

Efecto de la electrocoagulación selectiva del esbozo de los miembros del embrión de pollo sobre el crecimiento de las extremidades

Santiago Suso Vergara

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

FACULTAD DE MEDICINA

" EFECTO DE LA ELECTROCOAGULACION
SELECTIVA DEL ESBOZO DE LOS MIEMBROS
DEL EMBRION DE POLLO, SOBRE EL CRE-
CIMIENTO DE LAS EXTREMIDADES ".

Tesis presentada para aspirar al grado de

Doctor

Santiago Suso Vergara

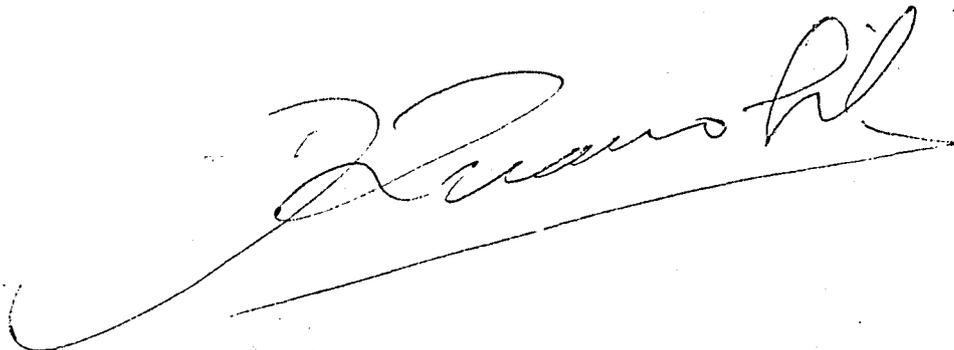
Año 1.976

Domingo RUANO GIL, Catedrático de Anatomía Humana Descriptiva y Topográfica y Técnica Anatómica de esta Facultad,

I N F O R M A:

Que la tesis doctoral que con el título "Efectos de la electrocoagulación selectiva del esbozo de los miembros del embrión de pollo sobre el crecimiento de las extremidades" ha realizado D. Santiago SUSO VERGARA, y dirigida por el Dr. D. José VILANOVA TRIAS, está en condiciones de ser leída en la próxima convocatoria del mes de Noviembre.

Barcelona, 8 de Noviembre de 1976.

A large, stylized handwritten signature in black ink, likely belonging to Domingo Ruano Gil, is written over a horizontal line. The signature is cursive and somewhat abstract, with a long, sweeping underline that extends to the left.

Al Profesor RUANO

A mis Maestros en Cirugía Ortopédica y Traumatología, Drs. F. COLLADO HERRERO y J. MADRIGAL ESCUDER.

A todos aquellos que de
una forma u otra me han ayu-
dado.

Esta Tesis ha sido realizada en
la Cátedra de Anatomía Descriptiva y
Topográfica de la Facultad de Medicina
de la Universidad de Barcelona y diri-
gida por el Dr. JOSE VILANOVA TRIAS.

Debo resaltar la ayuda facilitada por la
Fundación A. PEDRO y PONS, para la realización de esta
Tesis, mediante la concesión de una Beca para la reali-
zación de trabajos de investigación.

I N D I C E D E M A T E R I A S

Introducción.....	Pag.	1
Material y Métodos.....	"	19
Observaciones.....	"	30
Discusión.....	"	149
Conclusiones.....	"	175
Bibliografía.....	"	I
Iconografía.....	Vol.	II y III

I N T R O D U C C I O N

I N T R O D U C C I O N

Desde nuestra llegada a la Cátedra de Anatomía de la Facultad de Medicina de Barcelona, que dirige el Profesor Don DOMINGO RUANO GIL, hemos podido iniciarnos en el complejo campo de la Embriología, fundamentalmente en su faceta experimental, campo éste, en el que se prodigan los trabajos en la Cátedra.

Por otra parte, desde la terminación de nuestra Licenciatura, estamos desarrollando en la práctica clínica, la especialidad de Cirugía Ortopédica y Traumatología, en el Departamento que dirige el Dr. F. COLLADO HERRERO.

Por todo ello, a la hora de orientar nuestra tesis doctoral, nos inclinamos hacia un tema relacionado con el desarrollo del Aparato Locomotor.

Solicitada la orientación del Profesor RUANO, nos sugirió que el trabajo se basara en el análisis experimental de la participación del Mesodermo y de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo de los miembros del embrión

de pollo, en el crecimiento en longitud de las extremidades, mediante la electrocoagulación selectiva de zonas o áreas específicas de dichos esbozos.

Es conocido el hecho de que las áreas que forman los miembros del embrión de pollo, no son morfológicamente reconocibles hasta el estadio 14 de HAMBURGER y HAMILTON (58). En el estadio 15 aparece como una pequeña condensación de mesodermo, que se transforma en un pliegue engrosado en el estadio siguiente, llegando a aparecer como una protuberancia precisa en el estadio 17 (Fig. 1). A partir de este momento, tiene lugar un rápido crecimiento, con profundos pero graduales cambios de forma y estructura del rudimento del miembro (Fig. 2). Es precisamente, a partir de este estadio, cuando se aprecia el engrosamiento del ectodermo que recubre el esbozo del futuro miembro.

Este recubrimiento ectoblástico se hace más prominente a nivel de la región ventral y postaxial de la raíz del miembro, es decir, en las futuras regiones axilar e inguinal (Fig. 3), constituyendo lo que MILAIRE (124-125), describió en los reptiles como engrosamiento ectodérmico ventral y que posteriormente ha sido descrito en el embrión de otros vertebrados por el mismo autor (1.962). Asimismo, ORTS-LLORCA y MURILLO-FERROL (1.963),

lo describieron en el embrión de pollo y a este último autor, se deben otras observaciones en mamíferos domésticos.

Este engrosamiento ectoblástico ventral, situado inicialmente en la base del esbozo, se va extendiendo por la cara ventral del mismo, para dar lugar a una porción engrosada del ectoblasto en el borde libre apical del esbozo. Esta estructura, común a todos los esbozos de los miembros de los vertebrados, es la CRESTA ECTODERMICA APICAL, identificada por primera vez por BALFOUR en 1.885.

Por otra parte, en 1.889, KOLLIKER observó tal engrosamiento en un corte histológico de un embrión de pollo y junto con BRAUS (1.905), le asignaron el nombre de EKTODERMKAPE. En el embrión humano fué identificado por BARDEN y LEWIS en 1.901 y por STREETER en 1.949.

Las células de esta Cresta Ectodérmica han sido estudiadas profundamente por MILAIRE (125, 126 y 127), el cual ha puesto en evidencia algunas de sus peculiaridades, que las hacen diferentes de las células ectodérmicas normales, sobre todo en lo referente a sus propiedades fisiológicas. Así, ha comprobado que poseen más -RNA- citoplasmático y más glicógeno que las células ectodérmicas normales. También ha probado su elevado conte-

nido en enzimas Fosfatasas Alcalinas, propiedades éstas que sugieren la existencia de un metabolismo muy activo.

Es a partir de este esbozo que se desarrollará en su totalidad el futuro miembro, como lo demuestran los resultados obtenidos por los autores (15, 57, 124 y 137), que realizando trasplantes heterotópicos de todo el esbozo de un miembro, en la cavidad celómica o en la membrana corioatlantoidea de otro embrión de pollo, consiguen el desarrollo de miembros característicos.

VON BEAR, en 1.837, había descubierto la existencia de un repliegue longitudinal situado a ambos lados de las paredes del embrión de las aves y BRAUS en 1.906, demostró la existencia de esta cresta en toda clase de vertebrados.

Fué posteriormente WOLFF (230), el que la describió detalladamente y le dió su nombre: CRESTA DE WOLFF. Este autor fué el primero en comprobar la posición lateral de las áreas de los futuros miembros, mediante la práctica de irradiaciones localizadas en embriones de pollo de 9 a 13 somitos.

Respecto al origen del material del que se forman los miembros, conviene recordar los trabajos de

importantes autores. Así SAUNDERS (178), procede a marcar con carbón los somitos de embriones de pollo de edades comprendidas entre las 60 y las 90 horas de incubación (estadios 16 a 24 de HAMBURGER y HAMILTON), no encontrando nunca las marcas más allá de la cintura escapular. De ello deduce el autor, que los somitos no aportan material biológico para la construcción del futuro miembro.

Frente a esto, GUIRAO-PEREZ y Cols. (56), electrocoagulando los primeros somitos de embriones de pollo de doce pares, obtiene anomalías de marcada intensidad en los miembros. Llega pues a la conclusión inversa, es decir, a la evidente intervención de los somitos en la génesis de los miembros.

RUNDNICK (1.945), en cambio, demostró mediante la práctica de injertos intracelómicos de regiones determinadas de los esbozos de los miembros del embrión de pollo, la capacidad de crecimiento autónomo del territorio del ala en estadios presomíticos y de la pata en el período de 6 somitos. En efecto, los territorios injertados, se desarrollaron según la lateralidad y tipo característicos.

Finalmente CHAUBE, en 1.959, marcando el ectodermo y mesodermo que circunda el seno romboidal, comprueba que el tamaño de las áreas del miembro en forma-

ción, aumenta de una forma uniforme y simultánea en ambas capas de células.

Podemos pues considerar a estos autores, como los responsables de las primeras descripciones de los territorios prospectivos de los miembros en el embrión de pollo.

En cuanto al patrón de crecimiento del esbozo ya constituido, se supuso durante años, que la formación del autopodio precedería a la de los segmentos más proximales del miembro. Fué SAUNDERS (177-178), sin embargo, el primero en evidenciar que sólo el estilopodio (Fig. 4), está individualizado en el esbozo de pollo de 3 días de incubación. Este mismo autor, demuestra que sólo en el cuarto día, se individualiza el cigopodio, situado distalmente con respecto al estilopodio. El autopodio se diferencia más tarde en la región más apical del esbozo. El patrón que nos muestra SAUNDERS, semejante al obtenido por HAMPE (61), para el miembro posterior del pollo, implica que la segregación de los segmentos del futuro miembro, tiene lugar en la región distal del esbozo, en la zona subyacente al ectodermo engrosado (Fig. 5).

En este mismo sentido, SMITH (citado por

ZWILLING), realiza una serie de experimentos que sugieren que, también en los embriones de los mamíferos, los diversos territorios de los miembros aparecen en el apex del esbozo, siguiendo una secuencia próximodistal.

Con el fin de esclarecer los mecanismos básicos de este patrón de desarrollo, SAUNDERS (61-62), AMPRINO y CAMOSSO (7-11) y HAMPE (64), procedieron a estudiar los resultados de la implantación de partículas de carbón en las capas mas distales del Mesodermo del esbozo, bajo el pliegue apical del ectodermo, hallándolas mas tarde en regiones mas proximales. Por otra parte, su situación era tanto mas proximal, cuanto mas precozmente era marcado el esbozo. A partir de estas experiencias, emiten la idea de que el mesodermo, que era originariamente distal, es desplazado gradualmente de la Cresta Apical, mientras que otros territorios mesodérmicos se forman en el extremo, a partir de células de origen desconocido.

Estos autores deducen de ello, que las células mesodérmicas destinadas a formar parte de las porciones distales del futuro miembro, estarían localizadas en la región apical, aún en períodos anteriores a cualquier individualización detectable. Hoy por hoy, no se

ha logrado aislar estas supuestas células, que formarían una banda mesodérmica distal y por ello sigue manteniéndose como hipótesis de trabajo, la diferenciación de la misma.

Este problema de la multiplicación celular, ha dado lugar a distintos trabajos que han llevado a SEARLS y JANNERS (1.971), a la conclusión de que el esbozo inicial de los miembros no crecería por un incremento de la actividad mitótica a su nivel, sino por una inhibición de la misma en la zona intermedia o no miembro formadora de la citada CRESTA DE WOLFF. Estos autores han determinado, en efecto, que el ritmo de división celular es homogéneo a lo largo de toda la CRESTA DE WOLFF, hasta el estadio 16 de H. y H. A partir de este estadio, en el que aparece el esbozo morfológico de los miembros del embrión de pollo, dicho índice permanece igual a nivel de las zonas miembro formadoras, disminuyendo en los flancos.

Trabajando también sobre esta teoría, CAMOSSO y Cols. en 1.960, advierten que las distancias entre dos señales insertas en el mesodermo a lo largo del eje proximodistal del esbozo, aumenta mas rápidamente que las distancias entre señales dispuestas a lo largo del eje dorsoventral. Esto les lleva a la conclusión de que

la proporción de crecimiento intersticial es mas alta en dirección longitudinal. Estos mismos autores, han encontrado un porcentaje mas alto de mitosis en la porción apical del esbozo, que en el resto del mesodermo. En el pollo, estas mitosis son, en comparación, mas numerosas a lo largo de una estrecha banda en la cara ventral del esbozo. Con respecto al ectodermo, estos autores comprueban que las mitosis son escasas en el pliegue apical. Esta observación, junto con las de GUICKSMANN (1.961), al comprobar que numerosas células de la Cresta Ectodérmica Apical sufren picnosis nuclear entre los estadíos 19 y 24, apoyaría la teoría del crecimiento uniforme de todo el ectodermo.

Gracias a estas y otras investigaciones se llega a la conclusión de que el primitivo esbozo de los miembros, representa un modelo didérmico de desarrollo, formado de una parte por una condensación mesoblástica procedente de la somatopleura y por otra, por un recubrimiento ectoblástico, con un engrosamiento inicial en la región ventral, que es sustituido posteriormente por otro mas duradero -CRESTA ECTODERMICA APICAL- de situación apical.

Veamos ahora el papel morfogenético desempeñado por cada uno de estos componentes en el desarrollo

de las extremidades.

SAUNDERS ya en 1.948, tras una serie de experiencias con embriones de pollo, llega a la conclusión de que la Cresta Ectodérmica Apical, es esencial para el crecimiento o formación de los miembros.

Sin embargo, no es hasta 1.955, cuando ZWILLING, al conseguir separar por medios químicos el ectodermo del mesodermo de un brote de pata de un embrión de pollo, condiciona un importante desarrollo de las investigaciones sobre el papel de los dos componentes fundamentales del esbozo de los miembros. El tratamiento con Tripsina permitirá en adelante aislar el ectodermo del componente mesodermal de los esbozos. Este último, sin embargo, no es absolutamente viable después del tratamiento. Este autor, utiliza la capa ectodérmica separada, que no resulta lesionada, para cubrir el mesodermo de una pata tratada con una solución de Vernese (que destruye con cierta selectividad el ectodermo, sin lesionar gravemente el componente mesodermal). El resultado de este conjunto es transplantado al flanco de un tercer embrión, el cual desarrolla a ese nivel un miembro característico.

Este mismo autor, combinando de esta forma mesodermos de pata y ectodermos de ala y viceversa, lle-

ga a la conclusión de que la estructura del miembro que se desarrolla, está determinada en cada caso por el origen del componente mesodérmico. Según ésto, el origen del ectodermo, no afecta pues, la naturaleza del miembro que se desarrolla. Este experimento pone de manifiesto el pa pel fundamental del mesodermo en la diferenciación del tipo de miembro.

Fué sin embargo, el mismo ZWILLING, uno de los primeros autores que subrayaron la importancia del otro componente del esbozo: el componente ectodérmico. Así, en 1.956, publica los resultados de sus investigaciones con embriones de pollo mutantes sin alas. En estos embriones, comprueba que el esbozo de los miembros anteriores aparece al mismo tiempo que en los pollos normales, pero falla en su crecimiento. Estudios histológicos de estos esbozos, demuestran la ausencia de la Cresta Ectodérmica Apical.

Asimismo, combinando el mesodermo de un esbozo normal de ala, con el ectodermo de un embrión mutante sin alas, se observa la ausencia de desarrollo de las partes distales del miembro.

Gracias a estos y a otros trabajos experimentales, se ha puesto de manifiesto la decisiva parti-

cipación de la Cresta Ectodérmica Apical, en el desarrollo de las extremidades del embrión de pollo.

Sin embargo, desde las primeras investigaciones publicadas hasta la actualidad, no se ha podido obtener un criterio unánime sobre cuáles son las relaciones morfogénéticas entre el ectodermo y el mesodermo del esbozo de los miembros. Se sigue debatiendo sobre si las primeras indicaciones de desarrollo de un miembro aparecen en el ectodermo o en el mesodermo y cuál de estas dos partes es el asiento de los factores que determinan las características y desarrollo del mismo.

Los primeros análisis experimentales sobre esta cuestión se deben a HARRISON y ROTMANN (1.931), en anfibios y llegan a la conclusión de que las propiedades características de los miembros son inherentes al mesodermo.

Más recientemente, TSCHUMI (217), sostiene que, también en los anfibios, el ectodermo engrosado del esbozo del miembro, activaría el crecimiento del mesodermo subyacente, mediante el control sobre el desarrollo de la vena marginal y del sistema capilar conectado a ella.

Durante estos últimos años, muchos trabajos

han sido realizados con el fin de aclarar cuales son las interrelaciones entre el ectodermo y el mesodermo en la morfogénesis del miembro en el embrión de ave. Paulatinamente comprobamos como va aumentando la evidencia de que el ectodermo participa de una forma activa y decisiva en el desarrollo de los miembros. Ahora bien, persiste la incertidumbre en lo que se refiere al papel específico de la Cresta Ectodérmica Apical.

Del estudio y comparación de los distintos trabajos de investigación sobre este tema, se llega a la conclusión de que existen dos puntos de vista distintos para explicar el papel de la Cresta Ectodérmica Apical, en el desarrollo de los miembros de los vertebrados.

Un grupo de autores, ZWILLING, SAUNDERS, ABBOT y otros, considera que la Cresta Ectodérmica Apical es la principal estructura responsable de la dirección y control de los procesos de diferenciación de los miembros, si bien sería el mesodermo el primero de los dos componentes primitivos en ser activado, induciendo la formación de la Cresta Ectodérmica Apical, en el ectodermo suprayacente. (Fig. 6).

Para estos autores, la persistencia de la Cresta Ectodérmica Apical, dependería de la presencia de

un factor de mantenimiento, de naturaleza química, presente en el mesodermo, distribuido asimétricamente por el mismo y transmisible en dirección próximo-distal. Esta teoría se apoya en dos series de datos experimentales. Una primera serie está constituida por aquellos que intentan demostrar que la Cresta Ectodérmica Apical es esencial para el desarrollo del miembro.

Así SAUNDERS (178), tras la extirpación quirúrgica de la Cresta Ectodérmica Apical, tan sólo obtiene el desarrollo de las porciones proximales de los miembros.

ZWILLING (248), observa la falta de desarrollo de elementos distales, uniendo mesodermo de miembro que se ha privado de su recubrimiento ectodérmico propio y se ha cubierto con ectodermo que no pertenece a miembro. Este mismo autor, comprueba la formación de estructuras reconocibles de miembro, incluyendo los dedos, a partir de pequeños fragmentos de mesodermo del esbozo de un miembro, escogidos al azar y cultivados con una Cresta obtenida de otro miembro.

Por su parte HAMPE (66), obtiene estructuras de pié a partir de un muñón proximal de miembro posterior, cuya superficie de amputación cubre con un casquete ecto-

dérmico aislado del apex de otro esbozo de miembro.

Entre nosotros, MURILLO-FERROL (137), mediante injertos intracelómicos asociados de los componentes meso y ectodérmicos, previamente disociados y separados, observa la diferenciación de estructuras típicas de miembro. Frente a ello, injertos intracelómicos e intraabdominales del componente mesoblástico exclusivamente, en ningún caso han dado lugar a diferenciación alguna de estructura de miembro.

En una segunda serie, exponemos aquellas experiencias que intentan poner en evidencia la existencia de un factor mesodérmico inductor de la actividad de la Cresta Ectodérmica Apical.

Entre ellas, destacan las de SAUNDERS (180), el cual introduciendo temporalmente una lámina de mica entre la Cresta Ectodérmica Apical y el Mesodermo apical, comprueba el aplanamiento de la Cresta y con ello, defectos de crecimiento distal del miembro intervenido.

MURILLO-FERROL (137), obtiene la duplicación de la Cresta Ectodérmica Apical, tras la separación parcial y medial, con una barrera no porosa, de los dos componentes del esbozo.

Por otra parte, ZWILLING y HANSBOROUGH (247), combinan el casquete ectodérmico de un embrión normal, con el mesodermo de un esbozo de un miembro polidáctilo. Obtienen siempre crestas de configuración propia de miembros polidáctilos y se desarrollan estructuras distales accesorias, semejantes a los controles polidáctilos.

Todos estos datos experimentales son, sin embargo, considerados insuficientes por autores como AMPRINO, CAMOSSO, BARASA, BELL y Cols. KOECKE, etc., para probar la actividad inductora de la Cresta Ectodérmica Apical.

