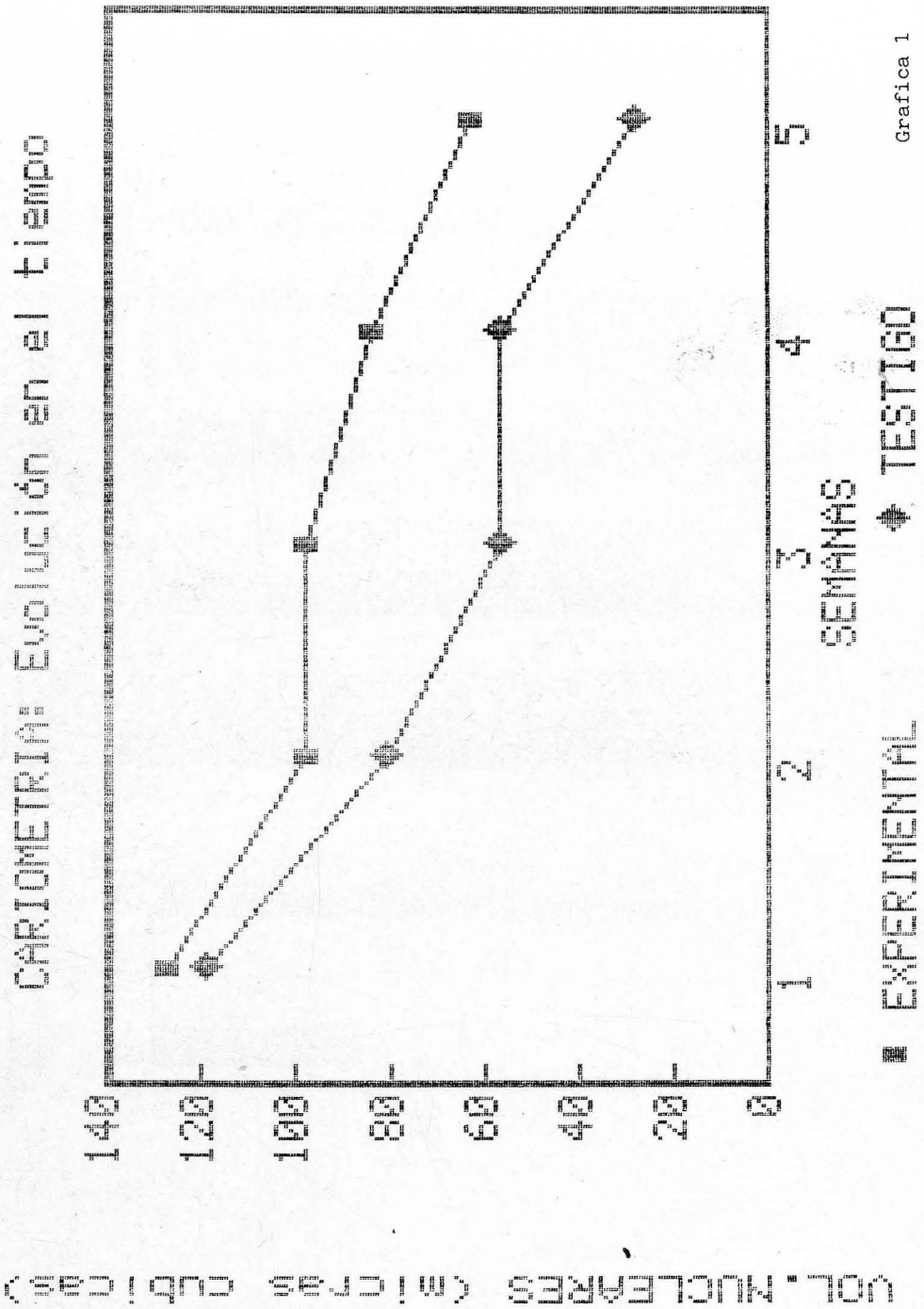
La irradiación percutánea del callo de fractura diafisario-femoral, con luz laser He-Ne de 632,8 nm y 6 mW, produce un efecto estimulante funcional, acelerando el proceso de consolidación de las fracturas, más evidente en-

tre la 2ª y 4ª semanas. Dicho efecto estimulante estaría corroborando el obtenido por distintos autores en otros procesos de reparación tisular: Kana (1981), Mester (1982), Asencio (1986).

BIBLIOGRAFIA

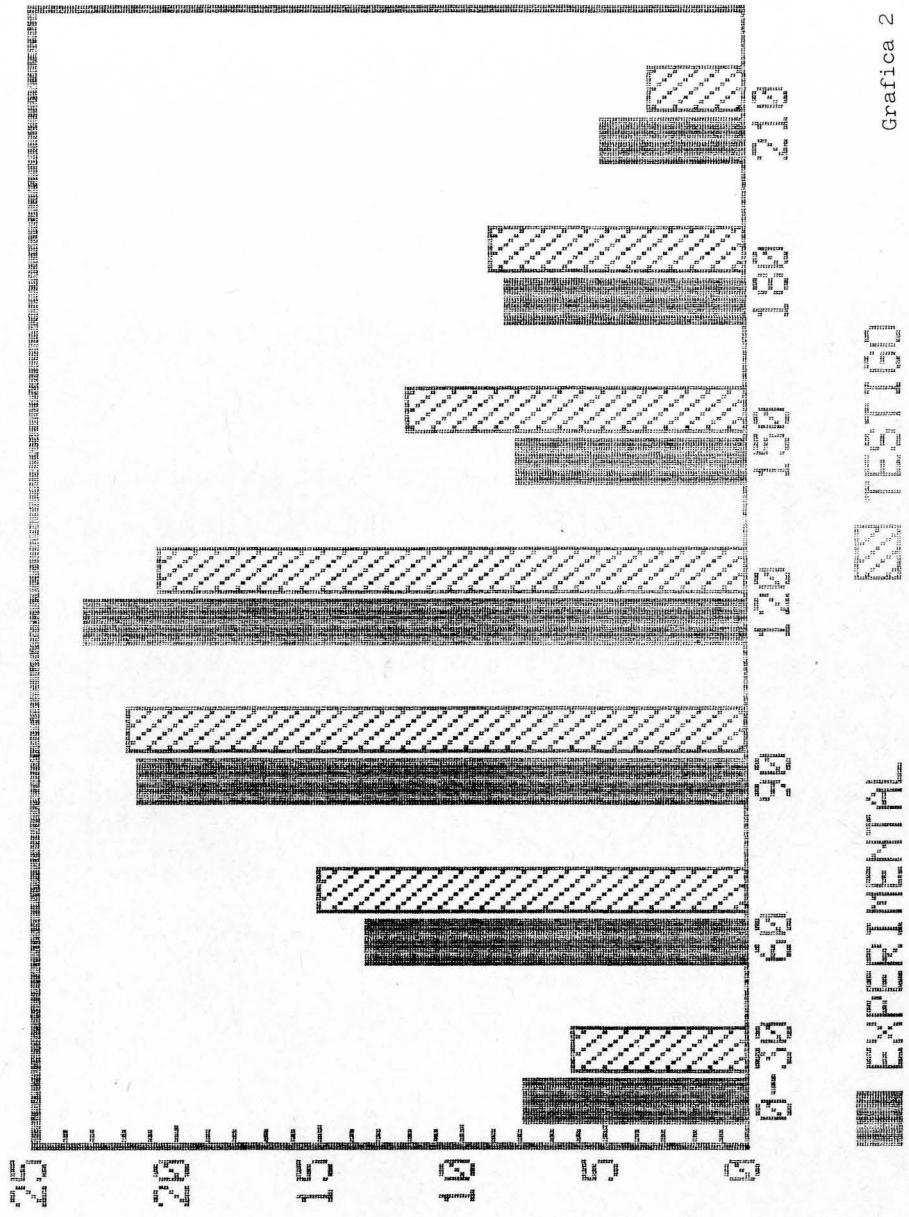
- ASENCIO ARANA, F. (1986): "Estudio de la cicatrización de las anastomosis en el colon de la rata, tras la irradiación con luz laser de 632,8 nm." Tesis Doctoral. Universitat de Valencia.
- CABANES, J. (1976): Nuevo método policromo en dos tiempos (F-1). *Anal. Anat.* **25-E**: 99-108.
- CAPERSON, T.; HOLGREM, H.J. (1934): Variationen der kerugrope während der verschiedenen Phasen der Laborarbeit. *Anat. Anz.* **79**: 53-59.
- DUNG, H.C. (1973): Electron microscopic study of involution thymus of lethargic mutant mice. *Anat. Rec.* **177**: 585-590.
- ESCRIBA ROCA, I.: Aportaciones a las transformaciones experimentales del substrato anterohipofisario tras la estimulación adenal en la rata blanca adulta y su repercusión en el callo de fractura diafisario-femoral. Tesis Doctoral. Universidad de Valencia.
- JACOBJ, W. (1935): Die zellkerugröße beim Menschen. Ein Beitrag zur quantitativen Cytologie. *Z. Mikr. Anat. Foorsch.* **38**: 161-240.
- JERUSALEM, Ch. R. (1941): Funktionelle oder dystrophische Kernschwellung. *Anat. Anz.*, **122**: 108-113.
- KAMI, T.; YOSHIMURA, Y.; NAKAJIMA, T. (1985): Effect of low power diode lasers on flap survival. *Jpn. Ann. Plast. Surg.* **14/3**: 278-283.
- KANA, J.S.; HUTSCHENREITER, G.; HAINA, D.; WAIDELICH, W. (1981): Effect of low power density laser radiation on healing of open skin wounds in rats. *Arch. Surg.* **116/3**: 293-296.
- KARU, T.; KALENKO, G.; LEBKO, B. (1982): Biological action of low intensity visible light on HeLa cells as a function of the coherence, dose, wavelength and irradiation regime. *Sov. J. Quantum Electron.* **12/9**: 1761-1767.
- KRANTZ, H. (1951): Die kerargroße und ihre Abhängigkeit von überen und inneren Faktoren *Z. Zellforsch.* **35**: 425-475.
- LLOMBART BOSCH, A. (1975): Epitelio reticular cell thymoma with lymphocytic emperipolesis and ultrastructural study. *Cancer*, **36**: 1794-1803.
- MESTER, E. (1982): Der biostimulative effekt von Laserstrahlen. *Z. Exp. Chir.* **15/2**: 67-74.
- MIRO, L.; COUPE, M.; CHARRAS, C.; JAMBON, C.; CHEVALIER, J. (1984): Estudio capilaroscópico de la acción del laser As-Gal, sobre la microcirculación. *Inv. Clin. Laser* **2**: 9-13.
- POLANY, T. (1983): Laser Physic. *Otolaryngol. Clin. North. Am.* **16/4**: 753-759.

Correspondencia: T. Hernández Gil de Tejada
 Dept. Ciencias Morfológicas. Facultad de Medicina.
 Blasco Ibáñez, 17. 46010 Valencia. España



GRAFICA 1

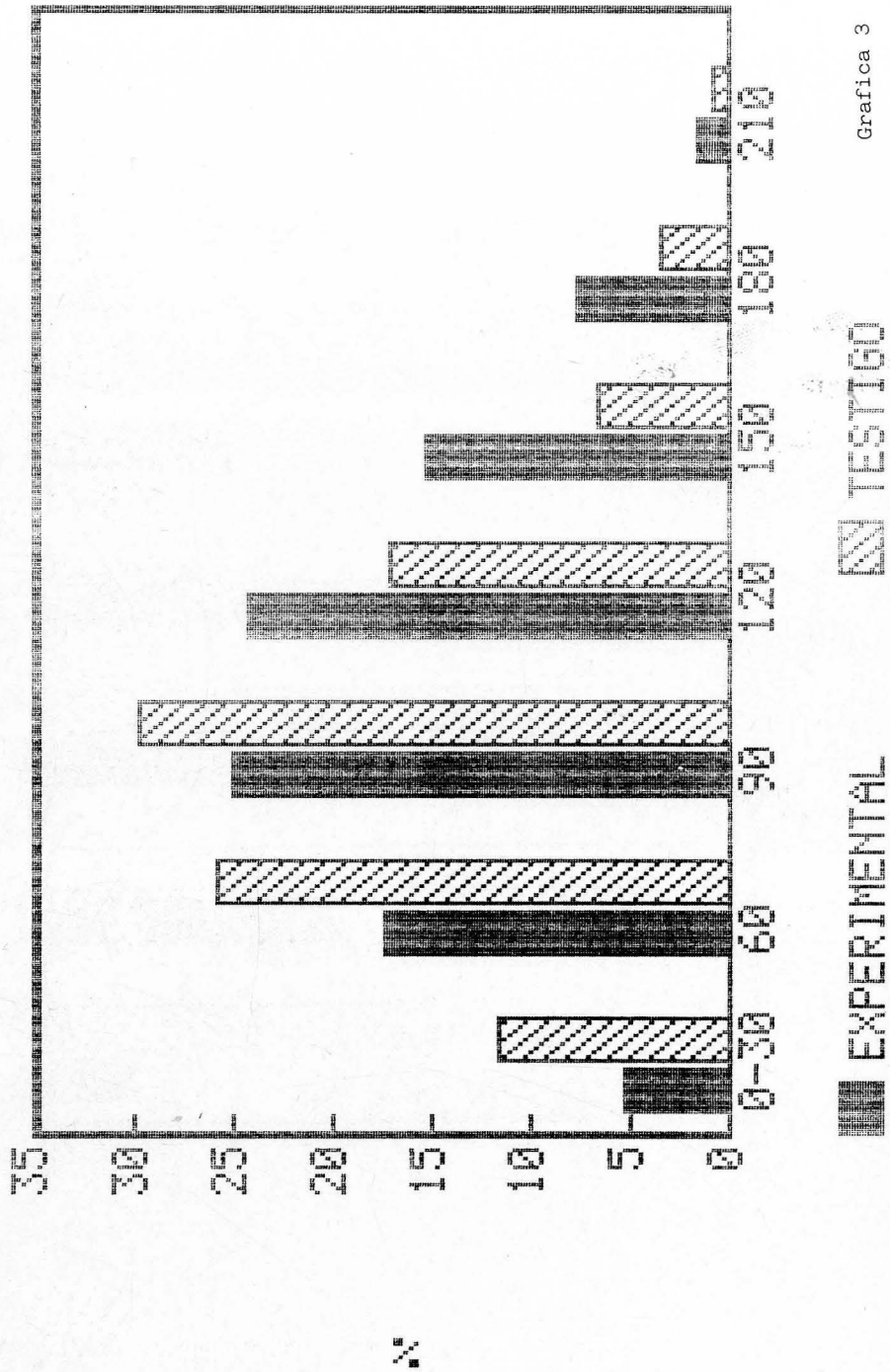
CARIONETRIA SEMANA 1



Grafica 2

GRAFICA 2

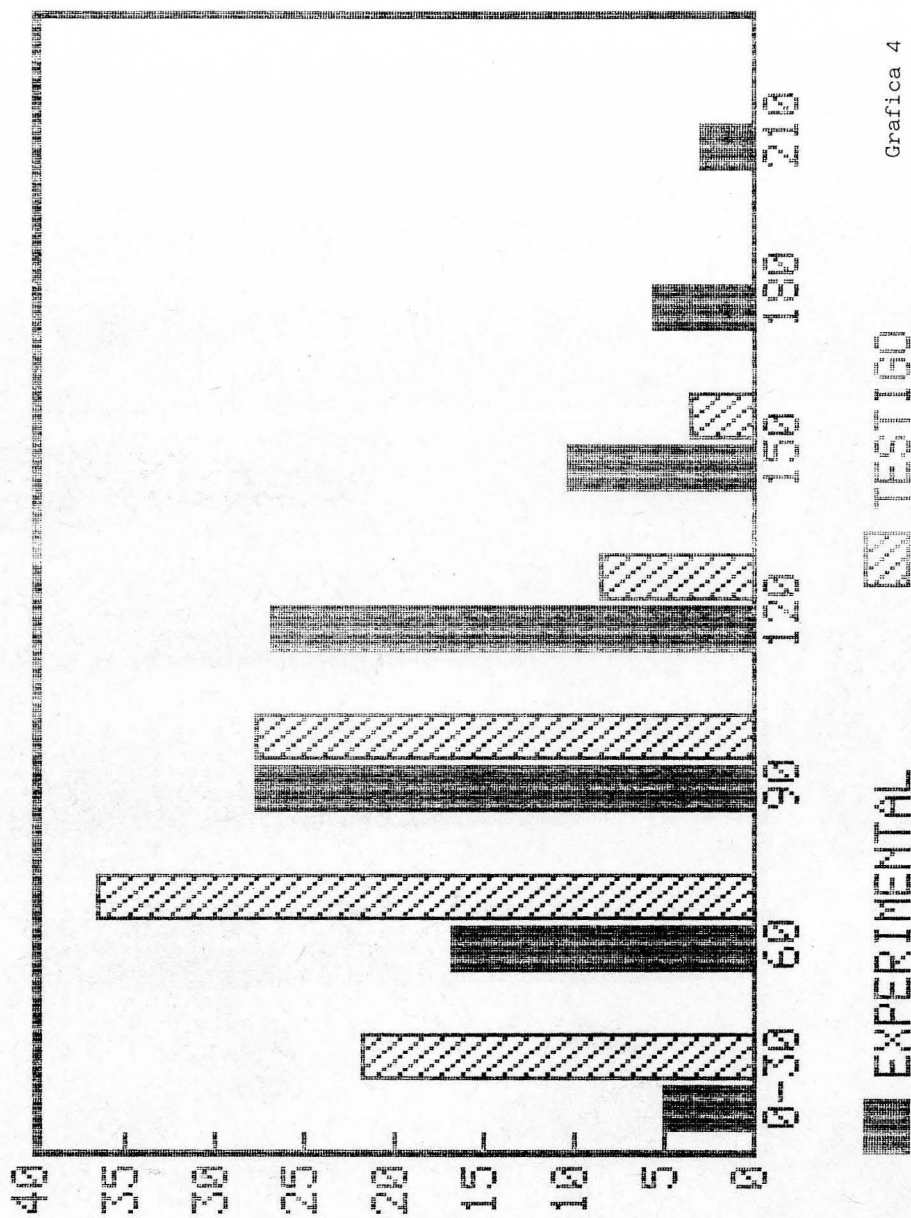
CARIONMETRIA SEMANA 2



Grafica 3

GRAFICA 3

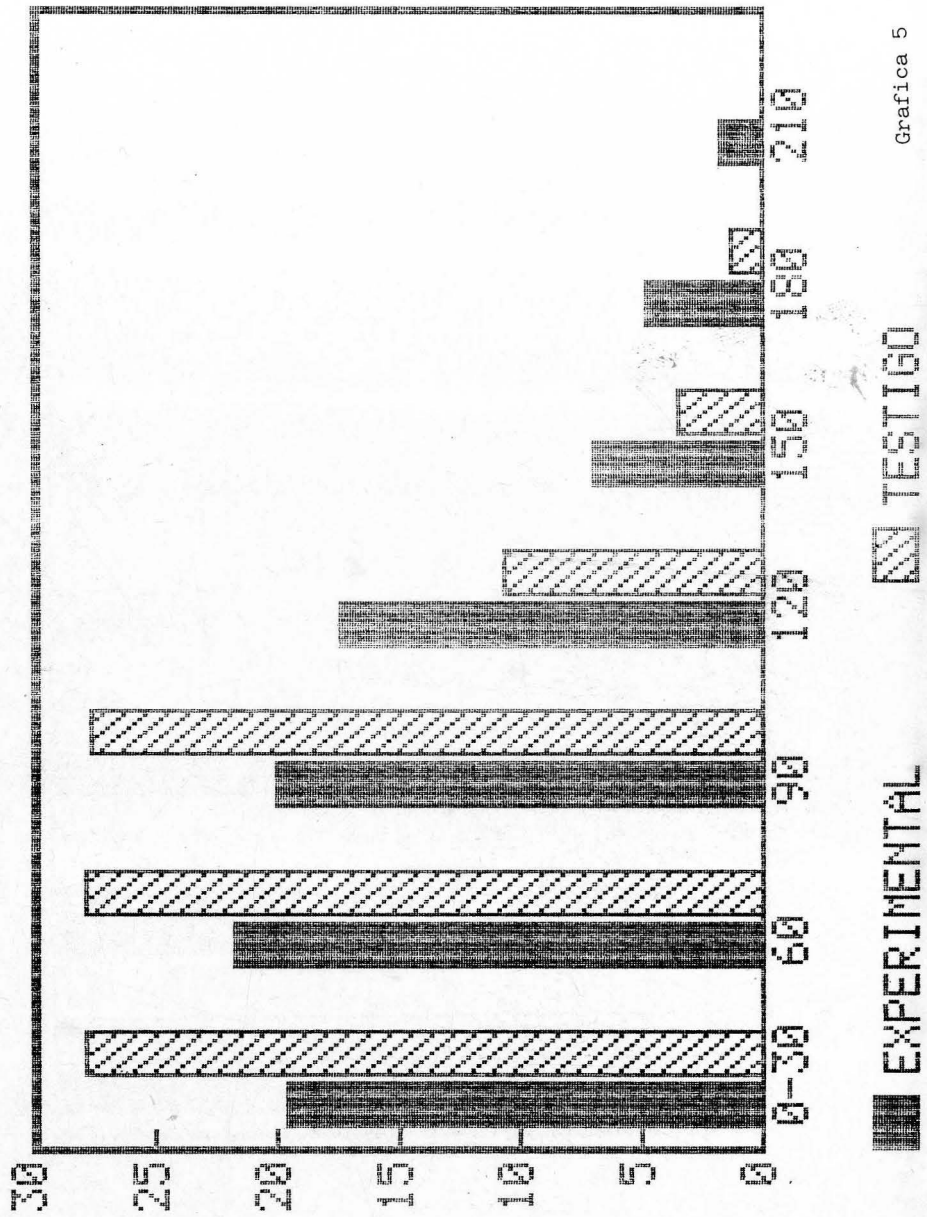
CARIONOMETRÍA SEMANA 3



Grafica 4

GRAFICA 4

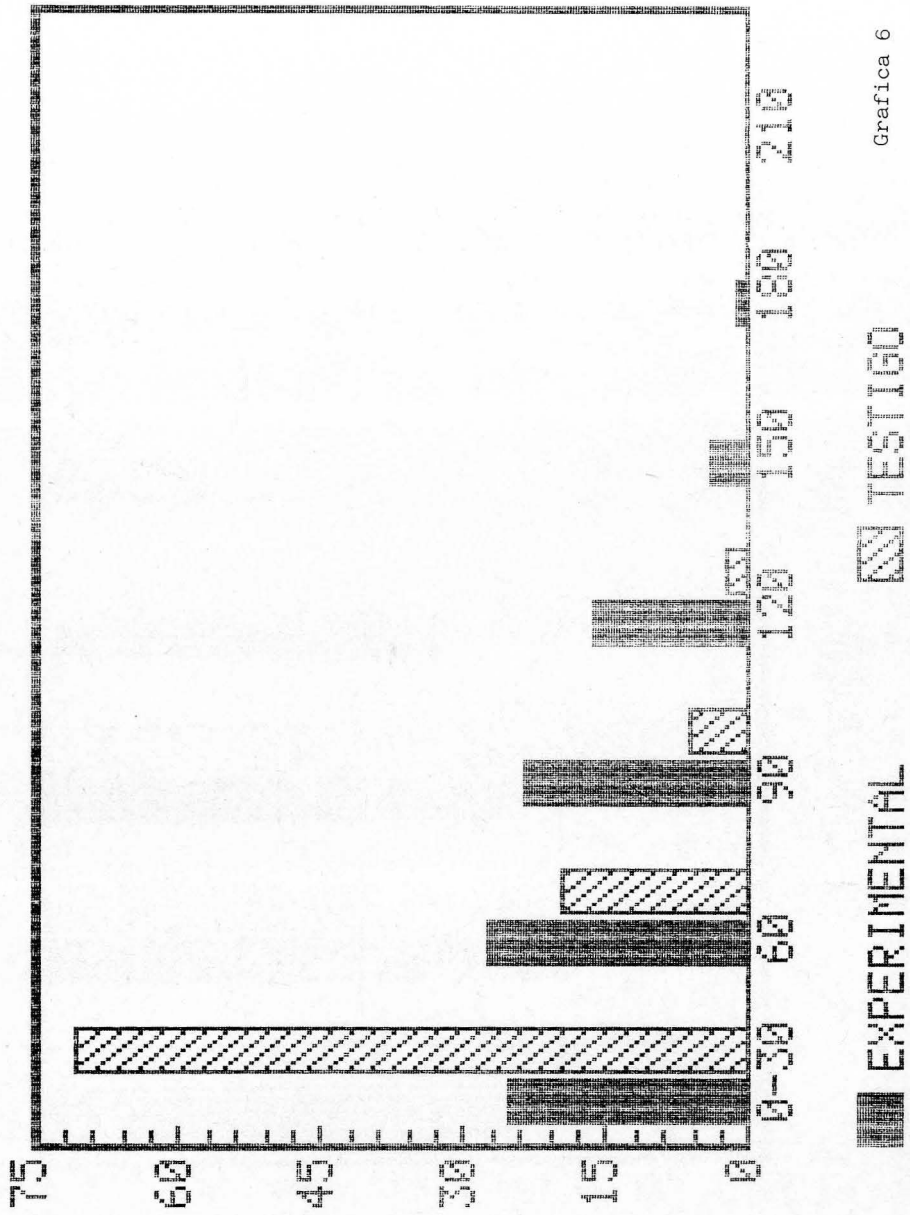
CARIONMETRIA SEMANA 4



Grafica 5

GRAFICA 5

CARIOMETRIA SEMANA 5



Grafica 6

GRAFICA 6

VALORACION DEL RENDIMIENTO DOCENTE ANATOMICO EN LA FACULTAD DE MEDICINA DE SEVILLA. EXPERIENCIA DE CUARENTA CURSOS LECTIVOS*

EVALUATION OF THE ANATOMIC TEACHING RESULTS AT THE SCHOOL OF MEDICINE OF SEVILLA THROUGH FORTY ACADEMIC YEARS

J. JIMENEZ-CASTELLANOS BALLESTEROS y C.J. CATALINA HERRERA

Departamento de Ciencias Morfológicas. Facultad de Medicina.
Universidad de Sevilla

RESUMEN

Se enjuician los rendimientos de la enseñanza anatómica durante 40 cursos académicos comprendidos entre 1956-57 y 1987-88, todos ellos impartidos en la Primera Cátedra de Anatomía de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sevilla (Prof. Jiménez-Castellanos). Dicho estudio comprende la valoración académica total de 16784 alumnos. Sobre bases homogéneas de profesorado y sistema de enseñanza se efectúa un estudio estadístico tratando de relacionar los resultados docentes con una serie de parámetros, como el tipo de formación preuniversitaria, el tipo de acceso a la Facultad, así como las relaciones número de alumnos por profesor y por cadáver tomando en consideración los dos cursos de Anatomía.

PALABRAS CLAVE: Docencia. Anatomía. Calificaciones.

SUMMARY

The results of the anatomic teaching through forty academic years were evaluated. All of them took place at the First Chair of Anatomy (Professor Jiménez-Castellanos) in the School of Medicine of Sevilla. Such a study comprised the academic evaluation of 16784 students. Considering an homogeneous composition of faculty and teaching system a statistical study was done. The examination marks in both academic years of Anatomy were related to the previous formation of the students, the type of entrance examination, and the number of students per professor and per cadaver.

KEY WORDS: Teaching. Anatomy. Academic Marks.

La crisis que viene padeciendo la Universidad constituye un motivo de honda preocupación que trasciende a los ámbitos nacionales e internacionales y repercute, no solamente en los estamentos docentes, sino que incide

* Un homenaje al Profesor D. Juan Jiménez-Castellanos y Calvo-Rubio con motivo de su jubilación universitaria

igualmente en la mente y el ánimo de gobernantes, políticos, padres, educadores, alumnos, y en todos los estratos del estamento social, para venir a constituir un auténtico problema que es objeto de comentarios, publicaciones, hipótesis de trabajo, conferencias o coloquios, donde se plantean y apuntan los grandes motivos que han desencadenado la situación, a la vez que se pretende vislumbrar las posibles soluciones del mal, de cara al futuro.

No cabe duda que estas visiones de conjunto y de síntesis son importantes con vistas a encontrar una solución, pero a veces pecan en demasía en cuanto a especulación, inducen a fracasos por aquello de que una cosa es la teoría y otra la práctica y, en definitiva, los que tenemos una formación biológica estamos más habituados a deducir las enseñanzas directamente de la observación de la realidad vivida, aunque ésta pierda la visión de totalidad, y tal vez no sepamos generalizar sus consecuencias. Lo cierto es que, imbuidos por esta preocupación que nos invade a todos los que, profesional y vocacionalmente, nos encontramos inmersos en las tareas universitarias, hemos tratado de aportar nuestro granito de arena, que está ciertamente cargado de limitaciones, pero que proporciona hechos directamente arrancados de la experiencia.

Este criterio de limitación nos lleva, por lo pronto, a restringir el ámbito universitario a una dimensión puramente médica, tratando de enfocar problemas específicos de la enseñanza en las Facultades de Medicina. Pero aun dentro de ese ambiente médico tenemos que establecer una serie de cortapisas y sentar nuestro propósito de analizar los problemas bajo el prisma concreto que cultivamos y que es el de la enseñanza anatómica.

Impulsados por estos antecedentes hemos tratado de contribuir modestamente indagando con rigor científico en la experiencia que nos proporciona nuestra propia labor docente, pero sobre todo contando con la ingente labor del Profesor Jiménez-Castellanos a lo largo de una dilatada carrera docente anatómica en la Facultad de Medicina de Sevilla, a la que ha entregado su vida con abnegada dedicación.

Material y Métodos

Con nuestro estudio pretendemos realizar un enjuiciamiento objetivo de los rendimientos de la enseñanza anatómica durante cuarenta cursos lectivos, que se inician en el curso 1956-57 y terminan en el de 1987-88, todos ellos impartidos en la Primera Cátedra de Anatomía de la Facultad de Medicina de Sevilla, bajo la dirección del Prof. Jiménez-Castellanos. A lo largo de este periodo se ha evaluado un número total de 16.784 alumnos. Se ha partido de unas bases homogéneas en cuanto a profesorado y sistema de enseñanza. El equipo docente ha sido básicamente el mismo, aunque se ha ido modificando ligeramente de acuerdo a las necesidades que la enseñanza iba exigiendo.

El sistema de enseñanza ha partido del desarrollo completo del programa teórico. La enseñanza práctica se realizó en forma de seminarios de grupos reducidos de alumnos, completada por proyecciones de diapositivas y procurando que el alumno llevara la parte activa. Junto a ello la labor desarrollada en la sala de disección, con los alumnos agrupados por mesas, y donde el cadáver ha constituido el eje insustituible de la docencia práctica, con excepción de los diez últimos cursos en que la ausencia de un número suficiente de los mismos ha hecho imposible la disección reglada por grupos de alumnos.

La valoración final del rendimiento docente se ha efectuado mediante una calificación, en la que se han tenido en cuenta la asistencia a clases prácticas, controlada diariamente, la colaboración prestada por el alumno a lo largo del curso en los seminarios y en la sala de disección, así como las evaluaciones parciales individuales en forma de examen, teórico y práctico, que en número de tres por curso se han realizado.

En la tabla número uno quedan sumariados los datos recogidos, con el curso académico en la primera columna, especificando si se impartió la materia correspondiente a Anatomía 1 (A1) o Anatomía 2 (A2). En la segunda columna queda indicado el tipo de formación preuniversitaria, bien bajo la modalidad de curso preuniversitario (P), o de curso de orientación universitaria (COU) o ausencia de los mismos. Recogemos igualmente en la tercera columna el tipo de ingreso en la Facultad de Medicina (I), considerando la realización obligatoria de un curso selectivo de Ciencias (C), el ingreso directo, un único curso (1960-61) donde se produjo una mezcla de ambos (m), la superación previa de un curso de selección efectuado en la Facultad de Medicina (M) o, en los últimos años, la su-

TABLA

Curso Anatomía	FP	I	Al/C	Al/P	Al/C	SOB %	NOT %	AP %	SUS %	NP %
56-57 (A-1)		C	86	43	4	29	23	31	3	14
57-58 (A2)		C	80	40	4	30	35	25	1	9
58-59 (A1)		C	100	50	5	38	28	19	9	6
59-60 (A2)		C	101	33	5	36	21	27	5	11
59-60 (A1)	P		88	29	4	15	16	27	23	19
60-61 (A2)	P	m	182	60	9	27	22	23	1	27
61-62 (A1)	P		227	56	11	17	18	38	8	19
62-63 (A2)	P		166	41	8	24	11	51	0	14
63-64 (A1)	P		377	94	19	8	13	41	11	27
64-65 (A2)	P		158	40	8	15	28	44	6	7
65-66 (A1)	P		365	91	18	15	16	32	0	37
66-67 (A2)	P		284	71	14	12	21	32	4	31
67-68 (A1)	P		427	106	21	12	20	31	7	30
68-69 (A2)	P		394	98	20	20	18	33	14	15
68-69 (A1)	P		574	115	29	15	11	35	3	36
69-70 (A2)	P		433	108	22	11	15	40	17	17
69-70 (A1)	P	M	300	50	15	8	16	45	16	15
70-71 (A2)	P	M	274	45	14	19	25	32	0	24
70-71 (A1)	P	M	260	60	13	16	20	38	6	20
71-72 (A2)	P	M	328	65	16	23	18	31	0	28
71-72 (A1)	P	M	360	72	18	3	11	50	22	14
72-73 (A2)	P	M	354	70	18	7	19	43	6	25
73-74 (A1)	COU		813	162	41	8	11	48	10	23
74-75 (A2)	COU		740	74	37	9	20	29	0	32
74-75 (A1)	COU		1108	110	55	5	9	50	0	36
74-75 (A1)	COU		323	32	16	0	1	64	0	35
75-76 (A2)	COU		995	100	50	8	17	36	8	31
75-76 (A2)	COU		330	33	17	0	5	44	22	29
76-77 (A1)	COU		1420	142	71	3	7	42	16	32
77-78 (A2)	COU		1128	112	56	4	6	46	9	35
78-79 (A1)	COU	S	721	72		2	4	23	27	44
79-80 (A2)	COU	S	691	63		2	3	27	14	54
80-81 (A1)	COU	S	490	45		8	4	35	21	32
81-82 (A2)	COU	S	448	41		10	13	32	3	42
82-83 (A1)	COU	S	380	35		10	16	43	16	15
83-84 (A2)	COU	S	348	32		16	21	22	19	22
84-85 (A1)	COU	S	156	17		17	11	43	10	20
85-86 (A2)	COU	S	144	16		33	21	26	6	14
86-87 (A1)	COU	S	170	28		30	32	24	8	6
87-88 (A1)	COU	S	159	27		34	28	24	5	9
			16784	*64		*15	*16	*36	*9	*24

FP = formación preuniversitaria; I = tipo de acceso; Al/C = nº alumnos por curso; Al/P = nº alumnos por profesor; Al/C = nº alumnos por cadáver; P = Preuniversitario; C = Selectivo Ciencias; m = mixto; M = Selectivo Medicina; S = Examen Universidad. * Media aritmética

peración de un examen de selectividad universitario (S). En la cuarta columna se calcula la relación número de alumnos por cada profesor (Al/P), así como, en la quinta, el número de alumnos por cadáver (Al/C). Finalmente, en las cinco últimas columnas quedan reflejadas las calificaciones finales, expresando el porcentaje de sobresalientes (SOB), notables (NOT), aprobados (AP) suspensos (SUS) y no presentados (NP), respectivamente. Es

preciso hacer constar que las cifras que poseían decimales se han redondeado para facilitar los cálculos, de modo que cuando la cifra decimal era inferior a 5 décimas se optó por mantener el mismo número entero, mientras que cuando era superior a cinco décimas se añadió una unidad al dígito correspondiente.

Con estos datos se ha efectuado un estudio estadístico, asesorados por el Centro de Cálculo de la Universidad de Sevilla, consistente en la confección de una serie de tablas de contingencia donde se ha realizado mediante la prueba chi cuadrado un análisis de independencia, con aproximación a la distribución normal, de los diferentes parámetros recogidos. Partiendo de la hipótesis de independencia se han relacionado la formación preuniversitaria, tipo de acceso a la Facultad de Medicina, relación nº de alumnos/profesor y nº de alumnos/cadáver, por un lado, con los resultados finales obtenidos por los alumnos en las pruebas de evaluación. Estos cálculos se han efectuado por partida triple en cada grupo, considerando por un lado la materia correspondiente a Anatomía 1, a Anatomía 2, y, en tercer lugar, considerando la asignatura de Anatomía en su totalidad.

Resultados. Comentarios

Si analizamos detenidamente la tabla 1 destaca en primer lugar el crecimiento ostentoso del número de alumnos, que se inicia con cifras inferiores al centenar, y remonta con creces el millar de alumnos en la última mitad de los años setenta, para paulatinamente, y debido a la implantación del "numerus clausus" en nuestras Facultades de Medicina, iniciar de nuevo una reducción por lo demás plenamente justificada. Resulta obvio que el crecimiento del número de alumnos está íntimamente relacionado con la relajación de los sistemas de selección universitaria.

Centrándonos en la relación nº de alumnos/profesor es evidente que las cifras óptimas están en los últimos cursos, coincidiendo con la reducción del número de alumnos por curso y con la fragmentación de los cursos en varios grupos de docencia. Por contra y por desgracia, en estas últimas promociones la calidad de la docencia práctica, ante la ausencia total de cadáveres, ha sido indudablemente menor, habiéndola de suplir convenientemente con piezas, material radiológico, etc.

El rendimiento final del alumno ha sido la suma de toda su labor durante el curso. Por consiguiente, los resultados finales guardan una lógica relación carente de improvisaciones. Conviene aclarar que en los primeros veinte cursos, a los efectos académicos, la enseñanza anatómica estaba desglosada en dos calificaciones, correspondientes respectivamente a Anatomía y a la Técnica Anatómica, circunstancia tenida en cuenta, obteniendo la media aritmética de ambas calificaciones. Este criterio quedó derogado legislativamente a partir del curso 1971-72, donde la totalidad de la docencia anatómica quedaba evaluada en una única calificación.

TABLA 2

	SOB %	NOT %	AP %	SUS %	NP %
ANATOMIA 1 (21 cursos)	13.90	15	37.28	10.52	23.28
ANATOMIA 2 (19 cursos)	16.10	17	34.72	7.48	24.82

En la valoración del rendimiento docente es preciso destacar además la parte positiva, representada por el grupo de alumnos brillantes, aquellos calificados con sobresaliente y notable, y que han representado un promedio del 31 por ciento del total. Obsérvese (Tabla 1) igualmente que el deterioro del número de alumnos brillantes coincide con los primeros cursos del COU, comenzando de nuevo una clara recuperación en las últimas promociones. Es de destacar igualmente una evidente superación del alumno en Anatomía 2 frente a Anatomía 1 (Tabla 2). De igual modo, destacar que del grupo de alumnos que no superaron la asignatura, y que representó un 33 por ciento considerando la media de los cuarenta cursos, un 24 por ciento de los mismos correspondió a los alumnos que no se presentaron a examen.

El estudio estadístico comparando los resultados entre Anatomía 1 y Anatomía 2 nos muestra que en Anatomía 2 existe un mayor grado de dependencia que en Anatomía 1 entre las calificaciones obtenidas por los alumnos, por un lado, y el tipo de formación preuniversitaria, tipo de acceso a la Facultad y relación nº de alumnos/profesor. Sin embargo se obtienen niveles de significación similares entre ambas materias entre las calificaciones obtenidas y la relación nº de alumnos/cadáver.

Si consideramos conjuntamente la asignatura y establecemos un orden de mayor a menor dependencia con las calificaciones obtenidas, observamos cómo el primer lugar lo ocupa el tipo de formación preuniversitaria. En segundo lugar nos encontramos con la relación número de alumnos por profesor. A continuación figura el tipo de acceso a la Facultad de Medicina y finalmente, cerrando la serie, tenemos la relación nº de alumnos por cadáver.

BIBLIOGRAFIA

- CARRERES, J.; IÑIGUEZ, C.; GOMEZ-BOSQUE, P.; GOMEZ-OLIVEROS, L. (1978): "Resultados de una encuesta sobre la enseñanza de la Anatomía en España". Actas IX Congreso Soc. Anat. Española (89-102). Zaragoza.
- NIETO, J.L.; ASIRON, P.; GOMEZ-BELTRAN, J.M. (1978): "Ensayo para la evaluación de la Anatomía Humana mediante pruebas objetivas de respuesta múltiple". Actas IX Congreso Soc. Anat. Española (435-442). Zaragoza.
- NIETO, J.L.; GOMEZ-BELTRAN, J.M.; SARRAT, R. (1984): "Las técnicas bioscópicas y de imagen en la enseñanza de la Anatomía" Actas VIII Congreso Soc. Española Educ. Med. (29-31)
- ORTS-LLORCA, F. (1973): "La moderna institución en Ciencias morfológicas". Arch. Fac. Med. Madrid, 6: 349-354.

Correspondencia: Dr. J. Jiménez-Castellanos
Departamento de Ciencias Morfológicas
Facultad de Medicina
Avda. Sánchez Pizjuán s/n. 41009 Sevilla. España

POBLACION Y TAMAÑO FIBRILAR EN EL MUSCULO GLUTEO MEDIO DE CABALLOS PURA SANGRE INGLES

FIBRE POPULATION AND SIZE IN THE MIDDLE GLUTEAL MUSCLE OF THOROUGHBRED HORSE

J.L. LOPEZ-RIVERO, E. AGÜERA, J. VIVO, J.L. MORALES-LOPEZ y
A. MARTINEZ-GALISTEO

Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas.
Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba.

RESUMEN

Se toman biopsias del músculo Glúteo medio derecho de 20 caballos Pura sangre inglés inactivos de cinco a doce años de edad. Las muestras fueron analizadas por técnicas histoquímicas de miosín ATPasa y NADH-TR, obteniéndose la composición fibrilar, áreas, diámetros mínimos y porcentajes del área relativa de cada tipo de fibra. Los valores medios correspondientes a los porcentajes de cada tipo de fibra fueron 23.8%, 48.6%, 27.6%, 59.2% y 17.0% para las fibras tipos I, IIA, IIB, FTH y FT, respectivamente. La media de los diámetros mínimos fue 51.2 μm para las fibras tipo I, 55.7 μm para las fibras tipo IIA y 61.1 μm para las fibras tipo IIB. Estos resultados indican que el caballo Pura sangre inglés tiene una alta proporción de fibras tipo II. Además, en esta raza el músculo Glúteo medio tiene una alta proporción de fibras tipo IIA y FTH. Estas fibras poseen un mayor índice de fatigoresistencia que las IIB y FT. Otra característica de esta raza es el pequeño tamaño mostrado por todos los tipos de fibras.

PALABRAS CLAVE: Músculo. Histoquímica. Caballo Pura sangre inglés.