En 1.969, AMPRINO, AMPRINO-BONETTI y AMBROSIO, negaron la necesidad del ectoblasto y concretamente de la Cresta Ectodérmica Apical, para el desarrollo de las extremidades. Según estos autores, los resultados de todos los experimentos publicados hasta entonces, serán compatibles con la teoría según la cual, todos los factores de desarrollo residen en el mesodermo del esbozo del miembro y que sería este componente el único responsable de la individualización de los territorios, así como de la diferenciación de los mismos, según una secuencia temporal dada.

Para estos y otros autores, el ectodermo representaría simplemente una barrera o límite biológico que aislaría al esbozo del medio ambiente externo del embrión.

AMPRINO (3) además, defiende la teoría de que el crecimiento distal del miembro depende sólo del desarrollo diferencial de las distintas partes del mesodermo del esbozo y no de la existencia, bajo la Cresta Ectodérmica Apical, de una banda de Mesodermo apical dotada de una capacidad proliferativa particularmente alta.

De las experiencias e investigaciones realizadas por todos los autores consultados, algunas de las cuales acabamos de reseñar, se desprenden unos resultados que, si bien en la mayoría de los casos son coincidentes o presentan un gran paralelismo, en otros llevan a conclusiones aparentemente dispares e incluso contrapuestas.

En nuestra Tesis Doctoral, trataremos de estudiar cual es el efecto de la destrucción selectiva de áreas determinadas del esbozo prospectivo de los miembros, para poder aportar más datos a los que se conocen y discuten, sobre el desarrollo de los miembros de los vertebrados tetrápodos. Su título será:

EFECTO DE LA ELECTROCOAGULACION SELECTIVA
DEL ESBOZO DE LOS MIEMBROS DEL EMBRION DE POLLO,
SOBRE EL CRECIMIENTO DE LAS EXTREMIDADES.

Nuestro interés primordial se centrará en

lo concerniente a la participación de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo de los miembros, en el crecimiento y diferenciación de las extremidades.

Será motivo de estudio, también, el papel del mesodermo de la raíz del esbozo, en el crecimiento y diferenciación de los segmentos del futuro miembro.

Utilizaremos al embrión de pollo, como animal de experimentación tetrápodo y la electrocoagulación como agente teratógeno.

Dada la experiencia del Departamento de Anatomía que dirige el Profesor RUANO, en el campo de la Teratología Experimental, nos pareció muy sugestiva la utilización de estas técnicas, para, aplicadas de una forma selectiva sobre cada uno de los componentes del esbozo de los miembros, poder estudiar los efectos de su anulación tanto anatómica como funcional, en el desarrollo de la extremidad intervenida, y de esta forma poder añadir nuevos datos a los ya conocidos, sobre el desarrollo de los miembros en los vertebrados tetrápodos.

M A T E R I A L Y M E T O D O S

M A T E R I A L Y M E T O D O S

Para la realización de nuestra Tesis Doctoral, hemos dispuesto exclusivamente de material embrionario experimental, proporcionado por embriones de pollo, pertenecientes a la raza HEISDORF-NELSON.

Los huevos de pollo, fertilizados, se colocaron a la estufa a 38° C. de temperatura y una humedad relativa de 75%. A las 24 horas, en el polo agudo de los mismos, siguiendo la técnica de E. WOLFF (229), se le practicó una ventana que permitía, con ayuda de una pipeta, extraer 2 cc. de albúmina con la finalidad de producir el descenso del saco vitelino con el disco embrionario y evitar que éste sea lesionado en maniobras posteriores. La ventana anteriormente mencionada, fué cerrada con papel parafinado de la marca PARAFILM-M (American can Company).

Seguidamente se efectuó, en la cáscara del huevo otra ventana, que permitía, con ayuda de una lupa, observar el disco embrionario y catalogar el estadio de desarrollo adquirido. Esta ventana fué cerrada por el mismo procedimiento que la anterior y los huevos reinten-

grados a la estufa para su ulterior desarrollo.

Los embriones fueron operados en los estadios 17 a 23 de HAMBURGER y HAMILTON (58). Para ello, con la ayuda de un filamento de tungsteno, montado en una varilla de vidrio, se practicó un ojal en la membrana vitelina, que permitía poner al descubierto el esbozo del miembro a intervenir. A continuación, con el electrodo OK/615-1, del cauterio MINI-TERMAX OPTICON (Roma), coagulamos, bien la Cresta Ectodérmica Apical (Fig. 7), bien el Mesodermo Postaxial (Fig. 8), del esbozo elegido. Por lo general efectuamos sobre esbozos del lado derecho, más accesibles, por la propensión de los embriones de pollo, a descansar sobre el lado izquierdo. (Fig. 9).

Para llevar a cabo las investigaciones preliminares, se utilizó un primer lote de embriones, para experimentar la dosis idónea de electrocoagulación. Se llegó a la conclusión de que los parámetros mínimos necesarios eran:

REOSTATO a nivel 4.

TIEMPO DE CONTACTO de 2 segundos.

Parámetros más bajos no producían la lesión buscada y parámetros más elevados producían lesiones aso-

ciadas que podían interferir el estudio de los resultados.

Después de intervenidos, los embriones eran reintegrados a la estufa, para que continuaran su desarrollo normal. Diariamente eran observados, con la ayuda de la lupa, siendo anotados los detalles más interesantes que presentaban los supervivientes.

Cuando se consideró oportuno, se sacrificaron se fijaron en formol al 10% y se procedió al estudio de su forma exterior. De los más interesantes, se hicieron fotografías "in toto".

Un grupo de ellos fueron incluidos en parafina-celoidina, cortados transversal, sagital o frontalmente con un espesor que osciló entre 6 y 10 micras y coloreados por Hematoxilina-Eosina. De aquellos cortes más interesantes se hicieron microfotografías.

A otro grupo de embriones intervenidos, le fué aplicada la técnica de DIAFANIZACION, para el estudio esquelético. Se utilizó la modificación de NOBACK (145), del método clásico de LUNDVALL (119), consistente en:

- a.- Extirpación de la totalidad de la piel y evisceración.
- b.- Baño continuo durante dos días en alcohol

ácido (ClH al 1% en etanol al 70%).

c.- Baño en solución de azul de metileno durante dos días (0'25% de azul de metileno en alcohol ácido).

d.- Baños repetidos durante una o dos horas en alcohol ácido, retirando el mismo mientras salga coloreado.

e.- Cambios sucesivos a:

1º.- Etanol al 90%.

2º.- Alcohol absoluto.

3º.- Etanol más benzeno.

4º.- Benzeno.

5º.- Salicilato de metilo.

f.- Mantener el embrión en salicilato de metilo permanentemente.

De aquellos embriones transparentados más significativos, se efectuaron fotografías bajo lupa.

En el cuadro -1- se relacionan esquemáticamente los tipos de intervención practicados a los embriones supervivientes, así como el método utilizado para su estudio.

Cuadro 1

Nº	Estadio intervención	CEA/M	Miembros	Estadio fijación	Método estudio
4	18	CEA	S-D	31	Diafanización
7	18	CEA	S-D	31	Diafanización
25	21	CEA	I-I	35	Diafanización
32	20	CEA	I-D	37	Cortes seriados
111	17	CEA	S-D	30	Diafanización
131	21	CEA	S-D	32	Diafanización
134	21	CEA	S-D	35	Diafanización
135	18	CEA	S-D	30	Autopsia
135	18	CEA	I-D	30	Autopsia
136	20	CEA	S-D	29	Cortes seriados
137	17	CEA	S-D	29	Cortes seriados
137	17	CEA	I-D	29	Cortes seriados
144	19	CEA	S-D	35	Diafanización
146	18	CEA	S-D	29	Cortes seriados
149	20	CEA	S-D	30	Cortes seriados

Cuadro 1

Nº	Estadio intervención	CEA/M	Miembro	Estadio fijación	Método estudio
151	20	CEA	S-D	32	Diafanización
153	19	CEA	S-D	29	Cortes seriados
159	19	CEA	S-D	29	Cortes seriados
162	20	CEA	S-D	30	Cortes seriados
164	19	CEA	S-D	29	Cortes seriados
167	19	CEA	S-D	29	Cortes seriados
182	19	CEA	S-D	29	Autopsia
196	20	CEA	S-D	31	Cortes seriados
198	19	CEA	S-D	29	Cortes seriados
206	20	CEA	S-D	30	Cortes seriados
217	19	CEA	S-D	30	Cortes seriados
236	17	CEA	S-D	29	Cortes seriados
242	18	CEA	S-D	29	Cortes seriados
258	17	CEA	S-D	34	Diafanización
270	18	CEA	S-D	29	Cortes seriados

Cuadro 1

Nº	Estadio intervención	CEA/M	Miembro	Estadio fijación	Método estudio
283	17	CEA	S-D	27	Cortes seriados
301	19	CEA	S-D	28	Cortes seriados
305	19	CEA	S-D	30	Cortes seriados
308	17	CEA	S-D	31	Cortes seriados
311	19	CEA	S-D	29	Cortes seriados
321	19	CEA	S-D	30	Cortes seriados
327	20	CEA	I-D	35	Diafanización
354	20	CEA	S-D	30	Cortes seriados
362	19	CEA	S-D	29	Cortes seriados
384	20	CEA	S-D	30	Cortes seriados
393	20	CEA	S-D	29	Autopsia
401	20	CEA	S-D	30	Cortes seriados
405	19	CEA	S-D	28	Autopsia
419	19	CEA	S-D	29	Cortes seriados
426	17	CEA	S-D	28	Cortes seriados

Cuadro 1

Nº	Estadio intervención	CEA/M	Miembro	Estadio fijación	Método estudio
439	17	CEA	S-D	30	Cortes seriados
469	17	CEA	S-D	31	Cortes seriados
474	20	CEA	S-D	29	Autopsia
484	20	CEA	S-D	30	Diafanización
496	18	CEA	S-D	31	Cortes seriados
510	17	CEA	S-D	29	Cortes seriados
513	17	CEA	S-D	30	Cortes seriados
545	20	CEA	S-D	33	Diafanización
615	22	M	S-D	34	Diafanización
650	23	M	S-D	35	Diafanización
709	21	M	I-I	32	Autopsia
752	21	M	I-D	36	Diafanización
759	22	M	S-D	36	Diafanización
770	21	M	I-I	30	Diafanización
775	22	M	S-D	36	Diafanización

El número de embriones intervenidos fué de 800. A 550 de ellos la operación consistió en practicarles la electrocoagulación de la Cresta Ectodérmica Apical y a los 250 restantes, la misma intervención sobre el Mesodermo Postaxial.

Del primer grupo fallecieron 483 (87'8%) y sobrevivieron a la intervención 67 (12'2%). Las muertes se distribuyeron de la forma siguiente:

62% durante la intervención, como consecuencia de hemorragias focales o paradas cardíacas de rápida instauración.

30% en el transcurso de las primeras 24 horas del curso postoperatorio, tras instaurarse una bradicardia de curso progresivo. (En el 92% de estos casos, se había producido una grave hemorragia peroperatoria.

8% restante de muertes de este grupo, se produjo entre las 24 y 36 horas siguientes a la intervención.

De los 250 embriones intervenidos mediante la electrocoagulación del Mesodermo Postaxial, fallecieron

231 (92'4%) y sobrevivieron a la operación 19 (7'6%). En este grupo, la casi totalidad de los fallecimientos (86'6%) se produjo en el acto operatorio a causa de graves hemorragias focales y 19 a estallido cardíaco, debido a la proximidad del corazón al lugar electrocoagulado. Las restantes muertes ocurrieron en el curso de las próximas 36 horas al postoperatorio.

Estos porcentajes tan elevados de mortalidad, son habituales en este tipo de investigaciones, por la labilidad del embrión y por la cercanía a los grandes vasos, de la base de implantación del muñón del ala.

Los embriones fueron clasificados previamente en varios lotes, a los que diferenciamos por el estadio de intervención y por el lugar de aplicación del electrodo. Así, dentro del grupo de embriones a los que se electrocoaguló la Cresta Ectodérmica Apical, separamos desde el principio aquellos intervenidos en estadios 17 a 22 de HAMBURGER y HAMILTON, de aquellos operados en estadios posteriores al 24 de H. y H. Estos últimos, fueron descartados de nuestro estudio en el momento en que se comprobó que las consecuencias de la operación, eran las propias de una quemadura en un autopodio ya diferenciado.

En el grupo de embriones a los que se elec-

trocoaguló el Mesodermo del esbozo del miembro elegido, también descartamos desde el principio, los embriones intervenidos en estadios de desarrollo inferior a 20 de H. y H., dado el insuficiente desarrollo morfológico y la poca diferenciación topográfica de los dos componentes del esbozo, el Mesodermo y el Ectodermo. Cualquier intento de electrocoagulación llevó consigo la lesión de los dos componentes del esbozo.

El número total de embriones estudiados se eleva, por lo tanto, a 86, que han sido designados con la letra -S- seguida de un número que indica el orden en que fueron operados.

Simultáneamente han sido utilizados un número total de 160 huevos, de la misma raza, que como controles, fueron colocados en la estufa para continuar su desarrollo y sacrificados conjuntamente con los embriones operados. En ninguno de los controles observamos ninguna clase de malformación.

Seguidamente pasamos a describir los detalles más importantes, observados en los embriones objeto de nuestro estudio.

O B S E R V A C I O N E S

O B S E R V A C I O N E S

En el presente capítulo, estudiaremos detenidamente cada uno de los embriones considerados más interesantes, de la totalidad de los tratados. El número de los mismos es 86, de un total de 800 embriones de pollo, que fueron intervenidos según las técnicas que se especifican en el capítulo de Material y Métodos. Cada uno de ellos, ha sido denominado con la letra -S- seguida de un número que representa la secuencia cronológica en que fueron intervenidos.

En las tablas siguientes se esquematizan los resultados obtenidos, que serán luego descritos detalladamente caso por caso. (Cuadro 2).

Nº	Malformaciones en miembros				Malformaciones asociadas			Estadios retraso crecimiento
	AMELIA	HEMIMELIA	FOCOMELIA	CELOSOMIA	ECTOCARDIAS	ESCOLIOSIS		
4	+			-	-	---	0	
7	+			-	-	-	0	
25		+		+++	+	-	2	
32		+		-	-	-	0	
111	+			+	-	-	0	
131		+		+++	+	-	3	
134		+		+++	+	+	0	
135		+		++	+	-	3	
135		+		++	+	-	3	
136		+		++	-	-	3	

Nº	Malformaciones en miembros			Malformaciones asociadas			Estadios retraso crecimiento
	AMELIA	HEMIMELIA	FOCOMELIA	CELOSOMIA	ECTOCARDIAS	ESCOLIOSIS	
137	+			-	-	-	3
137		+		-	-	-	3
144		+		+++	+	-	0
146		+		+++	+	-	3
149		+		+++	+	-	0
151		+		-	-	-	0
153		+		-	-	-	3
159		+		-	-	-	2
162		+		-	-	-	2
164		+		-	-	-	4

Cuadro 2

Nº	Malformaciones en miembros		Malformaciones asociadas			Estadios retraso crecimiento
	AMELIA	HEMIMELIA	FOCOMELIA	CELOSOMIA	ECTOCARDIAS	
167		+		-	-	3
182		+		+++	+	3
196		+		-	-	0
198		+		-	-	3
206		+		-	-	1
217		+		-	-	2
236	+			-	-	1
242	+			-	-	0
258	+			+	-	0
270	+			-	-	0

Cuadro 2

Nº	Malformaciones en miembros			Malformaciones asociadas			Estadios retraso crecimiento
	AMELIA	HENIMELIA	FOCOMELIA	CELOSOMIA	ECTOCARDIAS	ESCOLIOSIS	
283	+			+++	+	-	6
301		+		-	-	-	2
305		+		-	-	-	0
308	+			+++	+	-	0
311		+		+++	+	-	3
321		+		-	-	-	0
327		+		-	-	-	0
354		+		-	-	-	0
362		+		-	-	-	0
384		+		+	-	-	2

Cuadro 2

Nº	Malformaciones en miembros				Malformaciones asociadas			Estadios retraso crecimiento
	AMELIA	HEMIMELIA	FOCOMELIA	CELOSOMIA	ECTOCARDIAS	ESCOLIOSIS		
393		+		+	-	-	0	
401		+		+++	++	-	2	
405		+		+++	+++	-	3	
419		+		+++	+++	-	4	
426	+			-	-	-	5	
439	+			+	+	-	0	
469	+			-	-	-	0	
474		+		-	-	-	2	
484		+		-	-	-	1	
496	+			-	-	-	1	

Cuadro 2

Nº	Malformaciones en miembros			Malformaciones asociadas			Estadios retraso crecimiento
	AMELIA	HEMIMELIA	FOCOMELIA	CELOSOMIA	ECTOCARDIAS	ESCOLIOSIS	
510	+			-	-	-	2
513	+			-	-	-	1
545		+		-	-	-	0
615			+	-	-	-	0
650			+	-	-	+	0
709			+	+	+	-	2
752			+	-	-	-	0
759			+	-	-	+	0
770			+	-	-	-	3
775			+	-	-	+	0

Cuadro 2

S.- 4.

Embrión intervenido a los 3 días de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 18 de HAMBURGER y HAMILTON, al que le fué practicada la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical, del esbozo del miembro superior derecho. Para ello se utilizó el reostato a nivel -4-, durante un período de contacto de 2 segundos. Durante la intervención no se produjeron incidencias graves, salvo una discreta taquicardia que se inició en el momento del contacto y persistió tan sólo una hora.

Las observaciones periódicas postoperatorias permiten constatar una rápida cicatrización de la lesión operatoria. A las 36 horas, ya se apreció la falta de desarrollo del esbozo intervenido, mientras el resto del embrión seguía una evolución semejante a los controles. A los 4 días de la intervención y cuando presentaba un estadio 31 de H. y H., fué sacrificado y fijado en formol al 10%.-

El estudio macroscópico, bajo lupa, evidenció la ausencia total de la extremidad superior derecha (Figs. 10 y 11). El resto del embrión no presentaba alte-

ración alguna, no existiendo celosomía ni escoliosis y el estadio evolutivo era el mismo que los controles.

Por considerarlo interesante, sometimos de inmediato al embrión a la técnica de DIAFANIZACION, para evidenciar el sistema esquelético. Tal como se observa en las fotografías efectuadas bajo lupa, no existe ninguna clase de estructura ósea, ni cartilaginosa, que corresponda a un ala derecha (Fig. 12). Sin embargo, la cintura escapular se observó totalmente desarrollada para el estadio 31 de H. y H. en que se encontraba (Fig. 13) y el resto de estructuras esqueléticas eran normales. Un embrión testigo de idéntico estadio, permite comprobar las diferencias entre una cintura escapular con el miembro superior normal, con las estructuras presentes en el embrión intervenido, apreciándose perfectamente como el estilopodio, en condiciones normales, tiene su nivel de implantación a nivel del ángulo limitado entre la escápula y la clavícula. (Fig. 14).

S.- 7.

Embrión intervenido a los 3 días de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 18 de H. y H., al que le fué practicada la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho. Para ello se utilizó el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de 2 segundos. Durante la intervención, no se produjeron incidencias graves, salvo una discreta taquicardia que iniciada en el momento del contacto, se resolvió espontáneamente antes de una hora.

Las observaciones periódicas en el postoperatorio, permitieron apreciar una rápida cicatrización de la lesión operatoria. A las 36 horas, ya se pudo observar la falta de desarrollo del esbozo intervenido, mientras el resto del embrión seguía una evolución similar a los embriones testigos. A los 4 días de la intervención y cuando presentaba un estadio 31 de H. y H., fué sacrificado y fijado en formol al 10%.

El estudio macroscópico, bajo lupa, evidenció la ausencia total de la extremidad superior derecha. (Fig. 15). El resto del embrión no presentaba alteración

alguna. No existía celosomía ni escoliosis y el estadio evolutivo era el mismo que los controles.

Por considerarlo interesante, sometimos de inmediato al embrión a la técnica de DIAFANIZACION para evidenciar el sistema esquelético. Tal como se observa en las fotografías efectuadas bajo lupa (Fig. 16), no existe vestigio alguno de estructura ósea ni cartilaginosa que corresponda a un ala derecha (AMELIA). Sin embargo, la cintura escapular se observó totalmente desarrollada para el estadio 30 de H. y H. en que se encontraba. El resto de estructuras esqueléticas eran normales. Un control de idéntico estadio permite comprobar las diferencias esqueléticas. (Fig. 17).

Embrión de pollo, intervenido a los tres días y medio de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 21 de HAMBURGER y HAMILTON, al que le fué practicada la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro inferior izquierdo, por ser el más accesible de los cuatro. Para ello se utilizó el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de 2 segundos.

Durante la intervención se produjo una importante hemorragia focal, que persistió durante 15 segundos. Asimismo, se instauró una taquicardia elevada, que a las 3 horas no había remitido. A las 6 horas de la intervención, apreciamos ya una frecuencia de pulso normal.

Fué sacrificado al cuarto día del postoperatorio, sin que en las observaciones periódicas postoperatorias se pudiera apreciar alteración alguna, al encontrarse el miembro intervenido oculto, dado que el embrión fué progresivamente adoptando la posición habitual. El desarrollo global -35 de H. y H.- fué algo inferior al de los testigos.

El estudio macroscópico, bajo lupa, evidenció

la ausencia total de autopodio en un miembro inferior izquierdo, con los dos segmentos proximales aparentemente bien constituidos. (Fig. 18 y 19). Asimismo se hizo evidente una gravísima celosomía que afectaba a la totalidad de las vísceras torácicas y abdominales.

Por considerarlo interesante, sometimos de inmediato al embrión a la técnica de DIAFANIZACIÓN para evidenciar el sistema esquelético. Así y tal como muestran las fotografías realizadas bajo lupa, comprobamos la ausencia total del autopodio, en un miembro inferior izquierdo, con sus dos segmentos proximales -estilopodio y cigopodio- presentes (Fig. 20). El estudio comparativo con los testigos (Fig. 21), puso de manifiesto el acortamiento del cigopodio, a expensas de la tibia. (HEMIMELIA).

S.- 32.

Embrión de pollo intervenido a los tres días y medio de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 20 de HAMBURGER y HAMILTON, al que le fué practicada la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro inferior derecho. Para ello se utilizó el reostato a nivel -4- durante un tiempo de contacto de 2 segundos. Durante la intervención no se produjo hemorragia focal, si bien se instauró una taquicardia que regresó espontáneamente a las tres horas de la operación.

Las observaciones periódicas postoperatorias mostraron una cicatrización muy precoz de la zona lesionada. A las 48 horas, el crecimiento de los miembros era aparentemente homogéneo, si bien a partir de ese momento, se observó la detención del desarrollo en longitud, del miembro intervenido. A los cuatro días de la intervención y cuando el embrión presentaba un estadio 37 de H. y H. fué sacrificado y fijado en formol al 10%.

El estudio macroscópico, bajo lupa, evidenció la existencia de un muñón de características proximales, en la localización habitual de la pata derecha (Fig.

22). El resto del embrión no presentaba alteración alguna. No existía celosomía, ni escoliosis y el estadio evolutivo era el mismo que los controles (Fig. 23).

Se procedió a continuación al estudio de los cortes histológicos efectuados, mediante el cual se comprobó el perfecto desarrollo alcanzado por la cintura pelviana y articulación proximal del estilopodio. Tal como muestran las fotografías efectuadas bajo microscopio, el fémur se encontraba presente en su tercio proximal exclusivamente (fig. 24). A pesar de ello, la musculatura del estilopodio se observó muy bien desarrollada en todo el muñón de muslo presente (Fig. 25), tal como puede comprobarse del estudio comparativo con el estilopodio contralateral, perfectamente diferenciado (Fig. 26). El resto del embrión no presentaba alteraciones. Se trata pues, de una HEMIMELIA con el segmento estilopodal presente.

S.- 111.

Embrión intervenido a los tres días de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 17 de H. y H., al que le fué practicada la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho. Para ello se utilizó el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de 2 segundos. Durante la intervención no se produjeron incidencias graves, salvo una discreta taquicardia que se inició en el momento del contacto y persistió menos de una hora.

Las observaciones periódicas postoperatorias permiten constatar una rápida cicatrización de la lesión operatoria. A las 36 horas, ya se apreció la falta de desarrollo del esbozo intervenido, mientras el resto del embrión seguía una evolución semejante a los testigos. A los cuatro días de la intervención y cuando el embrión presentaba un estadio 30 de H. y H. fué sacrificado y fijado en formol al 10%.

El estudio macroscópico, bajo lupa, evidenció la ausencia total de la extremidad superior derecha (Fig. 27). El resto del embrión no presentaba alteración alguna. No existía celosomía, ni escoliosis y el estadio

evolutivo era el mismo que los controles.

De inmediato, sometimos al embrión a la técnica de DIAFANIZACION para evidenciar el sistema esquelético. Tal como se observa en las fotografías efectuadas bajo lupa (Fig. 28), no existe vestigio alguno de estructura ósea ni cartilaginosa que corresponda a un ala derecha. (AMELIA). Sin embargo, la cintura escapular, clavícula y omóplato, se aprecian totalmente desarrollados para el estadio 30 en que se encontraba. El resto de estructuras esqueléticas eran normales. La fotografía de un embrión control (Fig. 29), de idéntico estadio, permite comprobar las diferencias esqueléticas del miembro superior.

S.- 131.

Embrión intervenido a los días y medio de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 21 de HAMBURGER y HAMILTON, al que le fué practicada la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho. Para ello se utilizó el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de 2 segundos.

Durante la intervención, se produjo una hemorragia focal de casi 20 segundos de duración y gran volumen. Desde el principio, se instauró una taquicardia de frecuencia elevada, que persistía a las 6 horas de la intervención. La observación practicada a las 12 horas, demostró una frecuencia de pulso normal. El resto de los controles no mostraron otros datos de interés, siguiendo el embrión una evolución aparente, semejante a los controles. A los cuatro días de la intervención y cuando presentaba un estadio 32 de H. y H. fué sacrificado y fijado en formol al 10%.

El estudio macroscópico, bajo lupa, evidenció la presencia de un muñón de características proximales y constituido por dos segmentos, aparentemente el es-

tilopodio y el cigopodio, en la localización del miembro superior derecho (Fig. 30, 31 y 32). El resto del embrión presentaba malformaciones asociadas del tipo de celosomía y ectocardias (Fig. 30).

Por considerarlo de interés, sometimos de inmediato al embrión a la técnica de DIAFANIZACION, para estudiar en su totalidad el estado del sistema esquelético. Así pudimos comprobar que para el estadio de desarrollo adquirido, todo el sistema esquelético del miembro superior derecho, presentaba un retraso evolutivo, de unos tres estadios. Además y tal como muestran las fotografías efectuadas bajo lupa (Fig. 33), el ala derecha estaba representada exclusivamente por los dos segmentos proximales. El autopodio no se hallaba en absoluto presente. El resto del esqueleto, por otra parte, presentaba un retraso importante de maduración ósea. Se trataba, pues, de una HEMIMELIA con los dos segmentos proximales presentes, que se pone aún mejor de manifiesto, si se compara la extremidad intervenida, con la fotografía del cigopodio y autopodio del ala izquierda, que si bien presenta también un retraso grave de maduración ósea, está compuesta por todos sus segmentos completos (Fig. 34).

S.- 134.

Embrión intervenido a los tres días y medio de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 21 de HAMBURGER y HAMILTON, al que le fué practicada la electrocoagulación total de la Cresta Cetodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de 2 segundos.

En el curso de la operación, se produjo una hemorragia focal de 10 segundos de duración. Desde el inicio del contacto, además, se instauró una taquicardia de frecuencia muy elevada, que persistía a las tres horas y había desaparecido a las seis. Las observaciones habituales postoperatorias evidenciaron al final del tercer día un ectocardias discreto, así como una evolución global del embrión favorable. Sólo a partir de este tercer día, pudimos comprobar la existencia de un acortamiento en el miembro intervenido. En el inicio del cuarto día y cuando presentaba un estadio 35 de H. y H., fué sacrificado y fijado en formol al 10%.

El estudio macroscópico bajo luna, nos permitió comprobar la existencia de un muñón, con dos segmen-

tos en la localización del ala derecha. Tal como se ve en las fotografías efectuadas bajo lupa (Figs. 35, 36 y 37), el miembro superior derecho carece por completo de plato autopodal, lo que se pone más de manifiesto si se compara con el ala contralateral (Fig. 38). Se apreció, asimismo, la existencia de una grave celosomía, que afectaba fundamentalmente al compartimiento abdominal, existiendo tan sólo una exteriorización de una punta cardíaca. El desarrollo del resto del embrión, era normal.

Por considerarlo de interés, se procedió de inmediato a someter a este embrión a la técnica de DIAFANIZACIÓN, que nos permitiese estudiar el esqueleto "in toto". De esta forma y tal como muestran las fotografías efectuadas (Fig. 39), se comprobó la existencia de un estilopodio del ala intervenida, de características normales. No existía porción esquelética alguna de autopodio y el cigopodio estaba representado por los quintos proximales del cúbito y del radio, que acababan distalmente en un extremo afilado, aparentemente sin presencia alguna de cartílago epifisario distal. El estudio comparativo con un ala control del mismo estadio (Fig. 40), pone más en evidencia las alteraciones señaladas. El resto del embrión presentaba un desarrollo esquelético normal. Se trata pues de un HEMIMELIA con los dos segmentos proximales.

S.- 135.

Embrión de pollo intervenido a los tres días de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 18 de H. y H., al que le fué practicada la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical, de los esbozos de ambos miembros derechos, utilizando en ambos casos el reostato a nivel -4- durante un tiempo de contacto de 2 segundos.

Durante la operación sobre el miembro inferior derecho, que se practicó en segundo lugar, se produjo una importante hemorragia focal, que persistió durante casi medio minuto. Una grave taquicardia se instauró desde el primer momento, persistiendo a las tres horas y habiendo regresado espontáneamente a las seis horas.

Las observaciones habituales postoperatorias, sirvieron para comprobar un aparente desarrollo semejante en los miembros intervenidos, con respecto a los testigos de la misma serie, durante las primeras 48 horas. A partir de entonces, se produjo la aparente detención del crecimiento de ambos esbozos intervenidos, mientras que el resto del embrión seguía desarrollándose, aunque con un claro retraso con respecto a los testigos. Al final del

tercer día, se inició una progresiva bradicardia, por lo que decidimos sacrificar al embrión y proceder de inmediato a su fijación.

El estudio macroscópico, bajo lupa, mostró la existencia de una grave malformación en los dos miembros intervenidos, los cuales estaban representados por muñones de características proximales, con existencia en la pata de una incurvación que separaba la porción más proximal -estilopodio- de la distal. Esta última y tal como se observa en las fotografías afectuadas bajo lupa (Figs. 41 y 42), presenta las características de un cigopodio en su porción proximal. En ninguno de los dos muñones se pudo apreciar estructura alguna que pudiese representar vestigio de plato autopodal. Se trata pues de dos HEMIMELIAS, la del ala derecha con la existencia exclusiva de estilopodio, mientras que a nivel de la pata, se comprobó la existencia del estilopodio y al menos la porción más proximal del cigopodio (Figs. 43 y 44).

Embrión operado cuando presentaba un estadio de desarrollo 20 de HAMBURGER y HAMILTON, después de tres días y medio de incubación, al que se practicó la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho. Se utilizó el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de 2 segundos.

Durante la operación, se produjo una grave hemorragia focal, que tardó 20 segundos en remitir. Se acompañó de una elevación importante de la frecuencia cardíaca, que estaba presente a las seis horas de la intervención y había desaparecido a las doce horas.

Los exámenes realizados en los controles habituales, mostraron un desarrollo muy lento con respecto a los embriones testigos. Al inicio del segundo día del postoperatorio, se inició una bradicardia progresiva que obligó al sacrificio del embrión en el curso del tercer día, cuando presentaba un estadio de desarrollo 29 de H. y H.

El estudio bajo lupa, mostró la presencia de un esbozo de características proximales en la localización habitual del miembro superior derecho (Figs 45 y 46).

Comparándolo con el miembro contralateral y con los testigos, se evidenció la composición bisegmentaria del muñón, así como la ausencia de estructura externa de autopodio. Se comprobó asimismo, la existencia de una celosomía que afectaba exclusivamente a la pared abdominal.

Los cortes histológicos efectuados, mostraron la existencia de un estilopodio bien constituido, articulado proximal y distalmente con normalidad. El segundo segmento estaba constituido en sus dos tercios proximales, por estructuras esqueléticas no bien definidas, a excepción de una porción proximal de cúbito bien estructurada y partes blandas normales (Figs. 47 y 48). No existiendo vestigios de autopodio y comprobándose a su vez la falta de cierre de la pared abdominal anterior. Se trata pues de una HEMIMELIA con dos segmentos.

S.- 137.

Embrión al que se intervino cuando presentaba un estadio 17 de HAMBURGER y HAMILTON, después de tres días de incubación, practicándose la lectrocoagulación de la Cresta Ectodérmica Apical de los esbozos de los miembros superior e inferior derechos, utilizando el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de 2 segundos en cada caso.

Durante la intervención en el miembro superior (se realizó previamente en el miembro inferior), se produjo una grave hemorragia focal, que sólo remitió pasados 30 segundos. Mientras tanto, se desencadenó una grave taquicardia, con fases de arritmia severa, que había remitido a las seis horas, con recuperación de una frecuencia semejante a los testigos. La colección hemorrágica se había reabsorbido a las 48 horas y ya entonces se apreciaba la ausencia de desarrollo del miembro superior derecho, mientras que la pata también intervenida, mostraba un desarrollo aparentemente normal. A los tres días se inició una bradicardia severa, por lo que a las 90 horas de la intervención fué sacrificado, cuando presentaba un estadio 30 de H. y H., procediéndose de inmediato al fijado en formol al 10%.

El estudio macroscópico bajo lupa, nos mostró la ausencia total del ala derecha (Fig. 49), existiendo en su lugar unas pequeñas prominencias y rugosidades que aparentaban ser mamelones de tejido de granulación ya epitelizados. El miembro inferior derecho presentaba también un grave acortamiento, si bien era evidente la presencia de un segmento proximal en el que no se apreciaba plato autopodal, tratándose pues de una HEMIMELIA del miembro inferior derecho y de una AMELIA del miembro superior derecho, en un embrión con un retraso global de desarrollo de 3-4 estadios, en relación con los controles. El cierre de la pared anterior era normal y era muy marcada la malformación del pico.

El estudio de los cortes histológicos efectuados, confirman la falta de desarrollo del ala derecha, ya que en ninguno de ellos, hemos podido apreciar estructura ósea ni cartilaginosa correspondiente a miembro superior derecho, tal como se evidencia en las fotografías efectuadas bajo microscopio (Figs. 50 y 51). Sin embargo, a nivel del miembro inferior derecho, se ha podido comprobar un desarrollo normal del estilopodio así como un cigopodio parcialmente desarrollado en su cuarto proximal. (Figs. 52, 53, 54, 55, 56 y 57). No se observó presencia alguna de autopodal.

S.- 144.

Embrión intervenido a los y medio días de in cubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 19 de HAMBURGER y HAMILTON, al que le fué practicada la elec trocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho. Para ello se utilizó el reostato a nivel -4- durante un tiempo de contacto de 2 segundos. Durante la intervención se produjo una discre ta hemorragia focal, que se cohibió espontáneamente en unos 5 segundos. También se apreció una importante taquícardia de unas tres horas de duración.

Las observaciones periódicas postoperatorias mostraron a partir de las 24 horas, una aparente detención del crecimiento del ala derecha. Al inicio del cuarto día se inició una bradicardia de agravación progresiva, lo que nos inclinó a sacrificar el embrión al final del cuarto día del postoperatorio, cuando presentaba un estadio 35 de H. y H.

El estudio macroscópico, bajo lupa, evidenció la presencia de un muñón de ala derecha, de características proximales (Fig. 58). Asimismo se comprobó el desarrollo normal del resto de extremidades. En las foto-

grafías bajo lupa se observa asimismo, la grave celosomía existente, que deja al descubierto las vísceras de toráx y abdomen.

Por considerarlo interesante, sometimos de inmediato al embrión a la técnica de DIAFANIZACION para evidenciar el sistema esquelético. Tal como se observa en las fotografías efectuadas (Fig. 59), el desarrollo esquelético global del embrión era normal a excepción del ala derecha, representada exclusivamente por una porción proximal de estilopodio. Asimismo se observó la existencia en la zona media del fragmento óseo presente, la acodadura habitual del tercio medio del húmero del embrión de pollo.

Se trata pues de una HEMIMELIA con un segmento proximal, parcialmente desarrollado, lo cual se pone mejor de manifiesto en el estudio comparativo con un miembro superior normal de un embrión testigo (Fig. 60).

S.- 146.

Embrión intervenido a los tres días de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 18 de HAMBURGER y HAMILTON. Se le practicó la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho. Se utilizó el reostato a nivel -4- durante 2 segundos de contacto.

Durante la operación se produjo una grave hemorragia focal, que se cohibió espontáneamente a los 20 segundos. Asimismo se instauró una importante taquicardia, que persistía a las 24 horas y había desaparecido a las 30 horas.

Efectuamos observaciones más asíduas, ya que a partir de las 36 horas de postoperatorio se inició una bradicardia, con arritmia de progresiva gravedad. Durante ese período, vimos como se detenía el desarrollo del miembro intervenido, mientras que el resto del embrión crecía de una forma proporcionada, aunque con evidente retraso, con respecto a los embriones testigos.

El estudio macroscópico, tras el sacrificio precoz del embrión -a los tres días-, mostró la presencia

de un muñón de apariencia proximal, en la localización habitual del ala derecha (Fig. 61). También se apreció la existencia de una grave celosomía que asociaba un ectocardias muy evidente.

El estudio de los cortes histológicos efectuados mostró la existencia, en la localización habitual del ala derecha, de un segmento proximal de estilopodio, con una articulación proximal normal. Tal como muestran las microfotografías efectuadas (figs. 62, 63 y 64), tan sólo la cabeza y el cuello humeral se encuentran diferenciados, mientras que en el lado contralateral, el ala presenta un desarrollo evolutivo normal. Tal como se aprecia en las fotografías (Fig. 62), la cintura escapular derecha era normal. HEMIMELIA.

S.- 149.

Embrión intervenido cuando presentaba un estadio de desarrollo 20 de HAMBURGER y HAMILTON, después de tres días y medio de incubación, mediante la lectrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical, del esbozo del miembro superior derecho. Se utilizó el reostato a nivel -4-, durante un período de contacto de 2 segundos.

En la operación y durante casi 10 segundos, se produjo una importante hemorragia focal. Asimismo, se inició de inmediato una taquicardia, que había desaparecido a las tres horas de la intervención.

Se realizaron observaciones cada 12 horas y bajo lupa, pudimos comprobar un desarrollo normal de todo el embrión, incluso de la extremidad intervenida. Tan sólo en el último control, pudimos anotar la falta de desarrollo del autopodio del ala derecha. Asimismo, era muy evidente la existencia de un grave ectocardias.

Fué sacrificado al inicio del cuarto día del postoperatorio, cuando presentaba un estadio 30 de H. y H. y a continuación se procedió al estudio macroscópico bajo

lupa. Frente a un desarrollo normal del plato autopodal, a nivel de los otros miembros, en el ala derecha era evidente la ausencia de autopodio (Figs. 65 y 66). Asimismo, existía una grave celosomía, que asociaba un grave ectocardias, no observándose escoliosis.

El estudio de los cortes efectuados, mostraron un miembro superior derecho compuesto por estilopodio y cigopodio normales en toda su longitud (Fig. 67). No se observó en ningún momento, estructura ósea ni cartilaginosa que pudiera corresponder a un autopodio. Se comprobó, asimismo, la ausencia de cierre de la pared anterior, tanto a nivel torácico, como a nivel abdominal. Se trataba pues de una HEMIMELIA, con dos segmentos esqueléticos, el estilopodio y el cigopodio, presentes.

S.- 151.

Embrión intervenido cuando presentaba un estadio de desarrollo 20 de H. y H. y llevaba tres días y medio de incubación, al que se practicó la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho. Se utilizó el reostato a nivel -4- durante un tiempo de contacto de 2 segundos. Durante la intervención no se produjeron incidencias graves, a excepción de una elevación de la frecuencia cardíaca, que remitió espontáneamente antes de tres horas.

Las observaciones habituales, realizadas bajo lupa, demostraron un desarrollo normal del embrión, incluso de la extremidad intervenida. Tan sólo en la última observación, a las 72 horas del postoperatorio, apreciamos un pequeño acortamiento del ala derecha, en relación con los testigos. A los cuatro días de la operación y cuando presentaba un estadio 32 de H. y H. fué sacrificado y fijado en formol al 10%.

El estudio macorscópico, bajo lupa, evidenció la ausencia de autopodio, en un miembro superior derecho constituido por un estilopodio, aparentemente normal y un cigopodio bien desarrollado en sus dos tercios proximales

aproximadamente (Figs. 68 y 69). No se apreció celosomía.

Por considerarlo de interés, sometimos de inmediato al embrión a la técnica de DIAFANIZACION para evidenciar el sistema esquelético. Tal como se aprecia en las fotografías efectuadas bajo lupa (Fig. 70), no se aprecia estructura ósea ni cartilaginosa alguna que corresponda a autopodio, mientras que la cintura escapular y el estilopodio están normalmente desarrollados y el cigopodio aunque de longitud casi normal, presenta tan sólo uno de los huesos, el cúbito. Se trata pues de una HEMIMELIA con dos segmentos, en la que el cigopodio está representado únicamente por el cúbito; todo ello se pone mejor de manifiesto, mediante el estudio comparativo con el miembro superior normal de un testigo del mismo estadio (Fig. 71).

S.- 153.