SUMMARY

Muscle biopsies were obtained from the right middle gluteal muscle of twenty inactive Thoroughbred horses five to twelve years old. Samples were analyzed by myosin ATPase and NADH-TR histochemical techniques, and fibre composition, fibre areas, fibre minimal diameters and percentages of cross-sectional areas of each fibre type were calculated. The percentages of fibre types were \bar{x} 23.8%, \bar{x} 48.6%, 27.6%, \bar{x} 59.2% and \bar{x} 17.0%, for types I, IIA, IIB, FTH and FT, respectively. Mean minimal diameters were 51.2 μm for type I fibres, 55.7 μm for type IIA fibres and 61.1 μm for type IIB fibres. The results of this study indicate that Thoroughbred horses have a high proportion of type II fibres. In addition, the middle gluteal muscle has a high proportion of IIA and FTH fibres, which possess a greater fatigue index than types IIB and FT. On the other hand, the small size of all types of fibres is a characteristic of this breed.

KEY WORDS: Skeletal muscle. Histochemistry. Thoroughbred horse.

Introducción

La adaptación de técnicas histoquímicas al músculo esquelético de los mamíferos ha permitido diferenciar los distintos tipos de fibras musculares en base a sus propiedades contráctiles y metabólicas (Brooke/Kaiser, 1970; Peter et al., 1972). Nosotros mismos, en intentos previos, hemos comprobado esta diferenciación fibrilar mediante técnicas histoquímicas de adenosín trifosfatasa miofibrilar (m-ATPasa) y oxidativas en el músculo del caballo (Agüera et al., 1985; López-Rivero, 1988), obteniendo una respuesta histoquímica fibrilar bastante similar a los resultados obtenidos sobre el músculo del hombre y rata por Brooke/Kaiser (1970) y Dubowitz/Brooke (1973).

Por otra parte, el caballo de raza Pura sangre inglés tiene un gran interés en medicina deportiva veterinaria, pues al margen del hipódromo, donde se mueven sustanciosas cantidades económicas y por ende grandes intereses, existen otras modalidades hípcas deportivas (salto, ride, etc.) que pueden beneficiarse de una investigación de este tipo.

La primera referencia que hemos hallado sobre la diferenciación histoquímica (técnica oxidativa de succínico deshidrogenasa) de tres tipos de fibras musculares en el caballo pertenece a Shubber (1971/72). Con posterioridad, Gunn (1973) aplica por primera vez la técnica de miosín-ATPasa al músculo de esta especie, pero son definitivamente Lindholm/Piehl (1974) quienes, al adaptar al caballo la técnica de aguja de biopsia muscular percutánea originaria de Bergström (1962), impulsan esta parcela de la investigación. Desde entonces, se han obtenido importantes logros en el campo de la histoquímica muscular equina. Así, Aberle et al. (1976), Gunn (1978), Snow/Guy (1980) y Essén et al. (1980), entre otros, han contribuido sustancialmente al esclarecimiento de la diferenciación fibrilar en el músculo del caballo.

De otro lado, es sabido desde hace tiempo cómo determinadas razas de animales están dotadas genéticamente para desarrollar con la mayor solvencia aptitudes locomotoras específicas (Wentworth, 1957). Tesio (1958) destaca en su libro la relación tan directa que existe entre la capacidad locomotora de un caballo y las características presentes en su tejido muscular esquelético, al tener noticias de que en el músculo existen diferentes tipos de fibras. En la última década ha sido demostrado holgadamente que, en el caballo, la composición fibrilar y características morfométricas de un mismo músculo varían ampliamente entre diferentes razas y que tales diferencias se relacionan muy estrechamente con la capacidad funcional y especialización deportiva de cada una de ellas (Gunn, 1978; Snow/Guy, 1980 1981; Bechtel/Kline, 1983; Valberg, 1986; Andrews/Spurgeon, 1986).

Así pues, el primer objetivo a plantear en este tipo de trabajo es obtener los patrones musculares de la población y tamaño fibrilar en un territorio concreto del músculo Glúteo medio en caballos Pura sangre inglés de nuestra cabaña nacional, adultos e inactivos, a fin de extraer algunas conclusiones sobre la capacidad funcional de esta raza y sobre las que poder sustentar futuras experiencias relacionadas con la miogénesis y con distintos aspectos sobre el ejercicio.

Material y Métodos

Material. Se utilizan veinte caballos adultos (de cinco a doce años de edad: media nueve años), de raza Pura sangre inglés y de ambos sexos (cuatro sementales y dieciséis yeguas), nacidos y criados en España. Para discriminar por sexos se trataron independientemente los machos y las hembras. Todos los individuos se encontraban bajo idénticas condiciones físicas y no habían sido sometidos con anterioridad a ningún programa específico de entrenamiento.

Biopsias musculares. En todos los casos, las muestras fueron tomadas de la porción ventral del músculo Glúteo medio del miembro derecho, según la técnica de biopsia muscular descrita para este músculo por Lindholm/Piehl (1974), aunque con ligeras modificaciones. Para ello, se utiliza la aguja de biopsia muscular diseñada

por Henckel (1983a), obteniéndose la biopsia a una profundidad constante de 5 cm., sobre el área que dista, en la vertical, 3 cm. al punto que separa los tercios craneal y medio de la línea que une el centro de la espina ilíaca ventral con la referencia más culminante de la porción caudal del troncáncer mayor del fémur.

Análisis histoquímico. Las muestras así obtenidas fueron orientadas bajo una lupa en un bloque de corcho, adheridas con una pequeña cantidad de Tissue-tek II OCT-compound y congeladas inmediatamente según el método propuesto por Dubowitz/Brooke (1973). Con posterioridad, se obtienen en un criostato a -20° C cortes seriados de 10 micras de grosor destinados al estudio histoquímico. Estos cortes fueron teñidos con adenosín trifosfata-sa miofibrilar (m-ATPasa) tras preincubación ácida (pH 4.4) (Brooke/Kaiser, 1970) y con nicotinamida adenina dinucleótido-tetrazolium reductasa (NADH-TR) (Novikoff et al., 1961).

Con la ayuda de un microproyector, se analizan cuantitativamente las muestras teñidas con ambas técnicas, a fin de obtener los porcentajes de cada uno de los tipos de fibras que integran la población fibrilar de cada muestra. De este modo, sobre el corte teñido con ATPasa miofibrilar a pH 4.4, se identifican las fibras tipo I y los subtipos IIA y IIB (Brooke/Kaiser, 1970). Sobre el corte sometido a la técnica oxidativa de NADH-TR, se determinó el porcentaje de fibras claras, y se adjudicó como el correspondiente al de fibras tipo FT (fibras de contracción rápida y baja capacidad oxidativa) (Peter et al., 1972). El porcentaje de fibras tipo ST (fibras de contracción lenta y alta capacidad oxidativa) lo hacemos equivalente al de fibras tipo I, calculado previamente con la técnica de m-ATPasa a pH 4.4. Por último, la proporción de fibras tipo FTH (fibras de contracción rápida y alta capacidad oxidativa) se obtuvo indirectamente a partir de la siguiente fórmula:

$$\%FTH = 100 - (\%ST + \%FT) \quad (\text{Snow/Guy, 1980})$$

Estudio morfométrico. El estudio morfométrico se realizó en un analizador de imágenes computarizado IBAS-2 KONTRON. Para ello, se examinan al menos veinticinco fibras de cada tipo (I, IIA, IIB; ATPasa 4.4), siguiendo el método propuesto por Blomstrand/Ekblom (1982). De este modo, se obtuvo el área y diámetro mínimo de cada uno de los tipos de fibras. Finalmente, el área relativa ocupada por cada tipo de fibra fue calculada individualmente, dividiendo el producto de los porcentajes de cada tipo de fibra y su área fibrilar media por el sumatorio de estos productos para todos los tipos de fibras (Sullivan/Armstrong, 1978):

$$pF = \frac{\%f \times mfaf}{\sum (\%f \times mfaf)}$$

donde

- pF = área relativa ocupada por la fibra tipo f
- %f = porcentaje de la fibra tipo f
- f = fibra tipo I, IIA o IIB
- mfaf = área fibrilar media de la fibra tipo f

Análisis estadístico. Para el análisis de varianza realizado entre sexos se utilizó la prueba F de Snedecor. Los resultados son presentados en media, desviación típica, error típico de la media, minusvariante, plusvariante y coeficiente de variación porcentual.

Resultados

Mediante la técnica de m-ATPasa tras preincubación ácida a pH 4.4, se identifican con nitidez las fibras tipo I (oscuras), IIA (claras) y IIB (intermedias) (A. Fig. 1) (Brooke/Kaiser, 1970). Sobre el corte teñido por NADH-TR, sólo resultan objetivamente cuantificables las fibras tipo FT (claras) (B. Fig. 1). De ahí que los porcentajes

de fibras tipo ST y FTH (oscuras e intermedias) se calculan siguiendo la ecuación preconizada por Snow/Guy (1980), haciendo para ello el porcentaje de fibras tipo ST equivalente a los obtenidos previamente como fibras tipo I mediante la técnica de m-ATPasa tras preincubación ácida.

Población fibrilar. En la tabla 1 se detallan comparativamente (entre sexos) los resultados estadísticos básicos referidos a los porcentajes de cada tipo de fibra obtenidos mediante las dos técnicas histoquímicas utilizadas (m-ATPasa tras preincubación ácida a pH 4.4 y NADH-TR). El análisis de varianza realizado entre sus medias no detectó ninguna diferencia con significación estadística. En consecuencia, en la tabla 2 se reflejan los resultados estadísticos globales para la raza sobre el material utilizado.

Tamaño fibrilar. Adoptando este mismo criterio, en la tabla 3 se recogen los resultados estadísticos básicos de ambos sexos relativos al tamaño (área y diámetro mínimo) de las fibras tipo I, IIA y IIB diferenciadas según su actividad m-ATPasa tras preincubación ácida (pH 4.4). Tras realizar el pertinente análisis de varianza (prueba F) entre sus medias, puede deducirse que sólo el tamaño de las fibras tipo IIB se muestra estadísticamente superior en las hembras que en los machos ($P < 0.05$). En la tabla 4 se muestran los resultados estadísticos globales para la raza referidos al tamaño fibrilar, así como los porcentajes de las áreas relativas ocupadas por cada tipo de fibra en el territorio muscular muestreado.

Discusión

En primer lugar, tenemos que resaltar la carencia de significación estadística entre sexos respecto a los porcentajes de cada tipo de fibra. En efecto, la proporcionalidad de los tipos de fibras I y II resulta en nuestro estudio similar entre sementales y yeguas. En este mismo contexto se expresan los resultados obtenidos por Gunn (1978) sobre distintos músculos del caballo, así como las investigaciones realizadas más recientemente por Kline/Bechtel (1983) y Essén-Gustavsson/Lindholm (1985) sobre el músculo Glúteo medio de caballos Quarter horse y Standardbred, respectivamente. Sin embargo, Snow/Guy (1981) reportan, en un grupo conformado por cincuenta yeguas y veintidós sementales Thoroughbred, que las hembras contienen una comunidad fibrilar de contracción lenta significativamente superior a los machos. Estos mismos autores argumentan que el hecho puede estar motivado por la mayor presión de selección genética que sufren los sementales en pos de mejorar la progenie.

Respecto al tamaño fibrilar, los valores estadísticos de cada tipo de fibra denotan la inexistencia de variaciones intersexuales, pues las excepciones observadas para las fibras tipo IIB (tabla 3) no nos merecen una mayor consideración, por tratarse del área media, parámetro éste que puede verse afectado por una posible oblicuidad del corte (Cornelisse et al., 1980; Mignot et al., 1981), mientras que la variación manifestada por su diámetro mínimo denota un grado de discriminación tan poco elevado ($P < 0.05$), que nos impone dudas sobre esta veracidad matemática. En esta misma línea se sitúa el trabajo de Snow/Guy (1981), quienes tampoco descubrieron diferencias estadísticas significativas atribuibles al sexo, respecto al tamaño fibrilar del músculo Glúteo medio del caballo.

En lo relativo a la población fibrilar de este músculo en el caballo Pura sangre inglés, hemos de destacar la elevada proporción de fibras tipo II encontrada (media = 76.2 por ciento) y, por consiguiente, la exigua dotación de fibras tipo I (media = 23.8 por ciento). Este modelo de distribución fibrilar capacita a esta raza para obtener los mejores rendimientos deportivos en pruebas de velocidad. De hecho, el caballo Thoroughbred, que podemos equiparar a nuestro Pura sangre inglés, es una raza seleccionada en función de sus atributos deportivos para competir en carreras de corta y media distancia (1.000-3.600 metros) (Guy/Snow, 1977; Snow/Guy, 1980; Valberg, 1987), en las que debe desplegar una velocidad punta explosiva (800-1.000 m/min.) (Hodgson et al., 1985).

Al comparar los resultados obtenidos en el presente estudio con los aportados en otras experiencias para la raza Thoroughbred (tabla 5), puede observarse que, a pesar de no ser totalmente coincidentes, guardan un cierto

paralelismo. La más acusada divergencia entre ellos se manifiesta en el elevado porcentaje de fibras tipo I hallado por nosotros (media = 23.8 por ciento), lo que podría representar un deterioro de la capacidad velocística de los caballos muestreados en el presente estudio. No obstante, entendemos que no todos los resultados expresados en la tabla 5 son homologables con los nuestros, pues en muchos casos difieren en cuanto edad, estado de entrenamiento e, incluso, algunos de ellos no especifican el territorio muscular muestreado ni valoran la profundidad de la toma de muestras. Por otra parte, la mayor presencia de fibras tipo I encontrada en los caballos muestreados por nosotros, no puede achacarse a la profundidad de la toma de muestras, puesto que Hodgson et al. (1986), muestreando el músculo Glúteo medio a una mayor profundidad (10 cm.), cuantifican un porcentaje de fibras tipo I estimablemente menor (media = 11 por ciento), y Kai (1984), trabajando a la misma profundidad que la nuestra (5 cm.), obtiene un catorce por ciento de población fibrilar de contracción lenta.

Respecto al patrón morfométrico del músculo en esta raza, el dato más llamativo es el pequeño tamaño manifestado por todos los tipos de fibras al compararlo con los resultados obtenidos por nosotros en otras razas de caballos (López-Rivero, 1988), siendo similares a los obtenidos por otros autores para la raza Thoroughbred (Snow-Guy, 1981; Lindholm et al., 1983; Valberg, 1987). En este sentido procede reseñar que Essén-Gustavsson/Lindholm (1985) han abogado recientemente en favor de la ventaja de poseer fibras musculares con pequeñas dimensiones, pues ello condiciona una menor superficie de difusión de oxígeno y sustratos energéticos, así como una excreción más dinámica de lactato y otros metabolitos.

En conclusión, el caballo Pura sangre inglés se caracteriza por poseer una ingente comunidad fibrilar de tipo II, a lo que se suma una elevada dotación celular con buena capacidad oxidativa (fibras tipo IIA y FTH), de mayor resistencia a la fatiga que las IIB. Además, la presencia de fibras tipo II con pequeñas dimensiones cualifica la capacidad funcional de esta raza. En cuanto a los resultados obtenidos por nosotros respecto a los enunciados por otros autores, cabe destacar el excesivo porcentaje de fibras tipo I hallado en nuestros colectivos, lo que puede significar una menor capacidad de nuestros caballos para la aptitud velocística.

BIBLIOGRAFIA

- ABERLE, E.D.; JUDGE, M.D.; KIRHAM, W.W.; PAGE, E.H. and CRAWFORD, B.H. (1976): Fibre types and size in equine skeletal muscle. *Am J. Vet. Res.*, **37**: 145-148.
- AGÜERA, E.; RODRIGUEZ-BARBUDO, M^a V.; DIZ, A. y SANTISTEBAN, J.M. (1985): Identificación y correlación de los tipos fibrilares del músculo del caballo frente a algunas técnicas histoquímicas. *J. Técn. Nac. Caballo Expoaviga '85*. Barcelona.
- ANDREWS, F.M. and SPURGEON, T.L. (1986): Histochemical staining characteristic of normal horse skeletal muscle. *Am. J. Vet. Res.*, **47**: 1843-1852.
- BECHTEL, P.J. and KLINE, K.H. (1986): Muscle fibre type changes in the middle gluteal of Quarter and Standardbred horses from birth through one year of age. In: "Proc. 2nd Int. Conf. Equine Exercise Physiology". G.P. Carlsson and E. Robinson (eds.) pp. 265-270.
- BERGSTRÖM, J. (1962): Muscle electrolytes in man: determined by neutron activation analysis on needle biopsy specimens: a study in normal subjects, kidney patients and patients with chronic diarrhoea. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **14 Suppl.** **68**: 1-110.
- BLOMSTRAND, E. and EKBLÖM, B. (1982): The needle biopsy techniques for fibre type determination in human skeletal muscle. A methodological study. *Acta Physiol. Scand.* **116**: 437-442.
- BROOKE, M.H. and KAISER, K.K. (1970): Three "myosin ATPase" systems: the nature of their pH lability and sulphhydryl dependence. *J. Histochem. Cytochem.* **18**: 670-672.
- CORNELISSE, C.J.; BOTS, G.Th.A.M.; WINTZEN, A.R.; PLOEM, J.S. and Van Den BROEK, K. (1980): Real-time morphometric analysis of type I and type II fibres in cryostat of human muscle biopsies. *Pathol. Res. pract.* **166**: 218-138.
- CUTMORE, C.M.M.; SNOW, D.H. and NEWSHOLME, E.A. (1985): Activities of key enzymes of aerobic and anaerobic metabolism in middle gluteal muscle from trained and untrained horses. *Equine Vet. J.*, **17**: 354-356.
- DUBOWITZ, V. and BRÖOKE, M.H. (1973): "Muscle biopsy: A modern approach". W.B. Saunders Co. Ltd., London.
- ESSEN, B.; LINDHOLM, A. and THORNTON, J.R. (1980): Histochemical properties of muscle fibre types and enzyme activities on skeletal muscles of Standardbred trotters of different ages. *Equine Vet. J.*, **12**: 175-180.

- ESSEN-GUSTAVSSON, B. and LINDHOLM, A. (1985): Muscle fibre characteristics of active and inactive Standardbred horses. *Equine Vet. J.*, **17**: 434-438.
- GUNN, H.M. (1973): Histochemical differences in the skeletal muscle of different breeds of horses and dogs. *J. Anat.*, **114**: 303.
- GUNN, H.M. (1978): Differences in the histochemical properties of skeletal muscles of different breeds of horses and dogs. *J. Anat.*, **127**: 615-634.
- GUY, P.S. and SNOW, D.H. (1977): A preliminary survey of skeletal muscle fibre types in equine and canine species. *J. Anat.*, **124**: 499-500.
- HENCKEL, P. (1983a): Training and growth induced changes in the middle gluteal muscle of young Standardbred trotters. *Equine Vet. J.*, **15**: 134-140.
- HENCKEL, P. (1983b): A histochemical assessment of the capillary blood supply of the middle gluteal muscle of Thoroughbred horses. In: "Equine Exercise Physiology". D.H. Snow, S.G.B. Persson and R.J. Rose (eds.). Granta Editions, Cambridge, pp. 225-228.
- HODGSON, D.R.; ROSE, R.J.; DIMAURO, J. and ALLEN, J.R. (1985): Effects of a submaximal treadmill training programme on histochemical properties, enzyme activities and glycogen utilisation of skeletal muscle in horse. *Equine Vet. J.*, **17**: 300-305.
- HODGSON, E.R.; ROSE, R.J.; DIMAURO, J. and ALLEN, J.R. (1986): Effects of training on muscle composition in horse. *Am. J. Vet. Res.*, **47**: 12-15.
- KAI, M. (1984): Distribution of fibre types in equine middle gluteal muscle. *Bull. Equine Res. Institute*, **21**: 46-50.
- KLINE, K.H. and BECHTEL, P.J. (1983): Fibre type patterns in Quarter horses of varying ages. In: "Proc. 8th Equine Nutrition and Physiology Symposium". Lexington, Kentucky, pp. 217-220.
- LINDHOLM, A. and PIEHL, K. (1974): Fibre composition, enzyme activity and concentrations of metabolites and electrolytes in muscles of Standardbred horses. *Acta Vet. Scand.*, **15**: 287-309.
- LINDHOLM, A.; ESSEN-GUSTAVSSON, B.; McMIKEN, D.; PERSSON, S. and THORNTON, J.R. (1983): Muscle histochemistry and biochemistry of Thoroughbred horses during growth and training. In: "Equine Exercise Physiology". D.H. Snow, S.G.B. Persson and R.J. Rose (eds.). Granta Editions, Cambridge, pp. 211-217.
- LOPEZ-RIVERO, J.L. (1988): Patrones histoquímicos y morfométricos de la población fibrilar del músculo Glúteo medio del caballo en razas con diferentes aptitudes dinámicas (caballo Andaluz, Pura sangre inglés y árabe). Tesis Doctoral. Fac. Vet. Univ. Córdoba.
- MIGNOT, J.; BARRES, D. and DURIGON, M. (1981): Méthodes histomorphométriques. I. Méthodes semi-automatiques: applications des tables a digitiser. *Acta Pathol.*, **2**: 152-155.
- NOVIKOFF, A.B.; SHIN, W. and DRUCKER, J. (1961): Mitochondrial localization of oxidation enzymes: staining results with two tetrazolium salts. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **9**: 47-61.
- PETER, J.B.; BARNARD, R.; EDGERTON, V.R.; GILLESPIE, C.A. and STEMPEL, K.E. (1972): Metabolic profiles of three fibres types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. *Biochemistry*, **11**: 2627-2633.
- SHUBBER, A.H. (1971-72): On the succinic dehydrogenase activity in equine skeletal muscle fibres. *Acta Morph. Neerl-scand.*, **9**: 229-234.
- SNOW, D.H. and GUY, P.S. (1980): Muscle fibre type composition of a number of limb muscles in different types of horse. *Res. Vet. Sci.*, **28**: 137-144.
- SNOW, D.H. and GUY, P.S. (1981): Fibre type and enzyme activities of the m gluteus medius in different breeds of horses. In: "Biochemistry of Exercise". J. Poortmans and G. Niset (eds.). Univ. Park Press, Baltimore, pp. 275-282.
- SULLIVAN, T. and ARMSTRONG, R. (1978): Rat locomotory muscle fibre activity during trotting and galloping. *J. Appl. Physiol.*, **44**: 358-363.
- TESIO, F. (1958): "Breeding the Race Horse". (English translation). Allen and Co., Ltd., London.
- VALBERG, S. (1986): "Skeletal muscle metabolic responses to exercise in the horse. Effects of muscle fibre properties, recruitment and fibre composition". Th. Doct. Ettans föreläsningssal, klinikcentrum, Ultuna.
- VALBERG, S. (1987): Metabolic response to racing and fibre properties of skeletal muscle in Standardbred and Thoroughbred horses. *J. Equ. Vet. Sci.*, **7**: 6-12.
- WENTWORTH, L. (1957): "The Swift runner. Racing speed through the ages". Allen and Unwin, Ltd., London.

Correspondencia: Dr. José Luis López Rivero
 Dpto. de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas
 Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba
 Avda. Mediana Azahara, 7
 14005 Córdoba. España

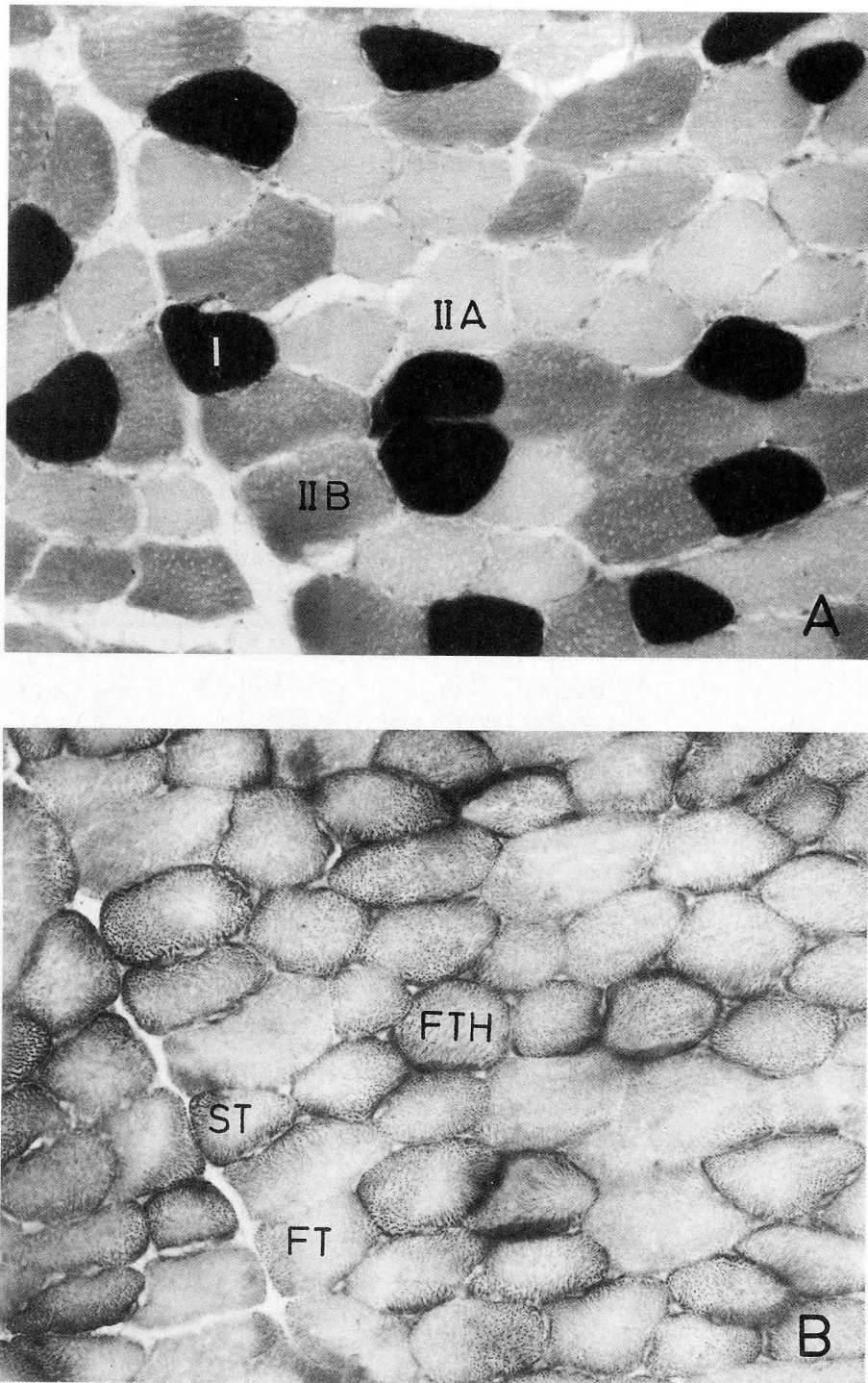


FIGURA 1. Microfotografías de cortes seriados del músculo Glúteo medio de un caballo de raza Pura sangre inglés. A. m-ATPasa ácida -pH 4.4-; (x160). B. NADH-TR (x160). Nótese la escasa presencia de fibras de contracción lenta (tipos I y ST).

TABLA 1. Comparación entre sexos de los resultados estadísticos de las variables que contemplan la población fibrilar (m-ATPasa tras preincubación ácida a pH 4.4 y NADH-TR) del músculo Glúteo medio del caballo de raza PSI.

	TIPOS DE FIBRAS (%)									
	ATPasa (pH 4.4)						NADH-TR			
	MACHOS (N=4)			HEMBRAS (N=16)			MACHOS (N=4)		HEMBRAS (N=16)	
	I	IIA	IIB	I	IIA	IIB	FTH	FT	FTH	FT
Media	19.5	52.3	28.2	24.9	47.7	27.4	61.1	19.5	58.8	16.3
Des. típica	5.0	5.7	9.6	5.2	8.8	11.6	6.5	4.1	6.7	6.9
E. típ. media	2.5	2.8	4.8	1.3	2.2	2.9	3.3	2.1	1.7	1.7
Minusvariante	13.5	45.9	17.6	16.8	28.7	11.7	51.1	13.7	42.5	6.3
Plusvariante	25.2	57.2	40.6	33.7	59.7	50.7	66.7	23.3	71.6	23.7
CV 100	25.9	10.9	33.9	21.1	18.4	42.5	10.8	21.1	11.3	42.0

Ninguna de las medias resultan estadísticamente diferentes entre sexos (p.F)

TABLA 2. Resultados estadísticos globales para la raza de las variables referidas a la población fibrilar (ATPasa tras preincubación ácida a pH 4.4 y NADH-TR)

	TIPOS DE FIBRAS (%)				
	ATPasa (pH 4.4)			NADH-TR	
	I	IIA	IIB	FTH	FT
N=20					
Media (%)	23.8	48.6	27.6	59.2	17.0
Desv. típica	5.5	8.3	11.0	6.5	6.4
E. típ. media	1.2	1.8	2.4	1.4	1.4
Minusvariante	13.5	28.7	11.7	42.5	6.3
Plusvariante	33.7	59.7	50.7	71.6	26.6
CV 100	23.3	17.1	40.0	10.9	38.0

TABLA 3. Comparación entre sexos de los resultados estadísticos de las variables que expresan el tamaño (área y diámetro mínimo) de las fibras tipos I, IIA y IIB

	AREAS (μm^2)						DIAMETROS MINIMOS (μm)					
	MACHOS (N=4)			HEMBRAS (N=16)			MACHOS (N=4)			HEMBRAS (N=16)		
	I	IIA	IIB ^a	I	IIA	IIB ^a	I	IIA	IIB ^a	I	IIA	IIB ^a
Media	2426	3190	3162	2999	3424	4402	47.2	54.3	53.5	52.1	56.0	63.0
Desv. típica	617	630	460	561	603	863	6.2	5.1	4.5	5.2	5.7	6.5
E. típ. media	308	315	130	10	150	215	3.1	2.5	2.6	1.3	1.4	1.6
Minusvariante	1731	2311	2811	2337	2336	3375	38.2	47.1	49.7	45.2	44.6	55.1
Plusvariante	3221	3774	3799	4027	4890	7186	51.6	58.7	59.7	63.3	67.3	79.4
CV 100	25.4	19.7	14.5	18.7	17.5	19.6	13.2	9.4	8.5	10.0	10.3	10.3

^ap<0,05

TABLA 4. Resultados estadísticos globales para la raza de las variables referidas al tamaño (área, diámetro mínimo y área relativa) de las fibras tipos I, IIA y IIB.

	AREAS (μm^2)			DIAM. MIN. (μm)			AREA RELATIVA (%)		
	I	IIA	IIB	I	IIA	IIB	I	IIA	IIB
N=20									
Media	2284	3385	4154	51.2	55.7	61.1	19.9	47.5	32.6
Desv. típica	603	599	938	5.6	5.5	7.2	6.1	9.7	13.6
E. típ. media	134	134	209	1.2	1.2	1.6	1.3	2.1	3.0
Minusvariante	1731	2311	2811	38.2	44.6	49.7	9.6	26.1	16.5
Plusvariante	4207	4890	7186	63.6	67.3	79.4	30.1	61.2	50.7
CV 100	20.9	17.7	22.5	11.1	9.9	11.8	30.6	20.5	41.5

TABLA 5. Resultados referentes a la población fibrilar (en %) del músculo Glúteo medio de la raza Thoroughbred (equiparable a nuestro Pura sangre inglés) obtenidos previamente por los autores que se indican.

REF. BIBLIOGRAFICA	Edad	Número de animales	Profundidad toma muestras	Estado de entrenamiento	POBLACION FIBRILAR					
					I	IIA	IIB	SI	FIH	FT
Snow/Guy (1980)	Adul.	7	?	Sin entrenam.	--	--	--	12	51	37
Snow/Guy (1981)	Adul.	50	?	"Elite"	--	--	--	11	57	32
Snow/Guy (1981)	Adul.	22	?	"Elite"	--	--	--	7	61	29
Henckel (1983b)	Adul.	2	?	Sin entrenam.	9	36	55	--	--	--
Lindholm et al. (1983)	2.5	14	?	Entrenados	12	39	49	--	--	--
Kai (1984)	4.5	4	5 cm.	Sin entrenam.	--	--	--	14	52	34
Cutmore et al. (1985)	10	9	?	Sin entrenam.	14	33	53	14	61	25
Andrews/Spurgeon (1986)	3	8	?	Sin entrenam.	18	35	47	--	--	--
Hodgson et al. (1986)	2-3	10	10 cm.	Sin entrenam.	11	39	50	--	--	--
Valberg (1987)	4	22	?	Entrenados	13	46	41	--	--	--

ESTUDIO MESOSCOPICO DEL SEGMENTO MANDIBULAR Y PTERIGOIDEO DE LA ARTERIA MAXILAR INTERNA

MESOSCOPIC STUDY OF THE MANDIBULAR AND PTERYGOID SEGMENTS OF THE INTERNAL MAXILLARY ARTERY

C. DE MONTES

Departamento de Ciencias Morfológicas. Facultad de Medicina.
Universidad de Sevilla

RESUMEN

Se ha realizado un estudio mesoscópico de la porción mandibular y pterigoidea de la Arteria Maxilar Interna, centrándonos en las variantes intrínsecas de ella y de sus posibles ramas.

PALABRAS CLAVE: Arteria Maxilar Interna. Estudio Mesoscópico

SUMMARY

A mesoscopic study of the mandibular and pterygoid segments of the internal maxillary artery has been carried out making special account on the variations of this artery and of the possible branches it presents.

KEY WORDS: Internal Maxillary Artery. Mesoscopic study.

Introducción

La Arteria Maxilar Interna (*A. Maxillaris*) y sus ramificaciones comprende un complejo arterial que abastece un gran número de estructuras faciales profundas e intracraneales. Actualmente, los avances en las técnicas angiográficas de diagnóstico y evaluación, combinadas con las precisas técnicas microquirúrgicas desarrolladas por otólogos, cirujanos plásticos y neurocirujanos, han motivado una importante revisión de la morfología de esta compleja arteria, siendo muestra de ello la existencia de numerosos trabajos actuales (Aaron y cols., 1966; Allen y cols., 1973; Allen y cols., 1974; Bastide y cols., 1972; Cadenat y cols., 1972; Combelles y cols., 1974; Doyon y cols., 1967; Goldemberg, 1984; Kettunem, 1965; Newton y Kramer, 1966; Pearson y cols., 1969; Pribrah, 1966; Rabischong y cols., 1981; Salamon y cols., 1968; Wentges, 1975; Wilson y cols., 1965) que, bien

desde un punto de vista quirúrgico o angiográfico, estudian las variantes morfológicas normales o patológicas de la Arteria Maxilar Interna y/o algunas de sus ramas.

Es imperativo que el aumento de precisión quirúrgica, hecho posible por la introducción del microscopio, sea acompañado por un incremento de los conocimientos morfológicos, de forma precisa y exhaustiva, ya que el cirujano debe tener un cuidadoso conocimiento de la anatomía normal, antes de intentar tratar cualquier situación anormal.

Nuestro trabajo se centra en el estudio mesoscópico de la porción mandibular y pterigoidea de la Arteria Maxilar Interna, centrándonos en las variantes intrínsecas de ella y sus ramas, con el objeto de que pueda apoyar la actuación del cirujano de esta región.

Material y métodos

Nuestro estudio se ha realizado en 20 disecciones del segmento mandibular y pterigoideo de la Arteria Maxilar Interna, procedente de 10 cabezas de cadáveres adultos humanos fijados en formol al 10%.

Para el estudio mesoscópico contamos con un microscopio quirúrgico ZEISS OPMI 1, dotado del correspondiente equipo fotográfico; instrumental de microdissección; juego de barras metálicas calibradas y regla de material flexible para la medición de los calibres y longitudes arteriales.

En todos los casos se siguió la misma vía de abordaje, que consistió, sucesivamente, tras levantar el colgajo cutáneo, en la resección del arco cigomático por delante y por detrás de las inserciones del músculo Masetero, resección y posterior rebatimiento de la apófisis coronoides con las inserciones del músculo temporal, y resección del cuello y rama mandibular, con lo cual se mostró todo el curso de la Arteria Maxilar en la Fosa Infratemporal y Pterigopalatina. Una vez expuesta la zona, se procedió, con la ayuda del microscopio operatorio y del material de microdissección, a la disección del segmento mandibular y pterigoideo de la Arteria Maxilar Interna y de sus posibles ramas, precisándose el lugar de origen, calibre y posibles variaciones de cada uno de los vasos arteriales.

Resultados

Nuestros resultados quedan recogidos en las Tablas 1 y 2. En la Tabla nº 1 se indican relaciones topográficas que consideramos de interés, en el trayecto de la Maxilar Interna hacia su destino en la fosa pterigopalatina (altura de abordaje a la rama mandibular –distancia al cóndilo y ángulo de la mandíbula–, su relación en la travesía por el Ojal de Juvara, así como la frecuencia de presentación de la variedad superficial o profunda a lo largo del segmento pterigoideo), y de las variantes encontradas en relación al lugar de origen de las ramas arteriales, indicándose el segmento en que se originó (mandibular o pterigoideo), si fue directamente del tronco maxilar o de algunas de sus ramas, y la diversidad de origen de estas ramas formando troncos arteriales, indicándose en cada una de estas variantes el porcentaje en que se muestran.

En la Tabla nº 2 se especifica más detalladamente el trayecto de cada una de las ramas de la Maxilar Interna, indicándose su superficie de salida, distancia de ésta al lugar de origen de la Maxilar y diámetro (indicándose la media aritmética y el valor máximo y mínimo entre paréntesis), y las ramas que cada una de ellas, en su trayecto a su destino final de riego, proporcionaron a las estructuras vecinas, señalándose, en este caso, el número de ramas y la media aritmética del diámetro de las mismas.

Finalmente, en la Tabla nº 3 queda recogido el porcentaje en que encontramos las clásicas variedades, superficial o profunda, de la travesía de la Maxilar Interna a lo largo del músculo pterigoideo externo, junto con los resultados al respecto de otros autores encontrados en nuestra revisión bibliográfica.

TABLA nº 2

ARTERIAS	DISTANCIA ORIGEN M.I. (cm.)	SUPERFICIE SALIDA	DIAMETRO (mm)	RAMAS	%	Nº	Diam. mm
Auricular Prof.	1(3-Justo origen)	Lat. Int. 100% (M.I.) Posterior 92,3% (T.S.)	0,86 (1,2-0,6)	Art. Temp.-Mand. (Cara post.)	35	1-2	0,35
Timpánica Ant.	0,5 (1,4-Bifurca- ción C. Externa)	Medial 100%	0,82 (1,7-0,3)	Art. Témporo- Mandib. (C. Post. Int.)	75	1-2	0,4
Meníngea Media	V. Superf. 1,05 (1,3-0,7) V. Profunda 1,6 (2,3-1,1)	Medial 55% Superior 45%	1,85 (2,6-1,5)	Pterigoideas Art. Témporo- Mandibular	50 55	1-2 1-2	0,4 0,5
Meníngea Menor	2,1 (3,3-1)	Superior 45% Medial 55%	1,47 (2-1,3)	Pterigoideas Periastafilino Ext. Hueso esfenoides	100	1-3	0,4
Dentaria Inferior	1,1 (1,8-0,1)	Inferior 80% Lateral Ext. 20%	1,47 (2-0,7)	A. Nerv. Ling Milo-Hiloideo Pterigoides Ext. Pterigoides Int.	15 100 30 70	1 1 2-3 1-2	0,9 0,7 0,47 0,36
Arteria para Nervio Lingual	1,7 (3-0,9)	Inferior 100%	1,04 (2-0,7)	Pterigoides Ext. (Borde inf.)	50	1-3	0,6
Maseterina	V. Superf. 2,3 (3,4-1) V. Prof. 1,2 (1,3-1,2)	Superior 100%	1,36 (2-0,7)	Músculo Tem- poral (Cara Ext.)	95	1-2	0,8
Temporal Prof. Posterior	V. Superf. 2,3 (3,4-1) V. Prof. 1,2 (1,3-1,2)	Superior 100%	1,5 (2-0,7)	Cóndilo Max. Art. Témporo Mandibular Temp. Prof. Media	15 15 10	1 1 1	0,5 0,4 0,6
Temporal Prof. Anterior	4,1 (3,6-6,1) Distancia tubero- sidad Maxilar Superior 0,6 (1,1-0,2)	Superior 80% Lat. Ext. 20%	1,5 (2,1-1,1)	Temporal Prof. Media	5	1	1,0
Bucal	3,2 (2-4)	Inferior 55% Lat. Ext. 30% Anterior 15%	1,07 (1,6-0,7)	Pterigoideas	10	1	0,4
A. Articulares	1,1 (2-0,5)	Superior 100%	0,5 (1 0,1)	Articulación Témporo-Man- dibular	nº 1 nº 2 nº 3		36,36 36,36 27,27
Pterigoideas	Muy variable	Muy variable	0,6 (1,2-0,2)	Pterigoide Ext. e Int.	100	nº 3	a 13

TABLA nº 3

AUTOR	CASUISTICA (Núm.)	V. SUPERIOR %	V. PROFUNDA %
LONG (1981)	93	53,8	46,2
THOMSON (1891)	227	55,3	44,7
LAUBER (1901)	200	8,5	91,5
ADACHI (1928)	331	93,7	6,3
TOKARSHI (1931)	100	65,0	35,0
VOGLER (1936)	76	68,4	31,6
LURJE (1946)	200	67,5	32,5
WARDLASKER y cols. (1951)	Blancos y Negros Americ.	54,0 69,0	46,0 31,0
KRIZAA (1960)	200	66,0	34,0
SKOPAKOFF (1968)	180	69,44	30,56
LASHKEVICH (1969)	120	+ frecuente	
ALLEN y cols. (1974)		66,6	33,3
ESCOLAR (1981)	24	37,5	62,5
MONTES (1988)	20	45,0	55,0

Comentarios

Aunque los datos que nos han proporcionado las 20 disecciones realizadas sobre el segmento mandibular y pterigoideo de la Arteria Maxilar Interna, no tengan un interés estadístico por sí solos, consideramos que nos permiten, junto con la estadística existente, determinar algunas consideraciones propias sobre la variabilidad morfológica de dicha arteria.