Embrión intervenido a los tres y medio días de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 19 de HAMBURGER y HAMILTON, al que le fué practicada la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizándose el reostato a nivel -4- durante un tiempo de contacto de 2 segundos.

Durante la intervención se produjo una grave hemorragia focal, que no cohibió hasta pasados 20 segundos, asociándose a la misma una taquicardia con fases de arritmia, durante dos horas. Las observaciones habituales postoperatorias no mostraron alteraciones del crecimiento del ala, hasta las 48 horas en que se apreció la detención total del crecimiento del esbozo intervenido, mientras que el resto del embrión seguía una evolución muy lenta. Fué sacrificado a las 84 horas de la intervención, cuando presentaba un estadio de desarrollo 29 de H. y H., frente a un estadio 32 de los controles.

El estudio macroscópico bajo lupa, mostró la presencia de un muñón de tan sólo un segmento, de caracte

rísticas proximales en la localización del ala derecha (fig. 72 y 73), siendo completamente normal el resto del embrión, aunque comparándolo con los testigos, presentaba tres estadios menos de desarrollo. No se observó celosomía ni escoliosis.

El estudio de los cortes histológicos efectuados, mostró la existencia de un muñón correspondiente al ala derecha, que presentaba dos o tres paquetes musculares que se adherían a una formación esquelética con características de estilopodio presente tan sólo en la porción correspondiente a su cabeza y cuello (Figs. 74, 75 y 76). Se trataba pues de una HEMIMELIA con la presencia exclusiva de una porción proximal del primer segmento o estilopodio.

S.- 159.

Embrión intervenido a los tres días y medio de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 19 de HAMBURGER y HAMILTON, al que se practicó la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical, del esbozo del miembro superior derecho, utilizándose el reostato a nivel -4- durante dos segundos de contacto. Durante la intervención no se presentaron problemas hemorrágicos, pero sí se apreció una fuerte taquicardia, que se resolvió espontáneamente en el curso de la primera hora del postoperatorio.

Las observaciones habituales, mostraron un proceso de cicatrización rápido, de forma que a las 36 horas la zona lesionada estaba totalmente epitelizada. En posteriores observaciones, comprobamos el estacionamiento del crecimiento del ala derecha, frente a un desarrollo normal del resto del embrión. Fué sacrificado a las 90 horas del postoperatorio, cuando presentaba un estadio de desarrollo 29 de H. y H.

El estudio macroscópico, bajo lupa, mostró la presencia de un muñón de aspecto proximal en la loca-

lización habitual del ala derecha (Figs. 77 y 78). El resto del embrión presentaba características normales. No se apreció escoliosis, el desarrollo del pico era normal y el desarrollo morfológico de todo el embrión era semejante al de los testigos.

El estudio de los cortes efectuados, mostró la presencia de un estilopodio derecho de ala, de dimensiones menores al no intervenido (Figs. 79 y 80). El húmero era atrófico y se encontraba envuelto por una estructura muscular semejante al lado sano. El desarrollo del sistema nervioso periférico era de características normales, no apreciándose disminución alguna en el calibre de los troncos nerviosos. HEMIMELIA con un segmento.

S.- 162.

Embrión intervenido a los tres días y medio de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 20 de HAMBURGER y HAMILTON. Se le practicó la electrocoagulación de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de 2 segundos. En el curso de la intervención no se produjeron incidencias a destacar. No se produjo hemorragia alguna y la alteración habitual de la frecuencia cardíaca, se redujo a una débil taquicardia de menos de una hora de duración.

Durante los habituales controles no se produjeron alteraciones macroscópicas de interés. El desarrollo del embrión fué aparentemente normal y sólo en los dos últimos controles apuntamos la parada de crecimiento en longitud del miembro intervenido. Fué sacrificado al cuarto día del postoperatorio, presentando un estadio de desarrollo 30 de HAMBURGER y HAMILTON, mientras los testigos se encontraban en estadio 32.

El estudio macroscópico, bajo lupa, nos mostró a un embrión armónicamente desarrollado, a excepción del ala derecha, que se encontraba acortada con respecto

al resto de los miembros y sin vestigio de plato autopodal (Figs. 81 y 82). Sin embargo era evidente la existencia de dos segmentos bien desarrollados y delimitados perfectamente por una inflexión correspondiente al codo normal. No se apreciaron anomalías en el resto de extremidades. No existía celosomía ni escoliosis.

Los cortes efectuados y su posterior estudio microscópico evidenciaron que existía un estilopodio bien desarrollado y articulado normalmente, tanto proximal como distalmente. En la porción de cigopodio presente se comprobó la existencia de un sólo hueso, que correspondía al cúbito, en sus dos tercios proximales. No existían vestigios de autopodio (Figs. 83 y 84). Tal como se observa en las microfotografías efectuadas (Figs. 85, 86 y 87), los troncos nerviosos encargados de la inervación del miembro intervenido, no presentan alteración alguna con respecto a la normalidad.

S.- 164.

Embrión intervenido en estadio 19 de HAMBURGER y HAMILTON, a los tres días y medio de incubación, al que se le practicó la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, para lo cual se utilizó el reostato a nivel -4- durante un tiempo de contacto de 2 segundos.

Durante la operación se produjo una importante hemorragia focal, que persistió durante 20 segundos. Observamos, a su vez, la instauración de una taquicardia de alta frecuencia, que estaba presente a las tres horas de la intervención y había desaparecido a las seis.

Se efectuaron observaciones con más frecuencia de la habitual y se pudo comprobar la cicatrización total de la lesión operatoria a las 36 horas de la intervención. Asimismo, comprobamos que la extremidad intervenida detenía su crecimiento alrededor de las 48 horas de la intervención, mientras que el resto del embrión seguía un desarrollo proporcional, aunque lento, en comparación con los embriones testigos. Fué sacrificado al cuarto día, presentando un estadio de desarrollo 29 de H. y H.

Al estudio, bajo lupa, se evidenció la presencia de un muñón de aspecto proximal, en la localización habitual del miembro superior derecho (Figs. 88 y 89). Se observó, asimismo, la falta de tensión en el interior de las vesículas telencefálicas, que no habíamos observado en los controles. No existía escoliosis ni celosomía.

El estudio de los cortes histológicos efectuados, mostró la presencia de una estructura de estilopodio bien diferenciada aunque poco desarrollada, correspondiente al ala derecha (Figs. 90, 91 y 92). Tal como se aprecia en alguno de los cortes fotografiados, existen voluminosos troncos nerviosos que abocan al miembro atrófico y acaban su trayecto en los pequeños grupos musculares que se observan fundamentalmente en la porción ventral del estilopodio (Figs. 90 y 91). Se trata pues de una hemimelia con un segmento del miembro superior derecho.

S.- 167.

Embrión intervenido en estadio 19 de HAMBURGER y HAMILTON, cuando llevaba tres días y medio de incubación. Se le practicó la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de 2 segundos.

Durante la operación se produjo una importante hemorragia focal, que tardó en regresar por completo unos 15 segundos. Asimismo se instauró una grave taquicardia que persistía a las seis horas de la intervención y había desaparecido a las doce. Se efectuaron controles cada doce horas, comprobando ya en los primeros un retardo de crecimiento con respecto a los controles, que al tercer día era de tres estadios. Sólo en el tercer día del postoperatorio, se evidenció un cierto acortamiento a nivel del miembro intervenido, con respecto a lo que correspondería por el desarrollo global del embrión. Al inicio del cuarto día, se instauró una bradicardia progresiva, por lo que decidimos su sacrificio, aún no habiendo logrado un estadio de desarrollo 30 de H. y H.

Se procedió al estudio macroscópico, bajo

lupa, comprobando un estadio de desarrollo 29 de H. y H. El estudio detenido del miembro superior derecho (Figs. 93 y 94), mostró la ausencia de placa autopodal en el miembro intervenido. El resto del embrión estaba bien desarrollado, no observándose celosomía ni escoliosis. Los embriones testigos, presentaban un estadio de desarrollo 32 de H. y H.

Para su estudio más detallado, se efectuaron cortes microscópicos. De su observación se desprendió la confirmación de los datos obtenidos del estudio "in toto". No se comprobó existencia de autopodio, en un miembro con estructura de ala derecha, constituido por un estilopodio normal, así como un cigopodio presente en su mitad proximal. HEMIMELIA con dos segmentos.

S.- 182.

Embrión intervenido a los tres días y medio de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 19 de HAMBURGER y HAMILTON, practicándose la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho. Se utilizó el reostato a nivel -4- durante un tiempo de contacto de 2 segundos.

Durante la intervención se produjo una importante hemorragia focal, que no se cohibió hasta pasados 20 segundos, instaurándose asimismo, una grave taquicardia que persistía a las tres horas y había desaparecido a las seis horas. Por ello se efectuaron observaciones con más frecuencia de la habitual, observándose que la cicatrización de la lesión operatoria era total a las 36 horas. Asimismo, comprobamos la detención del crecimiento en longitud de la extremidad operada, a las 48 horas de la intervención. Frente a ello, el resto del embrión continuó su crecimiento de una forma regular, aunque comparativamente lento, atendiendo a la evolución de los testigos.

Sacrificamos este embrión a las 96 horas del posoperatorio, al comprobar el establecimiento de

una progresiva bradicardia, con alteraciones graves del ritmo, presentando un estadio de desarrollo 29 de HAMBURGUER y HAMILTON.

Al examen macroscópico, bajo lupa, se apreció la existencia de un muñón, de aspecto proximal, en la localización habitual de miembro superior derecho, (Figs. 95 y 96). Llamó también la atención la existencia de una grave celosomía, por ausencia total de pared anterior de tórax y abdomen. También se observó la existencia de alteración grave del pico. No se apreció escoliosis.

S.- 198.

Embrión intervenido a los días y medio de in cubación, presentando un estadio de desarrollo 19 de HAMBURGUER y HAMILTON, al que se practicó la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de dos segundos.

Durante la operación se produjo una grave he morragia focal que remitió espontáneamente a los quince segundos, así como una importante taquicardia que persistía a las seis horas de la intervención. Las observaciones postoperatorias habituales, mostraron un proceso de rápida cicatrización de la lesión operatoria, que se encontraba totalmente epitelizada a las 36 horas de la intervención. Se observó asimismo, que el muñón del ala detenía su crecimiento en longitud a las 48 horas, mientras que el resto del embrión continuaba su desarrollo homogéneo, aunque algo retrasado, con respecto a los testigos. Fue sacrificado a las 86 horas, al iniciarse una progresiva bradicardia, con alteraciones graves del ritmo, presentando un estadio de desarrollo 29 de H. y H.

El estudio macroscópico, bajo lupa, permitió observar la presencia de un muñón de ala derecha, de características proximales y aspecto de estilopodio (Figs. 97 y 98). No se observó escoliosis ni celosomía.

El estudio de los cortes efectuados, mostró la presencia de una estructura esquelética bien diferenciada que correspondía al ala derecha, que se encontraba rodeada de una abundante franja de tejido muscular normalmente inervado y vascularizado (Figs. 99 y 100). Esta porción esquelética presentaba las características de la cabeza y cuello del estilopodio, de forma que la diáfisis del húmero no se había desarrollado, si bien y tal como se observa en algunos cortes fotografiados (Figs. 101 y 102), una parte importante del muñón está ocupado exclusivamente por tejido muscular sin soporte esquelético alguno. Se trata pues de una HEMIMELIA con un segmento parcialmente desarrollado, sin vestigios esqueléticos a partir del mismo hacia distal.

S.- 217.

Embrión intervenido a los tres días y medio de incubación, presentando un estadio de desarrollo 19 de HAMBURGER y HAMILTON, al que se practicó la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho. Se utilizó el reostato a nivel -4- durante un tiempo de contacto de dos segundos.

Durante la operación, se produjo una pequeña hemorragia focal, que remitió espontáneamente a los cinco segundos y se inició, asimismo, una taquicardia leve que había regresado a las tres horas de la intervención. Los controles habituales sirvieron para comprobar, a las 24 horas, la cicatrización de la zona lesionada, permaneciendo una colección enquistada, de aspecto sanguíneo, en la porción más distal del muñón. A partir de las 48 horas se detuvo el crecimiento en longitud del miembro operado, mientras que el resto del embrión seguía su desarrollo homogéneo, aunque algo lento con respecto a los testigos. Fué sacrificado al cuarto día del postoperatorio, presentando un estadio de desarrollo 30 de H. y H. Los embriones testigos estaban en estadio 32.

Al estudio macroscópico, bajo lupa, se ob-

servó la presencia de un muñón en la localización habitual del ala derecha (Fig. 104). También se observó una alteración grave del desarrollo del pico, así como de las vesículas telencefálicas. No se observó escoliosis.

El estudio microscópico de los cortes efectuados, demostró la existencia de un muñón con estructura de estilopodio de ala, con un desarrollo normal de la cintura escapular y un húmero atrófico, con una musculatura desproporcionada en relación con el esqueleto del estilopodio correspondiente. Asimismo, era muy evidente la simetría existente entre los troncos nerviosos de ambos miembros superiores (Figs. 105, 107 y 108), que contrastaba con la grave desproporción entre sus esqueletos y el tamaño global de ambas alas. Tal como se observa en los cortes transversales efectuados (Figs. 105, 106 y 107), la disposición en -Y- de los troncos nerviosos, así como su tamaño, dirección y trayecto, no se diferencian a pesar de la diferencia tan notoria de tamaño de sus receptores, que en el caso del ala derecha, se reducía a unos pequeños grupos musculares adyacentes a la cintura escapular. Se trataba pues de una HEMIMELIA con un segmento representado por un estilopodio atrófico, pero con una inervación semejante al lado contralateral sano.

S.- 236.

Embrión intervenido a los tres días de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 17 de HAMBURGER y HAMILTON, al que se practicó la electrocoagulación de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de dos segundos. Durante la intervención se produjo una importante hemorragia focal, que persistió durante 10 segundos, dejando infiltradas las paredes externas del embrión, asociándose una gran taquicardia, que persistía a las seis horas y había desaparecido a las nueve horas de la intervención.

Las observaciones habituales postoperatorias mostraron la desaparición del derrame sanguíneo entre las 48 y las 60 horas, así como la falta de desarrollo del miembro intervenido, frente a un desarrollo normal del resto del embrión. Entre el tercer y cuarto día del postoperatorio se produjeron alteraciones graves del ritmo cardíaco, por lo que se decidió su sacrificio a las 80 horas de operado, a pesar de encontrarse en un estadio poco evolucionado, 29 de H. y H.

El estudio macroscópico, bajo lupa, demostró

la existencia de una ausencia total de desarrollo del miembro intervenido, frente a un desarrollo armónico del resto de extremidades. Tal como muestran las fotografías efectuadas bajo lupa, no se evidencia el ala derecha, mientras que en la extremidad inferior homóloga, se hallan perfectamente diferenciados sus segmentos (Figs. 109). No se apreció alteración del cierre de la pared anterior y el embrión presentaba un retraso global de desarrollo de unos 3-4 estadios, con respecto a los controles.

El estudio de los cortes histológicos efectuados, mostró la ausencia de esbozo alguno que pudiera representar parte alguna de ala derecha. Tal como muestran los cortes fotografiados (Figs. 110, 111 y 112), la pared lateral del tórax no sufre el mínimo abultamiento a pesar de que tanto la cintura escapular, como la parrilla costal, se encontraba normalmente desarrollada. El resto del embrión se encontró bien formado y con una evolución de sus formaciones correspondiente al estadio en que se hallaba. Se trata pues de una AMELIA del miembro intervenido.

S.- 242.

Embrión intervenido a los tres días de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 18 de HAMBURGER y HAMILTON, al que se practicó la electrocoagulación de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de dos segundos. En el curso de la operación no se produjeron incidentes dignos de interés.

Se realizaron las observaciones habituales, comprobando, desde las 24 horas del postoperatorio, la detención del crecimiento del esbozo del ala derecha; frente a ello el desarrollo global del embrión fué en todas las observaciones semejante a los embriones testigos y a los cuatro días de la intervención, cuando fué sacrificado, presentaba un estadio de desarrollo 30 de H. y H., idéntico al de los controles.

El estudio macroscópico, bajo lupa, mostró la ausencia del ala derecha, representada exclusivamente por una pequeña elevación en el lugar de localización habitual de la misma, lo que se aprecia perfectamente en las fotografías realizadas (Fig. 113). Asimismo es evi-

dente la normalidad de evolución experimentada por el resto de extremidades, pared anterior del abdomen, cuello y pico.

El estudio de los cortes histológicos efectuados, nos mostró que la falta de desarrollo de la extremidad intervenida era total, pues a ningún nivel se pudo apreciar estructura alguna de estilopodio, estando formado el pequeño muñón que apreciamos en el estudio macroscópico, exclusivamente por partes blandas, en este caso con predominio de tejido graso muy vacuolado (Figs. 114, 115 y 116). Tal como muestran las fotografías de diversos cortes a distinta altura, mientras que el ala izquierda aparece normalmente constituida (Figs. 119), no se aprecia en ninguno de ellos (Figs. 117 y 118), estructura esquelética del ala derecha. Se trata pues, de una AMELIA de miembro superior derecho.

S.- 258.

Embrión al que a los tres días de incubación se le practicó la electrocoagulación de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, cuando se encontraba en un estadio de desarrollo 17 de HAMBURGER y HAMILTON, utilizándose el reostato a nivel -4- durante un tiempo de contacto de dos segundos. Durante la intervención se produjo una hemorragia focal, que se cohibió espontáneamente a los cinco segundos. La taquicardia que habitualmente comprobamos, fué en este caso más importante, obteniéndose el restablecimiento del ritmo normal a las seis horas aproximadamente.

Se realizaron observaciones cada 12 horas, comprobándose el desarrollo normal de todo el embrión, a excepción del miembro intervenido, que no evidenció crecimiento alguno. A los cinco días de la operación, fué sacrificado y extraído del huevo, para su fijación en formol al 10% y posterior estudio macroscópico.

El estudio bajo lupa, evidenció la ausencia total del miembro superior derecho (Fig. 120), así como una celosomía parcial de la porción superior del abdomen. No existía ectocardias y el pico, para un estadio 30 de

desarrollo, aparecía algo atrófico. No se evidenciaba escoliosis.

A este embrión, posteriormente, le fué aplicado el método de DIAFANIZACION, con el fin de poder estudiar todo el sistema esquelético. Comprobamos de esta manera que, salvo la falta de maduración esquelética del pico, la única alteración en el desarrollo, se había producido en la zona intervenida. A nivel de la localización habitual del miembro superior derecho, no se apreciaba estructura ni ósea ni cartilaginosa alguna que remedase algún segmento de ala. La clavícula y el omóplato estaban presentes y tenían una forma normal, habiendo alcanzado un grado de evolución semejante al lado contralateral. Sin embargo, en el ángulo agudo limitado por ambas estructuras, lugar habitual de visualización del extremo proximal del estilopodio (Fig. 121), no se halló estructura alguna de miembro. Se trata pues de una AMELIA de miembro superior derecho, que se pone mejor de manifiesto, si se compara la fotografía del embrión intervenido, con la efectuada a un embrión normal, diafanizado, a nivel del miembro superior (Fig. 122).

S.- 270.

Embrión intervenido a los tres días de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 18 de HAMBURGER y HAMILTON, al que se practicó la electrocoagulación de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de dos segundos. Durante la operación se produjo una hemorragia focal de poca intensidad, que evolucionó espontáneamente a la coagulación del foco. Asimismo, se presentó un período de doce minutos de taquicardia, que regresó a una frecuencia normal antes de la hora.

Las observaciones habituales postoperatorias, nos permitieron comprobar la falta de desarrollo del ala intervenida a partir de las 48 horas, por la evidencia de crecimiento de la extremidad cantrelateral. Fue sacrificado al cuarto día, cuando se encontraba en un estadio 29 de H. y H., lo que representaba más de tres estadios de retraso en su desarrollo global, con respecto a los testigos.

El estudio macroscópico bajo lupa, mostró la ausencia del miembro superior derecho (Figs. 123 y 124)

en un embrión globalmente poco desarrollado, pero con los miembros no intervenidos perfectamente diferenciados en sus tres segmentos habituales. Por otra parte no se apreció falta alguna de cierre de la pared ni escoliosis.

El estudio de los cortes histológicos efectuados, nos permitió comprobar como, frente a un desarrollo normal de la cintura escapular (Figs. 126, 127 y 128), en ninguno de los cortes se pudo apreciar estructura ósea ni cartilaginosa, de estilopodio derecho (Figs. 125, 126 y 127), así como la existencia de un pequeño paquete muscular que ocupaba la posición habitual de la cabeza del húmero derecho (Fig. 126). Se comprobó, asimismo, el cierre total de la pared anterior (Fig. 125). Se trataba pues de una AMELIA de miembro superior derecho, con desarrollo normal de la cintura escapular.

S.- 283.

Embrión intervenido mediante electrocoagulación de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo de miembro superior derecho, a los tres días de incubación, cuando presentaba un desarrollo de estadio 17 de HAMBURGER y HAMILTON, utilizándose el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de dos segundos.

Durante la operación se produjo una importante hemorragia focal, acompañada de una gran taquicardia. La hemostasia del foco se produjo espontáneamente a los 20 segundos, dejando ocupados los flancos del embrión, por abundante líquido hemático. La taquicardia persistía a las 12 horas de la intervención y había desaparecido a las 16 horas. Posteriormente la frecuencia cardíaca se estabilizó definitivamente. Los controles sucesivos, mostraron una reabsorción progresiva del derrame sanguíneo, que era inapreciable al segundo día de la operación. El desarrollo del embrión fué muy lento en comparación con los testigos, de tal forma que al quinto día de operado presentaba un estadio de desarrollo 26-27 de H. y H., mientras que los testigos estaban en estadios 33-34.

Sacrificado al quinto día de la intervención, se estudió y fotografió macroscópicamente, comprobando la ausencia total de miembro superior derecho, así como la existencia de una grave celosomía, que asociaba un ectocardias muy evidente (Figs. 129 y 130).

El estudio microscópico de los cortes efectuados, mostraban la ausencia total de estructura ósea que pudiera corresponder a miembro, en la localización de ala (Figs. 131 y 132), con desarrollo normal de la escápula. Tal como se aprecia en las microfotografías, existía tan sólo un muñón en la localización habitual de ala derecha, desprovista por completo de estructura ósea alguna, si bien las conexiones nerviosas y vasculares eran de significado interés, tal como se aprecia en las microfotografías efectuadas de algunos de los cortes, (Figs. 132 y 133). Se trata por lo tanto de una AMELIA del miembro superior derecho.

S.- 301.

Embrión intervenido a los tres días y medio de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 19 de HAMBURGER y HAMILTON. Se le practicó la electrocoagulación de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante dos segundos de contacto. En el curso de la intervención se produjo una importante hemorragia focal, que persistió durante 10 segundos. Se estableció también una taquicardia grave, que persistía a las seis horas y había desaparecido a las doce horas.

Los controles habituales mostraron la detención del crecimiento del muñón del ala intervenida, a las 36 horas de la operación, a la vez que se apreciaba una total cicatrización de la lesión. El resto del embrión mantenía un ritmo de crecimiento homogéneo, pero lento, con respecto a los testigos. Se sacrificó al final del tercer día, ante la aparición de graves trastornos del ritmo cardíaco y pulso vascular.

Al estudio macroscópico, se evidenció la presencia de un muñón en la localización habitual del ala derecha. El resto del embrión era aparentemente

normal. No se apreció escoliosis ni celosomía (Figs. 134 y 135).

Los cortes histológicos mostraron la existencia de un estilopodio de ala derecha presente, aunque muy atrófico. La cintura escapular era normal y la articulación proximal del ala estaba bien desarrollada en su componente esquelético escapular. Sin embargo, tal como se aprecia en las microfotografías efectuadas de cortes a distintos niveles, el esqueleto estilopodal sólo estaba presente en su epífisis proximal (Figs. 136 y 137), mientras el ala contralateral estaba normalmente desarrollada. Al igual que en muchos de los casos estudiados, de HEMIMELIAS graves, el desarrollo de los troncos nerviosos de la extremidad intervenida, no había sufrido alteraciones con la intervención (Figs. 138 y 139), siendo de tamaño idéntico a los correspondientes a miembros totalmente normales.

S.- 305.

Embrión intervenido a los tres días y medio de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 19 de HAMBURGER y HAMILTON, al que se practicó la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante un tiempo de contacto de dos segundos. Durante la intervención no se plantearon problemas, tan sólo una discreta taquicardia, que evolucionó favorablemente en el curso de las tres primeras horas.

Mediante los controles habituales controlamos el curso del crecimiento del ala intervenida, comprobando la detención de su crecimiento, en longitud, a las 36 horas aproximadamente de la intervención. Se sacrificó al tercer día, cuando se encontraba en un estadio 30 de H. y H.

El estudio macroscópico, mostraba la presencia de un muñón de características proximales en la localización habitual del ala derecha (Figs. 140 y 141). El resto del embrión no presentaba alteraciones macroscópicas evidenciables. No había escoliosis ni celosomía.

El estudio de los cortes microscópicos permitió comprobar la existencia de un muñón con estructura de estilopodio, con buen desarrollo de la cintura escapular, así como de la musculatura proximal del ala y una inervación a cargo de troncos nerviosos de tamaño semejante al lado no intervenido, tal como se observa en las microfotografías efectuadas (Figs. 142 y 143), de uno de los cortes, en que se observa la aparente desproporción entre el atrófico esqueleto estilopodal del ala derecha y el tamaño de los troncos nerviosos, que van a perderse en el espesor de la también desarrollada musculatura de la raíz y de la porción presente del miembro intervenido. Se trata pues de una HEMIMELIA con un segmento, el estilopodio.

Embrión operado a los tres días de incubación, cuando se encontraba en un estadio 17 de HAMBURGER y HAMILTON, al que se practicó la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante dos segundos de contacto.

Durante la intervención se produjo una hemorragia focal de mediana intensidad y unos 10 segundos de duración que se cohibió espontáneamente. Observamos asimismo, una taquicardia importante que se mantenía a la hora y había regresado a las tres horas de la operación. Las observaciones postoperatorias habituales, mostraron un proceso de cicatrización rápido del esbozo intervenido, si bien a las 48 horas no se evidenciaba desarrollo alguno del ala derecha. También se observó una evolución muy lenta del pico, comparándolo con los embriones testigos. Fué sacrificado al cuarto día, comprobando un desarrollo equivalente a estadio 31 de H. y H., idéntico al de los testigos.

El estudio macroscópico bajo lupa, mostró la ausencia de desarrollo del miembro superior intervenido (Fig. 144), mientras que los restantes miembros

eran normales. Se comprobó, asimismo, la grave alteración del cierre de la pared anterior, que se traduce por una celosomía que se asocia a un evidente ectocardias. Se trataba pues de una AMELIA de miembro superior derecho.

El estudio de los cortes microscópicos efectuados, permitió comprobar la ausencia de estilopodio en la localización del ala derecha, la cual estaba representada, tal como se evidencia en las microfotografías efectuadas (Figs. 145, 146 y 147), tan sólo por un muñón de contenido muscular. La cintura escapular estaba perfectamente desarrollada y los troncos nerviosos correspondientes al ala derecha, presentaban las características propias de un miembro bien formado. Se comprueba pues que la malformación obtenida es una AMELIA del miembro intervenido, con una normal evolución de la cintura escapular.

S.- 311.

Embrión intervenido a los tres días y medio de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 19 de HAMBURGER y HAMILTON, al que se practicó la electrocoagulación de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de dos segundos.

En el transcurso de la operación se produjo una grave hemorragia focal, que tardó más de 20 segundos en remitir. La taquicardia que se asoció inmediatamente duró casi seis horas, a partir de las cuales las observaciones postoperatorias habituales no mostraron alteraciones que no se refirieran al miembro intervenido, el cual no aumentó de tamaño a partir de las 24 horas de la intervención, mientras que el resto del embrión experimentaba un crecimiento muy lento en comparación con los testigos, de forma que cuando se sacrificó al embrión, al inicio del cuarto día, se encontraba en un estadio 28-29 de H. y H., frente a un estadio 32 de los testigos.

El estudio macroscópico bajo lupa, mostró la existencia de un ala derecha extremadamente corta,

en forma de un muñón de características proximales, que podría interpretarse como un segmento de estilopodio (Fig. 148). El desarrollo del resto del embrión era normal para el estadio global alcanzado por el embrión, sin embargo se apreció una grave celosomía, que se asociaba a un ectocardias.

Con el fin de completar el estudio de este embrión, procedimos a cortarlo transversalmente y tras su tinción, observar los miembros; así comprobamos que existía una cintura escapular perfectamente desarrollada, a la que se articulaba la extremidad superior de un estilopodio derecho atrófico y presente tan sólo en su epífisis proximal, en forma de una estructura esquelética redondeada (Fig. 150), que desaparecía prontamente en los sucesivos cortes, con una desproporcionada envoltura muscular bien inervada. Tal como se muestra en las microfotografías efectuadas de uno de los pocos cortes, en que es evidente el estilopodio del miembro intervenido (Fig. 149), el miembro contralateral presentaba un desarrollo normal. Se trata pues de una HEMIMELIA con un segmento atrófico.

S.- 321.

Embrión intervenido a los tres y medio días de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 19 de HAMBURGER y HAMILTON, al que se practicó la electrocoagulación total de la Cresta Cetodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante un tiempo de contacto de dos segundos.

Durante la intervención no se produjeron incidentes graves que reseñar, realizándose posteriormente las observaciones postoperatorias habituales, que nos permitieron comprobar como el desarrollo global del embrión no presentaba retrasos con respecto a los testigos. Tan sólo el miembro intervenido mostró la detención de su crecimiento en longitud, antes de las 48 horas del postoperatorio. Fué sacrificado al cuarto día, cuando presentaba un estadio 30 de desarrollo, idéntico al de los testigos.

Tras su fijación en formol al 10%, se procedió al estudio macroscópico bajo lupa, comprobando que el ala derecha estaba representada tan sólo por un muñón de apariencia de estilopodio (Fig. 151), que se ponía mejor de manifiesto mediante el estudio comparativo con uno de los embriones testigos (Fig. 152). El resto del embrión

presentaba características normales.

El estudio de los cortes histológicos efectuados, mostró la existencia de una cintura escapular derecha perfectamente constituida, que se articulaba a un estilopodio atrófico y presente en su tercio proximal exclusivamente. Las microfotografías efectuadas (Figs. 153 y 154), muestran a distintos aumentos un corte transversal que pasa a través de la parte más distal del estilopodio intervenido y permiten observar el pequeño diámetro transversal de la diáfisis del húmero, a pesar de lo cual una importante masa muscular, comparativamente semejante a la del ala izquierda, rodea dicho hueso y lo superaba distalmente en el ápex del muñón. Asimismo, es evidente la importante participación nerviosa, representada en el corte por un grueso tronco que se pierde en el espesor de dicha musculatura (Figs. 155 y 156). Se trata pues de una HEMIMELIA con un segmento estilopodal atrófico, con una cintura escapular normal y un desproporcionado desarrollo muscular y nervioso a nivel del muñón del ala intervenido.

S.- 327.

Embrión operado cuando presentaba un estadio de desarrollo 20 de HAMBURGER y HAMILTON y llevaba tres y medio días de incubación. Se le practicó la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro inferior derecho. Fué utilizado el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de dos segundos. Durante la intervención, no se produjeron incidentes de interés. Tan sólo una discreta taquicardia, que a las tres horas había regresado.

Durante los días siguientes, se realizaron los controles habituales, que mostraron la detención del desarrollo, a nivel del miembro intervenido. El resto del embrión se desarrolló de una forma homogénea, sin retrasos con respecto a los testigos.

Fué sacrificado al cuarto día y posteriormente a su fijación, se procedió al estudio macroscópico, mediante lupa, observándose así un desarrollo equivalente al estadio 35 de H. y H. En la localización habitual de la pata derecha, se observó la presencia de un muñón, no reconocible por su forma externa, pediculado mediante un estrechamiento que lo unía al tronco. No se observaron

ninguna otra clase de anomalías (Figs. 157 y 158).

El estudio de los cortes histológicos, reveló la ausencia total de estructura ósea o cartilaginosa, a nivel del muñón, distalmente a la extrangulación (Figs. 161 y 162). Proximalmente a la misma, existía una porción de estilopodio de características semejantes al lado contralateral, correspondiendo aproximadamente a los dos tercios proximales del fémur contralateral (Fig. 159). Frente a ello, el desarrollo muscular (Fig. 160), es semejante al lado sano. Se trata pues de una HEMIMELIA con un segmento.

S.- 354.

Embrión intervenido a los tres días y medio de incubación, cuando presentaba un estadio 20 de desarrollo, al que se practicó la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante un tiempo de contacto de dos segundos.

Durante la intervención no se produjo hemorragia focal y la taquicardia que se instauró, había regresado a las tres horas. Los controles postoperatorios habituales permitieron comprobar la detención del crecimiento a partir de las 36 horas de la operación, mientras que el embrión seguía un desarrollo global equivalente al de los embriones testigos. Fué sacrificado al cuarto día, presentando un estadio de desarrollo 32 de H. y H., idéntico al de los controles, fijándose a continuación con formol al 10%.

El estudio macroscópico, bajo lupa, permitió observar como el miembro intervenido era de longitud mucho menor que el contralateral y que en él, no se apreciaba el pliegue correspondiente al codo (Figs. 163 y 164). Asimismo comprobamos la normal disposición de la espalda

y cuello y el perfecto cierre de la pared anterior.

Por considerarlo de interés, procedimos de inmediato a someter al embrión a la técnica de DIAFANIZACIÓN, con el fin de estudiar el desarrollo alcanzado por el sistema esquelético. Así comprobamos que el ala intervenida, estaba representada exclusivamente por el tercio proximal de un estilopodio (Fig. 165), que, sin embargo, presentaba cercana a su extremo proximal la acodadura normalmente situada en el tercio medio de los húmeros de los testigos (Fig. 166), tal como se pone de evidencia en las fotografías realizadas bajo lupa. El resto del esqueleto del embrión, era completamente normal para el estadio de desarrollo alcanzado, tratándose pues de una HEMIMELIA con una porción proximal del segmento estilopodal presente.

S.- 362.

Embrión operado a los tres y medio días de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 19 de HAMBURGER y HAMILTON, al que se practicó la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante un tiempo de contacto de 2 segundos. En el curso de la intervención no se produjeron incidentes de interés, si bien se instauró una discreta taquicardia que regresó espontáneamente antes de las tres horas.

Las observaciones postoperatorias habituales mostraron la detención del desarrollo del miembro intervenido, a las 48 de la operación, mientras que el resto del embrión mostró siempre estadios evolutivos semejantes a los embriones testigos. Fué sacrificado a las 96 horas de operado, presentando un estadio 29-30 de desarrollo y fijado posteriormente en formol al 10%.

El estudio macroscópico, bajo lupa, nos mostró la existencia, a nivel del ala derecha, de un muñón de reducido tamaño, que representaba externamente, una porción proximal de estilopodio (Figs. 167 y 168).

El estudio de los cortes histológicos, nos permitió comprobar el perfecto desarrollo adquirido por la cintura escapular, así como la articulación entre la misma y el estilopodio del ala intervenida (Figs. 169, 170 y 171). Tal como muestran las microfotografías obtenidas de cortes a diversos niveles, se halla presente tan sólo un pequeño segmento proximal del estilopodio del ala derecha, que sin embargo está rodeado de varios grupos musculares bien desarrollados, a pesar del poco o nulo sustrato óseo de la raíz del miembro superior intervenido (Figs. 170 y 172). También es de destacar la presencia de troncos nerviosos de calibre semejante al del lado sano, que se pierden entre las fibras de los grupos musculares más distales (Fig. 172). Se trata pues de una HEMIMELIA con un segmento presente tan sólo en su tercio proximal, con una buena envoltura muscular, normalmente inervada, en un embrión con un desarrollo esquelético global acorde con el estadio externo del embrión.

S.- 384.

Embrión intervenido a los tres días y medio de incubación, cuando presentaba un desarrollo de estadio 20 de HAMBURGER y HAMILTON, al que le fué practicada la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizándose el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de 2 segundos. Durante la intervención no se produjo lesión vascular que motivase hemorragia alguna. Una taquicardia moderada, se instauró desde el inicio de la operación, regresando de una forma totalmente espontánea, antes de las tres horas siguientes.

En los controles habituales, no llamó la atención ninguna incidencia particular. Tan sólo al tercer día, anotamos la no formación del plato autopodal en el miembro intervenido. Fué sacrificado al inicio del cuarto día de postoperatorio, presentando un estadio de desarrollo 30 de H. y H., mientras que los controles se encontraban en un estadio 31-32 de H. y H.

Se estudió a continuación, bajo lupa, pudiendo comprobar como en el miembro intervenido faltaba el plato autopodal (Figs. 173 y 174). Sin embargo, el esti-

lopodio y cigopodio estaban claramente desarrollados y diferenciados. Tal como muestran las fotografías realizadas "in toto", bajo lupa, existía una grave lesión de la vesícula óptica derecha. Asimismo, se pudo observar una pequeña celosomía que afectaba exclusivamente al compartimiento abdominal. No se observó escoliosis.

El estudio de los cortes histológicos permitió comprobar la existencia de autopodio y cigopodio bien desarrollados, en la extremidad intervenida. No se pudo encontrar estructura alguna de autopodio (Figs. 175 y 176) El cierre de la pared anterior era prácticamente total, a excepción de una pequeña porción del tercio medio anterior de la misma. Se trata por lo tanto de una HEMIMELIA con dos segmentos.

S.- 393.

Embrión intervenido a los tres días y medio de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 20 de HAMBURGER y HAMILTON, al que le fué practicada la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizándose el reostato a nivel -4- durante un tiempo de contacto de dos segundos. En el curso de la intervención, se produjo una importante hemorragia focal, que remitió espontáneamente a los 10 segundos. Se asoció, asimismo, una taquicardia de más de tres horas de duración.

Los controles habituales, mostraron un desarrollo lento del embrión intervenido, que a partir del tercer día era de casi cuatro estadios con respecto a los embriones testigos. En esta fecha, se apreció de una forma clara la detención que se había producido en el desarrollo, tanto en longitud como en anchura, del esbozo intervenido. Se sacrificó al inicio del cuarto día de postoperatorio, cuando había alcanzado un estadio de desarrollo 29 de H. y H.

El estudio macroscópico, bajo lupa, mostró

un embrión globalmente bien desarrollado, a excepción del ala derecha, que presentaba la ausencia total del plato autopodal, así como un cigopodio delgado (Figs. 177 y 178). Se apreció también una pequeña celosomía de predominio abdominal. No se observó escoliosis.

Practicada una minuciosa autopsia, se comprobó la existencia de un estilopodio bien desarrollado. El esqueleto cigopodal estaba constituido exclusivamente por la mitad proximal de los dos huesos. Se trata pues de una HEMIMELIA con dos segmentos.

S.- 401.

Embrión intervenido a los tres días y medio de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 20 de HAMBURGER y HAMILTON, al que se practicó la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizándose el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de dos segundos. En el curso de la intervención, se produjo una pequeña hemorragia focal, que se cohibió espontáneamente en unos cinco segundos. Una importante taquicardia se instauró de inmediato, pero progresivamente volvió a tender a la normalidad, de forma que a las tres horas, la frecuencia cardíaca era normal.

Los controles habituales, no mostraron incidencias de interés hasta pasados tres días del postoperatorio, cuando comprobamos que no se había realizado el cierre de la pared anterior y existía un gran ectocardias. El miembro superior derecho, no aparentaba alteración grave de su desarrollo. Se sacrificó al cuarto día del postoperatorio, cuando se encontraba en un estadio de desarrollo 30 de H. y H.

Al estudio bajo lupa, se observó la presencia

de un miembro superior derecho en el que no se apreciaba el plato autopodal, si bien el estilopodio y el cigopodio estaban presentes y bien desarrollados (Figs. 179 y 180). También se apreció la existencia de una grave celosomía que afectaba fundamentalmente a la porción torácica dando lugar a un grave ectocardias. El pico también presentaba una alteración grave del desarrollo, encontrándose aparentemente en fase muy primitiva de su evolución. No existía escoliosis.

Los cortes histológicos efectuados, mostraron la ausencia total de autopodio, en un miembro con los dos segmentos proximales presentes y bien desarrollados (Fig. 181). Se confirmó, asimismo, la ausencia de cierre de la pared anterior torácica y la existencia de un ectocardia total. Se trata pues de una HEMIMELIA con dos segmentos, del miembro superior derecho.

S.- 405.

Embrión intervenido a los tres días y medio de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 19 de HAMBURGER y HAMILTON, al que le fué practicada la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante un tiempo de contacto de dos segundos. En el transcurso de la intervención, se produjo una grave hemorragia focal, que no regresó hasta los diez segundos y obligó a controles exhaustivos. Esta extravasación sanguínea creemos fué la causa de los graves trastornos del ritmo cardíaco que, junto con una gran taquicardia, persistieron durante casi tres horas. A partir de entonces, se produjo una progresiva mejoría de estos factores. A las seis horas de la intervención el embrión presentaba características de franca viabilidad y a las nueve horas la frecuencia cardíaca era prácticamente normal.

Los controles realizados posteriormente no presentaron particular interés. En el tercer día del postoperatorio, apreciamos un claro retroceso del crecimiento global del embrión, que al cuarto día, cuando fué sacrificado, representaba una diferencia de cuatro estadios, con respecto a los testigos.