Durante la primera porción o Mandibular, de gran interés quirúrgico (Hourtovle, 1956), la Arteria Maxilar Interna se mostró sinuosa, presentando prioritariamente dos curvas (50%), la primera de convexidad superior y la segunda de convexidad inferior, aunque en ocasiones fueron tres (45%), y en un caso cuatro sinuosidades. Durante su travesía por el Ojal de Juvara, la vena siempre fue algo medial e inferior a la arteria, salvo en tres ocasiones que llevaron un trayecto paralelo, no estando pues de acuerdo con Rouviere (1957) y Hourtovle (1956), que describen una relación inversa. Igualmente podemos destacar que un abordaje a la rama mandibular se situó a una distancia media de 3,6 cms. por encima del ángulo de la mandíbula, y a 1,7 cms. por debajo del cóndilo mandibular, datos que, si bien están de acuerdo con Rouviere (1957), contrastan algo con los de Allen y cols. (1973) y Escolar (1981), que describen un abordaje a nivel del cuello mandibular, y Hourtovle (1956), que describe este abordaje a nivel de la parte media de la rama mandibular. El trayecto de la Arteria Maxilar a lo largo de su segunda porción Pterigoidea, se mostró oblicuamente hacia adelante y arriba, pasando superficialmente al músculo (V. Superficial) en el 45% de nuestra casuística, y profundamente en el 55% de los casos (V. Profunda). Esta variante ha sido objeto de numerosos estudios (Tabla nº 3), y se ha relacionado a diferencias raciales (Skopakoff, 1968; Ward Lasker y cols., 1951), a diferencias en el índice cefálico (Krizan, 1960; Ward Lasker y cols., 1951), o a diferente lugar de origen de la Arteria Menínea Media (*A. Meningea Media*) (Dagradi y Pistolesi, 1966; Escolar, 1981; Krizan, 1960). Nosotros hemos observado este último hecho, ya que, en nuestra casuística, la variedad superficial se acompañaba de una emergencia, más cercana en la Maxilar Interna de la Arteria Menínea Media ya que, como puede observarse, la distancia más lejana de esta emergencia en la variedad superficial, es inferior al valor medio de esta variante en la forma profunda y, aunque no hemos encontrado casos en que dicha arteria proviniera de la arteria temporal superficial (*A. Temporalis Superficialis*) como ha descrito Escolar (1981), sí en un caso de nuestra casuística esta rama provenía de la cara posterior de la bifurcación de la carótida externa (*A. Carotis Externa*).

Otro hecho interesante en relación con esta variedad morfológica de la Arteria Maxilar es que, en nuestra casuística, siempre que ésta presentó un trayecto medial respecto al pterigoideo externo, a nivel del borde inferior o algo antes, surgió un grueso tronco arterial que, contorneando dicho borde, suministró las arterias temporal profunda posterior (*A. Temporalis Profunda Posterior*) y Maseterina (*R. Masseterica*), tronco que, a veces, también suministró la Arteria Dentaria Inferior (*A. Alveolaris Inferior*), pterigoideas (*Rami Pterygoidei*), arteria para el Nervio Lingual (*A. para N. Lingualis*) y arterias articulares de la Maxilar Interna para la articulación Témpero-Mandibular, surgiendo, pues, en este trayecto a lo largo de la cara profunda del músculo pterigoideo, sólo las arterias meníngeas, algunas ramas pterigoideas y en un caso la arteria Bucal (*A. Buccalis*).

En relación a las posibles ramas suministradas por la Arteria Maxilar a lo largo de estos dos segmentos (Tablas 1 y 2), podemos destacar:

- La Arteria Auricular profunda (*A. Auricularis Profunda*), primera rama del segmento mandibular (Allen y cols., 1973; Godlewski y cols., 1978; Gray, 1966; Kettunem, 1965; Newton, 1974; Salamon y cols., 1968; Takahashi, 1979; Wentges, 1975), o de la arteria temporal superficial (Godlewski y cols., 1978), en nuestra casuística surgió sólo en el 15% de la arteria maxilar, siendo en el porcentaje restante rama de la temporal superficial (65%) o estaba ausente (20%), observando nosotros, al igual que ya indicó Gray (1966) y Godlewski y cols., (1978), que esta arteria ayuda al riego de la articulación témpero-mandibular (35% de los casos), y que en sólo dos ocasiones formó tronco arterial en la arteria timpánica anterior (*A. Timpanica anterior*), hecho éste último que Gray (1966) da como frecuente.

- La A. Timpánica anterior constituyó, por la razón antes dada, la primera rama de la Maxilar Interna en la mayoría de nuestra casuística, destacando, como puede verse (Tabla nº 1), que en una ocasión y al igual que ya observó Godlewski y cols., (1978), fue rama de la arteria meníngea media, y que, si bien este autor la cita como arteria que de forma constante proporciona riego a la articulación témpero-mandibular por su cara póstero-interna, nosotros este hecho no lo observamos en el 25% de los casos.

- En relación a la Arteria Meníngea Media y aparte de las variantes antes citadas, podemos destacar que, de forma inconstante (55% de los casos) y como ya indicó Godlewski y cols. (1978), es otra de las ramas de la maxilar que ayuda al riego de la articulación témpero-mandibular. Sobre este último punto, podemos señalar que, además de la contribución que la arteria maxilar proporciona, por sus tres ramas antes citadas, a esta articulación, esta arteria y como ramas colaterales de ella, suministra en el 80% de nuestra casuística, 1 o 3 ramas de nutrición a la articulación témpero-mandibular.

- La Arteria Meníngea Menor (*Ramus Meningeus Accessorius*), como ya han citado otros autores, se presentó como una rama inconstante, por su lugar de origen (Maxilar Interna en el 55%; Meníngea Media en el 30%) y por su presentación (estaba ausente en el 15% de los casos), siendo sustituida en tres ocasiones por un pequeño número de ramas. Todos estos datos son similares a los hallados por Baumel y Beard (1961), al igual que el hecho de que su distribución es principalmente extracranial, lo que nos hace apoyar a autores como Allen y cols. (1973) y Baumel y Beard (1961), al decir que el nombre más apropiado para ésta sería el de arteria pterigo-meníngea.

- En relación a la Arteria Dentaria Inferior (Tablas 1 y 2), podemos destacar que, además de la ya clásicamente conocida rama milohioidea, así como algunas ramas pterigoideas, en un 15% de nuestra casuística y muy próximo a su origen en la maxilar, proporcionó una rama arterial para el nervio lingual, hecho éste que sólo cita Gray (1966) y Hourtovle (1956), encontrando además nosotros que esta arteria para el nervio lingual surgió directamente de la maxilar en el 80% de nuestros casos, siempre por delante del origen de la arteria dentaria inferior, faltando, pues, esta rama (con origen en la Maxilar Interna o en la Dentaria Inferior) sólo en una ocasión.

- La arteria maseterina siempre surgió formando tronco arterial con la temporal profunda posterior, cuyo origen, y al igual que ya observó Takahashi (1979), fue en la porción pterigoidea en la variedad superficial, y en la primera porción o mandibular en la variedad profunda. Surge en este caso, y como ya hemos citado antes, de un tronco arterial cuyo origen se sitúa a nivel del borde inferior del músculo pterigoideo, tronco que puede proporcionar, además, otras ramas arteriales (Tabla 1), y que en dos ocasiones surgió muy próximo al origen de la arteria maxilar, semejando a una bifurcación de dicha arteria.

Podemos destacar que, si bien sólo se citan como constantes en su lugar de salida a las arterias temporales profundas (Takahashi, 1979), en nuestro estudio esto es ampliable a la arteria maseterina, por el hecho antes señalado, y a la arteria bucal, siendo sin embargo muy variables las arterias pterigoideas en número (de 13 a 3 ar-

terias) y en lugar de origen, pues, tanto pueden surgir de la Maxilar Interna (primera o segunda porción), como de la Menígea Media, Menígea Menor, Dentaria Inferior y Bucal (Tabla 2).

Un último detalle en relación a las ramas musculares de la Arteria Maxilar Interna es el hecho de haber encontrado una arteria temporal profunda media como rama de la maxilar en tres ocasiones, de la temporal profunda posterior en dos, y de la temporal profunda anterior en una ocasión.

Finalmente, podemos destacar que, en el 15% y el 20% respectivamente, la Arteria Infraorbitaria (*A. Infraorbitalis*) y la Alveolar póstero-superior (*A. Alveolaris superior posterior*) surgieron como últimas ramas de la segunda porción pterigoidea de la arteria maxilar, encontrando nosotros que estas dos ramas surgieron formando un tronco común en el 35% de nuestros 20 casos, hecho éste que ya observaron otros autores (Allen y cols., 1973; Newton, 1974; Salamon y cols., 1968).

BIBLIOGRAFIA

- AARON, C.; DOYON, D. y RICHARD, J. (1966): Morphologie de la carotide externe et de ses branches à la lumière de l'artériographie. *Bull. Ass. Anat.*, **134**: 79-88.
- ALLEN, W.E.; KIER, E.I. y ROTHMAN, S.L.G. (1973): The maxillary artery: normal arteriographic anatomy. *Am. J. Roentgenol. Radium Ther. Nucl. Med.*, **118**: 517-527.
- ALLEN, W.E.; KIER, E.L. y ROTHMAN, S.L.G. (1974): The maxillary artery in craniofacial pathology. *Am. J. Roentgenol. Radium Ther. Nucl. Med.*, **121**: 124-138.
- BASTIDE, G.; BECUE, J. y COMBELLES, R. (1972): La vascularisation artérielle du maxillaire inférieur chez l'homme. *Bull. Ass. Ant.*, **154**: 951-955.
- BAUMEL, J.J. y BEARD, D.Y. (1961): The accessory meningeal artery of man. *J. Anat.* **95**: 386-402.
- CADENAT, H.; BARTHELEMY, R.; COMBELLES, R.; FABIE, M. y MANEAVA Mlle. M. (1972): Importance de la vascularisation mandibulaire en chirurgie maxillo-faciale. *Revue de Stomatologie*, **73**: 60-65.
- COMBELLES, R.; BECUE, J.; BASTIDE, G. y JUSKIEWENSKI, S. (1974): Vascularisation artérielle des maxillaires. *Bull. Anat.* **160**: 85-94.
- DAGRADI, A. y PISTOLESI, G.F. (1966): L'angiographie rétrograde de l'artère carotide externe par voie transtemporale. *Ann. Radiol.*, **9**: 603-615.
- DOYON, D.; MARKOVITS, P.; AARON, C.; SIMON, J.; RICHARD, J.; GASQUET, V. y PAUGAM, B. (1967): Etude radio-anatomique de la carotide externe. *J. Radiol. Electrol. Med. Nucl.*, **48**: 301-306.
- ESCOLAR CASTELLON, M.A. (1981): Variedades vasculo-nerviosas de cabeza y cuello referibles a la zona maxilo-faríngea. *An. Anat. (Zaragoza)*, **79**: 55-71.
- GODLEWSKI, G.; BOSSY, J.; GIRAUDON, M.; DUSSAUD, J.; PAVART, J.C. y LOPEZ, J.F. (1978): Contribution à l'étude de la vascularisation artérielle de l'articulation temporo-mandibulaire. *Bull. Ass. Anat.*, **117**: 229-236.
- GOLDEMBERG, R.A. (1984): Surgeon's view of the skullbase from the lateral approach. *Laryngoscope*, **94**: 1-21.
- GRAY, H. (1966): Anatomy of the human body. C.M. Goss, Edit. ed. 28, Philadelphia, Lea 8 Febiger. Philadelphia, 752-755.
- HOURTOVLE, F.G. (1956): Artère maxillaire interne. *Revue Française d'Odonto-stomatologie*. 883-892.
- KETTUNEM, K. (1965): Arteriographic visualisation of the alveolar (inferior dental) artery of the mandible. *Brit. J. Radiol.*, **38**: 599-601.
- KRIZAN, Z. (1960): Beitrage zur deskriptiven und topographischen Anatomie der A. Maxillaris. *Acta Anat.*, **41**: 319-333.
- LASHKEVICH, V.E. (1969): Topography of the maxillary artery. *Stomatologiya (Mosk)*, **4**: 38-41.
- LAUBER, M. (1901): Über einige Varietäten im Verlaufe der arteria maxillaris interna. *Anat. Anz.*, **19**: 444.
- LURJE, A. (1946): On the topographical anatomy of the internal maxillary artery. *Acta Anat.*, **2**: 219.
- NEWTON, T.H. (1974): Radiology of the skull and brain angiographic. The C.U. Mosby Company. San Luis, 1262-1332.
- NEWTON, T.H. y KRAMER, R.A. (1966): Clinical uses of selective external carotid arteriography. *Am. J. Roentgenol. Radium Ther. Nucl. Med.*, **97**: 458-472.
- PEARSON, B.W.; MACKENZIE, R.G. y GOODMAN, W.S. (1969): The anatomical basis of transantral ligation of the maxillary artery in severe epistaxis. *Laryngoscope*, **79**: 969-984.
- PRIBRAH, H.F.W. (1966): Selective catheterization of the external carotid artery. *Radiology*, **87**: 315-320.
- RABISCHONG, P.; GUERRIER, Y.; VIGNAUD, J.; TRASERRA, J. y TOLOSA, F. (1981): Anatomical bases for the surgical access to the pterygopalatine fossa. *Anat. Clin.* **2**: 209-222.
- ROUVIERE, H. (1957): Anatomía humana descriptiva y topográfica. Vol. 1, 185-188, Edit. Bailly-Baillière. Madrid.

- SALAMON, G.; GUERINEL, G. y DEMARD, F. (1968): Etude radio-anatomique de l'artère carotide externe. *Ann. Radiol.*, **11**: 199-215.
- SKOPAKOFF, C. (1968): Über die Variabilität im Verlauf der A. Maxillaris. *Anat. Anz.* **123/5**: 534-546.
- TAKAHASHI, M. (1979): Atlas de angiografía carotídea. Edit. Científico-Médica. Barcelona, 18-21.
- TOKARSHI, SC. (1931): Les variations de l'artère maxillaire interne chez l'homme expliquées par les variations chez les primates. *C.R. Ass. Anat.*, **26**: 507.
- WARD KASKER, G.; LLOYD OPDYKE, D. y MILLER, H. (1951): The position of the internal maxillary artery and its questionable relation to the cephalic index. *Anat. Rec.* **9/1**: 119-126.
- WENTGES, R.T. (1975): Surgical anatomy of the pterygopalatine fossa. *J. Laryng.* **89/1**: 35-45.
- WILSON, G.; WEIDNER, W. y HANAFEE, W. (1965): The demonstration and diagnosis of meningiomas by selective carotid angiography. *Am. J. Roentgenol. Radium. Ther. Nucl. Med.*, **95**: 868-873.

Correspondencia: Carmen de Montes Meana
 Dpto. de Ciencias Morfológicas
 Facultad de Medicina de Sevilla
 Avda. Sánchez Pijuán, 4
 Sevilla. España

LEYENDA COMUN

- | | |
|---------------------------------------|---|
| 1.- A. Articulares tèmpero-mandibular | 10.- A. Timpánica anterior |
| 2.- A. Auricular profunda | 11.- Cuello del maxilar inferior |
| 3.- A. Dentaria inferior | 12.- Músculo Pterigoideo ext. |
| 4.- A. Maxilar Interna | 13.- Nervio Dentario Inferior |
| 5.- A. Meníngea Media | 14.- Nervio Lingual |
| 6.- A. Meníngea Menor | 15.- Tronco tèmpero-maseterino-dent. inf. |
| 7.- A. para el N. Lingual | 16.- Idem anterior - lingual-pterigoideo |
| 8.- A. Pterigoidea | 17.- Idem 15.- pterigoideo |
| 9.- A. temporal superficial | |

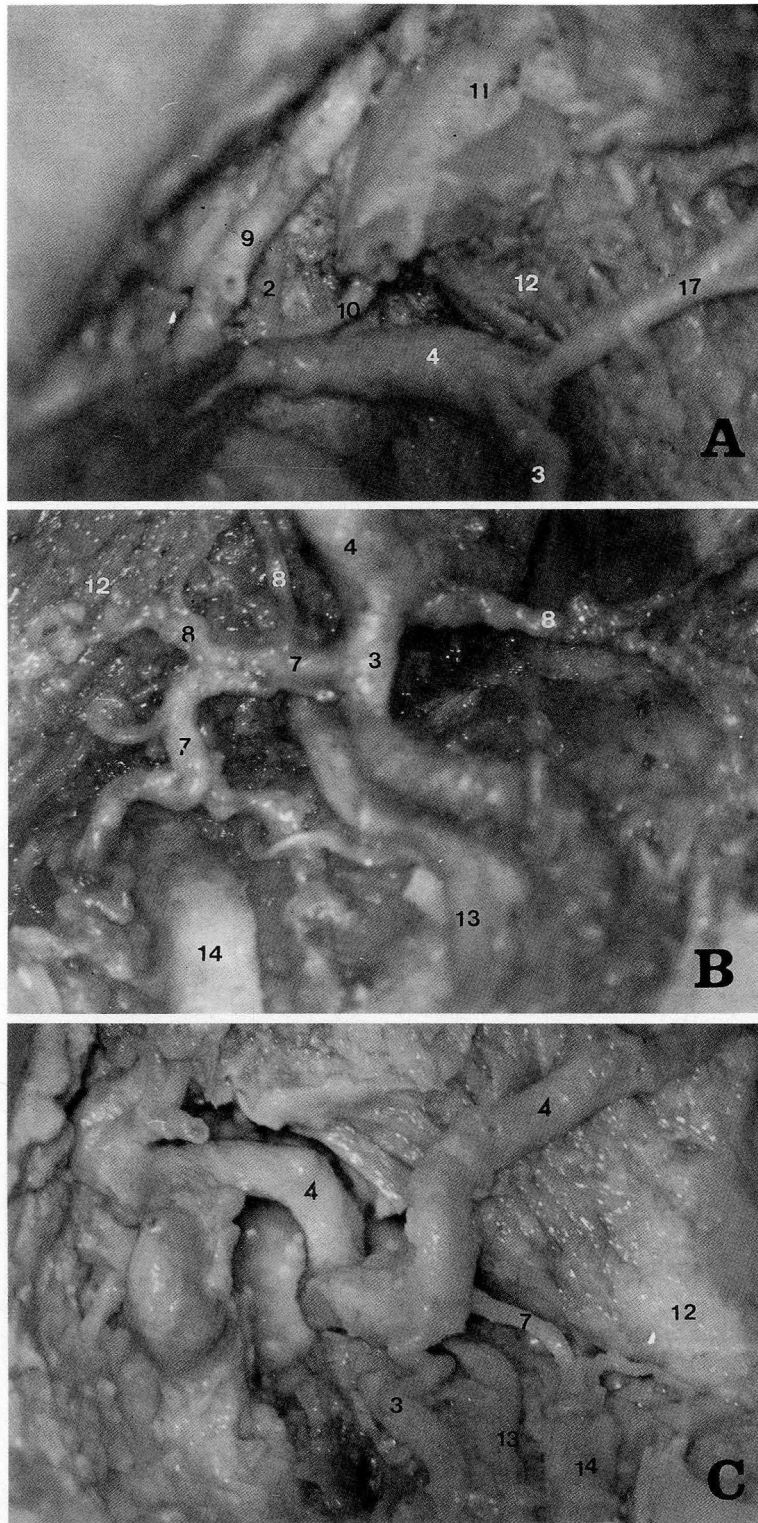


FIGURA 1. A: A. Maxilar Interna rechazada para ver tronco auricular profundo-timpánico anterior.- B: A. Dentaria Inferior dando la arteria para el nervio lingual.- C: A. Maxilar Interna, 1ª porción, suministrando A. Dentaria Inferior y A. para el Nervio Lingual.

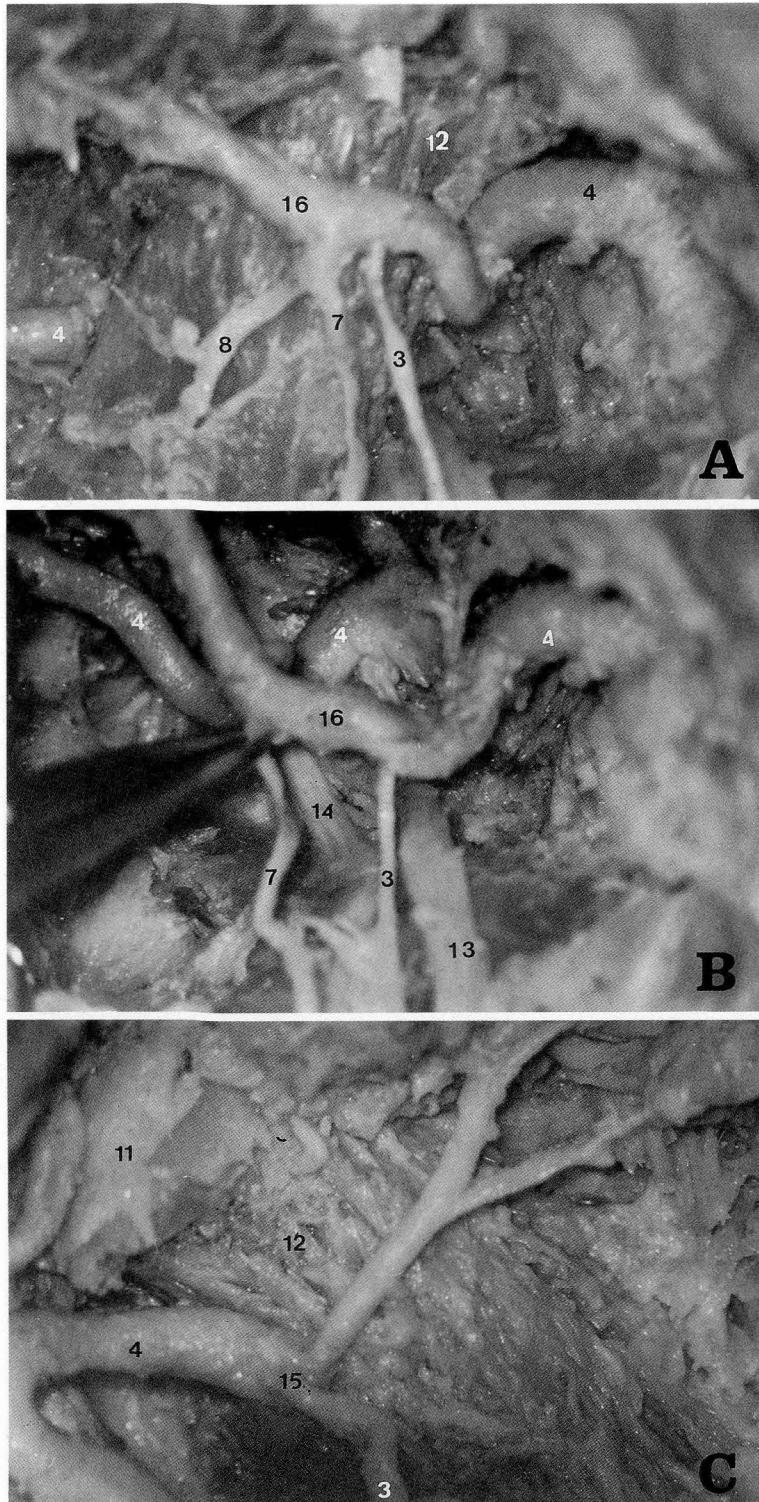


FIGURA 2. A: A. Maxilar Interna (V. profunda), suministrando el tronco témporo-maseterino-dentario inf. -pterigoideo -A. para el Nervio Lingual.- B: El mismo caso que 2A después de haber quitado el músculo pterigoideo ext. Se ve al fondo la A. Maxilar Int. y sobre ella el anterior tronco arterial.- C: A. Maxilar Interna proporcionando el T. témporo-maseterino-dentario inf.

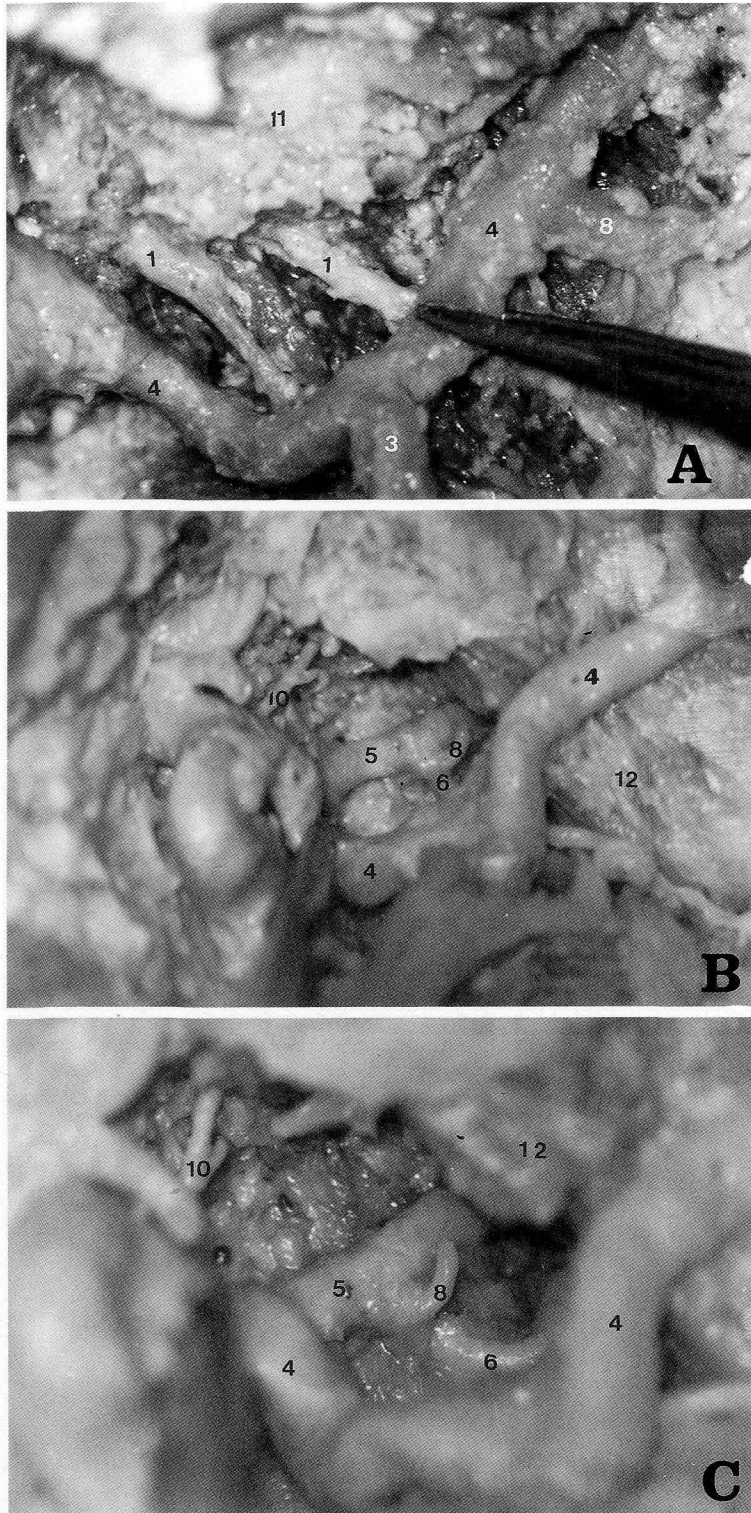


FIGURA 3. A: A. Maxilar Interna dando dos arterias articulares para la Art. témporo-mandibular.- B: A. Maxilar Interna (V. superficial); se ve el origen temprano de la A. Meníngea media, dando ésta a su vez la A. Meníngea Menor.- C: Igual que 3B pero a mayor aumento.

CEFALOMETRIA INFANTIL. ESTUDIO TRANSVERSAL EN HEMBRAS (II)

CEPHALOMETRY IN INFANTS. A TRANSVERSE STUDY IN YOUNG FEMALES (II)

J.L. NIETO, A. LATRE y N. TAJADA

Departamento de Ciencias Morfológicas. Facultad de Medicina.
Universidad de Zaragoza

RESUMEN

Presentamos un modelo cefalométrico infantil para hembras de 4 a 14 años, que incluye la determinación, mediante metodología transversal, de 21 parámetros antropológicos (diámetros e índices), en una muestra de 4.513 niñas, todas ellas aragonesas y medidas entre noviembre de 1984 y octubre de 1985, según la técnica antropológica descrita por Olivier. Se han calculado percentiles para cada uno de los diámetros estudiados.

PALABRAS CLAVE: Cefalometría. Infantil.

SUMMARY

Presentation of a cephalometric study of young females, ages 4-14 years. The study employed a transverse analysis of the population. Studied were the longitude and maximum width of the head, its height width of the forehead, height and width of the face, the bigonial width and the orbital and orbitary longitudes. Also included were the nasal longitude, width and prominence.

KEY WORDS: Cephalometry. Infant.

Introducción

El crecimiento infantil refleja una continua modificación de sus modelos, precisando la necesidad de una actualización constante de los valores métricos de cada una de las poblaciones humanas, para adaptarlos a los ritmos particulares de desarrollo somático y cefálico de cada uno de sus grupos más representativos.

Estos modelos antropológicos han propiciado la existencia de una abundante bibliografía antropológica. Sin embargo, las investigaciones biométricas dedicadas al desarrollo cefálico y facial de las poblaciones infantiles resultan todavía insuficientes. Este ha sido el motivo de establecer un modelo de estas características para la población actual española.

Material y métodos

Este modelo cefalométrico infantil que presentamos para hembras de 4 a 14 años, resulta complementario de otro realizado simultáneamente en varones e incluye el estudio transversal de 21 parámetros antropológicos en una muestra de 3.785 niñas aragonesas de acuerdo con la técnica antropológica de Olivier. En cada una de estas niñas se ha determinado los siguientes parámetros: longitud y anchura máxima de la cabeza, altura cefálica o auricular, altura morfológica de la cara, y anchura bicigomática, anchura frontal mínima, anchura bigoniaca, anchura, altura y prominencia nasal, longitud biorbitaria y anchura orbitaria.

A partir de estas medidas absolutas, se han calculado los límites cefalométricos siguientes: cefálico, altura-longitud, altura-anchura, facial, cefalofacial, frontocigomático, goniocigomático, nasal y frontoparietal.

Los datos recogidos en la investigación han sido procesados en un ordenador VAS 11/780, de 8 Mb. de memoria central y tratados con el paquete estadístico SPSS. En este trabajo se presentan los resultados correspondientes a la muestra de hembras.

Resultados y discusión

Valores del neurocráneo (Tabla 1). Los diámetros cefálicos femeninos anteroposterior y transversal son, a estas edades, unos 3 mm. más pequeños que los masculinos. La altura cefálica o auricular, también es inferior en las hembras, con diferencias que varían según la edad considerada. Sólo a los 12 años, coincidiendo con el incremento general de los parámetros femeninos, disminuyen las diferencias entre los diámetros cefálicos de ambos sexos. Durante el periodo estudiado (4-14 años), los incrementos de longitud, anchura y altura cefálica son similares en varones y hembras, lo que sugiere que las diferencias absolutas observadas ya están establecidas en los primeros años de vida. Proporcionalmente estas cabezas femeninas son también mesocéfalas, hipsicéfalas y acrocéfalas.

Valores del esplacnocráneo (Tabla 3). La cara infantil es más estrecha y alargada en los varones que en las hembras. Los promedios femeninos de altura facial se mantienen entre los 1,5 y 2 mm. por debajo de los masculinos. En el caso de la anchura de la cara o bicigomática, las diferencias no alcanzan el milímetro de longitud. En general los incrementos de altura y anchura facial son muy parecidos para ambos sexos. Sin embargo, el periodo de máximo crecimiento anual es más precoz en las hembras (10-11 años) que en los varones (12-13 años).

Proporcionalmente la frente (índices frontoparietal y frontocigomático) y mandíbula femenina (índice goniocigomático) son más anchas que las masculinas. Los valores absolutos, sin embargo, casi siempre son menores.

Valores nasales y orbitarios (Tabla 2). La altura y anchura nasal de la población infantil femenina es inferior a la masculina. A partir de los 10 años los incrementos anuales son más acusados en los varones que en las hembras, lo que acentúa la leptorrinia de la nariz femenina.

La altura orbitaria tiene la peculiaridad de ser mayor en las hembras que en los varones. La anchura, por el contrario, es más pequeña en las hembras. Hasta los 13 años, la proporcionalidad entre las longitudes biorbitaria y bicigomática apenas varía entre los varones y las hembras.

BIBLIOGRAFIA

- BAKONYI, M. y MOESCHLER, P. (1980): "A multivariate approach to the morphology of a population of children in Geneva aged from 4 to 19 1/2 years". *Anthropol. Kozl.* **24/1-2**: 9-14.
- CAMERON, N. (1980): "Conditional standars for growth in height of British children from 5.0 to 15.99 years of age". *Ann. Hum. Biol.* **7/4**: 331-337.

- DEKABAN, A.S. (1977): "Tables of cranial and orbital measurements, cranial volume and derived indexes in males and females from 7 days to 20 years". *Ann. Neurol.* **2/6**: 485-491.
- EIBEN, O.; PANTO, E.; BODZSAR, E. y MARKOS, T. (1979): "Cross-sectional growth study of the 4-18 year old boys and girls of Eger". (Hungarian). *Anthropol. Kozl.* **22/1-2**: 47-46.
- KARAPETROV, G. (1972): "Croissance de la tête, suivie chez 94 garçons de leur 8ème a leur 22ème année". *Folia Med.* **14/1**: 11-19.
- KNOTT, V.B. y MEREDITH, H.V. (1963): "Body size of United States schoolboys at ages from 11 years to 15 years". *Hum. Biol.* **35/4**: 507-513.
- LATRE, A.F. (1987): "Contribución a la cefalometría y somatometría infantil. Estudio transversal de la población aragonesa". Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza.
- NIETO, J.L.; LATRE, A.; TAJADA, N.: "Cefalometría infantil. Estudio transversal en varones. (I)". *An. Anat.* **XXXIV/90**: 75-82.
- MEREDITH, H.V. (1971): "Human head circumference from birth to early adulthood. Racial, regional and sex comparisons". *Growth* **35/3**: 233-251.
- MIKLASHESKAYA, N.N. (1969): "Growth of the head and face in boys of various ethnic groups the U.R.S.S.". *Human Biol.* **38**: 231-250.
- OLIVIER, G. (1965): "Anatomie anthropologique". Vigot Frères. París.

Correspondencia: Dr. J.L. Nieto Amada
Dpto. Ciencias Morfológicas
Facultad de Medicina.
c/ Domingo Miral, s/n
50009 - Zaragoza (España)

TABLA 1

EDAD	Nº	LONGITUD MAXIMA	ANCHURA MAXIMA	ALTURA AURICULAR	ANCHURA FRONTAL <i>min.</i>	IND. CEFALICO	IND. CEFALO-FAC.	IND. FRONTO-CIGO.	IND. ALT.-LONG.	IND. ALT.-ANCH.
4	316	169,8 ± 5,5	133,4 ± 4,3	115,5 ± 4,6	93,1 ± 3,9	78,5 ± 3,2	82,3 ± 3,2	84,8 ± 2,6	68,0 ± 2,6	86,7 ± 3,7
5	402	171,9 ± 5,6	135,0 ± 5,0	117,0 ± 4,9	95,0 ± 3,9	78,6 ± 3,4	83,1 ± 3,0	84,7 ± 2,5	68,0 ± 2,6	86,7 ± 4,0
6	330	173,5 ± 5,9	136,2 ± 4,7	117,3 ± 4,7	96,7 ± 3,7	78,5 ± 3,3	84,0 ± 2,9	84,5 ± 2,5	67,5 ± 2,7	86,1 ± 3,7
7	351	174,6 ± 5,6	137,2 ± 4,8	118,5 ± 5,2	98,1 ± 3,8	78,6 ± 3,3	85,2 ± 2,7	83,9 ± 2,4	67,8 ± 3,0	86,4 ± 4,1
8	329	176,2 ± 5,7	138,5 ± 4,8	119,1 ± 5,1	99,8 ± 3,6	78,6 ± 3,3	86,0 ± 2,5	83,8 ± 2,3	67,6 ± 2,9	86,1 ± 3,7
9	352	176,8 ± 5,6	138,6 ± 4,9	119,5 ± 5,1	100,3 ± 3,8	78,4 ± 3,4	86,7 ± 2,7	83,5 ± 2,4	67,6 ± 2,9	86,2 ± 3,8
10	387	178,7 ± 5,4	140,1 ± 4,6	119,9 ± 4,9	101,4 ± 3,7	78,4 ± 3,1	87,2 ± 2,8	83,1 ± 2,5	67,1 ± 2,6	85,6 ± 3,5
11	365	179,7 ± 5,6	141,8 ± 4,9	121,3 ± 5,0	103,1 ± 3,7	78,9 ± 3,3	87,5 ± 2,6	82,8 ± 2,2	67,5 ± 2,8	85,6 ± 3,6
12	341	180,8 ± 5,9	143,5 ± 5,2	122,2 ± 5,1	104,6 ± 3,7	79,4 ± 3,5	88,3 ± 2,9	82,5 ± 2,2	67,6 ± 2,8	85,2 ± 4,0
13	360	181,2 ± 5,5	143,9 ± 4,9	123,2 ± 5,8	105,3 ± 3,9	79,5 ± 3,4	88,7 ± 2,8	82,5 ± 2,4	68,0 ± 3,0	85,6 ± 4,0
14	252	182,2 ± 5,5	144,5 ± 4,8	123,1 ± 5,4	106,1 ± 3,8	79,3 ± 3,2	89,2 ± 2,6	82,3 ± 2,4	67,5 ± 2,9	85,1 ± 3,7

TABLA 2

EDAD	Nº	LONGITUD BIORBITARIA	ANCHURA ORBITARIA	ANCHURA NASAL	ALTURA NASAL	PROMINENCIA NASAL	INDICE NASAL
4	316	86,9 ± 3,4	30,6 ± 1,6	25,4 ± 1,6	33,6 ± 2,4	15,0 ± 1,4	75,8 ± 6,7
5	402	88,5 ± 3,8	31,1 ± 1,7	25,9 ± 1,7	35,0 ± 2,4	15,8 ± 1,3	74,3 ± 6,6
6	330	89,4 ± 3,6	31,6 ± 1,7	26,5 ± 1,7	36,5 ± 2,7	15,9 ± 1,5	72,8 ± 6,6
7	351	90,8 ± 3,8	32,4 ± 1,5	26,8 ± 1,8	37,7 ± 2,8	16,3 ± 1,5	71,2 ± 6,6
8	329	92,6 ± 3,7	32,9 ± 1,5	27,1 ± 1,8	38,5 ± 2,5	17,0 ± 1,5	70,6 ± 6,3
9	352	92,8 ± 3,6	33,2 ± 1,5	27,4 ± 1,9	39,4 ± 2,5	17,3 ± 1,7	69,8 ± 6,2
10	387	94,1 ± 3,9	33,5 ± 1,7	27,9 ± 1,8	40,4 ± 2,9	17,7 ± 1,4	69,1 ± 6,0
11	365	95,9 ± 4,0	34,1 ± 1,7	28,4 ± 2,0	41,5 ± 2,9	18,7 ± 2,0	68,9 ± 6,7
12	341	97,0 ± 3,9	34,6 ± 1,6	29,2 ± 2,3	42,5 ± 2,8	19,1 ± 1,9	69,0 ± 6,7
13	360	97,7 ± 4,0	34,9 ± 1,7	29,4 ± 2,0	43,4 ± 2,8	19,5 ± 1,9	67,9 ± 6,4
14	252	98,0 ± 4,0	35,3 ± 1,8	29,6 ± 2,1	43,6 ± 2,9	19,8 ± 2,0	68,0 ± 6,3

TABLA 3

EDAD	Nº	ALTURA MORFOL. CARA	ANCHURA BICIGOMATICA	ANCHURA BIGONIACA	IND. GONIOCIOMA.	IND. FACIAL
4	316	88,6 ± 3,7	109,8 ± 4,6	92,0 ± 4,3	83,8 ± 2,7	80,8 ± 4,0
5	402	91,6 ± 3,7	112,2 ± 4,5	93,9 ± 3,9	83,7 ± 2,3	81,7 ± 3,7
6	330	93,7 ± 3,7	114,5 ± 4,4	95,6 ± 4,3	83,4 ± 2,6	81,9 ± 3,6
7	351	95,9 ± 3,8	116,9 ± 4,7	97,6 ± 4,2	83,5 ± 2,3	82,1 ± 3,7
8	329	97,5 ± 3,8	119,0 ± 4,1	99,3 ± 4,0	83,3 ± 2,3	81,9 ± 3,7
9	352	99,6 ± 4,2	120,2 ± 4,6	99,6 ± 4,4	82,9 ± 2,5	82,9 ± 3,8
10	387	101,3 ± 4,7	122,1 ± 4,9	100,6 ± 4,3	82,4 ± 2,7	83,0 ± 4,4
11	365	103,8 ± 5,1	124,5 ± 4,5	101,3 ± 4,4	81,3 ± 2,3	83,4 ± 4,2
12	341	105,4 ± 4,8	126,7 ± 4,4	102,4 ± 4,1	80,8 ± 2,3	83,2 ± 3,8
13	360	107,7 ± 4,6	127,7 ± 5,0	103,2 ± 4,4	80,8 ± 2,6	84,3 ± 4,3
14	252	107,9 ± 4,7	128,9 ± 4,4	104,0 ± 4,3	80,5 ± 2,3	83,7 ± 4,1

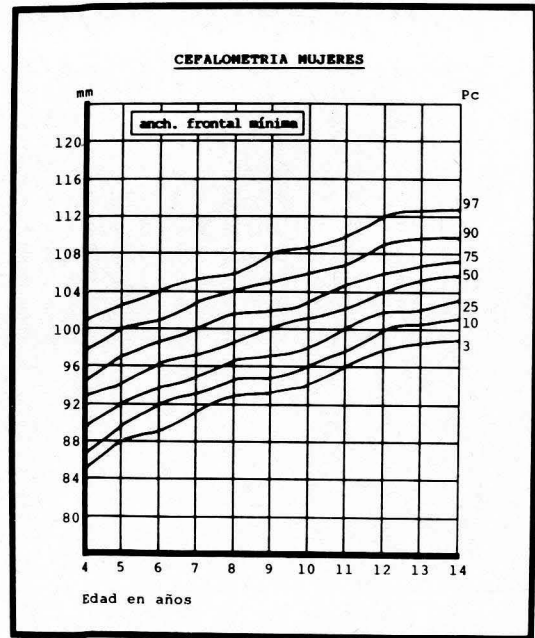
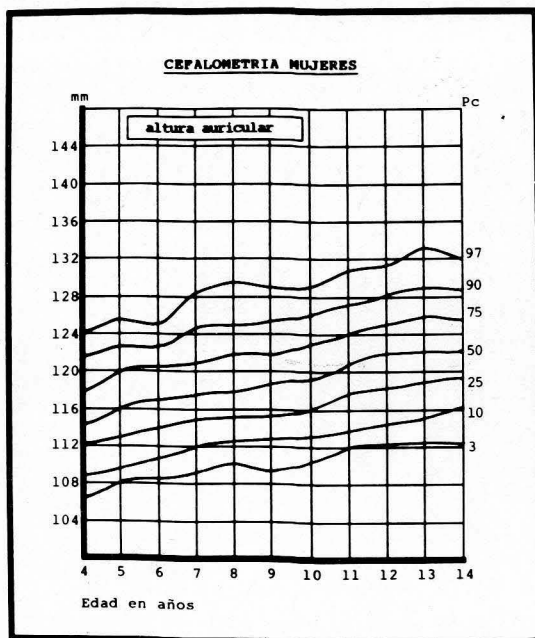
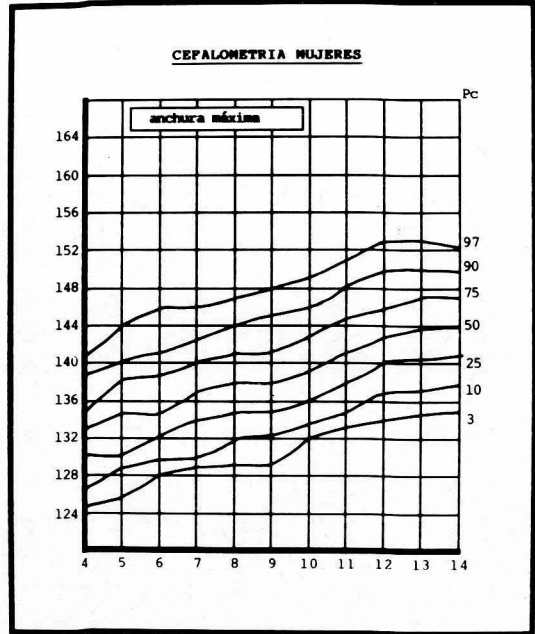
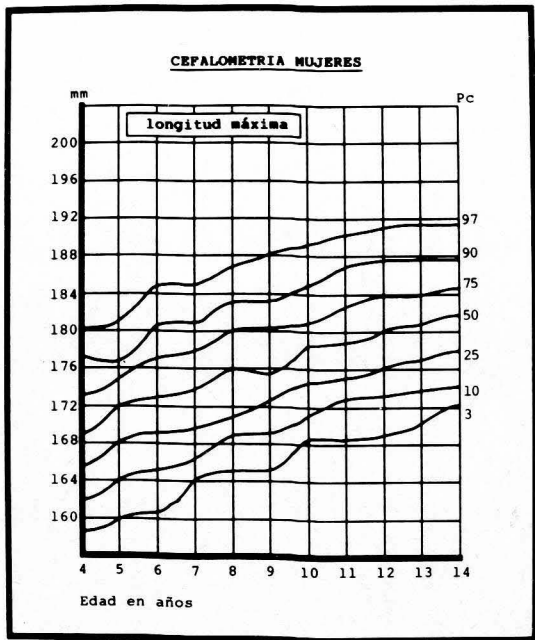


FIGURA 1a. Percentiles cefalométricos para niñas españolas. Longitud y anchura máxima de la cabeza, altura auricular y anchura frontal mínima.