El examen macroscópico efectuado, bajo lupa, mostró un desarrollo correspondiente a estadio 28 de H. y H., mientras que los embriones testigos estaban en un estadio 31-32. Sin embargo, el embrión presentaba un desarrollo homogéneo excepto en zonas relacionadas con la intervención. Así el ala derecha presentaba un estilopodio y cigopodio aparentemente presentes, aunque con un diámetro transversal por debajo de lo normal (Fig. 182). Asimismo, era evidente la ausencia total del plato autopodal en el ala intervenida (Fig. 183). Otras malformaciones aparentes, fueron el grave déficit de cierre de la pared anterior, que se traducía por una gran celosomía. También el pico presentaba un gran retraso de desarrollo.

La autopsia practicada demostró la existencia de un estilopodio de características normales. El cigopodio, sin embargo, presentaba exclusivamente una estructura esquelética, que correspondía a un cúbito en sus dos tercios proximales. No existía autopodio. Se trataba pues de una HEMIMELIA con los dos segmentos proximales presentes, si bien el cigopodio sólo está ocupado por un eje esquelético.

S.- 419.

Embrión intervenido a los tres y medio días de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 19 de HAMBURGER y HAMILTON, al que se practicó la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizándose el reostato a nivel -4- y un tiempo de contacto de dos segundos. En el curso de la intervención, se produjo una grave hemorragia focal, que tardó unos 15 segundos en remitir. Se asoció, asimismo, una intensa taquicardia, de más de 12 horas de duración.

Se realizaron controles cada seis y doce horas, comprobando el lento desarrollo global del embrión, así como la detención del crecimiento en longitud, del esbozo del ala derecha. A partir de los tres días y medio del postoperatorio, se inició una bradicardia con alteraciones graves del ritmo, por lo que se decidió el sacrificio del embrión.

Al estudio macroscópico, bajo lupa, se comprobó un estadio 29 de desarrollo. El estudio a más aumento del esbozo intervenido, mostró que había evolucionado a un muñón de características proximales, en la lo-

calización habitual del ala derecha (Figs. 184 y 185). Tal como muestran las fotografías realizadas, presentaba una grave celosomía, así como alteraciones del pico y de las vesículas telencefálicas. No se observó escoliosis.

El estudio de los cortes histológicos efectuados, nos permitió comprobar la existencia de una cintura escapular perfectamente desarrollada, si bien la cavidad articular del hombro estaba sólo parcialmente formada, dada la escasa superficie de contacto que le ofrece la cabeza humeral (Fig. 188). Tal como se aprecia en las microfotografías efectuadas, de cortes a distintos niveles, el estilopodio del ala derecha está representado por una esfera de corto diámetro, que ocupa tan sólo el lugar habitualmente ocupado por la cabeza humeral (Figs. 187 y 188). A pesar del mínimo desarrollo adquirido por esta ala, es evidente la presencia de masas musculares bien inervadas, rodeando el esqueleto atrófico del estilopodio del miembro intervenido (Figs. 186, 187 y 188). Todo esto se pone más de manifiesto si lo comparamos con el miembro contralateral sano (Fig. 189). En resumen pues, se trata de una HEMIMELIA de un segmento, representado por una porción de estilopodio que corresponde a la cabeza humeral.

S.- 426.

Embrión al que se practicó la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho. Se encontraba en estadio 17 de HAMBURGER y HAMILTON, después de tres días de incubación. El reostato estaba a nivel -4- y el tiempo de contacto fué de 2 segundos. Al retirar el electrodo se produjo una grave hemorragia focal, que tardó más de 15 segundos en desaparecer, asociándose a gran taquicardia que persistía a las tres horas y había remitido a las seis horas.

En las observaciones habituales se comprobó la desaparición del derrame sanguíneo entre las 48 y 60 horas. A los tres días del postoperatorio era ya evidente un trastorno del crecimiento del pico y una ausencia total del ala derecha. Como quiera que la red vascular demostró signos deficitarios en el curso del tercer día, se procedió al sacrificio del embrión antes del cuarto día, cuando estaba en un estadio de desarrollo 28 de H. y H. Comparativamente con los embriones testigos, éste presentó un importante retraso de desarrollo global, equivalente a casi 24 horas de incubación.

El estudio macroscópico, bajo lupa, (Fig. 190), mostró la presencia de un pequeño muñón en la localización habitual del ala derecha, así como un grave trastorno del pico. No se apreció escoliosis y la pared anterior aparecía bien cerrada.

El estudio de los cortes histológicos efectuados, nos permitió comprobar la inexistencia de vestigio esquelético alguno de estilopodio del ala derecha. Se trata por lo tanto de una AMELIA (Figs. 192 y 193).

S.- 439.

Embrión intervenido en estadio 17 de HAMBURGER y HAMILTON, cuando se iniciaba el tercer día de incubación, al que se practicó la electrocoagulación focal de la Cresta Ectodérmica Apical, utilizando el reostato a ni vel -4- y con un tiempo de contacto de dos segundos. Durante la operación se produjo una discreta hemorragia focal, que se cohibió espontáneamente a los cinco segundos de iniciada. Se estableció asimismo una intensa taquicardia que duró menos de seis horas.

Las observaciones habituales postoperatorias, mostraron una alteración del crecimiento del pico, en comparación con la evolución de los controles. Asimismo, no se comprobó crecimiento alguno del miembro intervenido, frente a un desarrollo normal del resto de miembros. Fué sacrificado al cuarto día del postoperatorio, cuando presentaba un estadio 30 de H. y H., idéntico al conseguido por los embriones controles.

El estudio macroscópico, bajo lupa, mostró la ausencia total de ala derecha (Figs. 194 y 195), así como una grave alteración del pico. También se observó la presencia de un gran abultamiento en región precordial,

si bien el cierre de la pared anterior presentaba una apriencia de normalidad.

El estudio de los cortes histológicos practicados, permitió comprobar la ausencia total de desarrollo de la extremidad intervenida, frente a una evolución completamente normal del resto del aparato locomotor del embrión. Las microfotografías efectuadas de cortes a distintos niveles, muestran el normal desarrollo alcanzado por el ala izquierda, mientras que en ningún momento se observa la presencia de estructura ósea ni cartilaginosa correspondiente a estilopodio derecho (Figs. 196, 197 y 198). La cintura escapular estaba bien formada y la musculatura proximal así como su inervación eran, en las porciones presentes, semejantes al lado sano. Se trataba pues de una AMELIA del miembro superior derecho.

S.- 469.

Embrión intervenido a los tres días de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 17 de HAMBURGER y HAMILTON, al que le fué practicada la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del ala derecha, utilizando el reostato a nivel -4- durante 2 segundos de contacto. En el curso de la operación no se produjo hemorragia focal significativa. Se instauró durante unos 10 minutos, una importante taquicardia que evolucionó espontáneamente hacia la normalidad. Así, a los 60 minutos la frecuencia era normal.

Las observaciones habituales postoperatorias mostraron únicamente alteraciones en el muñón intervenido, el cual, tras la reparación espontánea de la lesión quirúrgica, no experimentó crecimiento alguno. Se sacrificó al cuarto día del postoperatorio, comprobando un desarrollo casi equivalente al de los embriones testigos, estadio 31 de H. y H.

El estudio bajo lupa, mostró un embrión con desarrollo completamente normal de todas sus partes, a excepción del ala derecha, de la que no existían vesti-

gios. No existía escoliosis y el pico era normal (Figs. 199 y 200).

El estudio de los cortes histológicos nos permitió comprobar la falta total de desarrollo de la extremidad intervenida, frente a una evolución normal para el estadio 31 de H. y H. del ala izquierda. Las microfotografías efectuadas nos muestran la ausencia de vestigio óseo ni cartilaginosa a nivel de la localización del ala derecha (Fig. 202), mientras que se aprecia la existencia de un miembro superior izquierdo normalmente constituido (Fig. 201). Se trata pues de una AMELIA del miembro superior derecho.

S.- 474.

Embrión operado a los tres y medio días de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 20 de H. y H. Le fué practicada la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical, del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante un tiempo de contacto de 2 segundos. Durante la intervención, no se produjeron incidencias de interés. Como era habitual, se produjo un aumento de la frecuencia cardíaca, de poca intensidad, normalizada antes de las tres horas.

Se realizaron los controles habituales, sin que hasta el tercer día se pudiese apreciar la detención de crecimiento del ala derecha. El desarrollo normal del embrión era evidente y al principio del cuarto día estaba en un estadio 29. Entonces se decidió sacrificarlo y proceder a su fijación en formol al 10%.

El estudio macroscópico efectuado, mostró la ausencia de plato autopodal. Sin embargo, era evidente la presencia de los dos segmentos proximales, estilopodio y cigopodio (Figs. 203 y 204). También se apreció la desaparición de la tensión habitual de la vesícula óptica derecha. No se apreció celosomía ni escoliosis.

S.- 484.

Embrión intervenido a los tres días y medio de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 20 de HAMBURGER y HAMILTON, al que fué practicada la electrocoagulación de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de 2 segundos.

En el curso de la intervención no se produjeron incidencias de interés, ni durante las observaciones postoperatorias habituales pudimos observar alteraciones del desarrollo ni global, ni del ala intervenida. Al inicio del cuarto día, cuando presentaba un estadio de desarrollo 30 de H. y H., fué sacrificado y fijado en formol al 10%.

El estudio macroscópico bajo lupa, mostró la existencia de un ala derecha más corta que la contralateral (Fig. 205). Tal como se aprecia en las fotografías efectuadas, dicho acortamiento se debe exclusivamente a la ausencia de plato autopodal, mientras que los segmentos estilopodal y cigopodal se hallaban perfectamente desarrollados en longitud (Fig. 206). Asimismo es evidente el perfecto cierre de la pared anterior

y la ausencia de otras malformaciones asociadas.

Por considerarlo de interés, se sometió de inmediato al embrión al método de DIAFANIZACION con el fin de poder estudiar el desarrollo alcanzado por todo el sistema esquelético y en particular del miembro intervenido. Tal como muestran las fotografías efectuadas bajo lupa, el estilopodio se halla perfectamente desarrollado, mientras que el cigopodio se halla presente casi en su totalidad, si bien no se observa la existencia de cartílago de crecimiento distal de ninguno de los dos ejes esqueléticos, así como de autopodio (Fig. 207). Se trata pues de una HEMIMELIA con los dos segmentos proximales presentes y bien desarrollados, si bien existen alteraciones de escasa importancia en las epífisis distales del cúbito y radio del ala intervenida. Todo ello se pone mejor de manifiesto si se compara con la fotografía efectuada de un embrión normal (Fig 208).

S.- 496.

Embrión intervenido a los tres días de incubación, cuando presentaba un estadio 18 de HAMBURGER y HAMILTON, practicándose la electrocoagulación de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizándose el reostato a nivel -4- durante un tiempo de contacto de 2 segundos. Durante la operación no se produjeron alteraciones graves de la frecuencia cardíaca ni hemorragia focal.

Las observaciones habituales postoperatorias sirvieron para comprobar la ausencia de crecimiento del esbozo intervenido, así como la evolución normal del resto del embrión, el cual fué sacrificado al cuarto día del postoperatorio, presentando un desarrollo algo inferior a los controles, 31 de H. y H.

Al estudio macroscópico, se apreció la ausencia de ala derecha, estando representada únicamente por un pequeño abultamiento (Figs. 209 y 210), en la localización habitual de dicho miembro. No existía escoliosis y el cierre de la pared anterior era externamente total.

El estudio de los cortes microscópicos efectuados, corroboró la suposición de que se trataba de una AMELIA por la inexistencia de estructura ósea alguna que pudiera remedar el estilopodio del ala. La cintura escapular estaba bien desarrollada y no había alteraciones en la pared anterior.

Tal como se aprecia en las fotografías efectuadas de cortes a distinto nivel, si bien el miembro superior izquierdo se observa completamente desarrollado (Figs. 211 y 212), en el lado derecho la máxima representación del ala, se aprecia como un muñón ocupado por tejido muscular y graso, con alguna vacuola, aparentemente ocupada por restos hemorrágicos (Fig. 211). En ningún corte hemos podido apreciar estructura ósea ni cartilaginosa que pudiese corresponder a un estilopodio, ni siquiera atrófico, del miembro intervenido (Figs. 211, 212 y 213), si bien la cintura escapular estaba regularmente desarrollada. Se trata por lo tanto de una AMELIA a nivel del miembro superior derecho.

S.- 510.

Embrión operado a los tres días de incubación, cuando se le apreciaba un estadio de desarrollo 16-17 de HAMBURGER y HAMILTON, al que se practicó la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante un tiempo de contacto de 2 segundos. Durante la intervención, se produjo una hemorragia focal, de mediana intensidad, que persistió durante unos 15 segundos y se cohibió espontáneamente. Se instauró, asimismo, una taquicardia que persistía a las tres horas y había regresado a las seis horas.

Las observaciones habituales mostraron la buena cicatrización del esbozo intervenido, que era completa a las 36 horas. Sin embargo, a las 48 horas no se evidenciaba crecimiento alguno del ala derecha, mientras que el resto de miembros presentaban un desarrollo normal. Fué sacrificado al cuarto día, presentando un estadio de crecimiento 29 de H. y H., frente a un estadio 31 de los embriones testigos.

Las observaciones macroscópicas bajo lupa,

permitieron comprobar la ausencia de desarrollo del ala intervenida (Figs. 214 y 215), frente a un nivel evolutivo del resto de las extremidades normal, así como del resto del embrión, el cual presentaba un cierre total de la pared anterior del abdomen.

Para completar el estudio del embrión, se procedió a cortarlo y realizar las preparaciones histológicas, algunas de las cuales, por considerarlas demostrativas, hemos reproducido en microfotografías. En ellas se aprecia como el miembro superior izquierdo en los sucesivos niveles, presenta un desarrollo normal, mientras que el ala intervenida se encuentra por completo ausente (Figs. 216, 217, 218 y 219). Del estudio de éstos y el resto de cortes, sacamos la conclusión de que se trataba de una AMELIA a nivel del miembro superior derecho a pesar de existir una cintura escapular bien desarrollada y llegar hasta el muñón, troncos nerviosos de un volumen semejante al lado contralateral sano.

S.- 513.

Embrión de pollo operado a los tres días de incubación, en estadio 17 de HAMBURGER y HAMILTON. Se le practicó la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante un tiempo de contacto de 2 segundos.

Durante la operación se produjo una hemorragia focal de mediana intensidad y unos 10 segundos de duración, que se cohibió espontáneamente. Se produjo, asimismo, una importante taquicardia que se mantenía a las tres horas y había desaparecido a las seis horas.

Se efectuaron los controles habituales, comprobando un proceso de cicatrización favorable de la lesión operatoria, así como un desarrollo de crecimiento algo retrasado con relación a los testigos. En ningún momento se pudo observar existencia alguna de vestigio del ala derecha. Se sacrificó al cuarto día del postoperatorio, al comprobar una importante bradicardia a partir de las 72 horas. Se apreció un estadio 30 de H. y H.

El estudio macroscópico, bajo lupa, mostró la ausencia total de ala derecha y un desarrollo normal del resto de los miembros, pico y columna (Figs. 220 y 221). Aparentemente, la pared anterior estaba bien cerrada, si bien existía una protusión discreta de la región precordial.

El examen de los cortes histológicos efectuados, mostró la ausencia total de estilopodio así como del resto del ala derecha (Figs. 222, 223 y 224). La cintura escapular estaba presente en su totalidad. La pared anterior de tórax y abdomen eran incompletas, comprobándose una grave celosomía. Se trata pues de una AMELIA del miembro superior derecho.

S.- 545.

Embrión intervenido a los tres días y medio de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 20 de HAMBURGER y HAMILTON, al que se practicó la electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro superior derecho, con el reostato a nivel -4- y un tiempo de contacto de 2 segundos.

Durante la intervención y en las observaciones postoperatorias habituales, no observamos incidencias de interés, siendo en todo momento comparable el desarrollo del embrión intervenido, con el de los testigos. Se sacrificó al cuarto día del postoperatorio, cuando se encontraba en un estadio 33 de H. y H., el mismo que el de los embriones testigos abiertos.

El estudio macroscópico, bajo lupa, evidenció su buena constitución, pero con una gran hernia abdominal, ocupada por tubo digestivo exclusivamente y que se debió formar en las doce últimas horas antes de la muerte. Por lo que atañe al miembro intervenido, era clara la ausencia del plato autopodal (Figs. 225), muy bien desarrollado en el resto de los miembros. Sin embargo, se apreciaba un estilopodio bien desarrollado y un cigo-

podio normal, al menos en sus dos tercios proximales. No se apreció escoliosis.

Por considerarlo de interés, se aplicó a este embrión el método de DIAFANIZACION. Mediante el mismo, pudimos comprobar el normal desarrollo alcanzado por el esqueleto del embrión, a excepción del miembro intervenido. El ala derecha, estaba sólo representada por sus dos segmentos proximales. El estilopodio era normal, pero el cigopodio presentaba exclusivamente una de las dos estructuras esqueléticas, el cúbito. No existían vestigios de radio, ni de autopodio. Se trataba pues de una HEMIMELIA con dos segmentos, de los cuales, el cigopodal solo presentaba un eje esquelético, con apariencia de cúbito (Fig. 226). Esta malformación se pone mejor de manifiesto, comparando el ala intervenida con el ala derecha de un testigo diafanizado (Fig. 227).

S.- 615.

Embrión operado a las 90 horas de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 22-23 de HAMBURGER y HAMILTON. Le fué practicada la electrocoagulación focal de la mitad ventral y postaxial (zona axilar), de la base de implantación del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- y durante un período de contacto de 3 segundos.

Durante la operación no se produjeron incidentes que destacar, a excepción de una taquicardia de elevada frecuencia, pero de menos de tres horas de evolución. Las observaciones que se realizaron, con inspección bajo lupa, no mostraron alteración aparente alguna del desarrollo del embrión. El ritmo de crecimiento fué semejante al de los embriones testigos. En los últimos controles, pasado el cuarto día de postoperatorio, advertimos la anormal actitud del cuello, en flexión lateral. En el quinto día, apreciamos un pequeño acortamiento del miembro intervenido, por lo demás, aparentemente bien formado.

Al sexto día de postoperatorio, sacrificamos al embrión, para realizar a continuación el estudio macroscópico, bajo lupa. Así pudimos comprobar que el miembro

intervenido era de 4 a 5 mm. más corto que el homólogo contralateral. Un estudio a más aumento, probó que este acortamiento se debía exclusivamente al menor desarrollo en longitud, alcanzado por el estilopodio (Figs. 228 y 229). El cigopodio y el autopodio eran idénticos a los del ala izquierda. Se comprobó la actitud viciosa del cuello, que se podía corregir pasivamente con facilidad.

Con el fin de estudiar con más rigor la porción responsable del acortamiento del ala, le fué aplicado a este embrión el método de DIAFANIZACION. Así pudimos comprobar que el esqueleto del estilopodio del miembro intervenido era aproximadamente la mitad de largo que el contralateral y que se articulaba normalmente por sus dos extremos (Fig. 230). El resto del ala era normal, así como el resto del embrión. La columna dorsal y cervical eran normales y no presentaban rotaciones.

El estudio comparativo con un testigo del mismo estadio (Fig. 231), permite ver claramente el acortamiento proporcional del estilopodio del ala intervenida. Se trata pues de una FOCOMELIA por acortamiento del estilopodio.

S.- 650.

Embrión intervenido a las 90 horas de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 23 de HAMBURGER y HAMILTON, al que le fué practicada la electrocoagulación focal de la mitad ventral y postaxial de la base implantación del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante un tiempo de contacto de 3 segundos.

Tanto durante la intervención, como en los controles efectuados después de la misma, no se apreciaron incidencias de interés. Fué sólo a partir del tercer día del postoperatorio, cuando observamos la existencia de un acortamiento importante del miembro intervenido, tanto con respecto al miembro contralateral, como con los testigos. También se apreció una peculiar actitud de ese miembro, que se dirigía exageradamente hacia la línea media, adelante y arriba. El cuello fué tomando una progresiva actitud de flexión lateral y rotación. Fué sacrificado al quinto día del postoperatorio, cuando presentaba un estadio 35 de HAMBURGER y HAMILTON, que correspondía exactamente con el estadio de desarrollo de los embriones testigos.

El estudio macroscópico, bajo lupa, nos mostró la presencia de un miembro superior derecho muy corto, con sus dos segmentos distales -autopodio y cigopodio- normalmente desarrollados, pero unidos al tronco por un segmento proximal de unos 2 mm. (Figs. 232, 233 y 234). Asimismo se comprobó una actitud irreductible en flexión lateral derecha y rotación izquierda del cuello. El resto del embrión presentaba características de normalidad. No se observó celosomía.

Con el fin de completar su estudio, sometimos al embrión al método de DIAFANIZACION, para observar exactamente el desarrollo del sistema esquelético. Así comprobamos que a excepción del miembro intervenido, la evolución global del esqueleto era normal, exceptuando una escoliosis cervico-dorsal convexo-derecha con malformaciones vertebrales. El estudio del miembro operado, mostró la existencia de los dos segmentos distales perfectamente desarrollados y unidos a la cintura escapular por un húmero atrófico, de unos 5 mm. de longitud, que correspondían exclusivamente a su porción distal (Fig. 235). Se trata pues de una FOCOMELIA por falta de desarrollo del esqueleto estilopodal del ala derecha, como se comprueba al compararlo con un ala normal de un embrión diafanizado (Fig. 236).

S.- 709.

Embrión operado a las 90 horas de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 21 de HAMBURGER y HAMILTON, al que le fué practicada la electrocoagulación focal de la mitad ventral y postaxial (zona inguinal), del esbozo del miembro inferior izquierdo, por malposición embrionaria, que dejaba a este como el más accesible. Se utilizó el reostato a nivel -4- durante un tiempo de contacto de 3 segundos.

En el curso de la operación se produjo una pequeña hemorragia focal, que se cohibió espontáneamente en unos cinco segundos. Una grave taquicardia se instauró de inmediato, estando presente a las tres horas y habiendo desaparecido a las seis horas. A partir de ese momento se realizaron controles cada 12 horas. Ya en el segundo día, apreciamos una actitud anormal del miembro intervenido, que además presentó en los siguientes controles un acortamiento importante con respecto a los controles y a la pata derecha. Fué sacrificado al cuarto día, cuando presentaba un estadio de desarrollo 32 de H. y H. mientras que los embriones controles habían llegado a un estadio 34 de H. y H.

El estudio macroscópico bajo lupa (Fig. 237) mostró un grave acortamiento de la pata izquierda, con la existencia de un autopodio y cigopodio de longitudes normales y la ausencia del segmento proximal o estilopodio. También se observó la actitud en flexión y rotación externa del miembro intervenido, tal y como se había observado en el control realizado en el segundo día del postoperatorio (Figs. 238). Descubrimos entonces la existencia de una celosomía total, que asociaba un grave ectocardias. La actitud del cuello era normal.

Se trataba por lo tanto de una FOCOMELIA por defecto de desarrollo del estilopodio de la pata izquierda.

S.- 752.

Embrión intervenido a las 90 horas de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 21 de HAMBURGER y HAMILTON, al que se practicó la electrocoagulación focal de la mitad ventral y postaxial (zona Inguinal) de la base de implantación del esbozo del miembro inferior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de 3 segundos.

Durante la intervención, no apreciamos incidencias de interés. Como es habitual, se instauró una taquicardia, que había desaparecido antes de las tres horas. Realizamos los controles habituales cada doce horas y durante los mismos observamos un desarrollo evolutivo del embrión, semejante al de los testigos. Sólo al sexto control, apreciamos una actitud en extensión del miembro inferior derecho. Durante el quinto día del postoperatorio, anotamos la posibilidad de un discreto acortamiento del miembro intervenido, por lo demás, perfectamente desarrollado.

Fué sacrificado al sexto día de postoperatorio, cuando presentaba un estadio de desarrollo 35-36 de H. y H., que es el correspondiente a un embrión de 10 días

de incubación normal. Los testigos presentaban estadios semejantes.

El estudio macroscópico, bajo lupa (Fig. 239) mostró la existencia de un desarrollo normal de todo el embrión, a excepción del miembro inferior derecho, que presentaba un acortamiento importante, a expensas de su segmento estilopodal. El cigopodio y el autopodio eran aparentemente normales, si bien presentaban una actitud en extensión forzada irreductible (Fig. 240).

Para completar el estudio de este acortamiento, se sometió de inmediato al embrión al proceso de DIAFANIZACION. De esta forma, pudimos comprobar el perfecto desarrollo esquelético alcanzado por el embrión, a excepción del miembro intervenido, el cual presentaba un estilopodio de unos 3 mm. de largo, desarrollado exclusivamente a nivel de su extremidad distal. No existía diáfisis ni porción proximal del estilopodio, si bien la cintura pelviana ósea se apreció perfectamente desarrollada. El cigopodio presentaba una incurvación en -S- itálica a nivel de su tercio medio (Fig. 241). El autopodio estaba completo. El estudio comparativo con el estilopodio de los testigos (Fig. 242), demostró que sólo 1/8 de la longitud se había desarrollado en el miembro intervenido. Se trataba pues de una FOCOMELIA por falta de desarrollo del esqueleto estilopodal.

S.- 759.

Embrión intervenido a las 90 horas de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 22 de HAMBURGER y HAMILTON, al que se practicó la electrocoagulación focal de la mitad ventral y postaxial (zona axilar) de la base de implantación del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de 3 segundos.

Durante el acto operatorio no se produjeron incidentes que destacar. Se produjo una leve taquicardia, que había regresado a las tres horas. Se realizaron los controles habituales cada doce horas. En el curso del tercer día del postoperatorio, se comprobó una situación anormal del miembro intervenido, en comparación con los embriones testigos. En los sucesivos controles, observamos que el ala operada era más corta que las de los testigos y se situaba al lado del cuello. También el cuello adoptó una actitud en rotación y flexión lateral anormal. Sin embargo, el crecimiento normal del embrión era evidente.

Fué sacrificado al sexto día del postopera-

torio, cuando presentaba un estadio de desarrollo global 36 de H. y H., que corresponde al normal en un embrión de diez días de incubación. Era el mismo estadio en que se encontraban los embriones testigos.

Se realizó de inmediato el estudio macroscópico, bajo lupa, en el que se observó la presencia de un miembro superior muy corto, con un autopodio normal, así como el cigopodio (Fig. 243). El relieve de la articulación del codo era normal, pero se encontraba a 3 mm. del cuerpo (Fig. 244). El estilopodio estaba extraordinariamente acortado y además estaba anormalmente dirigido hacia afuera, arriba y atrás. Esta actitud era, sin embargo, corregible pasivamente y la habíamos visto variar esporádicamente de forma activa durante los controles postoperatorios. El resto del embrión estaba correctamente desarrollado, si bien se comprobó también una actitud en rotación y flexión del cuello que adoptaba las características de una tortícolis congénita derecha de la clínica humana.

Le fué aplicado, a continuación, el método de DIAFANIZACION, mediante el cual, comprobamos existía en el miembro superior derecho, un autopodio y cigopodio

perfectamente desarrollados (Fig. 246). El estilopodio, sin embargo, estaba representado exclusivamente por un pequeño segmento DISTAL del húmero, que se articulaba normalmente con los dos huesos del cigopodio (Fig. 245). La actitud del miembro se entiende así, dependía de la situación en flexión del codo y no de una malposición del estilopodio existente. La columna cervical y dorsal no presentaban rotaciones, de manera que la actitud en flexión lateral no se puede catalogar como escoliosis. El resto de las estructuras esqueléticas del embrión, eran las propias de su estadio de desarrollo.

El estudio comparativo con los testigos (Fig. 247), pone mejor de manifiesto el acortamiento del segmento estilopodal del ala intervenida.

S.- 770.

Embrión intervenido a las 90 horas de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 21 de HAMBURGER y HAMILTON, al que se practicó la electrocoagulación focal de la mitad ventral y postaxial (zona inguinal) de la base de implantación del esbozo del miembro inferior izquierdo, que dada la malposición que presentaba el embrión, era el más accesible. Se utilizó el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de 3 segundos.

En el curso de la intervención se produjo una gran hemorragia focal que persistió durante 8 segundos y se acompañó de una importante taquicardia, que no había remitido a las tres horas. El rpimer control se efectuó en este caso a las seis horas del postoperatorio, comprobando la regresión de la taquicardia y el curso evolutivo normal del resto del embrión.

Las observaciones posteriores permitieron observar el lento desarrollo del embrión, en comparación con los testigos. El miembro intervenido no pudo ser observado a partir del segundo control, dado que el embrión adoptó la posición de apoyo sobre el lado derecho espontá

neamente. Fué sacrificado al final del cuarto día del postoperatorio, cuando los embriones testigos presentaban un estadio de desarrollo 33 de H. y H.

El estudio macroscópico bajo lupa, demostró un estadio de evolución 30 de H. y H. No existían otras alteraciones que las que se observaron en el miembro intervenido. Este era más corto que el contralateral, presentando un autopodio diferenciado y uniéndolo al cuerpo un segmento de apariencia cigopodal (Figs. 248 y 249).

Le fué aplicado el método de DIAFANIZACION, que nos permitió comprobar la existencia de los dos segmentos distales de la pata, el autopodio y el cigopodio, bien desarrollados, pero con ausencia total de estilopodio (Fig. 250), lo que se pone mejor de manifiesto si comparamos el miembro intervenido con un miembro inferior de un testigo diafanizado (Fig. 251).

S.- 775.

Embrión intervenido a las 90 horas de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 22 de HAMBURGER y HAMILTON, al que se le practicó la electrocoagulación focal de la mitad ventral y postaxial (zona axilar), de la base de implantación del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel -4- durante un período de contacto de 3 segundos.

Durante la intervención, no se produjo alteración grave de la frecuencia cardíaca y la leve taquicardia instaurada, se resolvió espontáneamente en menos de tres horas. En las observaciones postoperatorias habituales, fuimos comprobando una evolución normal del embrión. A partir del tercer día, observamos una actitud constante del miembro intervenido, el cuál se dirigía hacia arriba y adelante en vez de situarse, como es habitual, hacia abajo y adelante. También el cuello empezó a situarse en flexión hacia el lado derecho. Los exámenes posteriores mostraron la acentuación de ambas anomalías. Se sacrificó al sexto día del postoperatorio, presentando un estadio 35-36 de H. y H., el mismo que presentaban los testigos.

El estudio macroscópico, bajo lupa, mostró la existencia de un miembro superior derecho, con un auto

podio normal y un cigopodio aparentemente bien desarrollado (Fig. 253). Una inflexión en la porción más proximal del cigopodio, aparentaba ser el relieve del codo (Fig. 252). De esta forma, el estilopodio estaba representado por un segmento de miembro de unos 2-3 mm. de longitud. También se comprobó la situación en abducción de dicho segmento. El cuello se observó en flexión lateral derecha irreductible. El resto del embrión presentaba características normales y no había celosomía.

Para completar su estudio, se procedió a tratar al embrión con el método de DIAFANIZACION. De esta forma, pudimos comprobar que los dos segmentos distales del ala derecha, presentaban un desarrollo totalmente normal, así como el resto del embrión. El esqueleto del segmento estilopodal de esa ala, estaba representado por un húmero atrófico de tan sólo unos 6 mm. de longitud, que correspondían en su totalidad al extremo distal (Figs. 254 y 255). Las porciones diáfisarias y extrema proximal no se hallaban presentes. El cuello estaba dotado de una columna normal, no rotada y flexa hacia el lado derecho. (Fig. 254). Se trataba pues de una FOCOMELIA por falta de desarrollo del segmento estilopodal en el ala derecha, lo que se comprueba mediante el estudio comparativo con un testigo igualmente diafanizado (Fig. 256).

Con la finalidad de sintetizar los resultados obtenidos por nosotros, mediante la electrocoagulación de la Cresta Ectodérmica Apical o del Mesodermo postaxial del esbozo de las extremidades del embrión de pollo, comprendidos entre los estadios 17 a 24 de HAMBURGER y HAMILTON, hemos creído oportuno resumir las malformaciones obtenidas en tres grandes apartados, de cada uno de los cuáles presentamos algunos ejemplos de los más demostrativos:

AMELIAS (Figs. 257 y 258).

HEMIMELIAS (Figs. 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267 y 268).

FOCOMELIAS (Figs. 269, 270, 271 y 272).

Con la finalidad de clarificar la imagen fotográfica macroscópica obtenida, hemos decidido asociar a cada una de ellas, un esquema simplificado tomado de la realidad.

D I S C U S S I O N

D I S C U S I O N

En la presente Tesis Doctoral, después del estudio detallado de 86 embriones de pollo, de un total de 800 que fueron intervenidos por diferentes procedimientos, efectuamos un análisis experimental de los factores que regulan el desarrollo de los miembros.

Para valorar nuestros resultados, hemos huido de clasificaciones complejas, a la hora de nominar las malformaciones observadas, adoptando la clásica de ISIDORE GEOFFROY SAINT-HILAIRE, creador de la Teratología moderna, quien en 1.836 propuso una nomenclatura descriptiva de las grandes malformaciones de los miembros, agrupándolos en tres géneros, bien diferenciados, pero no excluyentes, dentro de los cuáles se pueden incluir todas las posibilidades y combinaciones existentes. Estos grupos son:

a.- AMELIAS,

también llamado ectromelia, del griego "ectro": aborto. Se caracteriza-

ría por la ausencia total del miembro, es decir, la ausencia de los tres segmentos fundamentales de la extremidad (estilopodio, cigopodio y autopodio).

b.- HEMIMELIAS,

serían incluídas en este segundo grupo, las malformaciones de los miembros, caracterizadas por la ausencia de las partes distales de los mismos. Es pues , imprescindible para catalogar como hemimelia a una malformación, la presencia de estilopodio o primer segmento, al menos parcialmente desarrollado. Junto a estas hemimelias con un segmento, existen aquellas en que se aprecia la ausencia exclusiva del autopodio o tercer segmento. A éstas las llamaremos hemimelias con dos segmentos, atendiendo a la existencia de los dos componentes proximales, estilopodio y cigopodio.

c.- FOCOMELIAS,

grupo en el que se incluyen todas aquellas malformaciones de los

miembros en las que, observándose autopodios casi o totalmente desarrollados, éstos están soportados por miembros excesivamente cortos, por ausencia total o parcial de uno o los dos segmentos proximales (estilopodio y cigopodio). En este grupo, las partes intermedias y proximales, entre la cintura escapular o pelviana y el segmento distal presente, pueden estar reducidas en su volumen, en su longitud o incluso no haberse desarrollado.

El tema de los factores responsables del crecimiento de los miembros, abordado por numerosos investigadores, plantea en la actualidad varios problemas de interés. No obstante, las hipótesis que hasta la actualidad han sido presentadas por los diversos autores, muestran numerosos puntos de coincidencia, los más importantes de los cuáles son los siguientes:

I.- Todas consideran al Mesodermo como el primero de los dos componentes del esbozo en ser activado.

II.- La diferenciación de la Cresta Ectodér-

mica Apical, depende de un efecto inductor que se propaga en sentido próximo-distal a través del Mesodermo.

III.- La individualización, determinación y diferenciación de los segmentos del miembro, tiene lugar según una secuencia témporo-espacial dada, empezando desde la base del esbozo.

Sin embargo, persiste el desacuerdo respecto a la función que desempeña el Ectodermo del esbozo, concretamente la Cresta Ectodérmica Apical.

Para unos (ZWILLING, SAUNDERS, HAMPE, TSCHUMI, MURILLO-FERROL, MILAIRE, GOETING, etc.) el crecimiento apical y el sentido en que se desarrollan los procesos de diferenciación del mesodermo, dependen de la actividad inductora de la Cresta Ectodérmica Apical.

Para otros (AMPRINO, CAMOSSO, BARASA, BELL, etc.) el crecimiento y diferenciación del mesodermo, es la expresión de un patrón intrínseco de desarrollo. Estos autores niegan pues, el papel morfogenético de la Cresta Ectodérmica Apical.

A pesar de que, según AMPRINO y CAMOSSO (1.958) HAMPE (1.959) y SAUNDERS (1.948), en el estadio

18 de HAMBURGER y HAMILTON ya se hallan determinados los territorios más proximales del futuro miembro (Fig. 2), la destrucción por nosotros efectuada de la Cresta Ectodérmica Apical, en estadios 17 y 18 de H. y H. ha acarreado la no diferenciación de segmento alguno (Ver cuadro 3).

Por otra parte, la intervención efectuada en estadios posteriores -19 y 20 de H. y H.- tuvo como consecuencia, en los embriones que sobrevivieron a la operación, la falta de desarrollo de los dos segmentos distales, desarrollándose con frecuencia un estilopodio de características normales. La misma intervención, practicada unas horas después, cuando los embriones habían alcanzado estadios de desarrollo -20 a 22 de H. y H.- condujo también al desarrollo de miembros HEMIMELICOS, pero en todos los supervivientes de este grupo, con la ausencia prácticamente exclusiva del autopodio o del autopodio y una parte distal importante del cigopodio (Cuadro 3).

Por otra parte y tal como hemos adelantado en un capítulo anterior, no hemos considerado demostrativas las experiencias con embriones de estadios más avanzados, dado que los efectos obtenidos, correspondían a lesiones focales por quemadura.

Estas series de resultados obtenidos por

nosotros, mediante la electrocoagulación de la Cresta Ectodérmica Apical, en diversos estadios, concuerdan con los obtenidos mediante otras técnicas, por SAUNDERS (1.949) y MURILLO-FERROL (1.973), entre otros. Así, SAUNDERS (179) extirpando el recubrimiento ectoblástico apical del esbozo del ala, del embrión de pollo, en diversos estadios, obtuvo malformaciones de diversa intensidad. De los intervenidos, mediante esta técnica, en estadios 17 y 18 de H. y H., obtiene ausencias totales del miembro intervenido, AMELIAS. Haciendo lo mismo en estadios posteriores, hasta el estadio 21, obtiene HEMIMELIAS de diversa gravedad.

MURILLO-FERROL (L37), por su parte, separa mediante tripsinización, los componentes ectoblástico y mesoblástico del esbozo, en miembros dadores de estadios 18 a 20 de H. y H. y procede a injertarlos en la cavidad celomática. Cuando injerta el mesodermo aislado, no obtiene estructura diferenciada alguna. Sin embargo, injertando ambos componentes reasociados, observa la diferenciación de estructuras típicas de miembro.

Los resultados parecen distintos, en las experiencias de FERNANDEZ MANCILLA y PEREZ MIRANDA (1.954), BELL, KAIGHN y FESSENDEN (1.959) y otros. Los primeros -citados por MIGUEL GUIRAO y Cols. (1.956)- electrocoa-

gularon selectivamente, en los estadios 17 y 18 de H. y H. el revestimiento ectoblástico del esbozo del miembro del embrión de pollo, no obteniendo anomalías en la extremidad intervenida.

Con respecto a estas experiencias, hemos podido comprobar en todos los embriones intervenidos en estas fases precoces, que utilizando niveles de reostato y un tiempo de contacto suficientes para destruir totalmente la Cresta Ectodérmica Apical, las consecuencias son las mismas que mediante la ablación quirúrgica o la avulsión química de dicha porción ectodérmica:

LA AUSENCIA TOTAL DE DESARROLLO DEL FUTURO MIEMBRO

cuando la electrocoagulación se ha realizado en estadios 17 y 18 de HAMBURGER y HAMILTON.

Por otra parte, BELL y Cols. (26), refieren el desarrollo de miembros a partir del componente mesoblástico sólo, injertando en la cavidad celómica, tras la disociación de los dos componentes mediante ultrasonidos. Sin embargo, en lo que se refiere a las experiencias de disociación mediante ultrasonidos, varios autores (GASSELING, SAUNDERS y ZWILLING, 1.962) observaron

detenidamente el mesodermo aislado con éste método, encontrando que quedaba en su superficie una capa de material refringente, constituido por la membrana basal y material residual del revestimiento ectodérmico, en general formado por fragmentos celulares. Demuestran de esta forma que los injertos obtenidos mediante ultrasonidos no pueden considerarse compuestos por mesodermo exclusivamente. De ahí, nuestra insistencia en lograr una destrucción total de la Cresta Ectodérmica Apical, utilizando los parámetros que nos dieron máxima garantía de lograrlo.

En 1.969, AMPRINO, AMPRINO-BONETTI y AMBROSIO, ponen en duda las experiencias de SAUNDERS (1.948), ZWILLING (1.961) y GOETING (1.966), según los cuáles, la extirpación de la Cresta Ectodérmica Apical, por diversos métodos, va seguida, en estadios precoces, de malformaciones graves en el desarrollo de los miembros. Afirman aquellos, que estas alteraciones del desarrollo son debidas a que queda el tejido mesoblástico al descubierto y por lo tanto, expuesto a la acción del líquido amniótico. Este contacto y los trastornos homeostáticos consecuentes, serían responsables de importantes alteraciones del mesodermo y por lo tanto de la falta de diferenciación y desarrollo de sus células.

ZWILLING (1.964) y MURILLO-FERROL (1.970) han demostrado la inexactitud de estas afirmaciones; el primero protegiendo el mesodermo con ectodermo de regiones alejadas de los esbozos y el segundo autor, injertando el mismo en la cavidad abdominal, sustraídos así a la acción del líquido amniótico. A pesar de ello, en ninguna de las dos experiencias se obtuvo diferenciación alguna de miembro.

Otras experiencias de AMPRINO y CAMOSSO en 1.955, parecieron negar la necesidad de la Cresta Ectodérmica Apical para el crecimiento de los miembros del embrión de pollo. Estos autores publicaron los resultados de unas experiencias, en las que conseguían el desarrollo completo del ala, tras la extirpación de la Cresta Ectodérmica Apical junto con una delgada capa de mesoblasto subyacente.

Sin embargo, SEARLS y ZWILLING unos años después (1.964), pudieron comprobar que tras la extirpación quirúrgica de la Cresta Ectodérmica Apical, puede formarse una nueva cresta a partir de pequeños fragmentos marginales de la misma. Esta nueva cresta tiene capacidad para participar decisivamente en el ulterior desarrollo de la extremidad.