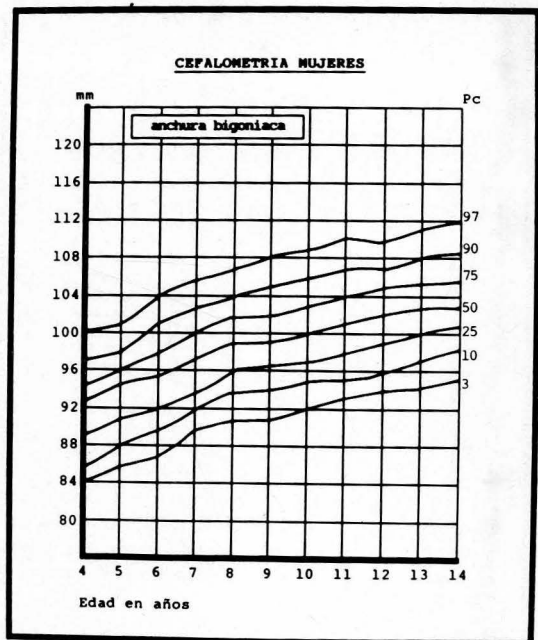
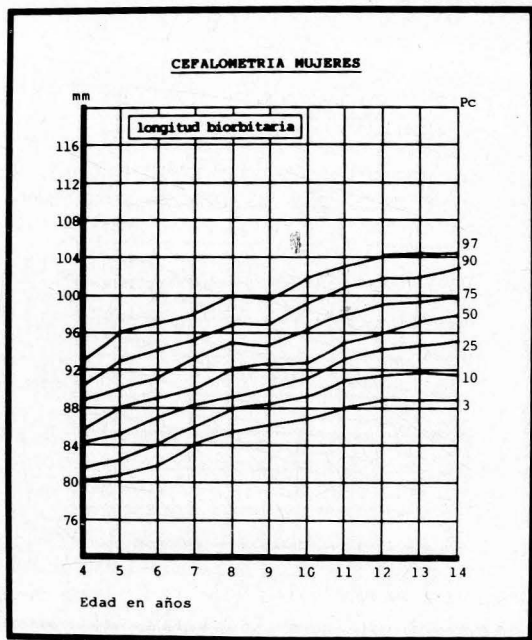
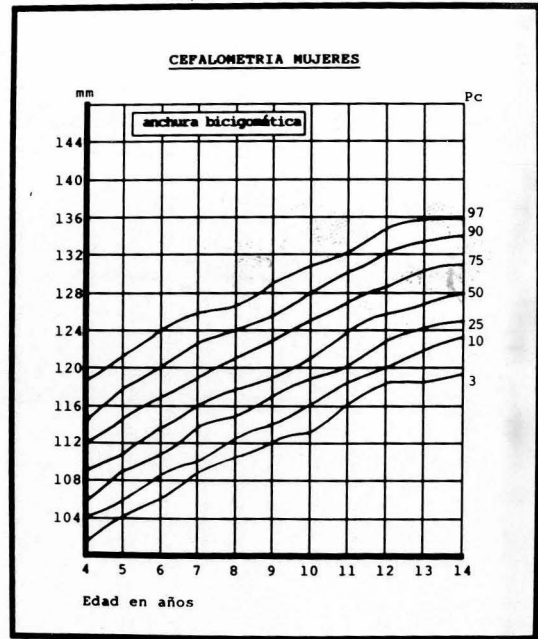
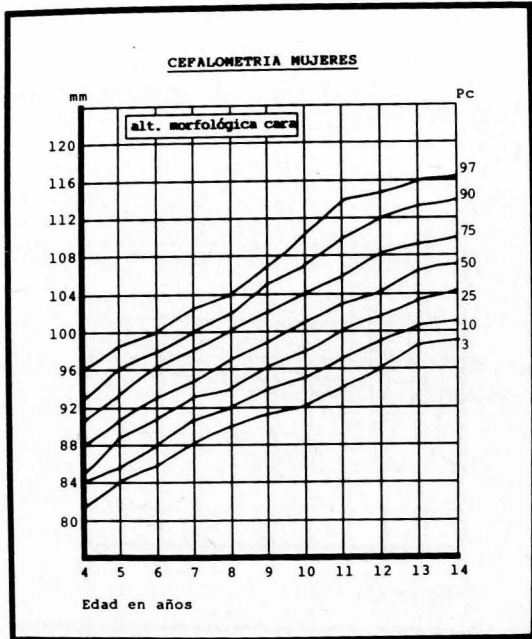


FIGURA 1b. Percentiles cefalométricos para niñas españolas. Altura morfológica de la cara, anchura bicigomática, longitud biorbitaria y anchura bigoniaca.

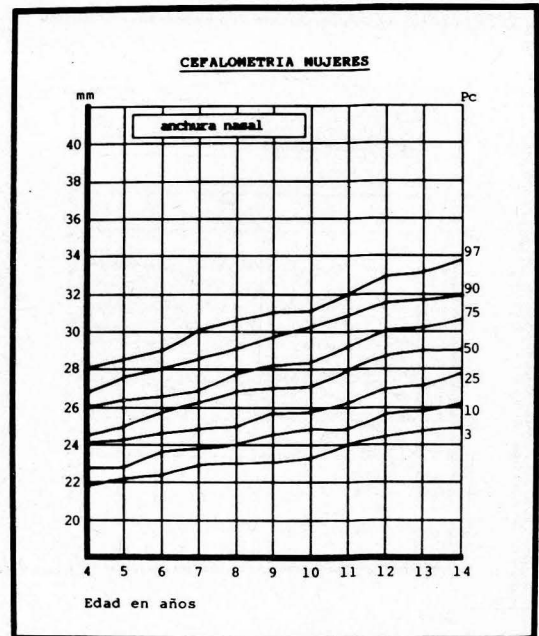
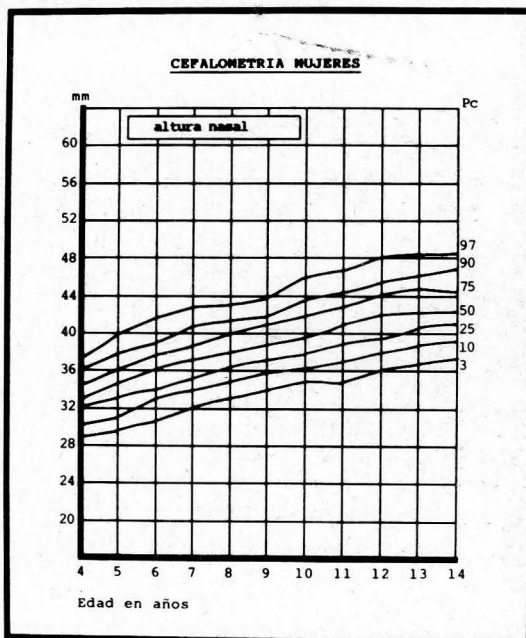
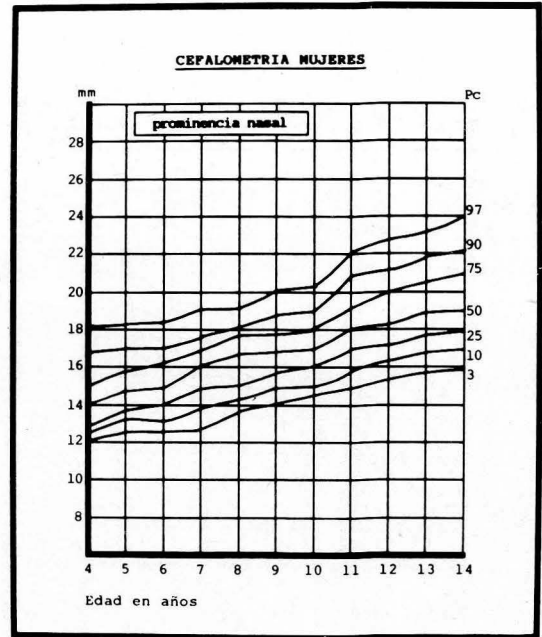
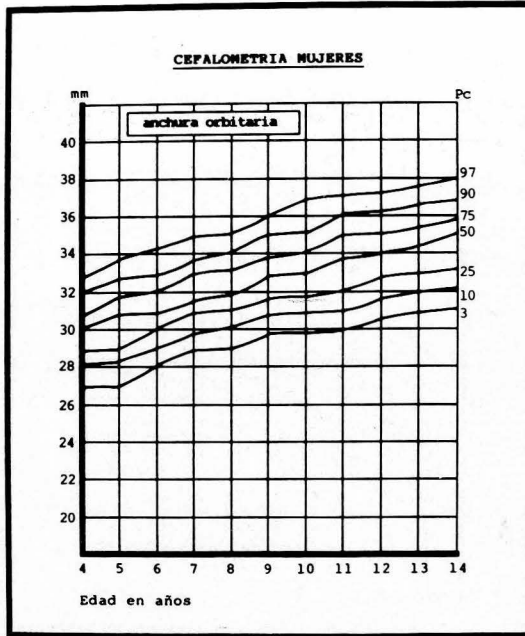


FIGURA 1c. Percentiles cefalométricos para niñas españolas. Anchura orbitaria, prominencia, altura y anchura nasal.

ULTRAESTRUCTURA DEL NUCLEO SUPRAQUIASMÁTICO DEL HIPOTÁLAMO DE GATO. ESTUDIO PRELIMINAR

ULTRASTRUCTURE OF THE SUPRACHIASMATIC NUCLEUS OF THE CAT HYPOTHALAMUS. A PRELIMINARY STUDY

F.E. PASTOR, M.B. GOMEZ ESTEBAN, J.L. BLAZQUEZ, D. TORANZO,
A.J. ALVAREZ-MORUJO, L. MUÑOZ BARRAGAN y P. AMAT

Departamento de Ciencias Morfológicas, Biología Celular y Anatomía Patológica y Departamento de Investigación y Microscopía Electrónica. Hospital Clínico Universitario. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca

RESUMEN

Se ha realizado un estudio ultraestructural del núcleo supraquiasmático del hipotálamo de gato. Las neuronas tienen un diámetro comprendido entre 12 y 16 μm y se hallan próximas entre sí, aunque no se observan contactos directos somatosomáticos. El núcleo celular es grande, de contorno irregular y suele mostrar un nucléolo. En el pericarion abundan los ribosomas libres, pero el retículo endoplásmico rugoso es escaso. El aparato de Golgi está bien desarrollado. Se han observado vesículas de centro denso de un tamaño de 75-100 nm. Menos frecuentemente se encuentran gránulos de 100-180 nm. Ocasionalmente se ha observado la presencia de neuronas ciliadas. En el neuropilo abundan las fibras amielínicas y existen algunas fibras mielínicas. Son muy numerosas las prolongaciones filamentosas de células gliales. Las sinapsis son axosomáticas y axodendríticas, tanto de tipo simétrico como asimétrico. Las células gliales son principalmente astrocitos fibrosos y su número no es muy abundante. Su citoplasma es muy rico en orgánulos. Los capilares son escasos en el territorio del núcleo supraquiasmático y tienen un endotelio continuo.

PALABRAS CLAVE: Núcleo supraquiasmático. Hipotálamo. Gato. Ultraestructura. Neuronas ciliadas.

SUMMARY

An ultrastructural study of the suprachiasmatic nucleus of the cat hypothalamus was carried out. The neurons were found to have a diameter between 12 and 16 μm and were close to each other although no direct somatosomatic contacts were observed. The cell nucleus is large, with an irregular outline and usually exhibits a nucleolus. The perikaryon shows abundant free ribosomes, but with scanty rough endoplasmic reticulum. The Golgi complex is well developed. Dense cored vesicles were observed with a size of between 75-100 nm. Less frequently granules of 100-180 nm can be seen. An occasional finding was the presence of ciliated neurons. The neuropil shows abundant amyelinic nerve fibers accompanied by some myelinated axons. The filamentous processes of glial cells are extremely abundant. The synapses are axosomatic and axodendritic, both of symmetric and asymmetric type. The glial cells are mainly fibrous astrocytes and are not abundant. Their cytoplasm is rich in organelles. Capillaries are scanty in the territory of the suprachiasmatic nucleus and they exhibit a continuous endothelium.

KEY WORDS: Suprachiasmatic nucleus. Hypothalamus. Cat. Ultrastructure. Ciliated neurons.

Introducción

El núcleo supraquiasmático (NSQ) es una agrupación neuronal hipotalámica, situada inmediatamente dorsal al quiasma óptico y en la vecindad de la porción ventral del tercer ventrículo, que ha sido relacionada con la génesis y control de los ritmos circadianos (véase Rusak y Zucker, 1979; Moore, 1982, 1983; Turek, 1985), habiéndose comprobado que las neuronas del NSQ muestran un ritmo circadiano en su actividad tanto eléctrica como metabólica (véase Kurumiya y Kawamura, 1988; Shibata y Moore, 1988). Este núcleo recibe información visual directamente desde la retina, a través del haz retino-hipotalámico (Hendrickson y col., 1972; Moore y Lenn, 1972; Moore, 1973), e indirectamente desde los núcleos talámicos visuales, mediante las fibras del tracto genículo-supraquiasmático, que contienen neuropéptido Y (Swanson y col., 1974; Card y Moore, 1982; Ueda y col., 1986; Harrington y col., 1987; Ibata y col., 1988); la información visual sobre las modificaciones luminosas medioambientales constituye el principal estímulo para la sincronización de los ritmos circadianos. Asimismo, el NSQ es uno de los lugares del cerebro que reciben una más amplia inervación serotoninérgica originada principalmente en diferentes núcleos del rafe mesencefálico (véase Pickard, 1982; Bosler y Beaudet, 1985). También recibe aferencias de otros territorios hipotalámicos y extrahipotalámicos (véase Pickard, 1982).

Mediante técnicas inmunohistoquímicas, se ha puesto de manifiesto la existencia en las neuronas del NSQ de diferentes neuropéptidos, tales como vasopresina, angiotensina II, sustancia P, somatostatina, VIP, CRF, péptido histidina-isoleucina, bombesina/GRP, neurotensina y TRH (para referencias véase Kawakami y col., 1985; Van den Pol y Tsujimoto, 1985; Guy y col., 1987; Ishikawa y Fromman, 1987; Watts y Swanson, 1987). Mediante la técnica de hibridización se ha comprobado que el péptido histidina-isoleucina y el VIP se localizan en las mismas neuronas (Card y col., 1988).

Se ha descrito la existencia de una precisa localización regional de las neuronas que sintetizan los distintos neuropéptidos dentro del NSQ. Esta distribución topográfica se mantiene en los núcleos de fetos transplantados a cerebros de animales adultos; al menos esto ocurre con vasopresina y VIP (Wiegand y Gash, 1988). Curiosamente, en estos casos las neuronas del NSQ establecen proyecciones eferentes idénticas a las de los animales intactos (Wiegand y Gash, 1988).

Pese al gran número de publicaciones sobre el NSQ empleando técnicas inmunocitoquímicas, los estudios ultraestructurales no son muy abundantes. Se han estudiado las características ultraestructurales del NSQ en rata (Suburo y Pellegrino de Iraldi, 1969; Senchik y col., 1978; Van den Pol, 1980), ratón (Wenisch, 1976; Senchik y col., 1978) y conejo (Clattenburg, 1972, 1975). En el presente trabajo se describen las características ultraestructurales del NSQ del hipotálamo de gato, especie sobre la que no hemos encontrado estudios de este tipo en la literatura.

Material y métodos

Para nuestro estudio hemos utilizado diez gatos machos adultos, con un peso comprendido entre 2.700 y 4.200 gramos. El sacrificio de los animales se realizó, previa anestesia con tiopental sódico (50 mg/Kg peso) por vía intraperitoneal, mediante perfusión a través del ventrículo izquierdo de una solución fijadora de glutaraldehído al 5% en tampón fosfato 0.1 M, pH 7.4, a 4° C, precedida por un ligero lavado del árbol vascular con una solución de cloruro sódico 0.15 M. Tras la perfusión se obtuvo el bloque hipotálamo-hipofisario, que fue tallado en planos frontales. Las piezas de tejido en que se localiza el NSQ permanecieron en la solución fijadora por un periodo de 12 horas. A continuación fueron postfijadas en tetraóxido de osmio al 1% en el tampón antes descrito, durante hora y media, a 4° C. Posteriormente fueron deshidratadas con acetona, contrastadas en bloque con acetato de uranilo al 2% en acetona de 70° e incluidas en Durcupan (Fluka). Los cortes se realizaron con un ultramicro-

mo LKB Ultratome III 8800. Cortes semifinos fueron teñidos con azul de toluidina para la localización del NPV. Los cortes ultrafinos se contrastaron siguiendo el método de Reynolds y se estudiaron con un microscopio electrónico de transmisión Philips EM-201.

Resultados

Cuando se estudia con el microscopio electrónico de transmisión, el territorio del NSQ del gato aparece constituido por neuronas, el neuropilo, algunas células gliales y vasos sanguíneos, elementos que describiremos a continuación por este orden.

Las neuronas de este núcleo son de mediano tamaño y presentan una forma ovalada en la mayoría de los casos. Su diámetro mayor se halla comprendido casi siempre entre 12 y 16 μm . Aunque es habitual que estas neuronas se encuentren muy próximas entre sí (fig. 1), no hemos podido constatar la aposición directa de los somas celulares. Como se aprecia en la figura 7, las células contiguas se hallan separadas por delgadas laminillas de células gliales repletas de microfilamentos. En algún caso hemos sorprendido el nacimiento de varias prolongaciones emergiendo del soma neuronal (figs. 1 y 4).

El núcleo de las neuronas del NSQ presenta una densidad electrónica escasa; pequeños grumos de heterocromatina están distribuidos por toda su extensión (figs. 1, 2, 4, 7 y 9). El diámetro mayor del núcleo celular se halla comprendido entre las 8 y las 11 μm . Aunque se pueden encontrar núcleos de perfil regular, lo más frecuente es que presenten escotaduras más o menos pronunciadas que, según el plano de sección, aparecen como invaginaciones (figs. 1, 7 y 9) o hendiduras que dividen completamente al núcleo (figs. 1 y 4). En el citoplasma de estas invaginaciones abundan los ribosomas (fig. 7). Con relativa frecuencia se hace patente el nucléolo, que en ocasiones contacta con la membrana nuclear (fig. 9).

El retículo endoplásmico rugoso está escasamente desarrollado y se presenta en forma de cisternas estrechas, cortas y generalmente aisladas (figs. 3, 4 y 7) que se distribuyen por todo el citoplasma (figs. 7 y 9). Los polirribosomas son abundantes por todo el pericarion (figs. 3, 7 y 9). El complejo de Golgi muestra un buen desarrollo (figs. 2, 4 y 7). En su vecindad suelen encontrarse vesículas granulares, que también aparecen por otras regiones del pericarion (figs. 3 y 5). Su número es siempre escaso y suelen hallarse aisladas. El diámetro de estos orgánitos oscila entre 75 y 100 nm y presentan un centro denso muy osmíófilo y un halo claro que lo separa de la membrana vesicular (fig. 3).

En ocasiones hemos observado otro tipo de vesícula que se diferencia de las anteriores en que el diámetro se sitúa entre 130 y 180 nm, el halo claro es muy estrecho y rodea un centro denso integrado por material de moderada densidad electrónica, aspecto pulverulento y distribución homogénea (fig. 8). Por otra parte, en las neuronas observadas es habitual la presencia de cuerpos densos de mayor tamaño (diámetro comprendido entre 200 y 600 nm) que corresponden a lisosomas (figs. 2, 5 y 7), los cuales se encuentran por todo el citoplasma e incluso en la parte inicial de las prolongaciones celulares (fig. 4). En su mayor parte son redondeados u ovalados (figs. 7), si bien algunos son más irregulares (fig. 5).

Las mitocondrias, moderadamente abundantes, son redondeadas o alargadas y de pequeño tamaño (su diámetro mayor raramente sobrepasa la micra). Las crestas son transversales o longitudinales (figs. 6), y la matriz clara o de densidad moderada (figs. 3 y 6).

Los neurotúbulos son un hallazgo frecuente en las neuronas del NSQ (fig. 5), formando a veces un fino entramado por el pericarion. También hemos comprobado la existencia de cilios en algunas neuronas del NSQ del gato. En las figuras 4 y 5 mostramos un cilio seccionado longitudinalmente con su raicilla ciliar.

El neuropilo del territorio del NSQ contiene un buen número de fibras nerviosas amielínicas (figs. 1, 4 y 9) y algunas fibras mielínicas (figs. 1 y 9). Se observan sinapsis axosomáticas (figs. 4 y 7) y axodendríticas (figs. 4, 6 y 7, asteriscos). Algunas sinapsis axosomáticas se caracterizan por presentar unos espesamientos de membrana poco desarrollados (sinapsis simétricas o tipo II de Gray) y porque una pequeña espina del soma neuronal se invagina hacia el interior del botón nervioso terminal. Este contiene abundantes vesículas claras de tipo sináptico,

de unos 45 nm de diámetro, junto con algunas mitocondrias y, ocasionalmente, vesículas de centro denso de unos 90 nm de diámetro (fig. 6). Este tipo de sinapsis es en todo similar al descrito por Guldner (1976) como "sinapsis simétrica invaginada" en el NSQ de la rata.

Las células de naturaleza glial no son muy abundantes en el territorio del NSQ del gato y por sus características ultraestructurales parecen ser, en su mayor parte, astrocitos fibrosos. Se encuentran aisladas o en pequeños grupos, cuyos elementos pueden contactar (fig. 10). El núcleo presenta un contorno redondeado o alargado (fig. 10); su diámetro mayor oscila entre las 4.5 y las 6 μm . Los grumos de heterocromatina, más patentes que en los núcleos neuronales, se distribuyen por todo el nucleoplasma pero más señaladamente junto a la hoja interna de la membrana nuclear. En general el nucléolo no es visible.

El retículo endoplásmico es del tipo granular y se dispone bien en pequeñas agrupaciones de cisternas o bien en forma de cisternas aisladas. Los polirribosomas libres son abundantes (fig. 10).

El aparato de Golgi de los astrocitos llama la atención por el gran desarrollo que muestra en ocasiones. En estos casos sus características morfológicas corresponden a las que pueden observarse en la figura 11; los sacos golgianos aparecen dilatados en su mayoría y sin contenido aparente lo que da al conjunto un aspecto vacuolar. En sus inmediaciones se encuentra un gran número de pequeñas vesículas, débilmente osmiófilas, cuyo diámetro se sitúa entre los 40 y los 60 nm. Coincidiendo con un Golgi bien desarrollado es frecuente el hallazgo, a su alrededor, de un buen número de lisosomas cuyo diámetro se halla comprendido entre 300 y 600 nm (figs. 10 y 11). Las mitocondrias son, en general, de mayor tamaño que las de las neuronas vecinas (entre 0.5 y 1.8 μm de diámetro mayor). Las crestas son cortas y escasas; la matriz es débilmente osmiófila (fig. 10).

Alrededor del núcleo, en distintas regiones del pericarion, y en las prolongaciones encontramos grandes haces de microfilamentos que, en el cuerpo celular, se ordenan según distintos planos, por lo que aparecen cortados longitudinal, oblicua o transversalmente (fig. 10). Estos microfilamentos ocupan casi totalmente el interior de las prolongaciones celulares o laminillas gliales, donde se disponen paralelamente al eje longitudinal de las mismas (fig. 10). Junto a estos haces de microfilamentos las laminillas gliales contienen alguna mitocondria.

El gran número de prolongaciones que emiten las células gliales se adosan a los somas neuronales y separan entre sí a las neuronas y a las fibras nerviosas del neuropilo (figs. 4, 7, 8 y 9). Las prolongaciones gliales se concentran también alrededor de los capilares formando una barrera continua entre éstos y las neuronas. El endotelio de los capilares es continuo; a su alrededor, separando las células endoteliales de las laminillas gliales, encontramos una lámina basal, de unos 70 nm de espesor, moderadamente osmiófila (fig. 7).

Discusión

Según nuestras observaciones, desde el punto de vista ultraestructural las neuronas del NSQ de gato constituyen una población celular bastante homogénea. Si bien pueden existir pequeñas diferencias de densidad electrónica entre distintas neuronas del NSQ, ello no permite corroborar en absoluto la distinción de dos tipos de neuronas, claras y oscuras, realizada por Suburo y Pellegrino de Iraldi (1969) en el NSQ de la rata. Las diferencias observadas por nosotros son muy ligeras en todos los casos. Por otra parte, la distinción de tipos celulares en la rata en base a la densidad electrónica no ha sido confirmada con posterioridad. Tampoco pueden establecerse diferencias entre neuronas del NSQ del gato atendiendo a las características ultraestructurales, tal como hicieron Senchik y col. (1978) en rata y ratón.

Los somas neuronales están muy próximos entre sí, pero no hemos podido sorprender la existencia de aposiciones directas somatosomáticas. Incluso entre las células más próximas siempre existe una barrera constituida por prolongaciones de células gliales. Este hallazgo sorprende si tenemos en cuenta que en el NSQ de la rata se describen dichos contactos directos entre neuronas como una característica constante (Van den Pol, 1980). No obstante, es de resaltar que en el caso de los somas magnocelulares se ha señalado la posibilidad de que, en circunstancias de hiperactividad funcional, las prolongaciones de las células gliales sufran un proceso de retracción, facilitando de esta forma el establecimiento de contactos directos somatosomáticos (Peterson, 1965; Tweedle y

Hatton, 1977), para los que se ha invocado un papel en la interacción neuronal, en relación con la coordinación y sincronización funcional (Lafarga y col., 1975; Van den Pol, 1982).

Los núcleos de las neuronas del NSQ muestran características ultraestructurales indicativas de un buen grado de actividad, tales como la escasez de heterocromatina, el incremento de superficie de contacto con el citoplasma mediante invaginaciones y la relativa frecuencia con que presentan un nucléolo en los cortes, indicio indirecto del tamaño de estas estructuras. El aparato de Golgi, por regla general, aparece bien desarrollado en las neuronas del NSQ del gato. En su vecindad, y también en otros lugares del pericarion, hemos observado la presencia de vesículas granulares que muestran un centro denso separado de la membrana limitante por un halo claro periférico. Su diámetro, según nuestras mediciones, está comprendido entre 75 y 100 nm. Asimismo, con menor frecuencia hemos observado otro tipo de vesícula caracterizado por presentar un halo periférico muy estrecho que rodea a una zona central constituida por un material de densidad electrónica moderada, aspecto pulverulento y distribución homogénea. El diámetro oscila entre los 130 y 180 nm.

Dejando aparte el trabajo de Suburo y Pellegrino de Iraldi (1969), en el que, en las neuronas del NSQ de la rata, describen la existencia de vesículas de centro denso con un diámetro comprendido entre 50 y 250 nm, nuestras observaciones parece que concuerdan con el resto de los datos existentes en la literatura. En el conejo, Clattenburg y col. (1972) describieron gránulos que no sobrepasaban los 110 nm, aunque en un trabajo posterior (Clattenburg y col., 1975) indican que el rango está comprendido entre 70 y 170 nm, siendo la media 104 nm. En el ratón, Wenisch (1976) observa dos poblaciones granulares, una con diámetro comprendido entre 50 y 80 nm y otra de un tamaño de 100-130 nm. En rata y ratón, Senchik y col. (1978) describen también dos poblaciones de gránulos de diámetro comprendido entre 65-110 nm y entre 72-192 nm. Van Leeuwen y col. (1978) encuentran en la rata gránulos de centro denso con un diámetro comprendido entre 58 y 141 nm, siendo la media 94.7 nm.

De los dos tipos de vesículas identificados por nosotros, las de tamaño comprendido entre 130 y 180 nm y de contenido pulverulento son prácticamente idénticas a los gránulos elementales de neurosecreción del sistema hipotálamo-lóbulo posterior de la hipófisis del gato (Pastor, 1983; Pastor y col., 1989). Pese a esta similitud ultraestructural, no podemos identificarlos con gránulos que contengan vasopresina, ya que en contra están los datos inmunocitoquímicos de Van Leeuwen y col. (1978) que demuestran que la vasopresina se localiza en las neuronas del NSQ en gránulos de menor tamaño que los del clásico sistema hipotálamo-neurohipofisario. Los gránulos que con mayor frecuencia hemos observado en las neuronas del NSQ del gato, es decir, los de diámetro comprendido entre 75 y 100 nm y un centro denso muy osmíófilo, son bastante similares por su tamaño y aspecto a los que en la literatura se describen también como más abundantes en neuronas del NSQ de otras especies de mamíferos. La gran variedad de sustancias que se sintetizan en las neuronas del NSQ (véase Introducción), hace imposible cualquier tipo de suposición sobre el contenido de estos gránulos.

Las características del núcleo neuronal, junto con el aspecto del aparato de Golgi y las vesículas de centro denso, podrían sugerir una actividad secretora de las neuronas del NSQ del gato al igual que se ha descrito en otras especies (Clattenburg y col., 1975; Senchik y col., 1978). Ahora bien, en la actualidad parece estar bien documentado que el NSQ no proyecta hacia la eminencia media ni a ningún otro órgano neurohemal (Watts y Swanson, 1987; Watts y col., 1987), lo que va en contra de la supuesta función neurosecretora de sus células.

Cuando se comparan las neuronas del NSQ de gato con los somas magnocelulares neurosecretores de los núcleos supraóptico y paraventricular de la misma especie (Pastor, 1983; Pastor y col., 1989), se aprecian claras diferencias entre unas y otras. Por una parte, las neuronas del NSQ del gato son de menor tamaño que las de los núcleos magnocelulares hipotalámicos, aunque propiamente no pueden incluirse entre las neuronas parvocelulares, ya que no existen somas menores de 12 micras. Esta parece ser una diferencia con respecto al NSQ de la rata y otros roedores, especies en las que las células pueden ser de menor tamaño (Van den Pol, 1980). Por otro lado, si bien en las neuronas del NSQ los ribosomas libres y polirribosomas son relativamente abundantes, el RER está discreta o escasamente desarrollado.

Hemos observado la presencia de un cilio, con su corpúsculo basal y raicilla ciliar, en una neurona del NSQ de gato. Dejando aparte a las células neurosensoriales, la existencia de neuronas ciliadas es un hecho poco frecuente, aunque existen algunas descripciones en la literatura (para referencias, véase Lafarga y col., 1980). En mamíferos, Amat y col. (1977) refieren la existencia de raicillas ciliares en neuronas de la región posterior del tuber de gato. Durante el desarrollo, Lafarga y col. (1980) observan neuronas ciliadas en el núcleo supraóptico de rata y Pastor (1983) las encuentra en el núcleo paraventricular de gato. En el NSQ, Senchik y col. (1978) las des-

criben como una observación frecuente en rata y ratón, aunque puede dudarse de ello porque Van den Pol (1980) no hace ninguna referencia. La función de los cilios en las neuronas no es conocida en absoluto, habiéndose sugerido que constituyen una estructura vestigial en estas células (Del Cerro y Snider, 1967).

En el intrincado neuropilo del NSQ destacan, por su extraordinaria abundancia, las prolongaciones filamentosas de células gliales. Asimismo, pueden observarse una gran variedad de sinapsis, hecho no sorprendente si tenemos en cuenta la diversidad de aferencias que recibe el NSQ (véase Introducción) y la compleja organización sináptica descrita en la rata (Güldner, 1976). Predominan, según nuestras observaciones, las sinapsis axosomáticas y axodendríticas, tanto simétricas como asimétricas. Hemos observado sinapsis similares a las descritas en la rata como sinapsis simétricas invaginadas (Güldner, 1976).

No hemos observado botones nerviosos con mitocondrias claras y de escasas crestas tubulares, similares a las que en el caso de la rata permiten identificar a las terminaciones nerviosas del haz retino-hipotalámico (Güldner, 1978; Güldner y Wolff, 1978). Estas mitocondrias, descritas como mitocondrias L, son muy parecidas a las existentes en los pinealocitos tipo B de la epífisis de rata, según la clasificación realizada por nosotros (Blázquez y col. 1988). Puede ser que los botones nerviosos terminales del haz retino-hipotalámico del gato, cuya existencia está confirmada (Hendrickson y col., 1972; Moore, 1973), no sean idénticos a los de la rata, aunque la comprobación de que esto sea o no así requiere un estudio más detallado.

Con respecto a las células gliales, nuestras observaciones indican que no son muy abundantes en el NSQ de gato. Este dato, junto al hecho ya comentado de la extraordinaria cantidad de prolongaciones gliales filamentosas que existen en el neuropilo del territorio del NSQ, nos llevan a considerar que estas células deben ramificarse muy profusamente. Por sus características ultraestructurales corresponden a astrocitos fibrosos, destacando la gran riqueza de organitos que poseen en su citoplasma, que es superior en muchos casos a la de las neuronas vecinas. Las características del RER de estas células y, en especial, las del aparato de Golgi nos las muestran como células muy bien equipadas para desarrollar una actividad sintética. En este sentido tenemos que preguntarnos, como hace Van den Pol (1980) en el caso de la rata, qué están sintetizando los astrocitos y por qué. Como él, tampoco nosotros podemos dar respuesta alguna. Por otra parte, también es posible que, en el caso del gato, los elementos gliales del NSQ contribuyan al contingente de células gliales que acompañan a las fibras del haz supraóptico-hipofisario, terminando en los territorios rostrales de la zona externa de la eminencia media (Pastor, 1983; Pastor y col., 1983).

Agradecimiento

Los autores expresan su agradecimiento a Valentín Alonso, Soledad García, María Manteca y Olvido Martín por su asistencia técnica.

Este trabajo ha sido financiado por la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica (Proyecto 288/84).

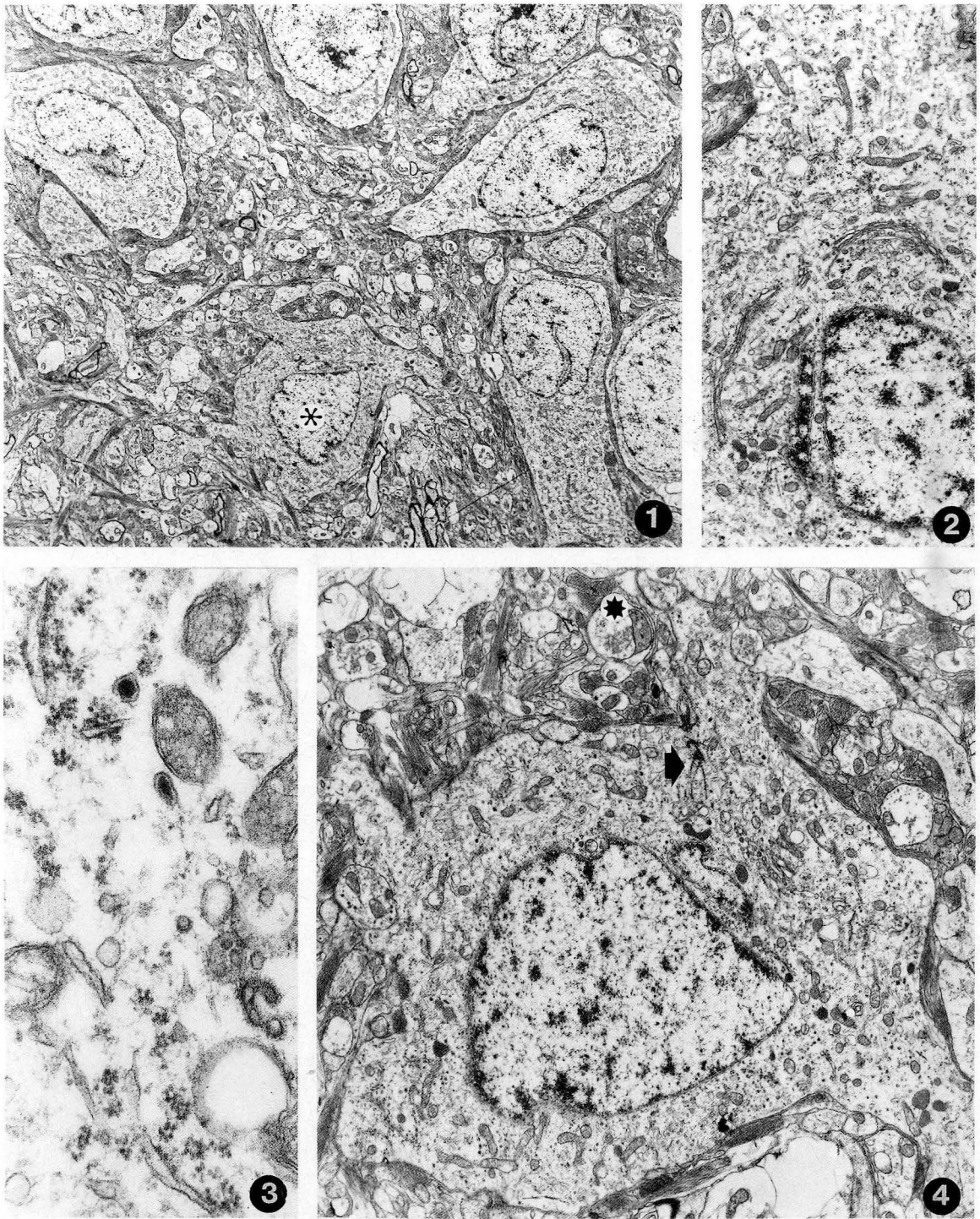
BIBLIOGRAFIA

- AMAT, P., R. VAZQUEZ, L. MUÑOZ BARRAGAN y J.L. LANCHO (1977): Ultraestructura de la región caudal del tuber cinereum del gato con especial referencia al núcleo infundibular. *An. Anat.*, **26**: 5-19.
- BLAZQUEZ, J.L., F.E. PASTOR, D. TORANZO, A.J. ALVAREZ-MORUJO y P. AMAT (1988): Estudio ultraestructural sobre los diferentes tipos de pinealocitos de la rata. *An. Anat.*, **33**: 17-27.
- BOSLER, O y A. BEAUDET (1985): VIP neurons as prime synaptic targets for serotonin afferents in rat suprachiasmatic nucleus: a combined radioautographic and immunocytochemical study. *J. Neurocytol.*, **14**: 749-763.
- CARD, J.P. y MOORE, R.Y. (1982): Ventral lateral geniculate nucleus afferents to the rat suprachiasmatic nucleus exhibit avian pancreatic polypeptide-like immunoreactivity. *J. Comp. Neurol.*, **206**: 390-396.

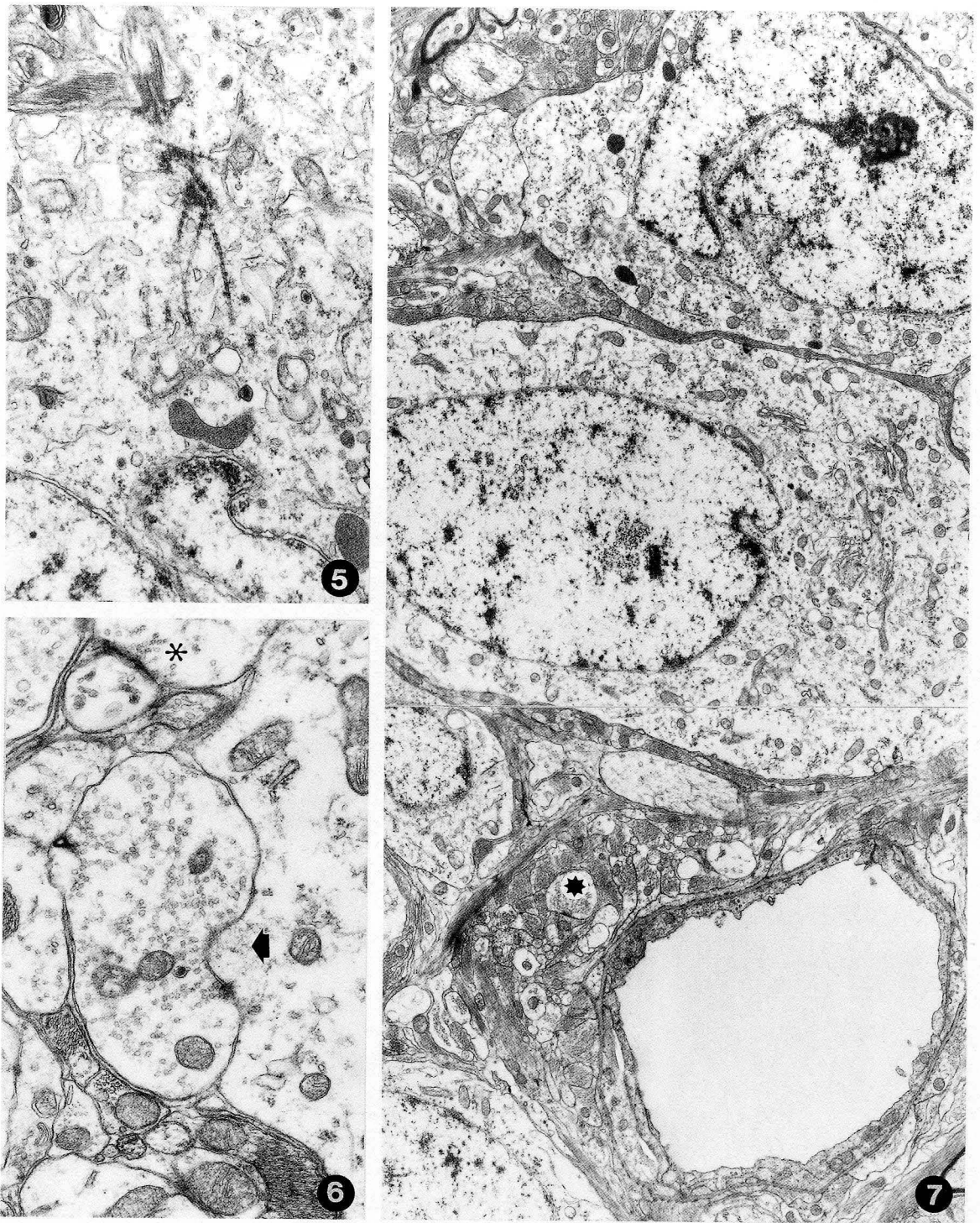
- CARD, J.P., S. FITZPATRICK-McELLIGOT, I. GOZES y F.Jr. BALDINO (1988): Localization of vasopressin-, vasoactive intestinal polypeptide-, peptide histidine isoleucine- and somatostatin-m RNA in rat suprachiasmatic nucleus. *Cell Tissue Res.*, **252**: 307-315.
- CLATTENBURG, R.E., R.P. SINGH y D.G. MONTEMURRO (1972): Post-coital ultrastructural changes in neurons of the suprachiasmatic nucleus of the rabbit. *Z. Zellforsch.*, **125**: 448-459.
- CLATTENBURG, R.E., D.G. MONTEMURRO y J.E. BRUNI (1975): Neurosecretory activity within suprachiasmatic neurons of the female rabbit following castration. *Neuroendocrinology*, **17**: 211-224.
- DEL CERRO, M.P. y R.S. SNIDER (1967): Cilia in the cerebellum of immature and adults rats. *J. Microsc.*, **6**: 515-518.
- GÜLDNER, F.H. (1976): Synaptology of the rat suprachiasmatic nucleus. *Cell Tissue Res.*, **165**: 509-544.
- GÜLDNER, F.H. (1978): Synapses of optic nerve afferents in the rat suprachiasmatic nucleus. I. Identification, qualitative description, development and distribution. *Cell Tissue Res.*, **194**: 17-35.
- GÜLDNER, F.H. y J.R. WOLFF (1978): Retinal afferents forms gray-type-I and tipe-II synapses in the suprachiasmatic nucleus (rat). *Exp. Brain Res.*, **32**: 83-89.
- GUY, J., O. BOSLER, G. DUSTICIER, G. PELLETIER y A. CALAS (1987): Morphological correlates of serotonin-neuropeptide Y interactions in the rat suprachiasmatic nucleus: combined radioautographic and immunocytochemical data. *Cell Tissue Res.*, **205**: 657-662.
- HARRINGTON, M.E., D.M. NANCE y B. RUSAK (1987): Double-labeling of neuropeptide Y-immunoreactive neurons which project from the geniculate to the suprachiasmatic nuclei. *Brain Res.*, **410**: 275-282.
- HENDRICKSON, A.E., N. WAGONER y W.M. COWAN (1972): An autoradiographic and electron microscopic study of retino-hypothalamic connections. *Z. Zellforsch.*, **135**: 1-26.
- IBATA, Y., Y. TAKAHASHI, H. OKAMURA, T. KUBO y F. KAWAKAMI (1988): Fine structure of NPY-containing neurons in the lateral geniculate nucleus and their terminals in the suprachiasmatic nucleus of the rat. *Brain Res.*, **439**: 230-235.
- ISHIKAWA, K. y A. FROHMAN (1987): Ontogenesis of peptide-histidine-isoleucine (PHI)-containing neurons in the suprachiasmatic nucleus (SCN) of the rat. *Brain Res.*, **407**: 144-148.
- KAWAKAMI, F., H. OKAMURA, K. FUKUI, C. YANAIHARA, T. NAKAJIMA e I. IBATA (1985): The influence of serotonergic inputs on peptide neurons in the rats suprachiasmatic nucleus: an immunocytochemical study. *Neurosci. Lett.*, **61**: 273-277.
- KURUMIYA, S. y H. KAWAMURA (1988): Circadian oscillation of the multiple unit activity in the guinea pig suprachiasmatic nucleus. *J. Comp. Physiol.*, **162**: 301-308.
- LAFARGA, M., G. PALACIOS y R. PEREZ (1975): Morphological aspects of the functional synchronization of supraoptic nucleus neurons. *Experientia*, **31**: 348-349.
- LAFARGA, M., J.-P. HERVAS, D. CRESPO y J. VILLEGAS (1980): Ciliated neurons in supraoptic nucleus of rat hypothalamus during neonatal period. *Anat. Embryol.*, **160**: 29-38.
- MOORE, R.Y. (1973): Retinohypothalamic projection in mammals: a comparative study. *Brain Res.*, **49**: 403-409.
- MOORE, R.Y. (1982): The suprachiasmatic nucleus and the organization of a circadian system. *TINS*, **5**: 404-407.
- MOORE, R.Y. (1983): Organization and function of a central nervous system circadian oscillator: the suprachiasmatic hypothalamic nucleus. *Fed. Proc.*, **42**: 2783-2789.
- MOORE, R.Y. y N.J. LENN (1972): A retinohypothalamic projection in the rat. *J. Comp. Neurol.*, **146**: 1-14.
- PASTOR, F.E. (1983): Estudio ultraestructural del sistema hipotálamo-lóbulo posterior de la hipófisis durante el desarrollo postnatal. Tesis doctoral. Universidad de Salamanca.
- PASTOR, F.E., D. TORANZO, J.L. BLAZQUEZ, L. MUÑOZ BARRAGAN y P. AMAT (1983): Quelques aspects ultrastructuraux de l'eminence mediane chez le chat. Libro de resúmenes del 66ème Congrès de l'Association des Anatomistes, p. 40. Barcelona.
- PASTOR, F.E., J.L. BLAZQUEZ, D. TORANZO, A.J. ALVAREZ-MORUJO y P. AMAT (1989): Estudio ultraestructural del núcleo paraventricular del hipotálamo del gato. I. Neuronas magnocelulares. *An. Anat.* (en prensa).
- PETERSON, R.P. (1965): Synapses in the rat supraoptic nucleus. *Anat. Rec.*, **151**: 339.
- PICKARD, G.E. (1982): The afferent connections of the suprachiasmatic nucleus of the golden hamster with emphasis on the retinohypothalamic projection. *J. Comp. Neurol.*, **211**: 65-83.
- RUSAK, B. e I. ZUCKER (1979): Neural regulation of circadian rhythms. *Physiol. Rev.*, **59**: 449-526.
- SENCHIK, Y.I., N. BOGDANOVIC-STOSIC y A.L. POLENOV (1978): Secretory function of neurons of the suprachiasmatic nucleus in the white mouse and rat. En: *Neurosecretion and neuroendocrine activity. Evolution, structure and function.* (Kiel, Giessen y Polenov, eds.), p. 286. Springer-Verlag, Berlín.
- SHIBATA, S. y R.Y. MOORE (1988): Electrical and metabolic activity of suprachiasmatic nucleus neurons in hamster hypothalamic slices. *Brain Res.*, **438**: 374-378.
- SUBURO, A.M. y A. PELLEGRINO DE IRALDI (1969): An ultrastructural study of the rat's suprachiasmatic nucleus. *J. Anat.*, **105**: 439-446.
- SWANSON, L.W., W.M. COWAN y E.G. JONES (1974): An autoradiographic study of the efferent connections of the ventral geniculate nucleus in the albino rat and cat. *J. Comp. Neurol.*, **156**: 143-164.
- TUREK, F.W. (1985): Circadian neural rhythms in mammals. *Ann. Rev. Physiol.*, **47**: 49-64.

- TWEEDLE, C.D. y G.I. HATTON (1977): Ultrastructural changes in rat hypothalamic neurosecretory cells and their associated glia during minimal dehydration and rehydration. *Cell Tissue Res.*, **181**: 59-72.
- UEDA, S., M. KAWATA y V. SANO (1986): Identification of neuropeptide Y immunoreactivity in the suprachiasmatic nucleus and the lateral geniculate nucleus of some mammals. *Neurosci. Lett.*, **68**: 7-10.
- VAN DEN POL, A.N. (1982): The magnocellular and parvocellular paraventricular nucleus of rat: Intrinsic organization. *J. Comp. Neurol.*, **206**: 317-345.
- VAN DEN POL, A.N. y K.L. TSUJIMOTO (1985): Neurotransmitters of hypothalamic suprachiasmatic nucleus: immunocytochemical analysis of 25 neuronal antigens. *Neuroscience*, **15**: 1049-1087.
- VAN LEEUWEN, F.W., D.F. SWAAB y C. DE RAAY (1978): Immunoelectronmicroscopic localization of vasopressin in the rat suprachiasmatic nucleus. *Cell Tissue Res.*, **193**: 1-10.
- WATTS, A.G. y L.W. SWANSON (1987): Efferent projections of the suprachiasmatic nucleus: II. Studies using retrograde transport of fluorescent dyes and simultaneous peptide immunohistochemistry in the rat. *J. Comp. Neurol.*, **258**: 230-252.
- WATTS, A.G., L.W. SWANSON y G. SANCHEZ WATTS (1987): Efferent projections of the suprachiasmatic nucleus: I. Studies using anterograde transport of phaseolus vulgaris leucoagglutinin in the rat. *J. Comp. Neurol.*, **258**: 204-229.
- WENISCH, H.J.C. (1976): Retinohypothalamic projection in the mouse: electron microscopic and iontophoretic investigations of hypothalamic and optic centers. *Cell Tissue Res.*, **167**: 547-561.
- WIEGAND, S.J. y D.M. (1988): Organization and efferent connections of transplanted suprachiasmatic nuclei. *J. Comp. Neurol.*, **267**: 562-579.

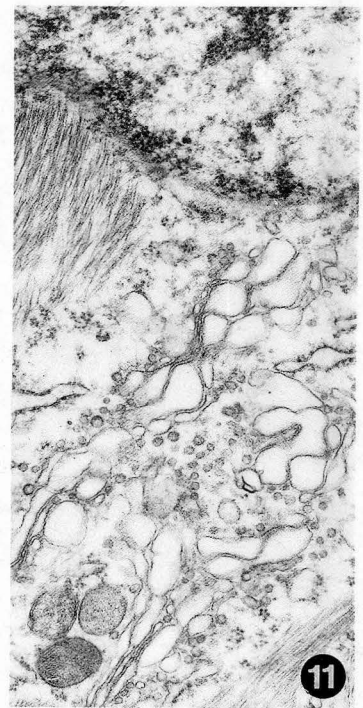
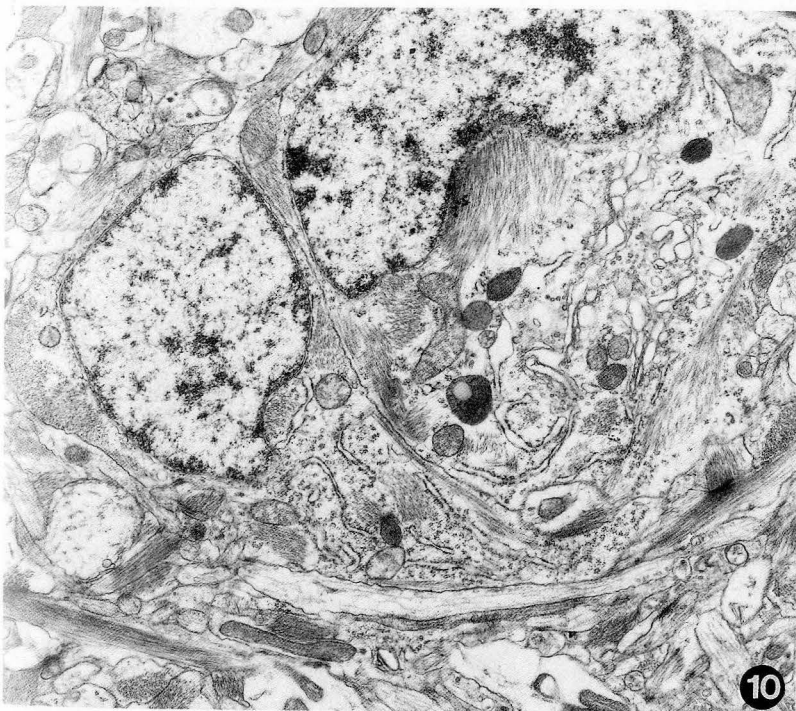
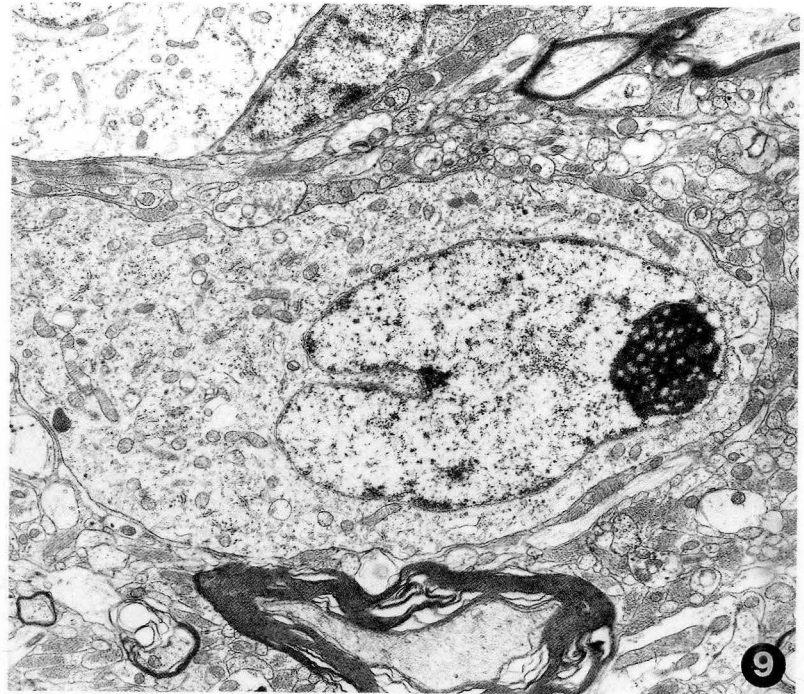
Correspondencia: Dr. F.E. Pastor
Departamento de Ciencias Morfológicas,
Biología Celular y Anatomía Patológica.
Facultad de Medicina
Universidad de Salamanca
Avenida del Campo Charro s/n
Salamanca. España



- FIGURA 1.** Territorio del NSQ de gato. Se observan varias neuronas separadas por el neuropilo, en el que se aprecian algunas fibras mielínicas (2.350x).
- FIGURA 2.** Detalle del soma de una neurona del NSQ de gato. Obsérvese el núcleo celular hendido y la presencia de dos campos golgianos dispuestos perinuclearmente. (7.450x).
- FIGURA 3.** Detalle de pericarion de una neurona del NSQ de gato. Obsérvese la presencia de vesículas de centro denso con un diámetro comprendido entre 75 y 100 nm. (45.500x).
- FIGURA 4.** Detalle a mayores aumentos (7.450x) de la neurona señalada con un asterisco en la fig. 1. Se observan varias prolongaciones emergiendo del soma neuronal. La flecha señala una raicilla ciliar. El núcleo aparece hendido. En el neuropilo pueden verse una sinapsis axo-dendrítica (asterisco) (7.450x).



- FIGURA 5.** Detalle a mayores aumentos (21.900x) de la neurona de la fig. 4. Pueden apreciarse un tallo ciliar, el corpúsculo basal y la raicilla ciliar. En el citoplasma se observan microtúbulos, varias vesículas de centro denso y dos lisosomas.
- FIGURA 6.** Territorio del NSQ del hipotálamo de gato. Obsérvense una sinapsis axo-dendrítica (asterisco) y un botón nervioso estableciendo un sinapsis de tipo simétrico sobre un soma neuronal; el elemento postsináptico se invagina en el presináptico (flecha) (21,900x).
- FIGURA 7.** Territorio del NSQ del hipotálamo de gato. Se observa un capilar de endotelio continuo separado por una membrana basal del manguito glial periférico. El asterisco señala una sinapsis axo-dendrítica.



- FIGURA 8.** Fragmento del pericarion de una neurona del NSQ. Se observa un gránulo de contenido pulverulento, con un diámetro de 180 nm. Una prolongación glial está íntimamente adosada al soma neuronal. (45.500x).
- FIGURA 9.** Territorio del NSQ del hipotálamo de gato. La neurona muestra un gran nucléolo situado excéntrica-mente. En el neuropilo se aprecian fibras nerviosas, unas pocas de ellas mielinizadas, y un gran número de prolongaciones gliales filamentosas. (7.450x).
- FIGURA 10.** Territorio del NSQ del hipotálamo de gato. Se observan dos astrocitos fibrosos con abundantes orga-nitos citoplasmáticos. (11.200x).
- FIGURA 11.** Detalle a mayores aumentos (21.900x) de la figura anterior. Obsérvese el gran desarrollo del aparato de Golgi.

ACCION FOTOBIOLOGICA DEL LASER PULSATORIO DE INFRARROJOS SOBRE EL VOLUMEN DE LOS OVOCITOS

PHOTOBIOLOGIC ACTION OF I.R. PULSE LASER ON THE VOLUME OF OOCYTE

R. PERALES, M.J. BROSETA, A.J. PERALES, V. SMITH-FERRES
M. MONTESINOS

Departamento de Ciencias Morfológicas. Facultad de Medicina.
Universidad de Valencia. Centro Coordinado C.S.I.C.

RESUMEN

Para estudiar el efecto del haz de Láser I.R. (904 nm) en el volumen ovocitario postlaparotomía, se irradian con estímulo directo los dos ovarios de ratas prepúberes albinas cepa Wistar.

Se compara el efecto tras la irradiación a otros dos grupos no irradiados con y sin laparotomía inicial. Los posibles cambios se estudian los días 1, 7, 14 y 21 postcirugía.

En conjunto se observa una disminución de los ovocitos del grupo irradiado.

PALABRAS CLAVE: Láser I.R. Ovario. Ovocito.

SUMMARY

To ascertain the effect of I.R. Laser beam (904 nm) on the oocyte volume, both ovaries of prepuberal Wistar white rats were irradiated with single direct stimulation after laparotomy.

We compared the effect of irradiated rats with two non irradiated groups, laparotomized and non laparotomized one. The changes were studied at days 1, 7, 14 and 21 from surgery.

An overall decrease of the oocytes of the Laser exposed group was observed.

KEY WORDS: Laser I.R. Ovary. Oocyte.

Introducción

La inclusión en medicina de una nueva técnica requiere la utilización de los diferentes modelos experimentales animales par realizar estudios comparados y conocer el mecanismo de acción, las posibilidades de la técnica y sus limitaciones (inocuidad).

Los agentes físicos (Rx. U.V., Láser, etc.) actúan sobre la ciclosis celular (1, 2, 6).

En nuestro departamento, utilizando Soft-Láser, autores como Smith Agreda, Ferres Torres, Montesinos y otros han demostrado la existencia de estos efectos en sentido de estimulación, irradiando hipófisis y estudiando sus efectos, bien a nivel de la glándula irradiada, bien a nivel de sus órganos diana (3, 6, 8, 9).

Al plantearnos nuestro trabajo, surgió la hipótesis de si la irradiación directa del ovario con láser infra-rojo (I.R.) tendría efecto a nivel microscópico que pudiéramos evidenciar en alteraciones de volumen del ovocito, utilizando para ello ratas albinas de la cepa Wistar.

Material y Métodos

Para comprobar los efectos de dicha radiación, hemos elegido ratas albinas cepa Wistar, ya que con ellas se han realizado la práctica totalidad de las experiencias. Impúberes para eliminar las influencias del ciclo genital y con un peso al comenzar nuestro estudio entre 50 y 60 grs.

La irradiación se ha llevado a cabo con un láser semiconductor de As-Ga, que posee las siguientes características:

- Longitud de onda 904 nm.
- Potencia pico 8W
- Potencia media 0,56 mW.
- Frecuencia de emisión 350 Hz.
- Duración del impulso 200 nseg.
- Profundidad 2-3 cm.

El tiempo de exposición ha sido de 14 minutos en cada ovario, lo que supone la administración de una energía de 0,4704 julios/ovario.

En nuestra experiencia hemos utilizado un total de 60 animales distribuidos en 3 grandes grupos (Tabla I):

- Testigo: Llegan a la necropsia en condiciones normales.
- Simulado: A los sólo se les practica laparotomía.
- Experimental: Se irradian ambos ovarios tras laparotomía.

Estos grupos los hemos subdividido en series de:

- 1 día: Ya que el stress quirúrgico puede conducirnos a hallazgos de interés.
- 7 días: Durante los cuales el animal ha recuperado su vitalidad y comenzado a ganar peso.
- Series aleatorias de 14 y 21 días, en las que observamos si los efectos persisten o no.

Tras la necropsia, se procesaron los ovarios para el estudio a M. luz según técnica habitual.

Cálculos

Las mediciones se realizaron en al menos 20 ovocitos secundarios por serie y grupo, calculando los diámetros mayor y menor para a partir de ellos aplicar la fórmula del volumen del elipsoide: $V = \pi/6.A.B^2$ (A = diámetro menor), fórmula que equivale, cuando ambos diámetros son iguales, a la del volumen de la esfera ($\pi/6.A.B^2 \equiv \frac{4}{3} \pi.r^3$). La medición de los diámetros se realizó con un microscopio CARL-ZEISS, con objetivo 10 x y ocular KIOVA W7 10 x; correspondiendo cada marca de separación del ocular a 13,5 μ .

Los datos así obtenidos, tras agruparlos se han comparado mediante un análisis de la Varianza (ANOVA) de clasificaciones simples. Cuando la F rechazó la hipótesis nula, se procedió a la aplicación de un test de rango múltiple studentizado entre las medias o test de Newman Keuls (10). Se considera la existencia de significación estadística la obtención de una probabilidad menor de 0,05.

Resultados

Hemos detectado folículos en sus diversos estadios evolutivos en todos los grupos y series estudiadas.

En la Tabla II se muestran los valores del volumen del ovocito de los tres grupos: Testigo, Simulado y Experimental, en los diferentes días de estudio: 1, 7, 14 y 21. Nótese que en el grupo testigo, esto es, los animales que se sacrifican sin mediar cirugía previa, presentan volúmenes que son homogéneos. Al comparar los diferentes grupos tras el ANOVA y S.N.K. (10) en cada día de la observación puede observarse que:

- El primer día, los animales laparotomizados (simulados y experimentales) muestran un volumen significativamente menor que los testigos, no siendo diferentes entre sí.

- En el 7º día, el volumen de los ovocitos del grupo simulado es significativamente mayor que los otros dos, no existiendo diferencia estadística entre el testigo y el experimental, si bien el volumen medio del grupo experimental resulta menor.

- En los días 14 y 21 se observa un comportamiento semejante, pues los volúmenes de los grupos experimentales son significativamente menores que los de los grupos testigo y simulado que son diferentes entre sí.

Resumiendo los resultados obtenidos en el cálculo del volumen del ovocito, podríamos decir que el grupo testigo muestra un tamaño normal, en tanto que en el grupo experimental los volúmenes están disminuidos en todos los días de la observación. En el grupo simulado, el primer día postquirúrgico muestra una disminución, aumentando al 7º día y normalizándose los días 14 y 21 (Tabla III).

Discusión

En nuestros resultados llama la atención el que en ratas impúberes se detecten folículos en sus diversos estadios evolutivos en todos los grupos y series estudiadas, siendo que la pubertad no ocurre hasta los 70 días de vida (7), por lo que los folículos preovulatorios estarían llamados a atrofiarse.

Peters (4), en 1969, ya observó este fenómeno, afirmando que el ovario durante el periodo inmaduro no es un órgano quiescente, sino que está sujeto a procesos de desarrollo y degeneración continuos.

Son escasas las publicaciones acerca del efecto de la irradiación de los ovarios con láser de baja potencia. En 1979, Davidov (1) realiza un estudio comparativo con láser He-Ne y pulsatorio de Neodimio.

En las ratas irradiadas percutáneamente con láser He-Ne, observa una intensificación del proceso de maduración de los folículos y ovulación.

En las ratas laparotomizadas e irradiadas con láser pulsatorio de Neodimio, aparecía una tendencia con significación estadística al alargamiento del ciclo, debido principalmente al crecimiento brusco del periodo entre ellos. Esta manifestación de hipofunción ovárica, la atribuye a los efectos de dicho láser pulsatorio.

En nuestra experiencia, la disminución volumétrica observada de la célula germinal al ser irradiada con Láser I.R. de As-Ga (también pulsatorio), bien pudiera ser la expresión a nivel morfológico de esa hipofunción ovárica descrita por Davidov.

Pero ¿cuál es el mecanismo íntimo por el cual se produce la mencionada disminución de volumen?

La energía producida por el láser en forma de fotones, es absorbida en parte por la célula a nivel de las bases de DNA (5), formando las llamadas EXCIPLEX.

Tras un tiempo de vida aún desconocido, el Exciplex se deshace por acción del calor, emitiendo un fotón que puede tomar todos los valores de energía posibles.

La célula se comportaría como un láser de emisión ultra-débil.

Es posible que tras el fuerte estímulo fotónico que supone la irradiación, el ovocito experimente una depleción de energía, lo que produce su pérdida de volumen.

Esta teoría, aunque sugestiva, parece tener una importancia secundaria, puesto que es más lógico pensar que la mayor pérdida de volumen sea a cargo de la masa citoplasmática por dos posibles mecanismos:

- 1.- El aumento de energía que recibe el ovocito conllevaría una cierta vaporización del agua citoplasmática.
- 2.- Los fotones pueden activar la bomba de Na^+ (5) de manera que comienza a sacar Na^+ de la célula lo que arrastraría agua al espacio extracelular, disminuyendo de esta forma el volumen citoplasmático.

BIBLIOGRAFIA

1. DAVIDOV, S.N.; KHROMOV, B.M.; SHVAREV, E.G.; MELNIKOV, A.P. (1979): Effect of the Láser radiation on the morphology and function of the ovaries Akush. Ginekol. Oct. **10**: 13-125. Mosk.
2. MANDL, A.M. (1964): Super ovulation following ovarian x-irradiation. J. Reprod. Fert. **8**: 375-396.
3. MONTESINOS CASTRO-GIRONA y Cols. (1985): Respuesta del lóbulo anterior de la hipófisis a la estimulación con la luz coherente. Estudio ultraestructural. Historia Médica Vol. I, nº 1. Málaga.
4. PETERS, H. (1969): The development of the mouse ovary from birth to maturity. Acta Endocrinol **62**: 98-116.
5. POPP, F.A. (1984): Emisión coherente de fotones desde formaciones celulares. Invest. y Clín. Láser **1**: 18-23.
6. RENOVELL, A. y Cols. (1978): Aportaciones al conocimiento de las transformaciones experimentales de la hipófisis y el ovario tras la acción del láser sobre la glándula hipofisaria. Actas del X Congreso de la Sociedad Anatómica Española. Ed. Heraldo de Aragón. Zaragoza.
7. SANCHEZ GARRIDO, F.; SANCHEZ ALONSO, F.; SANCHEZ DEL CURA, G. (1977): El ovario en los mamíferos: Microscopía óptica y electrónica de barrido. 9-13. Ed. Toray-Masson. Barcelona.
8. SMITH AGREDA, V.; FERRES TORRES, E. (1982): Soft-Láser as an experimental stimulus in endocrinological study. I Congreso Internacional de Soft-Láser: 3-4. Palma de Mallorca.
9. SMITH AGREDA, V.; FERRES TORRES, E. (1983): Los efectos del láser en el sistema neuroendocrino y en el desarrollo embriológico. Seminario sobre aplicaciones de los láseres terapéuticos. Láser España-83. Barcelona.
10. ZAR, J.H. (1974): Biostatistical Analysis. Englewood Cliff N.J. Ed. Prentice Hall.

Correspondencia: Rafael Perales Marín
C/ San Luis, 16, 2º
Aldaya - 46960 Valencia. España

TABLA I

GRUPOS

	TESTIGO	SIMULADO	EXPERIMENTAL
S	1 Día	5	5
E	7 Días	5	5
R	14 Días	5	5
I	21 Días	5	5
E			
S			

Modelo experimental utilizado: Testigo (control). Simulado (laparatomía). Experimental (laparotomía + irradiación)

TABLA II

	TESTIGO			SIMULADO			EXPERIMENTAL
1 ^{er} día	154.46 ± 26.46	— *	—	91.41 ± 16.6	— NS	—	94.22 ± 21.99
	29			25			27
	----- * -----						
7 ^o día	137.30 ± 27.8	— *	—	162.93 ± 42.16	— *	—	132.30 ± 38
	30			27			21
	----- NS -----						
14 ^o día	142.70 ± 30.87	— *	—	145.12 ± 40.83	— *	—	90.37 ± 42.44
	25			34			50
	----- * -----						
21 día	143.23 ± 34.87	— *	—	165.06 ± 54.62	— *	—	127.06 ± 49.16
	20			22			36
	----- NS -----						

Volumen de los ovocitos en los diferentes grupos y días de estudio expresado en 10 μ.
 NS = No significativo * = p < 0.05

TABLA III

GRUPOS

	TESTIGO	SIMULADO	EXPERIMENTAL
<i>S</i>	1 Día	N	↓
<i>E</i>	7 Días	N	↓
<i>R</i>	14 Días	N	↓
<i>I</i>	21 Días	N	↓
<i>E</i>			
<i>S</i>			

Volumen del ovocito: N = normal ↑ = aumentado ↓ = disminuido

HIPONUTRICION Y DESARROLLO DE LA CORTEZA CEREBELOSA

UNDERNOURISHMENT AND DEVELOPEMENT OF THE CEREBELLUM CORTEX

P.M. RAMOS, J. SANTAFE*, J. SEGARRA* y R. SARRAT**

Sección de Anatomía Humana. Facultad de Farmacia. Vitoria.

* Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia. Vitoria.

** Departamento de Ciencias Morfológicas. Facultad de Medicina. Universidad de Zaragoza

RESUMEN

Hemos estudiado los efectos de la hiponutrición en ratas gestantes, tomando como objeto material el desarrollo de la corteza del cerebelo. La hiponutrición fue impuesta en tres grados distintos, comprobando que los animales así tratados, presentan una disminución importante del número de crías por gestación, así como en el peso de los fetos y placentas. Hemos observado diversas alteraciones histológicas en las placentas y en distintas fases del desarrollo embrio-fetal de la corteza del cerebelo, compatibles con un retraso importante del mismo. Estos fetos parecen ser el resultado de la interferencia que la hiponutrición produce sobre el sistema de neurotransmisores que rigen la mitosis celular.

PALABRAS CLAVE: Hiponutrición. Corteza cerebelosa.

SUMMARY

We have studied the effects of undernourishment in pregnant rats, taking as data the development of cerebellum cortex.

The undernourishment was imposed in different steps, proving us that the animals with this treatment, show up an important decreasing in numbers of breeding in each pregnancy so as in the weight of the animal fetus and the placenta. We have notice diverse histological alterations in the placenta and in different phases from embryo-fetal development of cerebellum cortex, compatible with an important lateness from them. These fetus seems like the result of the interference that undernourishment produces over the neurotransmissors system that rules the cellularly mitosis.

KEY WORDS: Undernourishment. Cerebellum Cortex.

Introducción

La alimentación es un proceso vital cada día mejor conocido, dotado de una gran importancia para el mantenimiento, desarrollo y crecimiento de los distintos órganos y aparatos que configuran el cuerpo humano. Es por esto que las alteraciones cuanti y cualitativas de la nutrición son también procesos a tener en cuenta como posibles responsables de diversos procesos patológicos. En este orden de cosas es la hiponutrición uno de los factores

más relevantes debido básicamente a que es un fenómeno desarrollado en vastas áreas del mundo, por lo que consideramos imprescindible el conocimiento de su influencia sobre la maduración y crecimiento del embrión, feto, recién nacido o lactante, como seres especialmente sensibles a este proceso.

Las primeras investigaciones realizadas sobre este punto presentan un signo casi común en todas ellas, como es el bajo peso, del cual depende en cierta medida la supervivencia infantil y la mortalidad (Graham, 1967; Edizien, 1979; Berkenfield y cols., 1980; Pretice y cols., 1983). A este rasgo se le añaden una larga serie de modificaciones que afectan al número de recién nacidos, peso de la placenta, tamaño del neonato, peso de los diferentes órganos e incluso alteraciones histológicas, localizadas de forma muy irregular por los distintos sistemas. Debemos recordar, como demostraron en su día Dobbing y colaboradores (1965), que en función del periodo embrio-fetal en el cual se sufre una agresión del tipo que fuere (mecánica, química, física, etc.) así serán las posibles alteraciones que en el recién nacido pudieran presentarse. Teniendo en cuenta estos hallazgos, centramos nuestro interés en el estudio del posible perjuicio que la malnutrición pudiera ocasionar en el desarrollo del cerebelo, encontrando en la literatura médica experimental, más reciente, que este factor puede ser el responsable de un considerable retraso en el desarrollo y crecimiento del S.N.C. en general, así como de una disminución importante del mismo (Dobbing y cols., 1965; Winick, 1969; Dobbing y cols., 1965; Dickerson y cols., 1967; Subba-Rao y cols., 1978; Altman y cols., 1971; Zamenhof y cols., 1971). Es más: algunos autores señalan que la pérdida de peso del cerebelo llega hasta un 20% (Hatai, 1908; Sugitan, 1918). Estos resultados también han sido corroborados en la investigación clínica (Rush y cols., 1972; Adenowore, 1972; Bacon y cols., 1964; Naeye y cols., 1973), donde incluso las alteraciones alcanzan notables significaciones dentro de la histopatología e histoquímica (Ramos y cols., 1986).

Por lo que hasta aquí hemos expuesto, son objetivos de este trabajo experimental el estudio cuanti-cualitativo de la influencia de la malnutrición sobre la unidad feto-placentaria en ratas, determinar cuál o cuáles son los posibles efectos de la malnutrición sobre el desarrollo embrio-fetal de la corteza del cerebelo de la rata y, por fin, determinar, en su caso, cuál o cuáles son los posibles mecanismos de acción empleados por la malnutrición para desarrollar estos efectos.

Material y Métodos

Durante nuestra investigación hemos empleado ratas Wistar blancas, hembras y vírgenes de tres meses de edad, por su alta fertilidad y elevado número de crías. Han sido alojadas en un estabulario debidamente acondicionado y fueron distribuidas al azar en cuatro grupos de 10 ratas preñadas cada uno. Los grupos así formados son el Control, Comida 13 g., Comida 15 g. y Comida 18 g. En el caso del primero de ellos los animales comieron y bebieron bajo régimen "ad libitum", mientras que los grupos de Comida reciben solamente la cantidad de alimento indicada (13, 15 o 18 g./día). El periodo de "tratamiento" se extendió entre el 7º y 16º día de gestación, precisamente por ser este el periodo crítico en el desarrollo embrionario del cerebelo. Durante todos los días de la observación se determina la cantidad de comida y bebida consumida por rata y día, así como las modificaciones en el peso de cada uno de los animales.

El día 18º de preñez se extraen los fetos por laparotomía media y se procede a su contaje, y el de las reabsorciones, examen macroscópico externo e interno, determinación del peso y talla fetal, y peso de la placenta. A otros animales se les permite parir libremente para estudiar sus crías los días 5, 10, 15 y 20 postnatal.

Con posterioridad se procedió al estudio con microscopía óptica de las placentas y del esbozo cerebeloso de los fetos y crías, en base al empleo de las tinciones con Hematoxilina-Eosina y Klüver-Barrera. Para el desarrollo del estudio estadístico utilizamos el test de la "t de Student".

Resultados

Hemos representado en la Tabla nº 1 la ingesta de comida, bebida y ganancia de peso durante el periodo de experimentación, resultando ser éste significativamente muy inferior en los animales hiponutridos, y además con carácter dependiente, ya que las ratas que ven disminuida su ingesta en mayor proporción absoluta, también muestran unas medias, para estos parámetros inferiores.

La valoración de los parámetros feto-placentarios arroja los resultados que se muestran en la Tabla nº 2; tanto el peso de las placentas como el correspondiente al producto de la gestación (suma de placentas y fetos de una misma camada), es significativamente muy inferior al grupo control en los animales hiponutridos. Ante una situación muy similar nos encontramos en el caso del número de fetos por camada y peso fetal (Tabla nº 3). Debemos destacar el elevado número de reabsorciones presentes en los grupos Comida 13, 15 y 18, no sólo muy diferentes en cuanto a su forma de presentación, sino también dependientes de forma directa con el grado de hiponutrición (Figura 1).

En cuanto al estudio histológico de las placentas, cabe destacar las notables diferencias que muestran las correspondientes a los grupos hiponutridos con relación al control, pues mientras en este predominan las células gigantes y los depósitos de glucógeno regularmente dispuestos en la capa basal (Figura 2), en aquellos grupos hay una cierta proliferación de células gigantes y una marcada degeneración eosinófila de los depósitos de glucógeno (Figura 3).

Las características de la corteza del cerebelo durante el 18º día de gestación son bien distintas en uno y otro grupo, ya que mientras en el caso del control esta se muestra regular y uniforme con abundante celularidad, en el caso de los grupos hiponutridos la pérdida de celularidad, la irregularidad y discontinuidad de la misma es lo más significativo (Figuras 4 y 5). Durante los días 5, 10, 15 y 20 postnatal, la corteza sigue mostrando diferencias microscópicas significativas, todas ellas compatibles con un marcado retraso en el desarrollo de la misma, pues, por ejemplo, mientras en el día 10 el control presenta una corteza bien diferenciada en sus capas, con células de Purkinje perfectamente desarrolladas y una capa molecular en su máxima expresión (Figura 6), las muestras correspondientes a los grupos Comida 13, 15 y 18 g. presentan células de Purkinje redondas y poco desarrolladas en su árbol dendrítico, al mismo tiempo que la capa molecular aún no ha alcanzado su máxima expresión. Estas alteraciones están, al igual que todas las descritas hasta ahora, estrechamente relacionadas con el grado de disminución de la ingesta y de forma directamente proporcional.

Discusión

Las notables diferencias que hemos observado en los distintos parámetros estudiados entre el grupo Control y los grupos Comida 13, 15 y 18 g. presentan un claro denominador común: la hiponutrición. Este factor por sí solo es el responsable de la disminución en la ingesta de bebida y ganancia de peso observada durante la gestación. El decremento en los parámetros feto-placentarios debe ser atribuido igualmente a este factor, por lo que podríamos denominar efecto directo e indirecto de la hiponutrición. En el primero de los casos nos encontramos con fetos y placentas que apenas cuentan con los sustratos imprescindibles cuantitativamente para generar todas las estructuras embrio-fetales. Hay falta de proteínas, lípidos, etc., lo que en cierta medida, como queda demostrado, retarda el proceso de crecimiento embrio-fetal. En cuanto al efecto indirecto de la hiponutrición, este lo relacionamos con la bioquímica celular y con el sistema de neurotransmisores celulares que regulan la mitosis de acuerdo con las teorías de Buznicov y cols. (1973, 1982 a, 1982 b y 1984). Así por ejemplo, es conocido que un estado de hiponutrición altera de forma decisiva la bioquímica celular, en cuanto a la mayor parte de sus procesos se refiere, como es el caso de la síntesis de lípidos, gluconeogénesis, glucogenolisis, etc. (Subba y cols., 1978; Patel, 1983), pero además interfiere notablemente sobre la síntesis y función de los llamados neurotransmisores celulares (catecolaminas, serotonina y acetilcolina, principalmente), enlenteciendo notablemente la actividad

mitótica y por consiguiente la celularidad, razón última de nuestros hallazgos en los parámetros feto-placentarios (Sereni y cols., 1966; Buznikov, 1973; Dodge y cols., 1975; Bass y cols. 1970).

Por fin, las alteraciones histológicas que hemos observado, las atribuimos de forma directa a los efectos directos e indirectos de la hiponutrición comentados con anterioridad, representando en conjunto un retraso importante en el desarrollo de la corteza del cerebelo que cuantificamos en unos 10 días aproximadamente, al que se le unen modificaciones de la placenta con notoria pérdida de los depósitos de glucógeno, fuente de reserva energética para el embrión.

En resumen parece ser que la hiponutrición desarrolla en la rata que la padece entre los 7 y 16 días de gestación una disminución importante del número de crías por parto, un notable incremento de las reabsorciones, y una depresión significativa del peso de las placentas y fétos a los 18 días de gestación, los cuales a su vez presentan un retraso considerable en el desarrollo de la corteza del cerebelo que todavía se manifiesta en el inmediato periodo postnatal.

BIBLIOGRAFIA

- ADENOWORE, A.S.; COMEY, N.G. and KIME, J.S. (1972): Relations of maternal nutrition and weight gain to newborn birthweight". *Obstet. Gynec.*, **39**: 460.
- ALTMAN, J.; DAS, G.D.; SUDARSHAN, K. and ANDERSON, J. (1971): "The influence of nutrition on neurax and behavioral development. II. Growth of body and brain in infants rats using different techniques of undernutrition". *Devel. Psychob.*, **4** (1): 55-70.
- BACON, F.Ch and CHI-JEN, L. (1964): "Effect of dietary restriction of pregnant rats on body weight gain of the offspring". *J. Nutrition*, **6**: 10-18.
- BASS, N.H.; NETSHY, M.G.; YOUNG, E. (1970): "Effect of neonatal malnutrition on developing cerebrum". *Arch. Neurol.* **23**: 289-302.
- BERKENFIELD, J. and SCHWARTZ, J.B. (1980): "Nutrition Intervention in the Community - the WIC. Program. N. Engl. J. Med.", **302**: 579-581.
- BUZNIKOV, G.A. (1973): "5Hydroxytryptamine; catecholamines, acetylcholine, and some related substances in early embryogenesis". In: "Comparative Pharmacology". Ed. Pergamon Press. London. Vol. II: 593-623.
- BUZNIKOV, G.A.; MALCHENKO, L.A.; TURPEAEV, T.M. and VUDUNGTIEN (1982a): "Embryos of echinoderms from the Vietnamese coastal waters as an object for testing of cytotoxic neuropharmacological Drugs". *Biologiya Mora*, **6**: 24-29.
- BUZNIKOV, G.A.; MANUKHIN, B.N.; RAKIC, L.; KYDRYASHOVA, N.I.; MNDZOYAN, O.L.; OVSEPYAN, T.R. and KHROMOV-BORISOV, N.V. (1982b): "Gradient of sensitivity to antineurotransmitters in the intact and stratified embryos of sea urchin". *Arabacia. Lxula Ontogenez.* **13**: 309-313.
- BUZNIKOV, G.A. (1984): "The action of neurotransmitters and related sustances on early embryogenesis". *Pharmacol. Ther.* **25**: 23-60.
- DICKERSON, J.W.T. and WALNSLEY, A.L. (1967): "The effect of undernutrition and subsequent rehabilitation on the growth and composition of the central nervous system of the rat". *Brain*, **90**: 897-906.
- DOBBING, J. (1965): "The effect of undernutrition on myelination in the central nervous system". *Biol. Neonat.*, **9**: 132-147.
- DOBBING, J. and WILDDOWSON, E.M. (1965): "The effect of undernutrition and subsequent rehabilitation on the myelination of rat brain as measured by its composition". *Brain*, **88**: 357-366.
- DODGE, P.R.; PREENSKY, A.L. and FEIGIN, R.D. (1975): "Nutrition and the Developing Nervous System". Ed. C.V. Mosby. St. Luis.
- EDIZIEN, J.C.; SWITZER, B.R. and BRYAN, R.B. (1979): "Medical Evaluation of the Special Supplemental Food Program for Women, Infants and Children". *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**: 677-692.
- GRAHAM, G.G. (1967): "The effect of infantile malnutrition on growth". *Fed. Proc.*, **26**: 139.
- HATAI, S. (1908): *J. Com. Neural. Psychol.* **18**: 151.
- NAEYE, R.L.; BLANC, W. and CHREYL, P. (1973): "Effects of maternal on the human fetus". *Pediatrics*, **52**: 494-503.
- PATEL, A. (1983a): "Undernutrition and brain development". *Trend in neurosciences*, **6**: 151-154.
- PRETICE, A.M.; WHITEHEAD, K.G.; WATKINSON, M.; LAMS, W.H. and COLE, T.J. (1983): "Prenatal dietary Supplementation of African women and birth-Weight". *Lancet* **1**: 589-592.
- RAMOS CALVO, P.M.; ARRIETA, L.; FORCADA, J.; PINO, A.; GOIRIENA, J. (1986): "Influencia de la malnutrición sobre el desarrollo del S.N.C. fetal y/o neonatal". *Pediatrica*, nº 74 (Vol. 6), pp. 28-36.

- RUSH, D.; DAVIS, H. and SUSSER, M. (1972): "Antecedents of low birthweight in Harlem". New York City. Int. J. Epidem, **1**: 393.
- SERENI, F.; PRINCIPI, N.; PERLETTI, L. and SERENI, L.P. (1966): "Drugs and neonate". Biol. Neonate, **10**: 254.
- SUBBA-RAO, K.; TIWARI, B.K. and SINGH, K.N. (1978): "Metabolic adaptation in nutritionally small-for-date rat brain-flow of glucose carbons in vitro into glyco- and phospholipids". Indian J. Med. Res. **67**: 968-979.
- WINICK, M. (1969): "Malnutrition and brain development". J. Pediat., **74**: 667-679.
- ZAMENHOF, S.; MARTHNENS, E.; Van and GRAUEL, L. (1971): DNA (cell number) in neonatal brain: alteration by maternal dietary caloric restriction". Nutr. Rep. Inter., **4** (5): 269-274.

Correspondencia: Dr. Pedro Manuel Ramos Calvo
Facultad de Farmacia
Sección de Anatomía
Carretera de Lasarte, s/n
01007 - Vitoria-Gasteiz. España

TABLA nº 1

Valores medios de cada uno de los grupos estudiados y significancias frente a los grupos Control

	MEDIAS			p. CONTROL		
	Comida (g)	Agua (ml)	Ganancia Peso (g)	Comida	Bebida	Peso
Control	277,78	447,25	77,54	—	—	—
Comida 13 g.	143,00	370,20	16,37	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Comida 15 g.	165,00	408,00	19,37	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Comida 18 g.	198,00	413,25	21,75	p<0,05	p<0,05	p<0,05

TABLA nº 2

Valores medios de cada uno de los grupos estudiados y significancias frente a los grupos Control

GRUPO	P. Placenta		Producto Gestación	
	\bar{X} (g)	Control	\bar{X} (g)	Control
Control	0,37	—	20,98	—
Comida 13 g.	0,25	p<0,05	6,14	p<0,05
Comida 15 g.	0,29	p<0,05	4,10	p<0,05
Comida 18 g.	0,28	p<0,05	6,09	p<0,05

TABLA n° 3

Valores medios de cada uno de los grupos estudiados y significancias frente a los grupos Control

GRUPO	Número de fetos		P. Fetal	
	\bar{X}	Control	\bar{X} (g)	Control
Control	12,88	—	1,27	—
Comida 13 g.	6,11	p<0,05	0,82	p<0,05
Comida 15 g.	2,75	p<0,05	1,09	p<0,05
Comida 18 g.	5,00	p<0,05	1,04	p<0,05

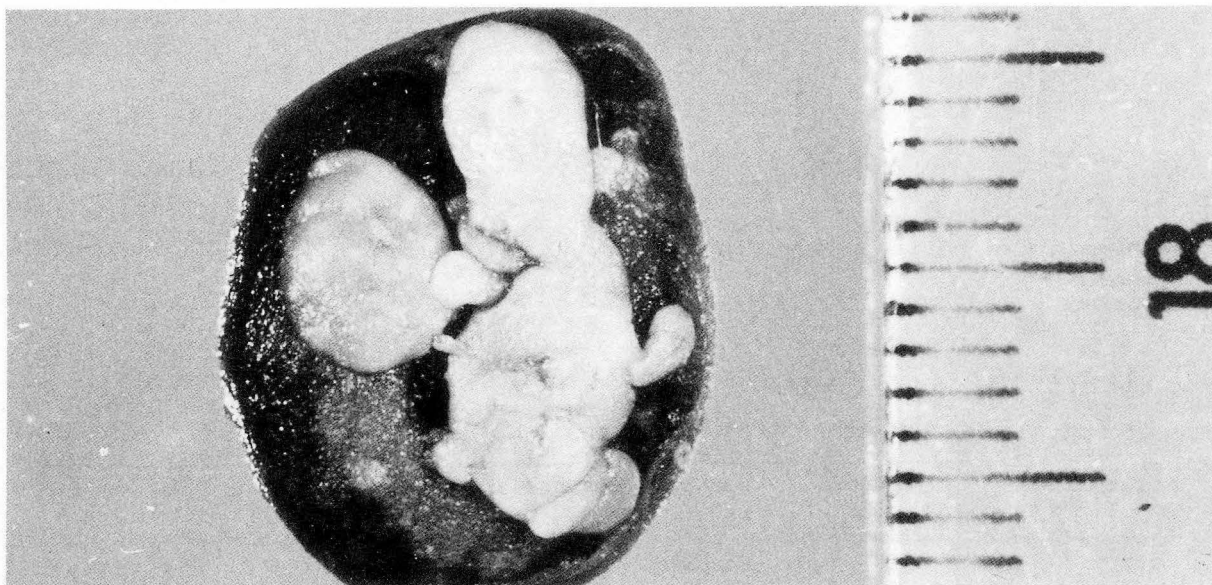


FIGURA 1. Reabsorción correspondiente al Grupo Comida 13 g.

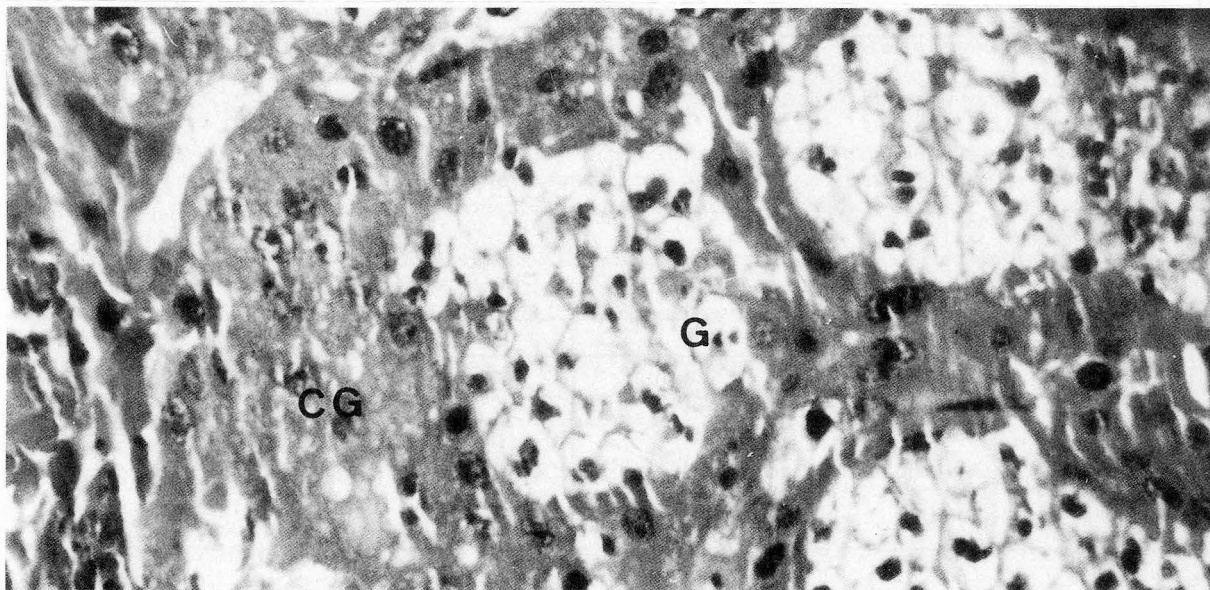


FIGURA 2. Detalle de la capa basal de la placenta correspondiente al Grupo Control. Nótese los cúmulos de células de glucógeno (G.) y las células gigantes (C.G.).

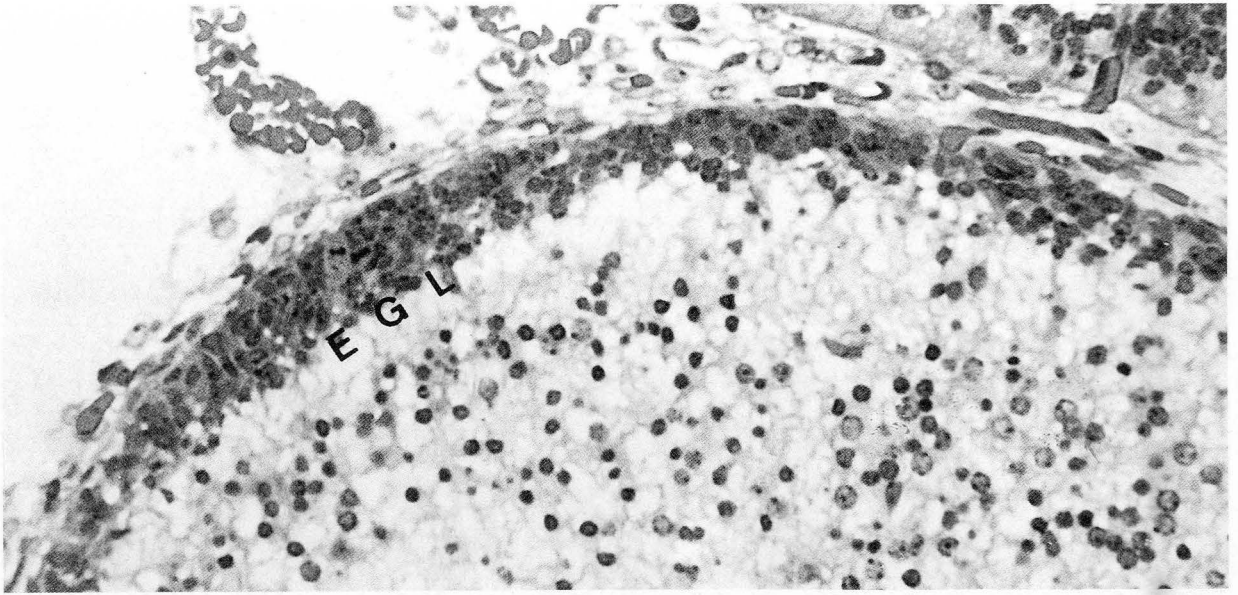


FIGURA 3. Capa basal de una placenta correspondiente al Grupo Comida 15 g. Apréciase la degeneración eosinófila de las células de glucógeno (→).

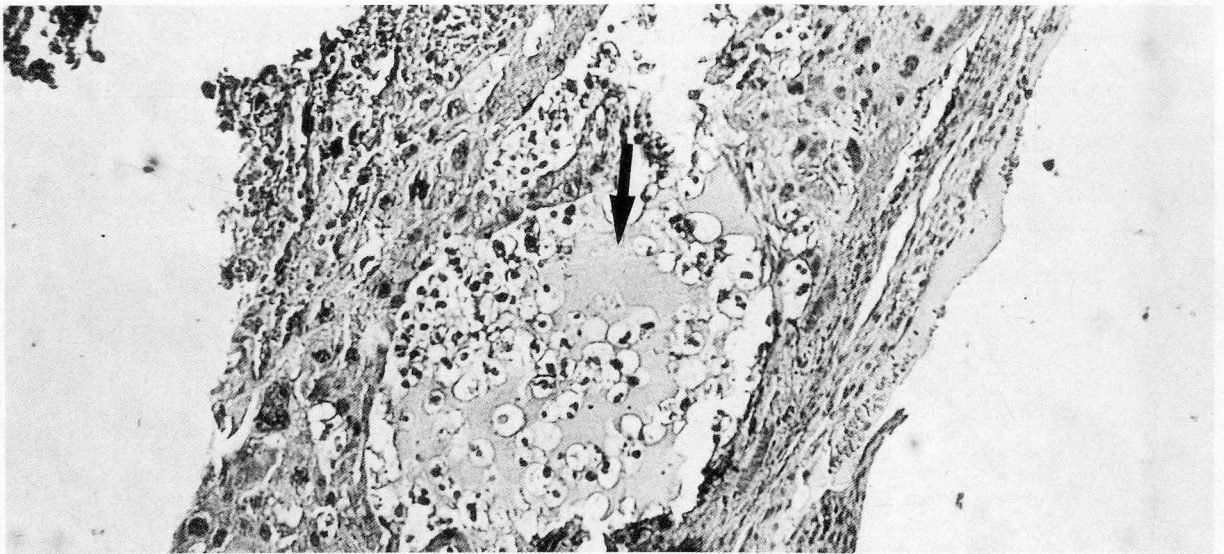


FIGURA 4. Corteza cerebelosa de un feto de 18 días del grupo Control, mostrando cierta regularidad y uniformidad de la capa germinal externa (E.G.L.).

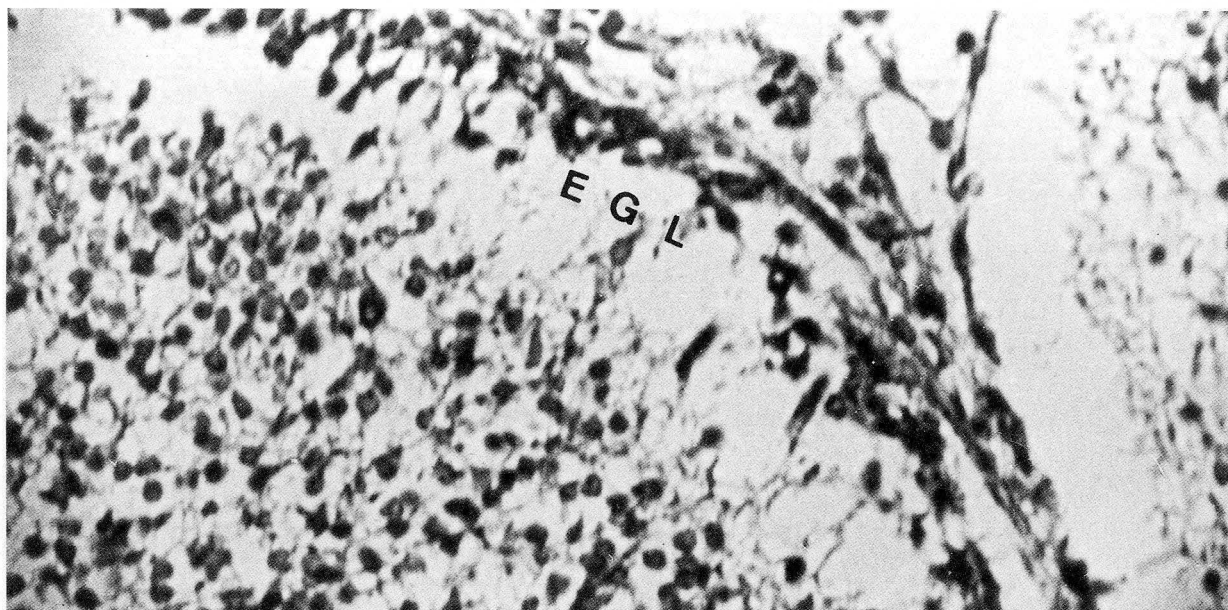


FIGURA 5. Detalle de la corteza cerebelosa de un feto de 18 días perteneciente al grupo Comida 18 g. La E.G.L. se muestra muy irregular y con poca celularidad.

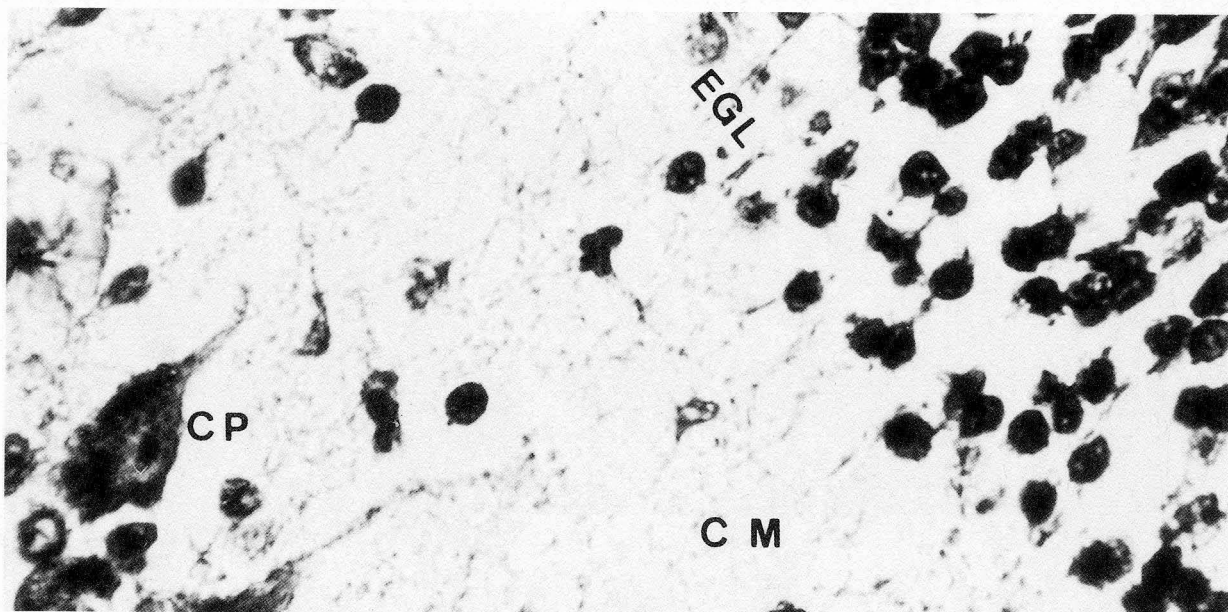


FIGURA 6. Detalle de la corteza cerebelosa de una cría de 10 días del Grupo Control. Se aprecia una abundante E.G.L., una capa molecular (C.M.) bien diferenciada y las células de Purkinje se encuentran bastante definidas (C.P.).

ESTUDIO MORFOMETRICO DE LAS CELULAS L.H. DE RATAS ADULTAS EN AMBOS SEXOS. DIFERENCIAS CON EL PERIODO PERINATAL

MORPHOMETRIC STUDY OF L.H. CELLS OF ADULTS RATS OF BOTH SEXES. DIFFERENCES WITH THE PERINATAL PERIOD

M. RUBIO*, E. CARBAJO, S. CARBAJO**, J. CARVAJAL*, V. ALBERCA**
y R. VAZQUEZ****

* Colegio Universitario de Avila. Universidad de Salamanca

** Departamento de Ciencias Morfológicas. Anatomía Patológica y Biología Celular. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca

RESUMEN

En el presente trabajo se han estudiado los parámetros morfométricos de las células reactivas al suero anti-LH de la hipófisis de ratas de ambos sexos, a los 4 días del nacimiento y en la edad adulta, analizando por separado en el adulto las células agrupadas en la zona sexual. Tras nuestro estudio podemos establecer que existe una correlación directa entre el tamaño celular y el contenido de LH hipofisario, descrito previamente por otros autores, existiendo una relación inversa entre la relación núcleo/citoplásmica y la capacidad de liberación hormonal. Dadas las relaciones existentes entre los parámetros morfométricos y el estado funcional de la célula, el hecho de que las células LH en la zona sexual sean de mayor tamaño que en el resto de la pars distalis permite sugerir que estas células constituyen un pool de almacenamiento hormonal.

PALABRAS CLAVE: Hipófisis. Células LH. Periodo perinatal. Madurez. Estudio morfométrico. Rata.

SUMMARY

We have studied, in this work, the morphometric parameters of the cells which are reactive to serum anti-LH of the hypophysis of rats in both sexes, after their fourth day of their birth and during their adult age analysing separately the grouped cells of the sexual zone. We can establish, after our study, that there is a straight correlation between the cellular size and the content of the hypophyseal LH, as previously described by other authors, existing an inverse nucleo/citoplasmic ratio and the hormonal liberation capacity. Accepted the existing relations between the morphometric parameters and the functional status of the cell, due to the fact that the LH cells in the sexual zone are of bigger size than those in the pars distalis, we are permitted to suggest that these cells may constitute a pool of hormonal storage.

KEY WORDS: Hypophysis. LH cells. Perinatal period. Maturity. Morphometric study. Rat.

Introducción

Desde los primeros estudios sobre las células gonadotropas hipofisarias, se conocía que, bajo determinadas condiciones experimentales, como la castración (Purves y Griesbach, 1951), se modificaba el tamaño de estas células. Mediante estudios gravimétricos de dispersados celulares hipofisarios, Deneff y col. (1978) relacionaron el tamaño de las células basófilas con su capacidad para el almacenamiento y la liberación hormonal y, posteriormente, Childs y col. (1987) observaron, en la rata hembra, que el tamaño de las células gonadotropas varía a lo largo del ciclo estrual, en relación con la actividad secretora de las mismas.

La dinámica de la secreción de LH es diferente en ambos sexos. En ratas adultas el contenido hormonal es mayor en la hipófisis de los machos, mientras que la capacidad de secreción es mayor en las hembras, invirtiéndose parcialmente esta relación en las ratas de 4 días (Watanabe 1986b). En el presente trabajo se plantea el estudio morfométrico de las células gonadotropas reactivas al suero anti-LH en ratas de ambos sexos, a los 4 días de edad y posteriormente en la edad adulta, con el ánimo de precisar cuáles son sus parámetros morfométricos y poder relacionarlos con las diferencias funcionales establecidas por otros autores.

Por otra parte, sabiendo que en la rata adulta las células gonadotropas se encuentran dispersas en la pars distalis (PD), aunque son más numerosas en el polo anterior y zona dorsal de ésta, donde constituyen la *zona sexual* (Purves y Griesbach 1951), se ha considerado el estudio diferencial de las células LH de esta zona en el adulto, dada su estrecha relación con los vasos porta (Baker y col. 1973) y teniendo en cuenta que la proximidad de las células gonadotropas a estos vasos puede condicionar su tamaño y estado funcional (Fellman y col. 1982).

Material y Métodos

Se han utilizado 8 ratas Sprague-Dawley de 4 días (4 machos y 4 hembras), pertenecientes todos ellos a la misma camada y 8 animales adultos (90-100 días), 4 machos y 4 hembras, de la misma cepa. Los animales estuvieron bajo las condiciones standard del animalario (fotoperíodo de luz diurna y oscuridad nocturna y libre acceso a comida y agua). En las hembras adultas, se determinó el estado del ciclo estrual por frotis vaginal, seleccionando para el experimento las que estaban en fase de proestro.

Todos los animales fueron sacrificados por decapitación. En los animales de 4 días, tras la sección de la calota craneana, se extrajo la hipófisis junto con los elementos adyacentes de la base del cráneo, fijando el conjunto por inmersión en una solución de Bouin-Hollande durante 16 horas. Al término del periodo de fijación se diseccionó cuidadosamente la hipófisis con la ayuda de una lupa binocular Wild-Heerbrugg. En los animales adultos se obtuvieron los bloques hipotálamo-hipófisis que también se fijaron, durante cuatro días, en la misma solución.

Tras la fijación, las piezas fueron deshidratadas, incluidas en parafina y posteriormente cortadas sagitalmente, obteniéndose secciones de 5 μm , estudiando selectivamente las correspondientes a la porción intermedia de la hipófisis (Fig. 1a).

Para la tinción inmunocitoquímica se aplicó el procedimiento de la peroxidasa-antiperoxidasa (PAP) descrito por Sternberger y col. (1970) utilizando suero anti-h-LH (Dako) (1:1.200).

Para el análisis morfométrico se ha utilizado un planímetro digital Apple conectado a un microscopio Leitz Dialux 20 EB mediante una cámara de vídeo, habiéndose desarrollado los soportes lógicos en nuestro laboratorio. La magnificación final para la medida de las células fue de 4.400 x. De este modo se han obtenido el área celular (AC) y área nuclear (AN) de al menos 200 células reactivas por grupo, obteniéndose como parámetro derivado la relación núcleo/citoplásmica (RNC).

En los animales de 4 días, se procedió al barrido sistemático de las secciones hipofisarias registrando aquellas células en las que tanto el contorno celular como el nuclear estaban bien definidos, independientemente de la intensidad de tinción. En los animales adultos, siguiendo el mismo criterio, se estudiaron por separado las células de la zona sexual (porciones anterior y dorsal de la PD), y las de la zona pósterio-ventral (Fig. 1b).

Para la valoración de la densidad numérica (DN = número de células reactivas/100 μm^2) se contaron todas las células, independientemente de la intensidad de tinción y de la presencia o ausencia de imagen nuclear, en al menos 12 secciones completas de cada grupo del experimento.

Se calcularon las medidas de dispersión de todos estos parámetros y se aplicó, para el estudio estadístico, el test *t* de Student.

Resultados

En ambos sexos, a los 4 días de edad, las células LH se localizaron fundamentalmente en la zona ventral de la PD, estando la zona dorsal prácticamente despoblada en los machos y con algunos elementos celulares dispersos en las hembras (figs. 2a y 2b). El número de células inmunorreactivas (DN) fue mayor ($p < 0.01$) en hembras (DN = 0.290 ± 0.087) que en machos (DN = 0.159 ± 0.005).

El análisis de los parámetros morfométricos de las células LH de estos animales (tabla I) mostró que el AC es mayor ($p < 0.01$) en las hembras que en los machos, sin que existieran diferencias significativas entre el AN y la RNC en ambos sexos.

En los animales adultos las células reactivas se encontraron distribuidas por toda la PD, siendo evidente una mayor concentración de células en la zona sexual (figs. 2c y 2d). La DN, similar en machos y hembras (machos DN = 0.538 ± 0.209 y hembras = 0.529 ± 0.258) fue mayor ($p < 0.01$) en éstos que en los animales de 4 días. En este grupo, las células LH presentaron mayor AC y AN ($p < 0.01$) en los machos que en las hembras, siendo mayor en estas últimas la RNC. A su vez, las células LH de la zona sexual presentaron mayor AC e igual AN que las de la zona póstero-ventral en ambos sexos; no obstante, la RNC fue similar para las células de ambas zonas en los machos pero mayor en las de la zona póstero-ventral en las hembras (Tabla I).

Cuando se comparan los resultados obtenidos en los animales adultos y en los de 4 días, se observa que las células LH de machos y hembras presentan mayor AC y AN y menor RNC en el adulto que en el periodo postnatal.

Discusión

Los resultados morfométricos de este trabajo nos permiten relacionar el tamaño celular y la RNC de las células LH con las diferencias referidas por otros autores en el ritmo de almacenamiento/liberación hormonal de LH.

Se ha descrito que el ritmo de liberación de LH es mayor en la rata hembra adulta que en el macho (Tang y Tang, 1979; Loughlin y col., 1984) y que el contenido hipofisario de LH es 2.5 veces mayor en el macho que en la hembra (Watanabe, 1986b). Dado que en ambos sexos el número de células gonadotropas ha resultado ser similar, observación que coincide con la verificada por Dada y col., (1983), podemos considerar que el sustrato físico para la mayor reserva hormonal de la hipófisis del macho radica en la mayor área citoplásmica que éstos presentan, lo cual se corresponde con el mayor AC y menor RNC encontrados en los machos al compararlos con las hembras.

En concordancia con lo anterior, en los animales de 4 días de edad se invierte la relación observada en el adulto entre los dos sexos, ya que en este periodo el AC de las células LH es mayor en las hembras. El mayor contenido hipofisario de LH en la hembra de 4 días con respecto al macho (Döhler y col., 1977; Watanabe y col., 1985) no depende sólo del tamaño celular, sino que también contribuye el mayor número de células inmunorreactivas, estando ampliamente documentada la relación que, entre contenido hormonal y número de células gonadotropas, existe en los periodos perinatal y postnatal (Watanabe, 1986a; Campbell y col., 1987).

Independientemente del sexo, la RNC ha sido considerablemente mayor en los animales de 4 días, dato por el que se puede presumir que en esta edad la relación almacenamiento/liberación hormonal es mayor que en el animal adulto. En relación con estos datos, Döhler y col. (1977) describieron que en los primeros 20 días tras el nacimiento la secreción de LH en la rata hembra se caracteriza por escaso almacenamiento y extensiva liberación, proporción que sería también aplicada a los machos, aunque es necesario considerar que en éstos la capacidad de síntesis hormonal a los 4 días es menor que en las hembras (Watanabe y col., 1985).

La mayor concentración de células gonadotropas en la zona de entrada de los vasos porta hipofisarios (Baker y col., 1973) podría ser debida a un mayor aflujo de estímulos hipotalámicos a estas zonas. En estrecha relación con esta hipótesis, Baertschi (1980) demostró que tras el estímulo eléctrico del tracto hipotálamo-hipofisario se registraba un incremento inmediato de la actividad del K^+ extracelular en el lóbulo neural. Este incremento estaba también presente, aunque con cierto retraso, en las zonas anterior y dorsal de la PD, pero no se evidencia en el resto de la glándula.

Posiblemente debido a los factores antes mencionados, se ha encontrado en nuestro trabajo que, en la zona ántero-dorsal de la PD (zona sexual), donde tanto en machos como en hembras son más altos los contenidos de LH y FSH (Schafer y McShann, 1974), es mayor el tamaño de las células LH que en la zona pósterio-ventral. Estos resultados difieren de los mostrados por estudios precedentes (Poole y Komegay, 1982; Dada y col., 1984) que no encontraron diferencias en el tamaño de las células gonadotropas de distintas zonas hipofisarias, radicando posiblemente la disparidad de los resultados en los criterios seguidos para la selección de las áreas de estudio.

Del contraste entre los resultados morfométricos obtenidos en este trabajo y los resultados analíticos hallados por otros investigadores, podemos concluir que existe una estrecha relación entre el tamaño de las células LH y su contenido hormonal, y que la relación núcleo/citoplásmica es fundamentalmente un índice de la capacidad de liberación hormonal. Por otra parte, el significado funcional del acúmulo de células gonadotropas en la zona sexual, dada la particular respuesta que estas células tienen frente a factores estimuladores e inhibidores de la secreción de LH (Rubio, 1987), podría relacionarse con la existencia de un compartimento de almacenamiento hormonal, sin embargo, para aclarar este aspecto, sería necesaria la realización de un meticuloso estudio funcional, en el que se pueda seguir, paso a paso, la dinámica del proceso de síntesis y liberación hormonal.

BIBLIOGRAFIA

- BAERTSCHI, A.J. (1980): Portal vascular route from hypophysial stalk/neural lobe to adenohypophysis. *Am. J. Physiol.* **239**: 463-469.
- BAKER, B.L.; PIERCE, J.G.; CORNELL, J.S. (1973): The utility of antisera to subunits of TSH and LH for immunochemical staining of the rat hypophysis. *Am. J. Anat.* **135**: 251-268.
- CAMPBELL, G.I.; KOHN, J.D.; DADA, M.O.; BLAKE, C.A. (1987): An immunohistochemical study of adenohypophyseal cells containing follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone during the phase of selective follicle-stimulating hormone release in postnatal female rats. *Cell Tissue Res.* **250**: 689-693.
- CHILDS, G.V.; UNABIA, G.; TIBOLT, R.; LLOYD, J.M. (1987): Cytological factors that support nonparallel secretion of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone during the estrous cycle. *Endocrinology* **121**: 1801-1813.
- DADA, M.O.; CAMPBELL, G.T.; BLAKE, C.A. (1983): A quantitative immunocytochemical study of the luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone cells in the adenohypophysis of adult male rats and adult female rats throughout the estrous cycle. *Endocrinology* **113**: 970-984.
- DADA, M.O.; CAMPBELL, G.T.; BLAKE, C.A. (1984): Pars distalis cell quantification in normal adult male and female rats. *J. Endocrinol.* **101**: 87-94.
- DENEFF, C.; HAUTEKEETE, E.; DE WALS, R. (1978): Monolayer cultures of gonadotrophs separated by velocity sedimentation: heterogeneity in response to luteinizing hormone releasing hormone. *Endocrinology* **103**: 736-747.
- DÖHLER, K.D.; VON ZUR MÜLEN, A.; DÖHLER, U. (1977): Pituitary luteinizing hormone (LH), follicle stimulating hormone (FSH) and prolactin from birth to puberty in female and male rats. *Acta Endocrinol.* **85**: 718-728.
- FELLMANN, D.; BRESSON, J.L.; CLAVEQUIN, M.C.; BUGNON, C. (1982): Quantitative immunocytochemical studies on the gonadotrophs isolated from the pituitary of the male rat. *Cell Tissue Res.* **224**: 137-144.

- LOUGHLIN, J.S.; NADDAFF, P.G.; BADGER, T.M. (1984): LH responses to LHRH in perfused pituitary cell culture: sex differences in the rat. *Am. J. Physiol.* **246**: 145-152.
- POOLE, M.C.; KORNEGAY, W.D. (1982): Cellular distribution within the rat adenohypophysis: a morphometric study. *Anat. Rec.* **204**: 45-53.
- PURVES, H.D.; GRIESBACH, W.E. (1951): The site of thyrotrophin and gonadotrophin production in the rat pituitary studied by McManus-Hotchkiss staining for glycoprotein. *Endocrinology* **49**: 244-264.
- RUBIO, M. (1987): Cambios morfológicos de las células gonadotropas hipofisarias tras la administración de opiáceos endógenos. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca.
- SCHAFER, S.J.; McSHAN, W.H. (1974): Radioimmunoassay determination of gonadotropic hormone content in different regions of male and female rat adenohypophyses. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **146**: 546-548.
- STERNBERGER, L.A.; HARDY, Jr. P.H.; CUCULIS, J.J.; MEYER, H.G. (1970): The unlabeled antibody-enzyme method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in the identification of spirochetes. *J. Histochem. Cytochem.* **18**: 315-333.
- TANG, L.K.; TANG, F.Y. (1979): Sex difference in LH response to LHRH and DBcAMP and effect of 17 β -estradiol. *Am. J. Physiol.* **23**: E216-221.
- WATANABE, Y.G. (1986a): Correlative study on sex differences in pituitary luteinizing hormone content and the number of immunoreactive luteinizing hormone cells in perinatal rats. *Biol. Neonate* **49**: 337-343.
- WATANABE, Y.G. (1986b): Sex differences in pituitary LH storage and release in LHRH-stimulated pubertal rats. A correlative immunohistochemical and radioimmunoassay study. *Cell Tissue Res.* **243**: 509-515.
- WATANABE, Y.G.; TAKAGI, Y.; KUMAMOTO, Y. (1985): A correlative radioimmunoassay and immunohistochemical study of LHRH-induced LH depletion in the anterior pituitary of male and female neonatal rats in vitro. *Cell Tissue Res.* **240**: 95-100.

MACHOS			HEMBRAS		
4 DIAS					
	χ	σ		χ	σ
AC	75.654 \pm	14.740		86.584 \pm	22.078
AN	18.480 \pm	4.618		19.542 \pm	5.226
RNC	0.334 \pm	0.102		0.311 \pm	0.103
ADULTOS (Global)					
	χ	σ		χ	σ
AC	146.818 \pm	43.865		118.117 \pm	29.328
AN	26.012 \pm	6.973		23.898 \pm	5.966
RNC	0.218 \pm	0.072		0.265 \pm	0.089
ADULTOS (Zona sexual)					
	χ	σ		χ	σ
AC	154.045 \pm	45.520		125.004 \pm	29.806
AN	26.237 \pm	6.743		24.092 \pm	5.596
RNC	0.216 \pm	0.073		0.246 \pm	0.078
ADULTOS (Pósterio-ventral)					
	χ	σ		χ	σ
AC	132.366 \pm	40.556		104.495 \pm	28.372
AN	25.566 \pm	7.432		23.512 \pm	6.796
RNC	0.224 \pm	0.069		0.304 \pm	0.111

TABLA I. Parámetros morfométricos de las células LH en los distintos grupos del experimento. Los valores se expresan en mm^2 como media \pm desviación standard. (AC = área celular, AN = área nuclear, RNC = relación núcleo-citoplásmica).

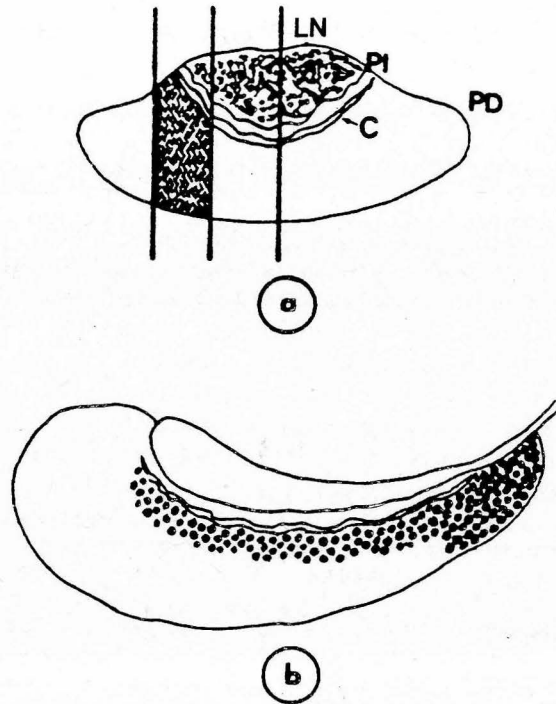


FIGURA 1. a) Representación de una sección frontal de la hipófisis en la que dos planos parasagitales individualizan la zona intermedia de la PD (rayado), sobre la que hemos realizado este estudio. Estos planos están próximos a los límites medial y lateral de la PI. (PD: Pars Distalis; PI: Pars Intermedia; LN: Lóbulo Neural).
 b) Representación de una sección sagital en la zona intermedia de la PD, en la que se diferencian las zonas ántero-dorsal o zona sexual (punteado) y póstero-ventral.

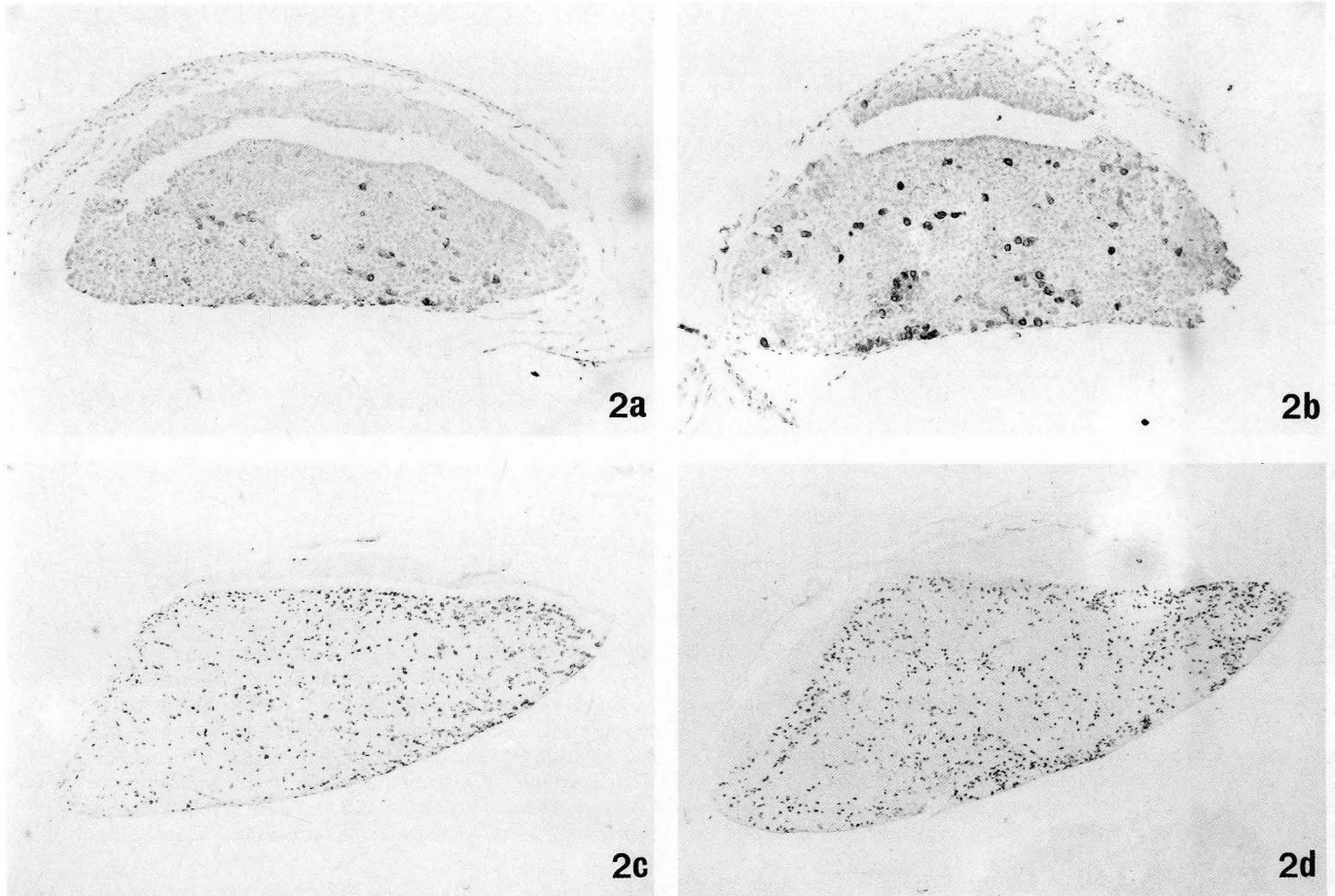


FIGURA 2. Secciones sagitales de la Hipófisis en las que se aprecia la distribución de las células LH en machos (Fig. 2a) y hembras (Fig. 2b) a los cuatro días del nacimiento. Las células reactivas aparecen fundamentalmente en la porción ventral de la PD. En ratas adultas (machos, fig. 2c y hembras, fig. 2d), se observa una mayor concentración de las células en la zona ántero-dorsal.
Figs. 2a y 2b: 340x
Figs. 2c y 2d: 112x

REPERCUSIONES MORFOLOGICAS EN LA PARS DISTALIS Y PARS INTERMEDIA DE LA HIPOFISIS TRAS EL TRASPLANTE DE TEJIDO ADRENAL EN RATAS ADRENALECTOMIZADAS BILATERALMENTE

MORPHOLOGICAL REPERCUSSIONS IN THE PARS DISTALIS AND INTERMEDIA OF THE PITUITARY GLAND AFTER ADRENAL TISSUE TRANSPLANTATION IN BILATERAL ADRENALECTOMIZED RATS

R. SARRIA, J. LOSADA, F. PEREZ y F. DOÑATE

Departamento de Neurociencias. Sección de Anatomía. Facultad de Medicina y Odontología. Universidad del País Vasco / Eus-kal Herriko Unibertsitatea. Leioa. Vizcaya.

RESUMEN

Hemos estudiado a microscopía óptica los cambios morfológicos en la pars distalis e intermedia de hipófisis en ratas adrenalectomizadas bilateralmente y auto o allotrasplantadas con tejido adrenal en el interior de un asa yeyunal aislada. Tras el autotrasplante se observan a los 15 y 30 días modificaciones del número y tamaño de las células corticotropas de la pars distalis. En la pars intermedia de estos animales, observamos un incremento en la actividad mitótica de los intermediocitos 15 días después del autotrasplante. Treinta días después del autotrasplante encontramos en el lóbulo intermedio un tipo celular fusiforme con un núcleo basal y material coloide en posición apical a la que se adosa una célula de soma triangular. El número y tamaño de las células corticotropas y la actividad mitótica de los intermediocitos fueron a los 15 y 30 días del allotrasplante similares a los de ratas normales.

PALABRAS CLAVE: Adrenalectomía. Autotrasplante y Allotrasplante de tejido adrenal. Pars distalis. Pars intermedia.

SUMMARY

We have studied the morphological changes in the pars distalis and intermedia of the hypophysis in rats bilaterally adrenalectomized and auto or allotransplanted with adrenal tissue into isolated jejunum loops, using light microscopy. Fifteen and thirty days after the autorasplant, changes in the number and size of the corticotrophs cells were observed. In the pars intermedia of these animals, we observed an increase in the mitotic activity of the intermediate cells 15 days after the autotrasplant. Thirty days after the autotransplant we found in the intermediate lobe a fusiform cellular type with a basal nucleus and colloid material in an apical position, close to a cell with triangular soma. The number and size of the corticotrophs cells and the mitotic activity of the intermediate cells were similar to those observed in intact rats 15 and 30 days after the allotrasplant.

KEY WORDS: Adrenalectomy. Autotrasplant and Allotrasplant of adrenal tissue. Pars distalis. Pars intermedia.

Introducción

El sistema adrenocortical está organizado en forma de un arco reflejo (Dallman y cols., 1987). La señal de partida en el sistema procede de la alteración en la actividad de receptores específicos ubicados a diferentes niveles, inducida por una serie de estímulos conocidos como estresantes y por el ritmo circadiano endógeno en actividad basal. Esta alteración va a llegar a través de vías neurales centrales hasta las neuronas que sintetizan CRF (Factor liberador de hormona adrenocorticotropa) y AVP (Arginina-Vasopresina). Los somas de estas neuronas se hallan localizados en la porción parvocelular del núcleo paraventricular del hipotálamo (PVN), núcleo que va a constituir el centro procesador e integrador del sistema. La vía eferente está determinada en un principio por los axones de estas neuronas, que van a transportar y liberar estos factores en la circulación portal hipofisaria de la eminencia media, a través de la cual van a llegar hasta las células corticotropas de la pars distalis, determinando la síntesis y posterior secreción en la circulación sistémica de hormona adrenocorticotropa (ACTH).

Las células corticotropas, que representan del 3 al 10% de la celularidad total de la pars distalis de la rata (Westlund y cols., 1985), son unas células que exhiben una morfología irregular, pudiendo ser angulares, estrelladas u ovoideas y que contienen gránulos dispersos por el citoplasma densamente empaquetados o, bien, localizados periféricamente (Childs y cols., 1987).

Tras la adrenalectomía, estas células van a experimentar un incremento en su actividad celular, lo que va a condicionar su hipertrofia a expensas tanto del núcleo como del citoplasma, fenómeno que ya fue descrito por Siperstein y Miller en 1969. Esta hipertrofia se ve acompañada por un incremento en la síntesis de ACTH, siendo esta 30 veces superior a la normal a los 5 días de la operación (Gemzell y cols., 1951). Además de esta actividad corticotropa incrementada, va a existir un estímulo para su proliferación habiéndose observado que su número se duplica 10 días después de la operación (Rappay y Makara, 1981), hecho atribuido a la continua estimulación por el CRF hipotalámico (Gertz y cols., 1987).

El parénquima de la pars intermedia de la rata está constituido por unas células con ligeras variaciones de tamaño, que poseen un núcleo oval o redondeado y una gran basofilia citoplasmática. En ocasiones, también existen unas células grandes cuyo protoplasma se halla relleno de material pigmentario (Sarrat, 1967).

Con este trabajo se pretende mostrar las posibles repercusiones morfológicas que sobre la hipófisis pudieran tener los auto y allotrasplantes de tejido adrenal en ratas adrenalectomizadas, y así comprobar la utilidad de estos trasplantes en la restitución del normal funcionamiento del arco reflejo (receptores específicos-hipófisis-tejido adrenal).

Material y métodos

Hemos utilizado 40 ratas hembra de 200 gramos de peso en las que hemos aislado un segmento intestinal, segmento que una vez restablecida la continuidad del tránsito digestivo ha sido desplazado fuera de la cavidad abdominal y ubicado a nivel subcutáneo.

Transcurridos 15 días desde la realización de la plastia, en los 32 animales supervivientes hemos realizado una adrenalectomía bilateral por vía posterior, siendo las suprarrenales así obtenidas, tras ser limpiadas de la grasa circundante, depositadas en placas de PETRI con suero fisiológico.

La mitad de los animales biadrenalectomizados (16 animales) fueron sometidos a un autotrasplante de sus dos cortezas suprarrenales, previa separación instrumental de la corteza de la médula adrenal. En los restantes 16 animales biadrenalectomizados, se procedió a la realización de un allotrasplante con glándulas suprarrenales obtenidas de ratas neonatales (1 día de edad).

Tanto en el grupo de las ratas autotrasplantadas como en el de las allotrasplantadas, la mitad de los animales fueron sacrificados a los 15 días y la otra mitad a los 30, siendo 2 animales de cada uno de estos subgrupos inoculados intraperitonealmente con 3 microcurios/gr. de peso de Timidina- H^3 , 30 minutos antes de su muerte.

Tras proceder a la extracción de sus hipófisis, estas fueron fijadas en formol al 4%, e incluidas en parafina, para obtener cortes seriados de 9 micras, que posteriormente fueron teñidos con el Tricrómico de Martins.

Las hipófisis de los animales que fueron inyectados con timidina- H^3 , tras ser fijadas con formol al 4% e incluidas en parafina, fueron procesadas para su estudio autorradiográfico según el método de Cowan (1972) (emulsión Ilford K5 y revelado D-19) y teñidas con violeta de cresilo.

Resultados

En el grupo de animales autotrasplantados la pars distalis muestra a los 15 días (Fig. 1a) unas células corticotropas cuyo número, en todos los campos microscópicos estudiados, es sensiblemente menor que en las ratas exclusivamente biadrenalectomizadas. Estas corticotropas van a exhibir un tamaño variable. Las de mayor tamaño poseen las mismas características que las células de adrenalectomía: citoplasma de contornos nítidos, gran núcleo y nucléolo manifiesto. Entre las de menor tamaño, alternan unas células intensamente picnóticas con otras en las que el núcleo va a ocupar la mayor parte del soma celular.

Distribuidas por toda la superficie de la pars distalis hemos observado la presencia de unas células de pequeño tamaño, cuya morfología recuerda a la del tipo celular secretor existente en la pars intermedia, con contornos nítidos y un material granular típicamente dispuesto (Fig. 1b).

La pars intermedia de estos animales muestra una alta actividad mitótica en la mayoría de sus células (Fig. 1c), fenómeno que también fue demostrado cuando los animales fueron inoculados con Timidina- H^3 , 30 minutos antes de su muerte.

Transcurridos 30 días desde la realización del autotrasplante, reaparece una densidad celular corticotropa propia de los animales adrenalectomizados, corticotropas que muestran las mismas características que las células de adrenalectomía. Además, distribuido por toda la superficie adenohipofisaria, existe abundante material coloide, que forma unas veces pequeños quistes y en otras ocasiones grandes formaciones quísticas con células de descamación en su interior (Figs. 2a y 2b).

En el lóbulo intermedio de estos animales no se observan modificaciones que sugieran alteraciones en la actividad secretora por parte de sus células. Lo que sí se aprecia es la existencia de unas células con una morfología fusiforme, núcleo basal y abundante material coloide en posición apical, a las que se hallan adosadas unas células de soma triangular y larga prolongación citoplasmática apical que en unas ocasiones se dirige hacia el tabique y en otras hacia el interior del parénquima (Figs. 2c y 2d).

En el grupo de animales allotrasplantados no se observan ni a los 15 ni a los 30 días alteraciones de la densidad y características estructurales, ni de las corticotropas adenohipofisarias, ni de las células de la pars intermedia. Lo que sí se aprecia es la existencia de abundante material coloide disperso por la superficie adenohipofisaria (Fig. 3).

Discusión

Los hallazgos mostrados en la adenohipófisis a los 15 días del autotrasplante creemos que pueden ser consecuencia de un bloqueo funcional de los receptores CRF, descritos por Koch y Buch-Lutzer en 1983 y por Wynn y cols. en 1983, a nivel de las células corticotropas, lo que conduciría a una menor actividad de este tipo celular.

La actividad mitótica observada en muchas de las células de la pars intermedia de estos animales pudiera deberse a modificaciones en la actividad de fibras dopaminérgicas, que originándose en el núcleo arcuato regulan la secreción de estas células (Chronwall, 1985); o, bien, que estas células al estar dotadas de receptores CRF (Aguilera y cols., 1987) podrían ser directamente estimuladas por los elevados niveles de CRF con el fin de producir

una mayor cantidad de CLIP (Corticotropin-Like intermediate peptide), péptido análogo al CRF, con el fin de compensar la menor actividad de las corticotropas de la pars distalis.

La reaparición a los 30 días del autotrasplante de una densidad celular corticotropa similar a la de las ratas adrenalectomizadas, corticotropas que además muestran sus mismas características estructurales, junto al abundante material coloide disperso por toda la superficie adenohipofisaria, creemos que podría indicar un restablecimiento de la función corticotropa adenohipofisaria.

Las células de soma triangular podrían estar relacionadas con unas células de morfología estrellada descritas en la pars intermedia del mono rhesus (Kumar y Vincent, 1974), de embriones de ratón (Euremius y Jarskar, 1975), de anfibios (Perryman y Bagnara, 1978) y de la rata (De Bold y cols., 1980 y 1984), que poseen un escaso pericarion y numerosas prolongaciones citoplasmáticas, y que estarían en relación con el transporte de sustancias desde los vasos existentes en los tabiques de tejido conjuntivo a las células de la pars intermedia, o desde las células de la pars intermedia a los vasos de los tabiques.

Las alteraciones observadas en la pars distalis e intermedia de los animales autotrasplantados y la aparente normalidad morfológica en la de los allotrasplantados nos sugieren que los animales toleran mejor el allotrasplante de tejido adrenal neonatal que el autotrasplante de tejido adrenal cortical adulto.

BIBLIOGRAFIA

- AGUILERA, G.; MILLAN, M.A.; HAUGER, R.L.; CATT, K.J. (1987): Corticotropin-releasing factor receptors: distribution and regulation in brain, pituitary, and peripheral tissues. *Ann. NY. Acad. Sci.* **512**: 48-66.
- CHILDS, G.V. (1987): Cytochemical studies of the regulation of ACTH secretion (1987). *Ann. NY. Acad. Sci.* **512**: 249-274.
- CHRONWALL, B.M.; MILLINGTON, W.R.; MUELLER, G.P.; GRIFFIN, W.S.T.; ROBERTS, J.L.; O'DONOHUE, T.L. (1985): Dopaminergic modulation of peptide secretion and anatomical features of the intermediate lobe of the rat pituitary gland. *Soc. Neurosci. Abstr.* **11**, **1**: 360.
- COWAN, W.M.; GOTTLIEB, D.I.; HENDRICKSON, A.E.; PRICE, J.L.; WOOLSEY, T.A. (1972): The autoradiographic demonstration of axonal connections in the central nervous system. *Brain. Res.* **37**: 21-51.
- DALLMAN, M.F.; AKANA, S.F.; CASCIO, C.S.; DARLINGTON, D.N.; JACOBSON, L.; LEVIN, N. (1987): Regulation of ACTH secretion. *Recent. Prog. Hormone. Res.* **43**: 113-173.
- DE BOLD, A.J.; DE BOLD, M.L.; KRAICER, J. (1980): Structural relationships between parenchymal and stromal elements of the pars intermedia of the rat adenohipophysis is demonstrated by extracellular space markers. *Cell. Tiss. Res.* **207**: 347-349.
- DE BOLD, M.L.; DE BOLD, J.; KRAICER, J. (1984): Demonstration of stellate cells of the pars intermedia of the pituitary gland using a new silver impregnation technique. *Stain Technology.* **59**, **1**: 49-52.
- EUREMIUS, L.; JARSKAR, L. (1975): Electron microscope studies on the intermediate lobe of the embryonic mouse. *Cell Tiss. Res.* **164**: 11-26.
- GERTZ, B.J.; CONTRERAS, L.N.; Mc COMB, B.J.; KOVACS, K.; TYRRELL, J.E.; DALLMAN, M.F. (1987): Chronic administration of corticotropin-releasing factor increases corticotroph number. *Endocrinology.* **120**: 381-388.
- KOCH, B.; LUTZ-BUCHER, B. (1983): Characterization and modulation of high affinity receptors for CRF in the pituitary gland. *Neuroendocrinol. Lett.* **5**: 227-231.
- KUMAR, T.C.; VINCENT, D.S. (1974): Fine structure of the pars intermedia in the rhesus monkey, *Macaca mulatta*. *J. Anat.* **118**: 155-169.
- PERRYMAN, E.K.; BAGNARA, J.T. (1978): Extravascular transfer within the anuran pars intermedia. *Cell. Tiss. Res.* **193**: 297-313.
- RAPPAY, G.; MAKARA, G.B. (1981): A quantitative approach to trace the corticotrophs in culture after adrenalectomy. *Histochemistry.* **7**: 131-136.
- SARRAT, R. (1967): Modificaciones de la pars intermedia y posterior de la hipófisis producidas por el hambre y la sed. *An. Anat.* **37**: 59-98.
- SIPERSTEIN, E.R.; MILLER, K.J. (1969): Further cytophysiologic evidence for the identity of the cells that produce adrenocorticotrophic hormone. *Endocrinology.* **86**: 451-486.
- WESTLUND, K.N.; AGUILERA, G.; CHILDS, G.V. (1985): Quantification of morphological changes in pituitary corticotropes produced by in vivo corticotropin-releasing factor stimulation and adrenalectomy. *Endocrinology* **116**, **1**: 439-445.

REPERCUSIONES MORFOLOGICAS

WYNN, P.; AGUILERA, G.; MORREL, J.; CATT, K. (1983): Properties and regulation of high affinity receptors for corticotropin-releasing factor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **116**: 602-608.

Correspondencia: R. Sarría
Departamento de Neurociencias
Facultad de Medicina y Odontología
Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea
Leioa. España

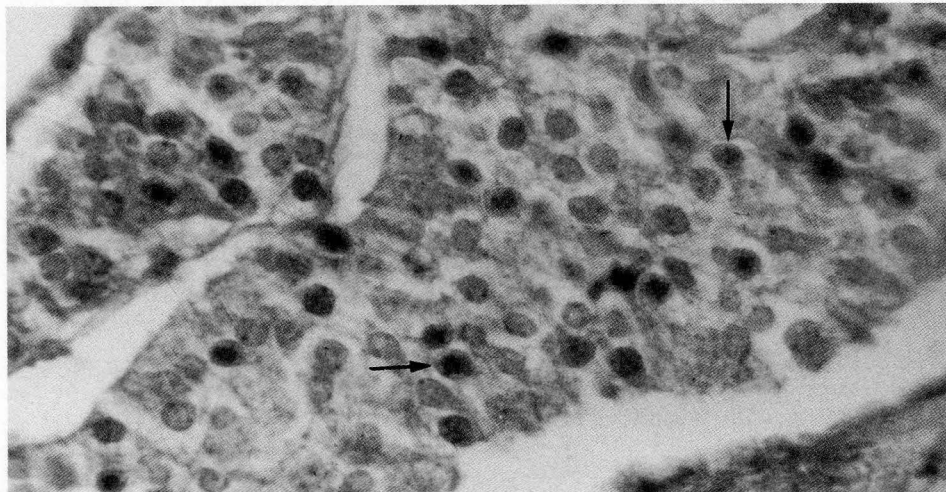
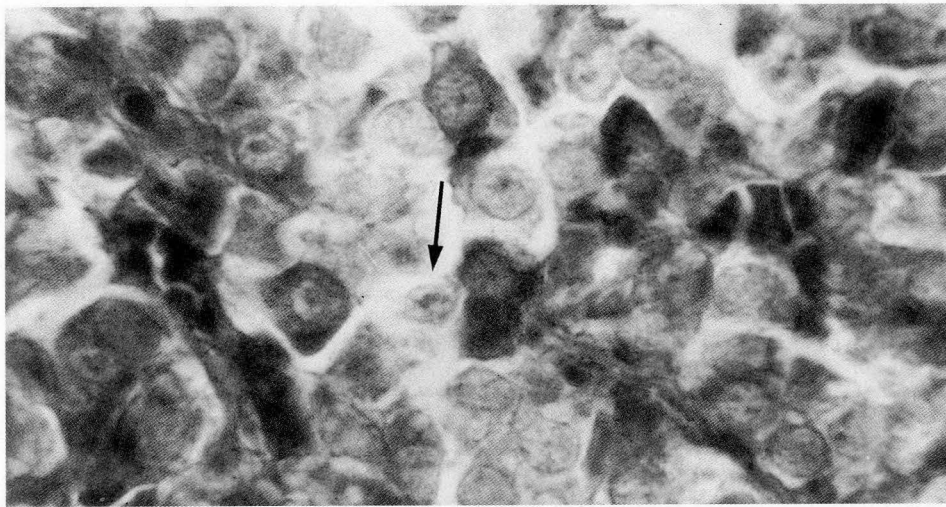
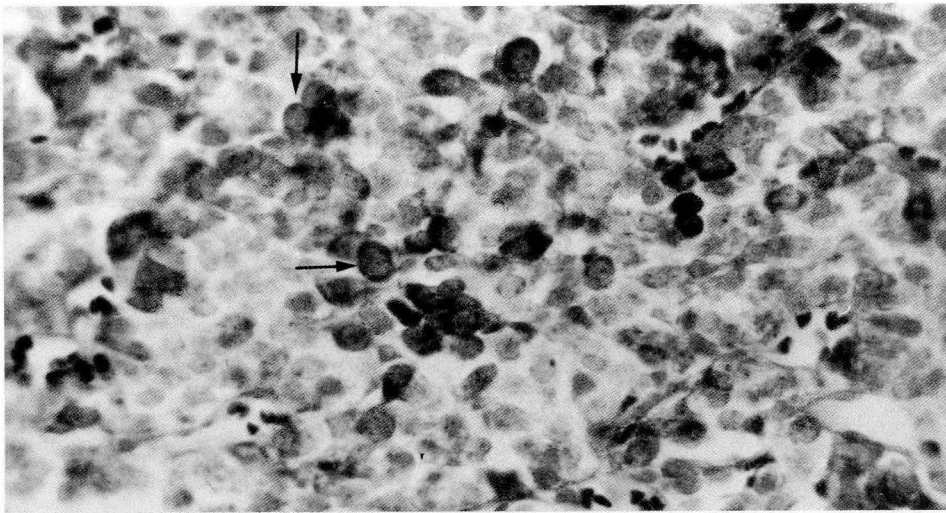
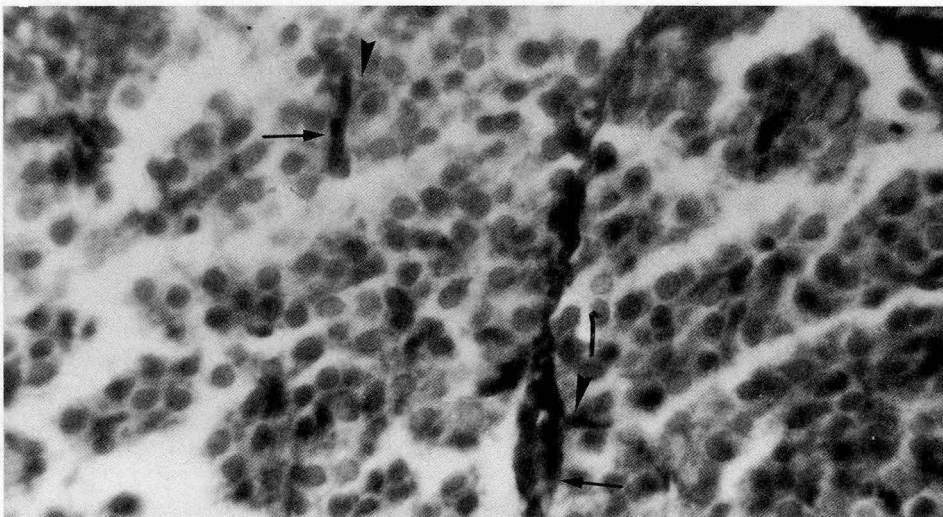
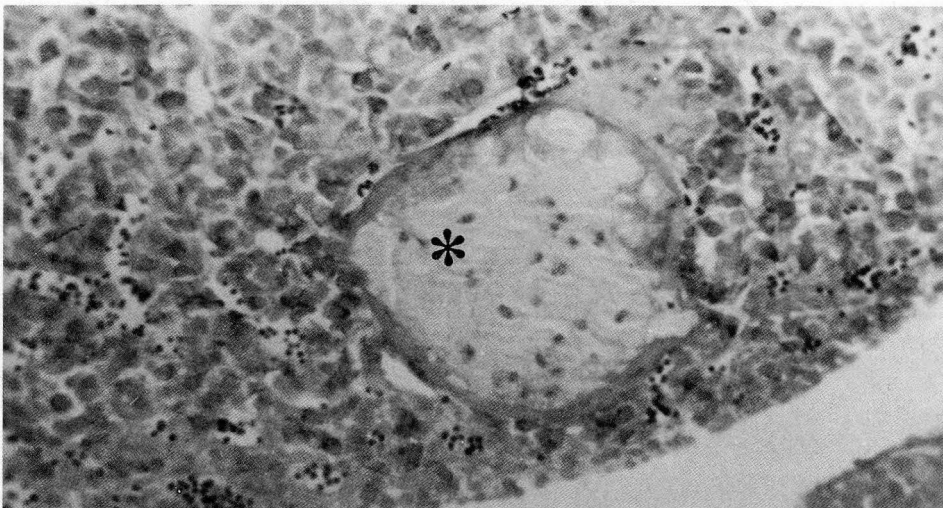
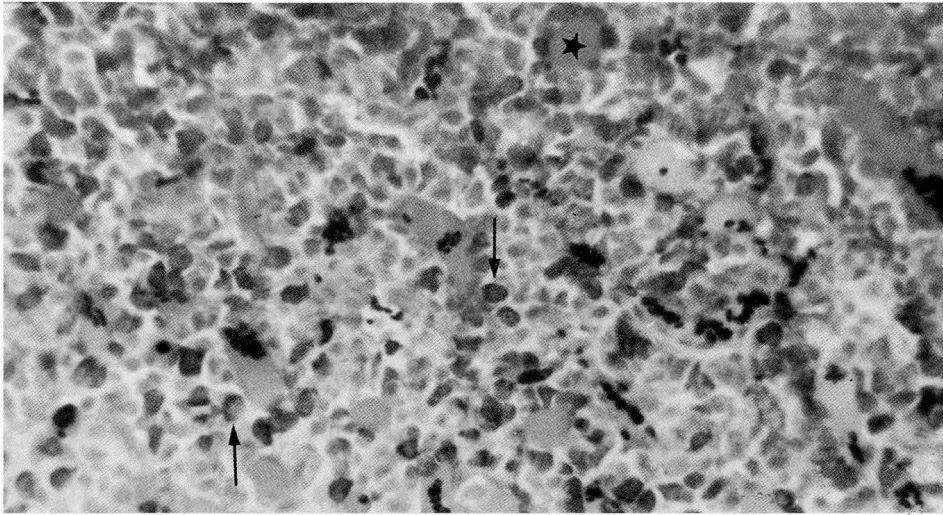


FIGURA 1a. Rata. Pars Distalis. Autotrasplante 15 días. Células corticotropas disminuidas en número y mostrando variados tamaños (flecha). Aumento del negativo x 400.

FIGURA 1b. Rata. Pars Distalis. Autotrasplante 15 días. Células con contornos nítidos y material granular en su interior que recuerdan a las células secretoras de la pars intermedia (flecha). Aumento del negativo x 1000.

FIGURA 1c. Rata. Pars Intermedia. Autotrasplante 15 días. Mitosis en el tipo celular secretor básico de la pars intermedia (flecha). Aumento del negativo x 400.



- FIGURA 2a. Rata. Pars distalis. Autotrasplante 30 días. Reparición de una densidad celular corticotropa propia de animales adrenalectomizados (flecha). Presencia de abundante material coloide (estrella). Aumento del negativo x 250.
- FIGURA 2b. Rata. Pars distalis. Autotrasplante 30 días. Voluminosa formación quística con células descamadas en su interior (asterisco). Aumento del negativo x 100.
- FIGURA 2c. Rata. Pars intermedia. Autotrasplante 30 días. Células fusiformes con núcleo basal y material coloide en posición apical (flecha). Células de soma triangular y larga prolongación citoplasmática apical dirigiéndose al tabique o bien al interior del parénquima (cabeza de flecha). Aumento del negativo x 400.

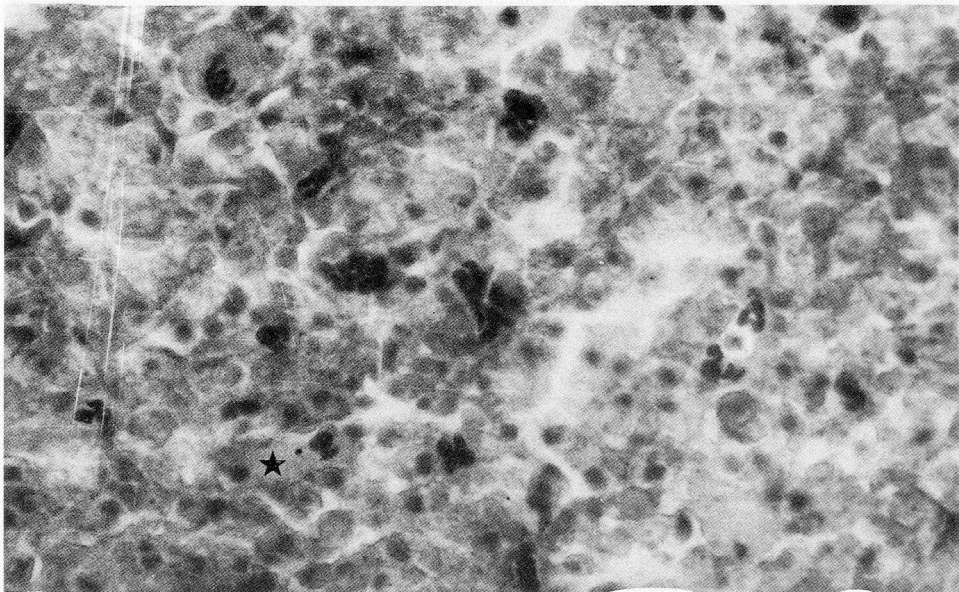
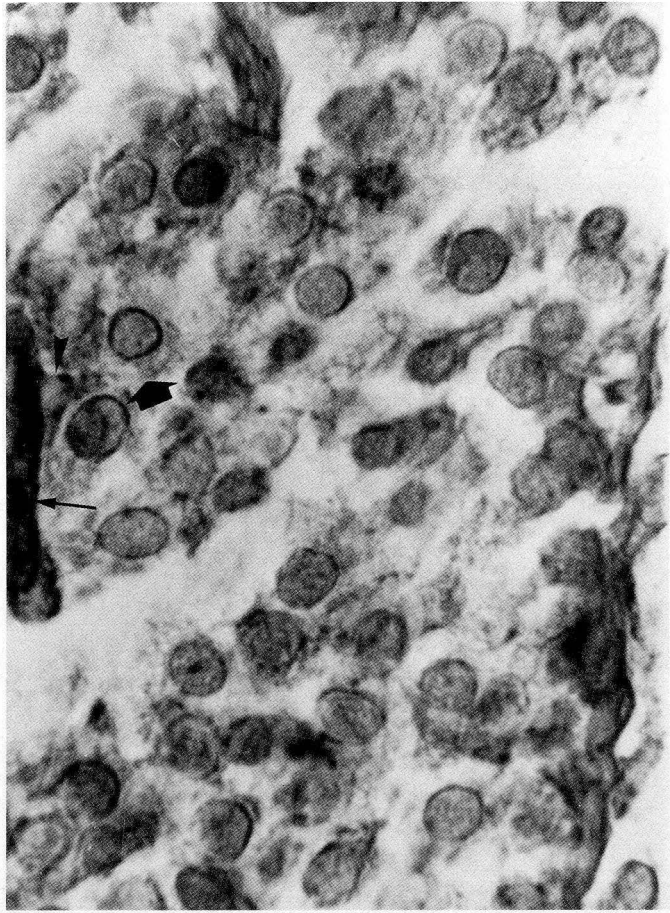


FIGURA 2d. Rata. Pars intermedia. Autotrasplante 30 días. Magnificación de la figura anterior, observándose con mayor nitidez el acoplamiento entre la célula fusiforme (flecha) y la célula triangular (cabeza de flecha), así como la prolongación apical de esta última (flecha gruesa). Aumento del negativo x 1000.

FIGURA 3. Rata. Pars distalis. Allotrasplante 15 días. Normalidad de las células corticotropas. Material coloide (estrella). Aumento del negativo x 400.

CRECIMIENTO CRANEOFACIAL DEL COBAYA

CRANIOFACIAL GROWTH IN THE GUINEA-PIG

A. SOLANO, I. SMITH-FERNANDEZ, A. SMITH-FERNANDEZ,
I. FERNANDEZ-ORTEGA, y P. SALINAS

Departamento de Morfología Normal y Patológica, Ciencias
Morfológicas I, Cátedra de Anatomía. Facultad de Medicina. Uni-
versidad de Málaga.

RESUMEN

En anteriores trabajos hemos determinado en algunas especies de laboratorio (rata blanca "Wistar" y conejo "California") la llamada *edad crítica* de su desarrollo, caracterizada por un cambio en el crecimiento craneoencefálico que de "tipo fetal" pasaría a ser un tipo de crecimiento orientado hacia la configuración definitiva del animal adulto; esta edad crítica está alrededor del 14 día de vida postnatal en la rata y del 9 día también postnatal en el conejo. Para nosotros la edad crítica significaría el término de la *peidomorfosis*.

Para el cobaya (*cavia porcellus*), motivo de este trabajo, la *edad crítica*, creemos que, de presentarse, sería, a diferencia de las otras dos especies, una edad prenatal.

PALABRAS CLAVE: Crecimiento craneofacial. Edad crítica. Peidomorfosis. Cobaya. Rata. Conejo.

SUMMARY

In previous works we have determined in some laboratory species –"Wistar" white rat and "California" rabbit– the so called *critical age* of their development, which is characterized by a change in the craniofacial growth which from "Foetal type" would turn into a sort of growth going towards the final configuration of the adult animal. This critical age is around the 14th. postnatal day for the rat and the 9th. postnatal day for the rabbit. We consider this critical age as the end of the *paedomorphosis*.

For the guinea-pig (*cavia porcellus*), subject of the present work, we think the *critical age*, if there is one, would be at a prenatal age, unlike the other two studied species. So the guinea-pig would finish its *paedomorphosis* at a prenatal age.

KEY WORDS: Craniofacial growth. Critical age. Paedomorphosis. Guinea-pig. Rat. Rabbit.

Introducción

En anteriores trabajos hemos estudiado el desarrollo postnatal del cráneo y encéfalo en algunas especies comúnmente empleadas en la experimentación en Medicina. En el conejo (14, 15) y la rata blanca (16, 17) he-

mos detectado una *edad crítica*, durante la lactancia. Esta edad indicaría el cese de la peidomorfosis del animal, a nivel cefálico. En ella el crecimiento de tipo fetal o infantil, seguido por el animal desde época prenatal, es sustituido por un crecimiento de tipo juvenil hasta alcanzar, progresivamente, las características del animal adulto.

El cobaya, según Mallecourt (9), se diferencia en su desarrollo de otros animales, entre los que se encuentran los citados anteriormente, fundamentalmente en que las características del recién nacido indican haber alcanzado durante la época prenatal cotas reconocibles en el adulto.

En este trabajo pretendemos detectar la *edad crítica* del desarrollo cráneo-encefálico en el cobaya.

Material y métodos

Cobayas (*cavia porcellus*) hembras. Edades: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 días postnatales y adultas. Se estudian en radiografías y fotografías de cráneos seccionados sagitalmente: índices, ángulos y superposición de contornos. *Índices* (16): cefálico, facial y cúbico de Manouvrier. *Ángulos* (16): esfenoideal de Welcker (nasion.agujero óptico.basion), facial de Rivet (nasion.prostion.basion), basilar de Broca (nasion.basion.opisthion), occipital de Broca (nasion.opisthion.basion), y la diferencia entre los ángulos prostion (P).proyección último molar en la bóveda craneal (B).último molar (M) (P.B.M., Tabla I) y punto medio del foramen magno (FM).proyección último molar en la bóveda craneal (B).último molar (M) (FM.B.M, Tabla I) propuesto por nosotros (16). Las medidas de índices y de algunos de los ángulos están basadas en las medidas recomendadas por Companioni (2) y Testut (19).

Superposición de contornos: igualando previamente en todas las edades la distancia entre dos puntos craneométricos (16); para este trabajo, inion-espina nasal anterior.

Configuración externa de sus encéfalos: para analizar posibles ocultamientos ["supresiones" Smith-Agreda (13) y Spatz (18)] de estructuras por el crecimiento de otros niveles encefálicos vecinos.

Comportamiento: marcha, recuperación del decúbito prono, enderezamiento de la cabeza, emisión de sonidos. También hemos analizado otras características como la aparición del pelo y la apertura de la hendidura palpebral.

Resultados

Ángulos (Tabla I y Gráfica)

De Welcker: presenta una diferencia de $7,2^\circ$ entre el animal de 1 día y el adulto a favor de éste. Esta curva es oscilante, rebasa el valor del adulto a los 9 días y vuelve a ser menor para los animales de 11 y 13.

Facial de Rivet, disminuye $9,3^\circ$ haciéndolo también de una manera oscilante pero menos marcada que par el de Welcker. En todas las edades analizadas el valor se mantuvo siempre por encima del adulto.

Occipital de Broca: oscilante como los anteriores; es mayor en el adulto en $8,5^\circ$ habiendo llegado a ser superior al del adulto el día 13.

Basilar de Broca: oscilante como los tres anteriores, es prácticamente igual en el animal de 1 día y en el adulto, con $1,7^\circ$ entre el animal de 1 día y el adulto a favor de éste. Desciende acusadamente el día 3, rebasando al del adulto el día 9.

La diferencia entre los ángulos craneales y faciales: está siempre a favor de los faciales, habiendo una diferencia de $4,7^\circ$ entre el animal de 1 día y el adulto a favor de éste. Siendo el crecimiento, como los ángulos reseñados anteriormente, ligeramente oscilante, sin que en los días analizados se hayan obtenido datos superiores al del adulto.

Indices (Tabla II y Gráfica)

Facial: se observa un progresivo aumento (24 unidades) de este índice desde el animal de 1 día hasta el adulto, siendo indicativo del alargamiento progresivo de la cara.

Cefálico: se mantiene constante desde el animal de 1 día hasta el de 7, en el que empieza a disminuir hasta alcanzar su mínimo en el adulto (7,62 unidades); es indicativa, esta progresiva disminución del valor, del alargamiento craneal.

Comparando los valores de los índices anteriores (facial y cefálico), en el primero creciente y en el segundo decreciente, se cruzan entre el 7 y 9 día.

Cúbico de Manowrier: como el facial, aumenta progresivamente, siendo, sin embargo, mucho más acusado su valor si comparamos el animal de 1 día y el adulto (92,65 unidades) por estar en razón del tamaño del cráneo.

Superposición de contornos craneofaciales (Fig. 2)

En la superposición de perfiles esqueléticos craneofaciales, tras igualar la longitud inion-espina nasal anterior en todas las edades, podemos admitir que los perfiles de los animales de 1, 3 y 5 días son prácticamente superponibles, apreciándose en el séptimo un aplanamiento de la bóveda (descenso de la bóveda), compensado con un "avance" en terreno facial de la base craneal.

En el noveno día, el área facial ha aumentado, a costa del "retroceso", a los niveles que tenía en el animal de 1 día de la base craneal.

En el animal adulto es muy marcada la disminución del área craneal por aplanamiento de la bóveda y retroceso de la lámina cribosa.

Configuración encefálica (Fig. 1 B,C)

En la rata y el conejo recién nacidos los tubérculos cuadrigéminos se pueden observar fácilmente entre los polos occipitales telencefálicos y el cerebelo. Progresivamente el crecimiento de éste y del telencéfalo los va "suprimiendo" hasta ocultarlos, para ofrecer básicamente la imagen del animal adulto (14, 15, 16, 17). En el cobaya, sin embargo, esta configuración tipo adulto, o definitiva, en que los tubérculos cuadrigéminos han sido ocultados por el telencéfalo y cerebelo es bien manifiesta ya en el animal de 5 días (Fig. 1, C).

Comportamiento

Los animales recién nacidos recuperan el decúbito prono, enderezan la cabeza y en su marcha no arrastran el vientre, tienen una gran hipermotilidad, emiten sonidos al cogerlos, abandonan el nido por sí solos, y su marcha es semejante a la del animal adulto. Por otra parte es interesante reseñar que las hendiduras palpebrales se encuentran abiertas, y los pelos ofrecen el aspecto de los adultos.

Discusión y consideraciones

Nuestro animal de estudio ha sido catalogado por Mallecourt y cols. (9) como animal de primera categoría por considerar que su desarrollo se realiza prenatalmente en contraste con otros animales, entre los que están la rata y el conejo, y en los cuales el desarrollo es muy elemental antes del nacimiento, sobre todo en el aspecto cerebral, como también lo reconocen, además de nosotros, Haglid y cols. (5).

El avanzado grado de desarrollo prenatal en el cobaya de su sistema nervioso central (SNC) se expresaría en los datos que hemos registrado al estudiar en su comportamiento el esquema de marcha, ya equiparable al del animal adulto en el primer día de vida postnatal, no apreciándose por tanto la existencia de una fase previa de "marcha reptante" como señalábamos en los primeros días postnatales para la rata "Wistar" (16, 17) y el conejo "California" (14, 15). También nos parece significativa la apertura precoz de la hendidura palpebral, que se retrasa en la rata alrededor del 14 día, y en el conejo del noveno postnatal. Las ratas están al nacimiento pobremente desarrolladas en su comportamiento y físicamente, mientras que el cobaya recién nacido está bien desarrollado, corriendo de un lado a otro en busca de comida (Rönnbäck) (12). El cobaya, cuya placenta es de tipo discoidal hemocoroidea (Herrero) (17), al nacimiento y como es típico en los mamíferos hystricomórficos en general, puede ser relativamente maduro, con pelo, dientes y ojos abiertos (Percy) (10).

En 1985 (16) describimos el concepto, para el desarrollo del SNC, de *edad crítica*. En la rata y el conejo esta edad se da en los primeros días postnatales, durante la lactancia. A partir de la *edad crítica* cesarían las directrices del crecimiento craneoencefálico "tipo fetal". Por expresarlo de otra manera, cesaría la *peidomorfosis* en las estructuras craneoencefálicas.

Con otros métodos, como son los bioquímicos, Bührdel y cols. (1) señalan la existencia de un crecimiento acelerado del cerebro de la rata o "brain growth spurt". O, en el caso del conejo, Einstein y cols. (3) mediante determinaciones enzimáticas consideran el noveno día como un periodo crítico en el desarrollo, al igual que hicieran Harel y cols. (6) para el conejo de la misma edad, mediante la determinación de la tasa máxima de RNA, DNA y acumulación proteica. Estos autores sugieren que el periodo de máximo crecimiento cerebral puede ser un modelo para investigación de factores perinatales que afecten al desarrollo cerebral.

En cuanto a la proteína específica del cerebro S-100, en el cobaya recién nacido muestra una distribución heterogénea y similar a la que se ve en el animal adulto. Sin embargo, en la rata comienza a encontrarse entre el 12 y 15 día de vida postnatal y unos días antes en el conejo (Hydén y Rönnbäck) (8).

Refiriéndonos solamente a los datos craneométricos puestos de manifiesto en la *superposición de contornos* craneofaciales, según proponíamos en 1985 (14), obtenidos tras igualar, en las fotografías de los cráneos y de sus radiografías en las distintas edades, la distancia entre dos puntos craneométricos, la *edad crítica* se caracteriza por un aumento manifiesto, a partir de ella, del área ocupada por la cara (esplacnocráneo) en la rata y conejo sobre la del SNC (neurocráneo). Pucciarelli (11) para el caso de la rata considera que los cambios en la estructura craneofacial pueden ser detectados en el desarrollo postnatal, y entre los cambios más importantes se encuentran los relativos al incremento de la región facial. Esta disminución, comparativamente hablando, del neurocráneo se debería, por una parte, a un aplanamiento de la bóveda craneal que de ofrecer un claro trazado convexo se iría gradualmente aplanando; y por otra, a un retroceso de la base craneal (solamente de la lámina cribosa en la rata, y acompañada además de un plegamiento muy marcado para el conejo). Aunque en la rata el aumento facial sobre el neurocráneo es menos llamativo que en el conejo, es, sin embargo, mucho más acusado el descenso o aplanamiento de la bóveda.

En el cobaya asistimos, también, a un aplanamiento de la bóveda y un retroceso de la base muy poco acusado. Este dato recogido en la superposición de contornos coincide con el cruce de los índices cefálico y facial observados (Tabla II) entre los días 7 y 9.

Sin embargo, algo es llamativo si comparamos nuestros resultados obtenidos en la superposición de contornos para el cobaya con los que obtuvimos para la rata y el conejo: proporcionalmente el área del esplacnocráneo y neurocráneo son prácticamente iguales, disminuyendo para el neurocráneo únicamente a costa del aplanamiento de la bóveda y ligero retroceso de la lámina cribosa. Esto queda acusado también en los datos proporcionados por la medición de ángulos (Tabla I), con valores muy próximos entre el animal de 1 día de vida postnatal y el animal adulto; además estos valores son oscilantes, e incluso pueden dar el valor del adulto en alguna edad previa. Estas medidas nos hablan únicamente de pequeños acoplamientos entre el neurocráneo y esplacnocráneo durante el crecimiento postnatal.

La morfología externa del cerebro deberá estar de acuerdo con la configuración del cráneo (Hadziselimović) (4), y es por ello que los cambios producidos en el crecimiento deberán repercutir sobre dicha configuración externa encefálica.

El estudio de la configuración externa (Fig. 1), en la que los polos occipitales telencefálicos han establecido contacto con el cerebelo ocultando ya a los tubérculos cuadrigéminos en el quinto día postnatal, primera fecha

empleada para este estudio y sin que podamos por tanto afirmarlos para edades anteriores, a diferencia de lo que ocurre en la rata y el conejo en los que este ocultamiento acontece en la edad crítica, corrobora lo expuesto anteriormente para los cráneos.

No creemos que en el cobaya se presente la *edad crítica del desarrollo* postnatalmente; de tenerla, ocurriría durante su vida prenatal. El cobaya terminaría su *peidomorfosis* craneoencefálica no en época postnatal, como la rata "Wistar" y el conejo "California", sino en época fetal.

BIBLIOGRAFIA

1. BÜRDHEL, P., KELLER, E., WILLGERODT, H., THEILE, H. (1978): The postnatal development of rat born preterm and postterm. II Liver, brain, heart and kidney. *Biol. Neonate*. **33**: 240-252.
2. COMPANIONI, F.A. (1978): Estudio radiográfico de las dimensiones craneales en la rata. *Rev. Cub. Est.* **15**: 167-171.
3. EINSTEIN, E.R., DALAL, K.B., CSEJTEY, J. (1970): Biochemical maturation of the central nervous system. Part 2 protein and proteolytic enzyme changes. *Brain Res.* **18**: 35-49.
4. HADZISELIMOVIC, H., CUS, M., DILVEROVIC, F. (1978): Contribution to the knowledge of the brain in the newborn. *Acta anat.* **101**: 346-352.
5. HAGLID, K.G., HANSSON, H.A., RÖNNBÄCK, L. (1977): S-100 in the central nervous system of rat, rabbit and guinea-pig during postnatal development. *Brain Res.* **123**: 331-345.
6. HAREL, S., WATANABE, K., LINKE, I., SCHAIN, R.J. (1972): Growth and development of the rabbit brain. *Biol. Neonate*. **21**: 381-399.
7. HERRERO, P.J. (1984): Curso de cría y mantenimiento de animales de experimentación. Pamlab S.L.
8. HYDEN, H., RÖNNBÄCK, L. (1975): S-100 on isolated neurons and glial cells from rat, rabbit and guinea-pig during early postnatal development. *Neurobiology* **5**: 291-302.
9. MALLECOURT, J., EKHOLM, J., VERLEY, R., SCHERRER, J. (1974): Ontogenesis of cortical somesthetic evoked activities in mammals. *Rev. E.E.G. Neurophysiol. Clin.* **411**: 37-52.
10. PERCY, D. (1980): Canadian Council on Animal Care. Guide to the care and use of experimental animals. **2**: Ottawa. Ont.
11. PUCCIARELLI, H.J. (1978): Craniofacial development of the rat with respect to vestibular orientation. *Acta anat.* **100**: 101-110.
12. RÖNNBÄCK, L. (1978): Electrophoretic comparison of the nervous tissue acidic protein pattern during postnatal maturation of rat, rabbit and guinea-pig: I. Polyacrylamide microgel electrophoresis. *IRCS Medical Science* **6**: 248.
13. SMITH-AGREDA, V. (1955): Über die Verteilung der Impressiones gyrorum and der Innerseite des Gehirnschädels des Menschen. Mit Benützung von Endokranialsgüssen. *Deutsche Zeitschrift. f. Nerveilkunde* **173**: 37-68.
14. SOLANO, A. (1985): Contribución al conocimiento del desarrollo encefálico del conejo. *An. Desarr.* **29-65**: 37-55.
15. SOLANO, A., FERNANDEZ ORTEGA, I., SMITH-AGREDA, J.M. (1985): Zur funktionellen Entwicklung des Schädels und des Gehirns von Kaninchen. *Verh. Anat. Ges.* **79**: 587-589.
16. SOLANO, A., MORA, M.J., CILVETI, A., SALINAS, P., CAMPOS, V., FERNANDEZ-ORTEGA, I., SMITH-AGREDA, J.M. (1985): Edad crítica en el crecimiento craneofacial. Un estudio comparativo en roedores. *Histol. Méd.* **1**: 89-94.
17. SOLANO, A., CAMPOS, V., MORA, M.J., SALINAS, P., CILVETI, A., FERNANDEZ-ORTEGA, I., SMITH-AGREDA, J.M. (1986): Veränderungen des Schädels und deren Zusammenhang mit der neuronalen Reifung. Studien an der Ratte. *Verh. Anat. Ges.* **80**: 291-293.
18. SPATZ, H. (1955): Die Evolution des Menschenhirns und ihre Bedeutung für die Sonderstellung des Menschen. *Nachr. Giessener Hochschul.* **25**: 52-74.
19. TESTUT, L., LATARGET, A. (1983): *Anatomía Humana*, 283-300. Salvat. Barcelona.

Correspondencia: Profa. A. Solano
 Cátedra de Anatomía
 Facultad de Medicina
 Campus Teatinos.
 29080 - Málaga. España

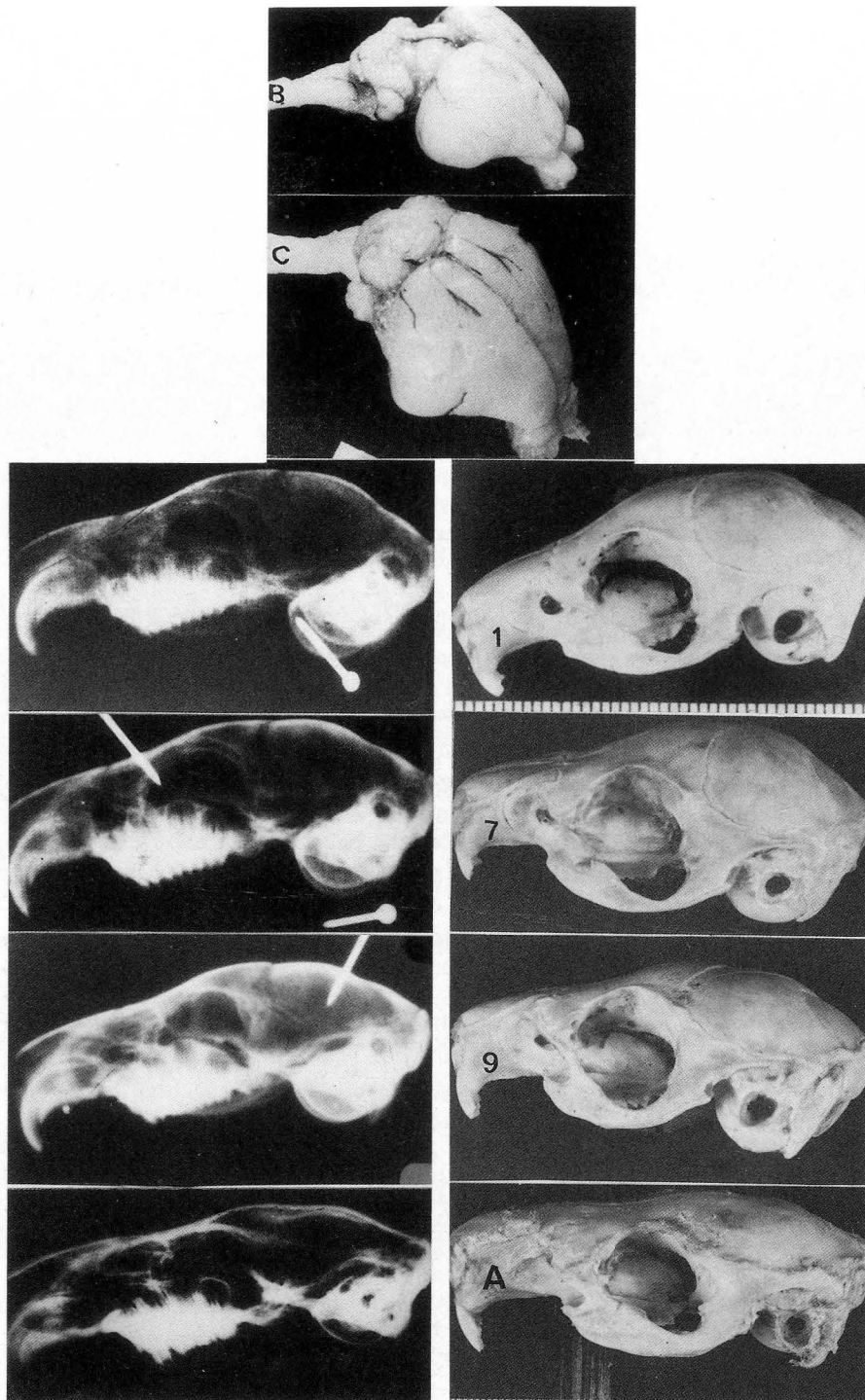


FIGURA 1. B. Encéfalo de conejo de 3 días. C. Encéfalo de cobaya de 5 días. Radiografías y cráneos de cobaya de 1, 7, 9 días y adulto (A). En la fotografía se ha igualado la distancia inion-espina nasal anterior para la superposición de perfiles del esquema de la fig. 2.

GRADOS

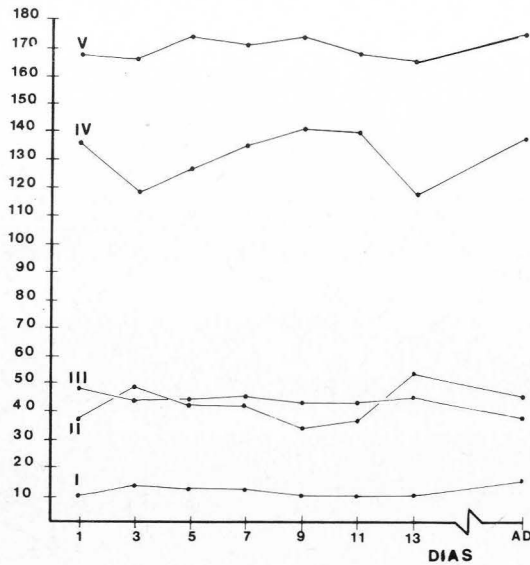


TABLA I

ANGULOS	E		D		A		D		E		S
	1 D	3 D	5 D	7 D	9 D	11 D	13 D	AD			
ESFENOIDAL W.	167°	166°5'	172°5'	170°5'	174°	167°5'	165°	174°2'			
FACIAL R.	48°5'	44°	44°	46°	42°5'	43°	45°	39°2'			
OCCIPITAL B.	36°5'	48°2'	42°5'	42°	34°	37°	53°	45°			
BASILAR B.	137°	123°	129°	135°	140°5'	139°5'	118°	138°78'			
(P.B.M.)	10°f	12°5°f	11°f	11°5°f	10°f	10°f	10°f	14°7°f			
(FM.B.M.)											

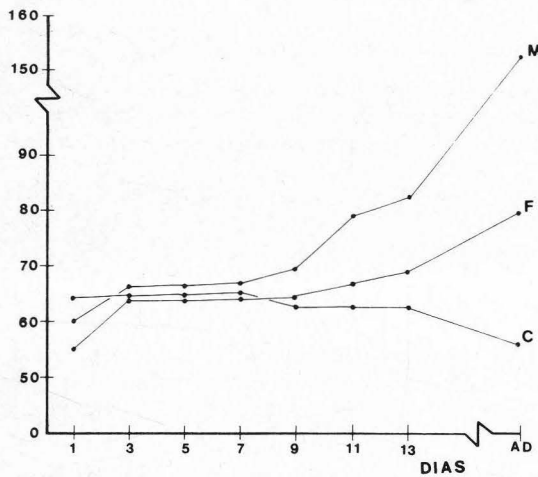


TABLA II

INDICES	E		D		A		D		E		S
	1 D	3 D	5 D	7 D	9 D	11 D	13 D	AD			
FACIAL	55.16	62.5	63	63.5	63.7	65.11	66.6	79.16			
CEFÁLICO	63.3	63.3	63.3	63	62.5	62.2	62.1	55.68			
CÚBICO M.	59.75	64	64.2	64.8	69.4	77.48	81.78	152.40			

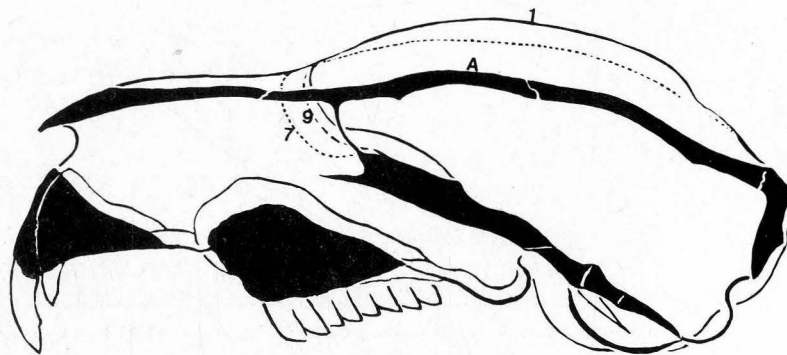


FIGURA 2. Tabla I y gráfica de ángulos: I. Angulo (P.B.M.)-(FM.B.M), II. Occipital de Broca, III. Facial de Rivet, IV. Basilar de Broca, V. Esfenoidal de Welcker, AD. Adulto; Tabla II y gráfica de índices: C. Cefálico, F. Facial, M. Cúbico de Manouvrier; Superposición de perfiles: 1 perfil de animales de 1, 3, 5 días de vida postnatal, 7, 9 y A perfiles de animales de 7, 9 días y adulto respectivamente.

ACTIVIDAD EPILEPTOGENA POR ESTIMULACION QUIMICA DE LA ENCRUCIJADA ESTRIODIAGONAL IZQUIERDA

EPILEPTIFORM ACTIVITY ON CHEMIST STIMULATION OF THE LEFT ENTOPE-DUNCULARIS NUCLEUS

A. VICTORIA, S. TORREGROSA, y E. SMITH-FERRES

Departamento de Ciencias Morfológicas. Facultad de Medicina.
Universidad de Valencia.

RESUMEN

La estimulación química con Lanatósido C de la Encrucijada Estriodiagonal izquierda provoca la aparición de actividad paroxística sobre áreas izquierdas (Ammón y Amigdalino) que se transmite a áreas contralaterales, con posterior generalización y automantenimiento.

PALABRAS CLAVE: Encrucijada Estriodiagonal. Lanatósido C.

SUMMARY

The left *entopeduncularis Nucleus* chemical stimulation with Lanatosid C, provokes the paroxystic activity appearing on left areas (Ammon, Amygdalinum) wich transmits to contralateral areas and later generalization with automaintenance.

KEY WORDS: Entopenducularis Nucleus. Lanatosido C.

Introducción

Numerosos estudios experimentales se están efectuando, intentando ver cómo las estructuras subcorticales responden a distintos estímulos, tanto de naturaleza física como química.

El trabajo que hemos realizado consiste en la estimulación química con Lanatósido C de la Encrucijada Estriodiagonal izquierda y posterior registro electroencefalográfico desde determinadas zonas cerebrales.

Hemos elegido esta Encrucijada porque en ella confluyen núcleos de un extraordinario valor funcional en el substrato del comportamiento y de la conducta: por un lado, la confluencia de la porción más oral de la sustancia reticular de Magun y Rhines con la sustancia reticular diencefálica de Brodal; por otro lado, el núcleo Lenticular, y por último el núcleo Accumbens.

Material y métodos

Preparación del animal: 16 gatos domésticos (de 2,5-4 Kgr.) fueron estudiados. Se anestesiaron con Nembutal i.p. (40 mgr./kgr.). Posteriormente el animal se sitúa en un marco estereotáctico. Tras incidir la piel y musculatura temporal, llegamos al plano óseo y marcamos los puntos de implantación de los electrodos y de la cánula basándonos en el atlas de Horsley-Clarke y de Reinoso, y utilizando el sistema de "unidades relativas" de Escolar.

Para registrar la actividad electrocorticográfica del foco se colocaron dos electrodos de plata virgen clorurada en áreas motoras y visuales. Para el registro profundo del foco se colocaron dos electrodos en los núcleos Amigdalinos y dos en las astas de Ammón, siendo también de plata virgen clorurada.

Una vez implantados los electrodos y fijados, con una resina de secado rápido, los soldamos a una base noval.

La cánula es de acero inoxidable y la implantamos en la Encrucijada estriodiagonal izquierda, concretamente a una "unidad relativa" desplazada al lado izquierdo de la octava división retronasiana, a 23 mm. de profundidad. (Una unidad relativa equivale a la dieciseisava parte de la distancia nasion-inion).

Tras la intervención quirúrgica comprobamos radiográficamente la correcta colocación de los electrodos.

El registro electroencefalográfico lo realizamos en el interior de una cámara de Faraday. Los canales empleados para el registro han sido: dos para áreas Visuales, dos para astas de Ammón, dos para núcleos Amigdalinos y dos para áreas Motoras. La actividad cortical y subcortical es seguida durante horas a fin de poner en evidencia las anomalías epilépticas. Cuando éstas no sobrevienen espontáneamente, procederemos a instilar por la cánula 0,02 mgr. de Lanatósido C.

Histología

Tras sacrificar al animal, una vez finalizada la experiencia, extraemos la masa encefálica que fijaremos en Formol al 10% (4 a 6 semanas). Posteriormente incluimos en Parafina para teñir finalmente con las técnicas de Nissl y Gallocianina.

Resultados

La instilación de 0,02 mgr. de Lanatósido C nos provoca la aparición de actividad Theta sobre áreas izquierdas que posteriormente se difunde al resto de áreas, lentificando el trazado por potenciales Theta-Delta puntiforme en forma de salvas, que es sensible a la reacción de atención.

Tras una segunda dosis de Lanatósido C, comienza a aparecer actividad Delta sobre el hemisferio izdo. (Fig. 1), que se difunde contralateralmente, lentificando el trazado a un ritmo de base Delta polimorfo (Fig. 2). Clínicamente el animal presenta hiperextensión, que coincide en el registro con salvas de polipuntas. Cesa a los 3 minutos, manifestándose clínicamente por relajación de esfínteres, persistiendo la actividad Delta a 3 c/seg. de predominio izquierdo.

En otras ocasiones se inicia una actividad de puntas sobre Ammón izquierdo que, rápidamente, transmite a Amigdalino izquierdo y ambos Visuales, para, segundos después, generalizarse (Fig. 3), siendo maximales en áreas izquierdas (coincide con una crisis tónica del animal). A los 30 segundos cede con una breve fase clónica (Fig. 4), quedando el animal inmóvil, sentado y maullando. Estas crisis se automantienen, iniciándose siempre en Ammón izquierdo y derivando hacia el resto del hemisferio.

Discusión

Gastaut y Roger, inyectando crema de alúmina a nivel subtalámico, desencadenan descargas críticas, que fueron siempre provocadas por inyección de Cardiazol. Estas descargas estaban constituidas por puntas localizadas en la región temporal, que en raras ocasiones se difundían sobre el hemisferio homolateral, no transmitiéndose en ningún caso al hemisferio contralateral.

Por el contrario, los resultados obtenidos en nuestra experiencia difieren de los anteriormente expuestos, ya que la gran mayoría de descargas paroxísticas obtenidas se han transmitido al hemisferio contralateral.

Conclusión

La estimulación de la Encrucijada Estriodiagonal izquierda con Lanatósido C provoca una descarga paroxística de alto voltaje en Ammón izquierdo, que se difunde a Amigdalino, Visual y Motor izquierdos y que 30 segundos después, se generaliza (coincidente con una crisis tónica del animal), cediendo 30 segundos después con una breve fase clónica.

BIBLIOGRAFIA

1. BANCAUD, J. et al. (1970): "Functional stereotaxic exploration for Epilepsy". *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* **28**: 85-6.
2. BELCHEVA, I. et al. (1985): "Epileptogenic effect of intracortically applied Kainic acid in the cats. Methods Find". *Expl. Clin. Pharmacol.* **7 (12)**: 611-6.
3. CHUMAN, C. and NEAFSEY, E. (1983): "Propagation of focal cortical epileptiform discharge to the Entopeduncular Nucleus: Effect of Caudate lesions". *Experim. Neurol.* **79**: 152-159.
4. DE LA CUADRA y GIMENEZ CASTELLANOS (1963): "Técnica experimental para la implantación de electrodos permanentes". *An. Anat.*, **12**: 217 y ss.
5. KRETTEK, J.E. and PRICE, J.L. (1977): "Projections from the amygdaloid complex and adjacent olfactory structures to the entorhinal cortex and to the subiculum in the rat and cat". *J. Com. Neurol.*, **172**: 723-752.
6. LEVINE, MS.; HULL and BUCHWALD (1974): "Pallidal and Entopeduncular intracellular responses to Striatal, Cortical, Thalamic, and Sensory Inputs". *Experim. Neurol.* **44**: 448-460.
7. MAKINO, K., TANAKA, T., FUKUDA, H., NAKAI, H. and YONEMASU, Y. (1984): "Regional cerebral blood flow in limbic seizures induced by microinjection of kainic acid into amygdala in cats". *No To Shin-Kei* **36**: 673-9.
8. VICTORIA FUSTER, A. (1973): "Aportaciones al conocimiento de la epilepsia límbica por estimulación intraseptal (estudio en el gato)". Tesis doctoral, pp. 102.

Correspondencia: Dra. Adelina Victoria Fuster
C/ San Agustín, 2º-A
46111 - Rocafort (Valencia) España



FIGURA 1

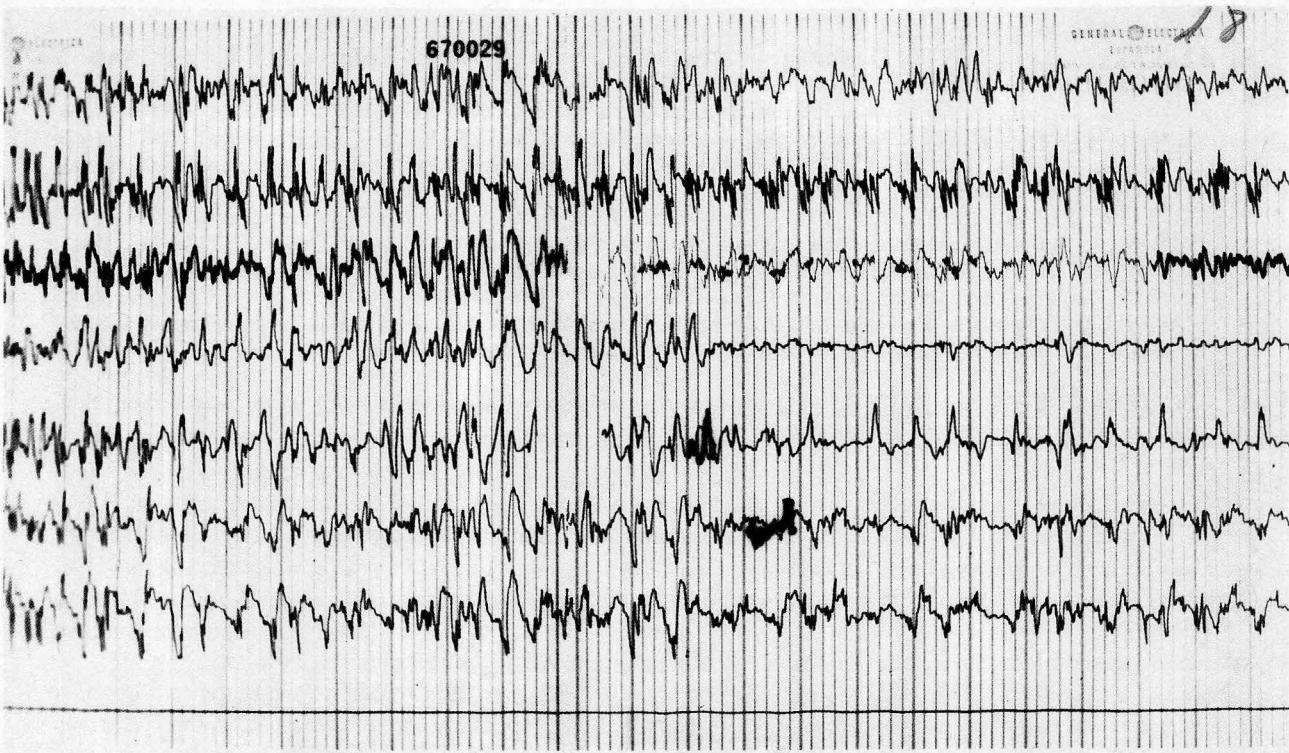


FIGURA 2

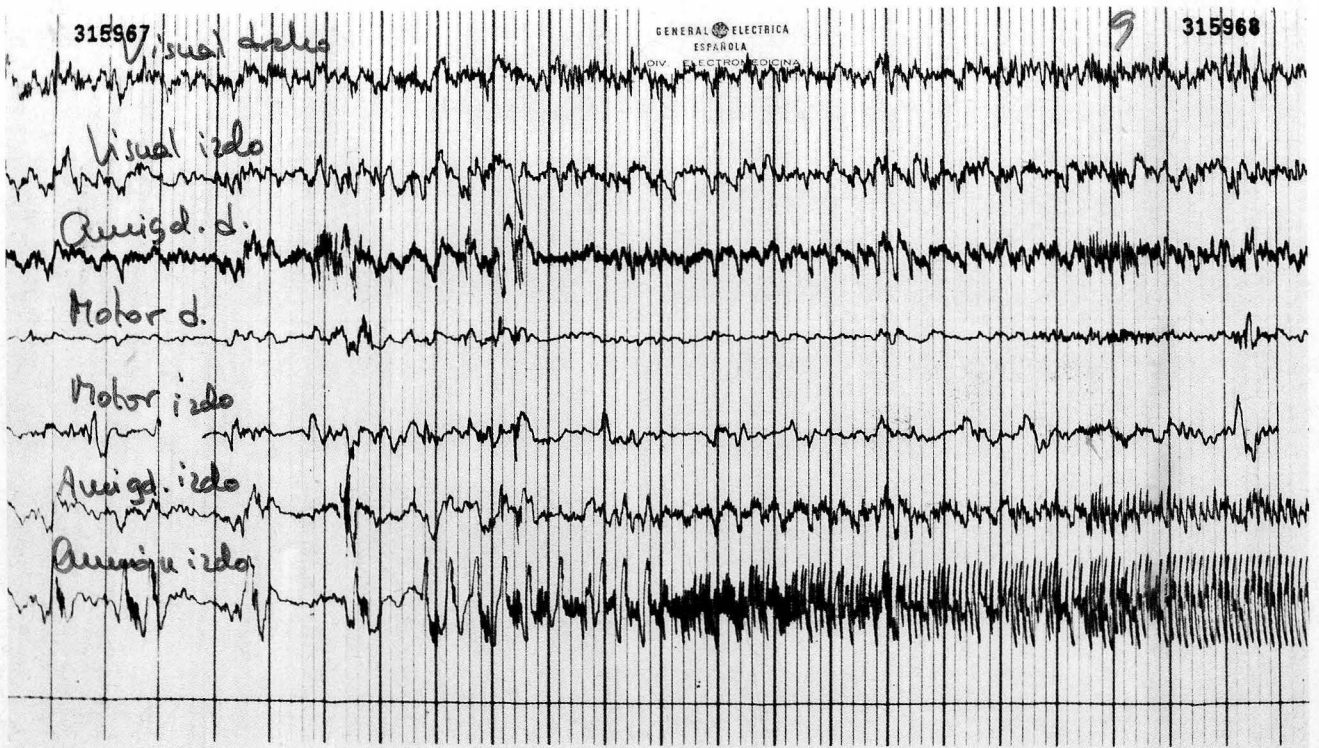


FIGURA 3



FIGURA 4

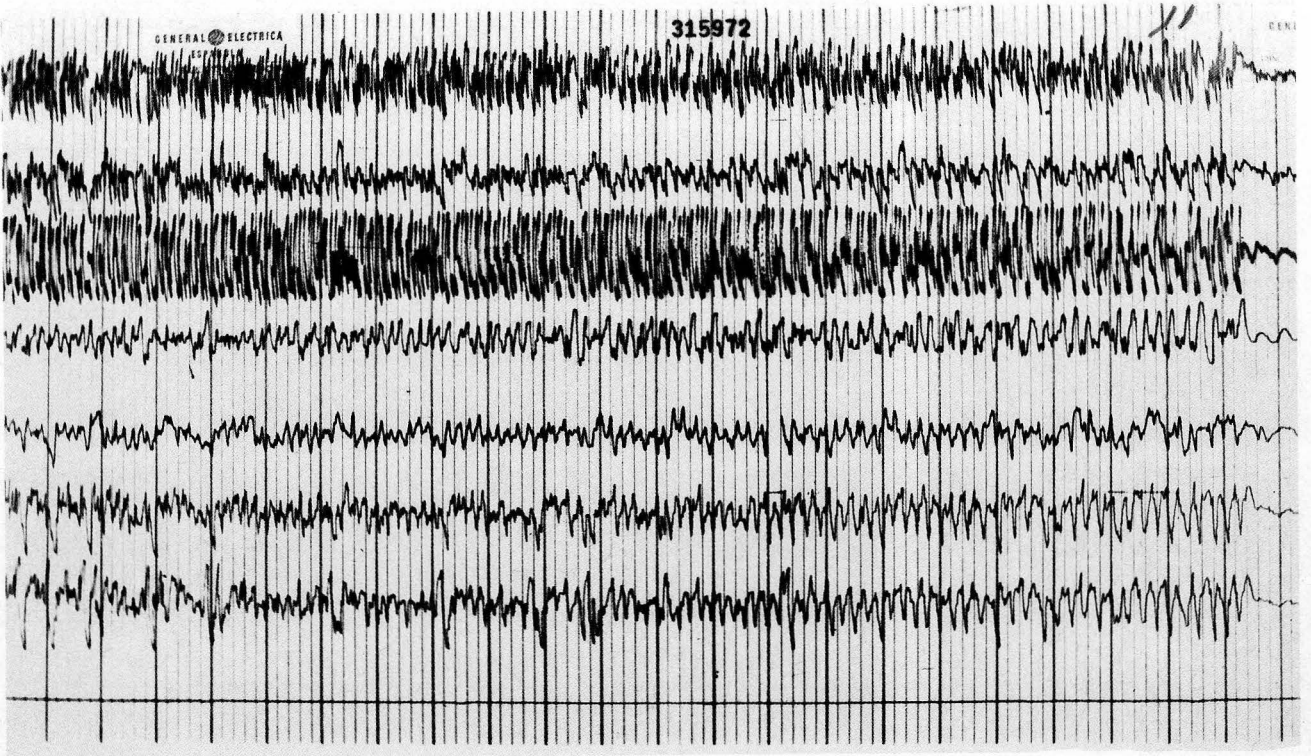


FIGURA 5

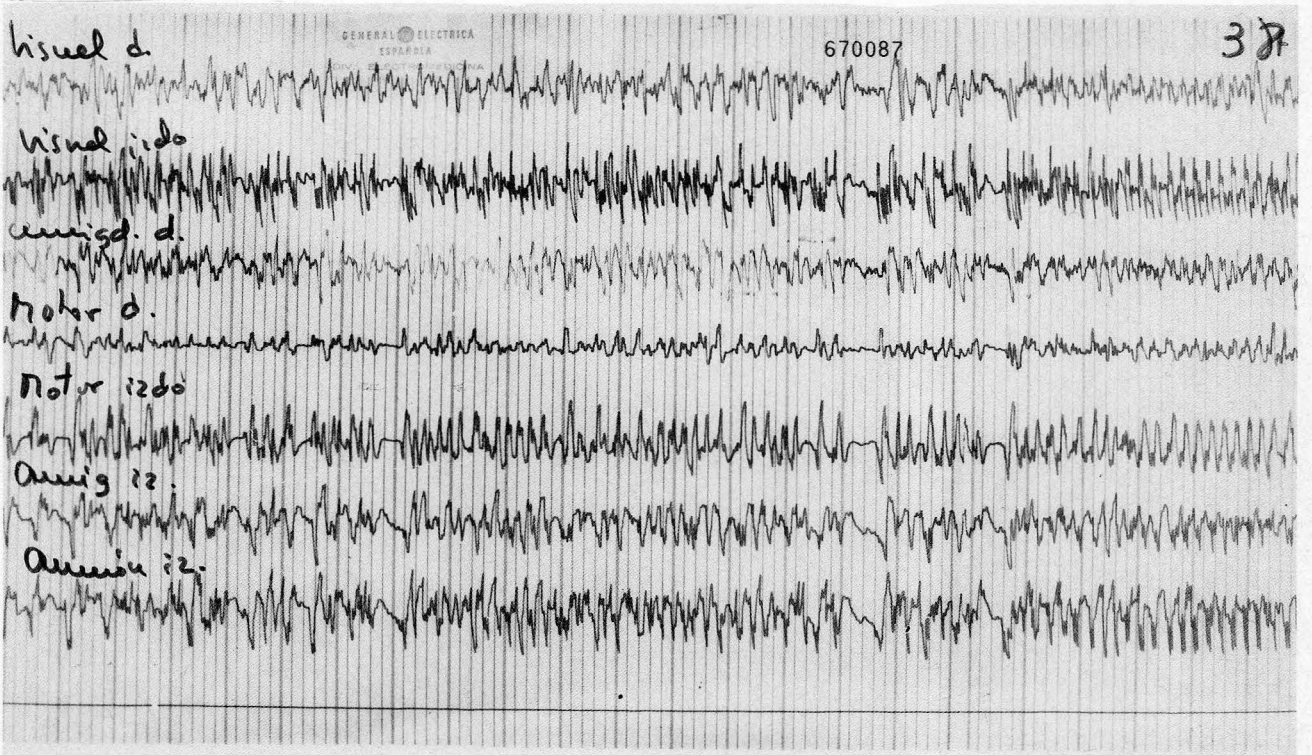


FIGURA 6

Index

HERNANDEZ GIL DE TEJADA, T; MONTESINOS, M.; SMITH-AGREDA, V.: Morphologic and caryometric study of the experimental fracture callos following irradiation with soft laser He-Ne 632,8 nm.	3
JIMENEZ-CASTELLANOS BALLESTEROS, J; CATALINA HERRERA, C.J.: Evaluation of the anatomic teaching results at the school of medicine of Sevilla trough forty academic years	13
LOPEZ-RIVERO, J.L.; AGÜERA, E; VIVO, J.; MORALES-LOPEZ, J.L.; MARTINEZ-GALISTEO, A.: Fibre population and size in the middle gluteal muscle of thoroughbred horse	19
MONTES de, C.: Mesoscopic study of the mandibular and pterygoid segments of the internal maxillary artery	29
NIETO, J.L.; LATRE, A.; TAJADA, N.: Cephalometry in infants. A transverse study in young females.....	41
PASTOR, F.E.; GOMEZ ESTEBAN, M.B.; BLAZQUEZ, J.L.; TORANZO, D.; ALVAREZ-MORUJO, A.J.; MUÑOZ BARRAGAN, L.; AMAT,P.: Ultrastructure of the suprachiasmatic nucleus of the cat hypothalamus. A preliminary study	49
PERALES, R.; BROSETA, M.J.; PERALES, A.J.; SMITH-FERRES, V; MONTESINOS, M.: Photobiologic action of I. R. pulse laser on the volume of oocyte	61
RAMOS, P.M.; SANTAFE, J; SEGARRA, J; SARRAT, R.: Undernourishment and development of the cerebellum cortex	67
RUBIO, M.; CARBAJO, E.; CARBAJO, S.; CARVAJAL, J.; ALBERCA, V.; VAZQUEZ, R.: Morphometric study of L.H. cells of adults rats of both sexes. Differences with the perinatal period	75
SARRIA, R.; LOSADA, J; PEREZ, F. DOÑATE, F.: Morphological repercussions in the pars distalis and intermedia of the pituitary gland after adrenal tissue transplantation in bilateral adrenalectomized rats	83
SOLANO, A.; SMITH-FERNANDEZ, I.; SMITH-FERNANDEZ, A.; FERNANDEZ-ORTEGA, I; SALINAS, P.: Craniofacial growth in the guinea-pig	91
VICTORIA, A; TORREGROSA, S.; SMITH-FERRES, E.: Epileptiform activity on chemist stimulation of the left entopeduncularis nucleus	99

NORMAS DE PUBLICACION

La revista ANALES DE ANATOMIA es una publicación que edita trabajos originales de Ciencias Morfológicas. Estos deberán ser inéditos y no podrán ser presentados simultáneamente en otras publicaciones.

Los trabajos, con un máximo de 10 folios, a doble espacio, por una cara debidamente mecanografiados, serán enviados, por duplicado, al Director de ANALES DE ANATOMIA, Departamento de Ciencias Morfológicas, Facultad de Medicina, calle Domingo Miral, s/n, 3ª planta, 50009 Zaragoza.

El conjunto del trabajo se presentará según el siguiente orden: página identificativa del trabajo, resumen en castellano y palabras clave, resumen en inglés y palabras clave, texto ordenado en sus correspondientes apartados, bibliografía. Al final del trabajo, se hará constar la dirección postal del primer firmante. Todas las hojas irán numeradas correlativamente en el ángulo superior derecho.

En la primera hoja se indicarán los siguientes datos y en este orden: título del artículo, traducción del título al inglés, iniciales y apellidos de los autores, centro donde se ha realizado el trabajo y, en su caso, universidad a la que pertenece. No se harán constar los cargos académicos de los firmantes.

La iconografía irá numerada de manera correlativa y conjunta como figuras. Solo se aceptarán fotografías en blanco y negro, exigiéndose la adecuada calidad y en número que no exceda de tres planchas de composición. Estas estarán compuestas por láminas enteras de 23 x 16 cms. Al dorso de cada fotografía se anotará suavemente con lápiz el título abreviado del trabajo.

Los gráficos se dibujarán con tinta china u otras técnicas de impresión fuerte y clara. Las tablas se presentarán en hoja aparte, admitiéndose una sola tabla por hoja. En ambos casos se tendrá en cuenta el tamaño de los números y letras para su correcta lectura una vez compuesta la revista.

La bibliografía se dispondrá ordenando las citas por orden alfabético de autores, de acuerdo con el siguiente ejemplo: OSMAN, D.I. y PIONEN, L. (1978). The Mammalian tubuli... Anat. Rec. 192 1-18. Cuando se trate de libros: WILLIAMS, R.H. (1974). Endocrinology, 524-526. B. Saunders Co. Philadelphia.

El Comité de Redacción acusará recibo de los trabajos enviados a ANALES DE ANATOMIA e informará a los autores acerca de la aceptación de los originales o de las modificaciones que juzgue necesario introducir para su publicación. El autor firmante en primer lugar recibirá separatas de su trabajo libres de todo gasto. En caso de no ser aceptadas para su publicación, las colaboraciones serán devueltas a sus autores.

El autor firmante en primer lugar recibirá unas pruebas impresas del artículo para su corrección, que deberá devolver una vez revisadas al Director de la revista en el plazo de siete días.

Indice

	<i>Págs.</i>
HERNANDEZ GIL DE TEJADA, T; MONTESINOS, M.; SMITH-AGREDA, V.: Estudio morfológico y cariométrico del callo de fractura experimental tras la irradiación con luz laser He-Ne de 632,8 nm	3
JIMENEZ-CASTELLANOS BALLESTEROS, J; CATALINA HERRERA, C.J.: Valoración del rendimiento docente anatómico en la facultad de medicina de Sevilla. Experiencia de cuarenta cursos lectivos	13
LOPEZ-RIVERO, J.L.; AGÜERA, E; VIVO, J.; MORALES-LOPEZ, J.L.; MARTINEZ-GALISTEO, A.: Población y tamaño fibrilar en el músculo gluteo medio de caballos pura sangre inglés	19
MONTES de, C.: Estudio mesoscópico del segmento mandibular y pterigoideo de la arteria maxilar interna....	29
NIETO, J.L.; LATRE, A.; TAJADA, N.: Cefalometría infantil. Estudio transversal en hembras (II)	41
PASTOR, F.E.; GOMEZ ESTEBAN, M.B.; BLAZQUEZ, J.L.; TORANZO, D.; ALVAREZ-MORUJO, A.J.; MUÑOZ BARRAGAN, L.; AMAT,P.: Ultraestructura del núcleo supraquiasmático del hipotálamo del gato. Estudio preliminar	49
PERALES, R.; BROSETA, M.J.; PERALES, A.J.; SMITH-FERRES, V; MONTESINOS, M.: Acción fotobiológica del laser pulsatorio de infrarrojos sobre el volumen de los ovocitos	61
RAMOS, P.M.; SANTAFE, J.; SEGARRA, J.; SARRAT, R.: Hiponutrición y desarrollo de la corteza cerebelosa	67
RUBIO, M.; CARBAJO, E.; CARBAJO, S.; CARVAJAL, J.; ALBERCA, V.; VAZQUEZ, R.: Estudio morfométrico de las células L.H. de ratas adultas en ambos sexos. Diferencias con el periodo perinatal	75
SARRIA, R.; LOSADA, J.; PEREZ, F. DOÑATE, F.: Repercusiones morfológicas en la pars distalis y pars intermedia de la hipófisis tras el trasplante de tejido adrenal en ratas adrenalectomizadas bilateralmente	83
SOLANO, A.; SMITH-FERNANDEZ, I.; SMITH-FERNANDEZ, A.; FERNANDEZ-ORTEGA, I; SALINAS, P.: Crecimiento craneofacial del cobaya	91
VICTORIA, A; TORREGROSA, S.; SMITH-FERRES, E.: Actividad epileptógena por estimulación química de la encrucijada estriodiagonal izquierda	99