De aquí, que en nuestras experiencias haya-

mos prestado especial atención a que la destrucción de la Cresta Ectodérmica Apical de los esbozos por nosotros intervenidos, fuese total, descartando la posibilidad de regeneración de dicha cresta.

Los resultados obtenidos por nosotros, mediante la electrocoagulación de la Cresta Ectodérmica Apical, podrían ser criticados, por fin, en cuanto a la probable lesión asociada del mesodermo subyacente, al que se podría achacar la falta de desarrollo de la extremidad, por la falta de los dos componentes del esbozo. Sin embargo, experiencias preliminares, realizadas por nosotros, electrocoagulando el esbozo del miembro, con los mismos parámetros de intensidad y tiempo, en embriones de estadios de H. y H. en adelante, no han llevado consigo alteración alguna de las estructuras distales de los miembros.

Por lo tanto, nuestros resultados de electrocoagulación de la Cresta Ectodérmica Apical, demuestran que ésta es indispensable para el desarrollo próximo-distal de las diferentes porciones del esqueleto de los miembros, tal y como se desprende del estudio detenido del -cuadro 3- , en el que hemos resumido los resultados obtenidos en relación con el estadio de desarro-

Nº	Estadio intervención	Estadio fijación	Tipo intervención	Malformaciones miembros	Malformaciones asociadas	Retraso crecimiento
4	18	31	CEA	Amelia	-	0
7	18	31	CEA	Amelia	-	0
25	21	35	CEA	Hemimelia	Celosomia	2
32	20	37	CEA	Hemimelia	-	0
111	17	30	CEA	Amelia	Celosomia	0
131	21	32	CEA	Hemimelia	Celosomia	3
134	21	35	CEA	Hemimelia	Celosomia	0
135	18	30	-CEA	Hemimelia	Celosomia	3
135	18	30	CEA	Hemimelia	Celosomia	3
136	20	29	CEA	Hemimelia	Celosomia	3

Nº	Estadio intervención	Estadio fijación	Tipo intervención	Malformaciones miembros	Malformaciones asociadas	Retraso crecimiento
137	17	29	CEA	Amelia	-	3
137	17	29	CEA	Hemimelia	-	3
144	19	35	CEA	Hemimelia	Celosomía	0
146	18	29	CEA	Hemimelia	Celosomía	3
149	20	30	CEA	Hemimelia	Celosomía	0
151	20	32	CEA	Hemimelia	-	0
153	19	29	CEA	Hemimelia	-	3
159	19	29	CEA	Hemimelia	-	2
162	20	30	CEA	Hemimelia	-	2
164	19	29	CEA	Hemimelia	-	4

Nº	Estadio intervención	Estadio fijación	Tipo intervención	Malformaciones miembros	Malformaciones asociadas	Retraso crecimiento
167	19	29	CEA	Hemimelia	-	3
182	19	29	CEA	Hemimelia	Celosomía	3
196	20	31	CEA	Hemimelia	-	0
198	19	29	CEA	Hemimelia	-	3
206	20	30	CEA	Hemimelia	-	1
217	19	30	CEA	Hemimelia	-	2
236	17	29	CEA	Amelia	-	1
242	18	29	CEA	Amelia	-	0
258	17	34	CEA	Amelia	-	0
270	18	29	CEA	Amelia	-	0

Nº	Estadio intervención	Estadio fijación	Tipo intervención	Malformaciones miembros	Malformaciones asociadas	Retraso crecimiento
283	17	27	CEA	Amelia	Celosomia	6
301	19	28	CEA	Hemimelia	-	2
305	19	30	CEA	Hemimelia	-	0
308	17	31	CEA	Amelia	Celosomia	0
311	19	29	CEA	Hemimelia	Celosomia	3
321	19	30	CEA	Hemimelia	-	0
327	20	35	CEA	Hemimelia	-	0
354	20	30	CEA	Hemimelia	-	0
362	19	29	CEA	Hemimelia	-	0
384	20	30	CEA	Hemimelia	-	2

Nº	Estadio intervención	Estadio fijación	Tipo intervención	Malformaciones miembros	Malformaciones asociadas	Retraso crecimiento
393	20	29	CEA	Hemimelia	-	0
401	20	30	CEA	Hemimelia	Celosomia	2
405	19	28	CEA	Hemimelia	Celosomia	3
419	19	29	CEA	Hemimelia	Celosomia	4
426	17	28	CEA	Amelia	-	5
439	17	30	CEA	Amelia	Celosomia	0
469	17	31	CEA	Amelia	-	0
474	20	29	CEA	Hemimelia	-	2
484	20	30	CEA	Hemimelia	-	2
496	18	31	CEA	Amelia	-	1

Nº	Estadio intervención	Estadio fijación	Tipo intervención	Malformaciones miembros	Malformaciones asociadas	Retraso crecimiento
510	17	29	CEA	Amelia	-	2
513	17	30-	CEA	Amelia	-	1
545	20	33	CEA	Hemimelia	-	0

llo, según los mapas de HAMBURGER y HAMILTON. En el mismo cuadro se pueden apreciar las malformaciones asociadas más importantes que presentaron los embriones supervivientes motivo de estudio.

Queda también demostrado, que la destrucción de la Cresta Ectodérmica Apical provoca la detención de los procesos de diferenciación y crecimiento de las porciones de esbozo no determinadas en el momento de la electrocoagulación. Así, en todos los casos en que la intervención se realizó en estadios posteriores al 18 de H. y H., se obtuvo un miembro con un estilopodio bien diferenciado. La práctica de esta misma intervención en estadios posteriores -20 y 21 de H. y H.- en los que según los mapas presuntivos de HAMPE, AMPRINO, SAUNDERS, etc., ya se hallan determinados en el esbozo, el estilopodio y el cigopodio, ha llevado a la obtención, en todos los casos, de HEMIMELIAS con los dos segmentos proximales bien diferenciados.

Asimismo, el estudio de los cortes seriados efectuados a un elevado número de nuestros embriones, nos ha permitido comprobar que el desarrollo de los músculos de las extremidades, en el embrión de pollo, es independiente de la Cresta Ectodérmica Apical. En muchos de los

esbozos intervenidos, mediante la electrocoagulación del Ectodermo Apical, en estadios precoces, hemos observado, junto a una cintura escapular o pelviana con el componente muscular perfectamente desarrollado, muñones de diversos tamaños, constituidos exclusivamente por grupos musculares, sin relación ósea ninguna, ni de origen ni de inserción.

También el Sistema Nervioso Periférico, muestra una evidente independencia de la Cresta Ectodérmica Apical. En numerosos de nuestros embriones que presentaron AMELIAS y HEMIMELIAS, hemos comprobado la existencia de troncos nerviosos de calibre semejante al lado sano contralateral. Estos nervios, se han podido seguir en la mayoría de los casos hasta el espesor de los músculos más distales (Figs. 273 y 274).

Tal y como expusimos en el capítulo de Material y Métodos, en otro grupo de embriones buscamos la destrucción de porciones limitadas del componente mesodérmico, obtenida por la electrocoagulación de partes del mismo en estadios en los que pudimos asegurar la no lesión concomitante y no deseada de la Cresta Ectodérmica Apical. Se esperó pues, en estos casos, a que el embrión adquiriese un estadio de desarrollo 20 de HAMBURGER y

HAMILTON y se procedió a la electrocoagulación de la porción ventral y postaxial de la base del esbozo, a nivel de su implantación en el flanco del cuerpo embrionario. Otras intervenciones se realizaron electrocoagulando la porción preaxial de la base del esbozo. Todos los embriones en los que tuvimos la sospecha de lesión concomitante de la Cresta Ectodérmica Apical, fueron desechados y no se han incluido en la casuística de los intervenidos.

Del estudio de los resultados obtenidos - cuadro 4 - , se desprende que aquellos embriones intervenidos en la porción ventral y postaxial (axilar e inguinal), conllevaron a lesiones graves, que pueden incluirse casi en su totalidad, dentro del grupo de las FOCOMELIAS. En aquellos embriones que se eligió la porción preaxial y dorsal del mesodermo del esbozo, no se obtuvieron, en los estadios en que se realizó la operación -21 a 23- , alteraciones de crecimiento, desarrollándose miembros completamente normales, en todos los casos en que sobrevivieron a la intervención.

Estos resultados guardan relación con los obtenidos por autores como B. SALZGEBER (170, 171 y 175), E. WOLFF (229 y 230), WOLFF y HAMPE (230), MILAIRE (129)

Cuadro 4

Nº	Estadio intervención	Estadio fijación	Tipo intervención	Malformaciones miembros	Malformaciones asociadas	Retraso crecimiento
615	22	34	M	Focomelia	-	0
650	23	35	M	Focomelia	Escoliosis	0
709	21	32	M	Focomelia	Celosomia	2
752	21	36	M	Focomelia	-	0
759	22	36	M	Focomelia	Escoliosis	0
770	21	30	M	Focomelia	-	3
775	22	36	M	Focomelia	Escoliosis	0

y otros, los cuáles, bien por estudios citoquímicos, bien por medio de métodos experimentales, llegan a la conclusión de que la mitad ventral y postaxial del esbozo de los miembros es suficiente, en estos estadios precoces del desarrollo, para desarrollar un miembro típico, mientras que la mitad dorsal y preaxial de la base de dichos esbozos, no tiene, al menos en estos períodos, una participación decisiva en el desarrollo morfogenético del futuro miembro.

SALZGEBER (171), por ejemplo, obtiene un elevado número de FOCOMELIAS, tratando mediante yperita azotada, las porciones ventral y postaxial del esbozo del miembro superior en el embrión de pollo. Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores, que han utilizado las radiaciones -X- para destruir selectivamente la porción ventral de la raíz del esbozo. Es común a estas experiencias la obtención de graves defectos proximales, con desarrollo prácticamente normal de los segmentos distales.

MURILLO-FERROL (137), separa las dos mitades, ventral y dorsal del esbozo del ala, mediante una lámina no porosa. Mientras que la mitad ventral se diferencia según los segmentos del miembro correspondiente,

la mitad preaxial y dorsal, se diferencia en un mamelón rudimentario, sin pieza esquelética alguna. Llega pues, como en nuestras experiencias, a la conclusión de que la mitad ventral y postaxial del esbozo, al menos en estos estadios iniciales de desarrollo, tiene una gran capacidad morfogénica. Según este autor, un factor de activación del mesoblasto, que inicialmente se localizaría en esta zona del esbozo, se propagaría más tarde a la mitad dorsal del mismo.

Recordemos por fin, los estudios citoquímicos de MILAIRE (127), que han demostrado que la parte periférica del mesodermo del esbozo inicial de los miembros, en el embrión de pollo y de otros animales, se condensa y presenta un aumento significativo de -RNA-. Esta condensación parece ser mucho más importante en la porción ventral y postaxial del esbozo, que en el resto del mismo.

La diferencia entre éstas y nuestras experiencias, radica exclusivamente en el período de intervención. Así, todas nuestras operaciones mediante la electrocoagulación del Mesodermo, han sido realizadas en estadios en los que, según los mapas presuntivos de HAMPE, SAUNDERS, CAMOSSO, etc. ya estaban diferenciados los segmentos proximales del miembro. En estos estadios, la destrucción

selectiva de la porción ventral y postaxial de la base del esbozo, produciría la destrucción del mesodermo prospectivo del futuro estilopodio. Efectivamente, los embriones supervivientes, presentaron alteraciones de mayor o menor gravedad a nivel del segmento proximal. Sin embargo, la intervención practicada en los mismos estadios, a nivel del mesodermo preaxial y dorsal, no tuvo consecuencias, desarrollándose miembros de características normales.

Independientemente de las malformaciones de los miembros, el estudio detallado de algunos embriones, ha mostrado, además, la existencia de un porcentaje elevado de malformaciones, asociadas algunas de ellas, de entre las cuales destacan:

a.- RETRASOS DEL CRECIMIENTO GLOBAL

b.- CELOSOMIAS ABDOMINALES

c.- ECTOCARDIAS

d.- ESCOLIOSIS.

a.- En la revisión exhaustiva de la bibliografía consultada, no hemos encontrado referencias a los retrasos globales del crecimiento de los embriones, como con-

secuencia de los diversos tipos de agentes teratógenos utilizados por los diversos autores. Creemos, sin embargo, que cualquier agente lesivo que afecte gravemente a una parte del embrión, puede ser motivo suficiente para retrasar, aunque sea temporalmente, el crecimiento global del mismo. En nuestras experiencias, tendremos que responsabilizar de este trastorno, a las pérdidas hemáticas sufridas con motivo de la intervención. Efectivamente, en todos los casos en que se produjeron hemorragias focales de gravedad, se obtuvieron embriones con varios estadios de retraso, con respecto a los embriones testigos abiertos. No ocurrió así, en los casos en los que no se produjo lesión vascular con pérdida hemática. En estos casos, los retrasos de crecimiento en 1 ó 2 estadios como máximo, no llegaron a representar porcentajes valorables.

En ningún caso, hemos podido relacionar la mayor o menor gravedad de la anomalía del miembro intervenido, con el crecimiento global del embrión.

Por fin, en relación con la fecha de la intervención, podemos afirmar que ha sido en las intervenciones practicadas en estadios más precoces, cuan-

do se han obtenido retrasos más importantes en el desarrollo global de los embriones.

b.- En más del 30% de nuestros embriones, hemos podido observar faltas más o menos graves en el cierre de la pared del abdomen. Todos los embriones de estadios comprendidos desde el 17 al 20 de HAMBURGER y HAMILTON, excepto uno al que se le practicó la intervención sobre el Mesodermo, cuando se encontraba en estadio 21 de H. y H. Estas celosomías, referidas someramente por muchos de los autores consultados, han sido estudiadas por STRAUS y RAWLES (205), SENO (194) y MURILLO-FERROL (137), los cuáles están de acuerdo en que explicarían la participación de los segmentos primitivos -somitos-, en la formación de las paredes del tronco.

Según esta teoría, la electrocoagulación del esbozo del miembro, habría asociado en muchos de nuestros embriones, la lesión en mayor o menor grado de dichos somitos. Estos mismos autores (194-205), han obtenido también celosomías, extirpando determinados somitos.

Nuestras experiencias parecen confirmar también esta teoría, desde el momento en que no hemos

obtenido celosomías en embriones intervenidos en estadíos postsomíticos, -22 en adelante-.

c.- Los mismos razonamientos pueden aplicarse a los 17 casos de ectocardias de nuestra serie, todos los cuáles se observan en embriones con celosomías graves.

d.- Con respecto a las alteraciones del raquis, hemos observado escoliosis, exclusivamente, en uno de los embriones a los que se intervino la Cresta Ectodérmica Apical. Por el contrario, en el 43% de los embriones intervenidos en estadíos postsomíticos y a los que se practicó la electrocoagulación del Mesodermo postaxial del esbozo, se obtuvieron alteraciones de flexión lateral y rotación de los segmentos raquídeos cervical y dorsal. Las observaciones de que el 57% restante, corresponde casi en su totalidad a embriones intervenidos en esbozos de miembros inferiores y que la totalidad de las escoliosis corresponden a embriones intervenidos en los esbozos de las futuras alas y que todas las curvas sean convexas hacia el lado no intervenido, confirman la etiología traumática local de esta malformación. En conclusión, se debería a la lesión directa por electrocoagulación del material prospectivo de la musculatura paravertebral.

C O N C L U S I O N E S

C O N C L U S I O N E S

En la presente Tesis Doctoral, efectuamos un estudio de los resultados obtenidos después de intervenir un número total de 800 embriones de pollo, de los que a 550 les fué practicada la electrocoagulación de la Cresta Ectodérmica Apical y a los 250 restantes, el Mesodermo Postaxial, con la finalidad de observar el posterior desarrollo del esbozo del miembro. Las intervenciones se han realizado durante los estadios -17 a 23- de HAMBURGER y HAMILTON (58). La mortalidad per y postoperatoria ha sido del 89'2%, cifra habitual en este tipo de experiencias, sobre todo teniendo en cuenta, que hemos considerado en este grupo, incluso los embriones que murieron durante el segundo día de postoperatorio.

Los embriones que sobrevivieron al tercer día, fueron sacrificados y fijados durante estadios -28 a 36- de H. y H. Se intervinieron casi siempre miembros derechos y fundamentalmente esbozos de ala. Asimismo, se utilizaron 150 embriones de pollo de la

misma raza, como controles.

Todos los embriones fijados, fueron fotografiados y posteriormente estudiados histológicamente o DIAFANIZADOS mediante el método de NOBACK (145), para realizar un análisis comparativo.

Las observaciones realizadas nos permiten llegar a las siguientes conclusiones:

- 1ª.- Todos los embriones supervivientes, presentaron alteraciones en el miembro cuyo esbozo fué operado.
- 2ª.- La electrocoagulación total de la Cresta Ectodérmica Apical, en estadíos -17 y 18- de HAMBURGER y HAMILTON, dió lugar -siempre- a la ausencia total del miembro -AMELIA-.
- 3ª.- La misma intervención en estadíos -19 a 23- de HAMBURGER y HAMILTON, llevó a la obtención de HEMIMELIAS, con uno o los dos segmentos proximales presentes.
- 4ª.- La electrocoagulación llevada a cabo en estadíos -21 a 24- de HAMBURGER y HAMILTON de la porción ventral y postaxial del mesodermo

de los esbozos, originó, en todos los casos supervivientes, alteraciones graves de los segmentos proximales del miembro intervenido, con características de FOCOMELIAS, de mayor o menor gravedad.

- 5ª.- En un número elevado de embriones se produjeron alteraciones del tipo de CELOSOMIAS, ECTOCARDIAS, ESCOLIOSIS, etc.
- 6ª.- En ningún caso, incluso en las -AMELIAS-, se ha observado alteraciones graves de las cinturas escapulares o pelvianas, lo que demuestra que en su formación no tiene ninguna interacción de la Cresta Ectodérmica Apical del esbozo del miembro correspondiente.
- 7ª.- El desarrollo de la musculatura esquelética de los miembros, es hasta cierto punto independiente de la Cresta Ectodérmica Apical, como lo demuestran los casos en que se han observado grupos musculares en porciones de miembros ausentes de segmento esquelético.
- 8ª.- También es independiente de la Cresta Ectodérmica Apical, el desarrollo del Sistema

Nervioso Periférico de los miembros, como se observa en todos los casos de embriones en los que presentando -AMELIAS- y -HEMIMELIAS-, se han encontrado troncos nerviosos y plexos de características similares al miembro contralateral sano.

- 9ª.- La morfogénesis normal de los miembros del embrión de pollo, depende de interacciones recíprocas entre los dos componentes del esbozo, el mesodermo y el ectodermo.
- 10ª.- En el crecimiento longitudinal del miembro, la Cresta Ectodérmica Apical va asegurando, en cada momento, la diferenciación de la porción más distal del miembro.
- 11ª.- En los estadios -17 y 18- de HAMBURGER y HAMILTON, no se halla morfológicamente determinada porción alguna del miembro. En efecto, la destrucción de la Cresta Ectodérmica Apical en estos estadios, determina la ausencia total de la extremidad.
- 12ª.- El mesodermo, a la vez que mantiene la actividad de la Cresta Ectodérmica Apical, con-

tiene en períodos anteriores al estadio 23 de HAMBURGER y HAMILTON, el material en vías de diferenciación. La destrucción del mismo en estos estadios, produce la ausencia del segmento o segmentos que derivarían de la porción destruida.

13ª.- La mitad preaxial y dorsal del Mesodermo del esbozo de los miembros, en estadios precoces de desarrollo, no presenta capacidad morfogenética. La destrucción de la misma, en estadios -20 a 24- de HAMBURGER y HAMILTON, no produce alteración alguna del futuro miembro.

14ª.- En muchos de los embriones operados, más del 30%, la electrocoagulación del esbozo de los miembros, produjo lesiones en los somitos, que dieron lugar a defectos de cierre de las paredes del cuerpo embrionario -Celosomías y Ectocardias-, hecho que confirma la teoría que sustenta que el material somítico interviene en la formación de las paredes del tronco.

B I B L I O G R A F I A

B I B L I O G R A F I A

- 1.- AMANO, H.- Role of the somitic tissue in the limb development of the urodelan Amphibia. Arch. Biol. Paris. 71, 343-346. 1.960.
- 2.- AMPRINO, R.- Aspetti della morfogenesi della estremità nei vertebrati. Mon. Zool. Ital. Supple. 7.071, 7-130. 1.962-63.
- 3.- AMPRINO, R.- Aspects of limb morphogenesis in the chicken. Orgagnogénesis. Ed. por De Hann, R. y Ursprung, H. New York. 255-281. 1.965.
- 4.- AMPRINO, R. and BONETTI, D.A.- Effect of the implantation site in the development of grafted limb bud mesoderm in chick embryos. Nature. 204-298. 1.964.
- 5.- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.- Le rôle morphogénétique de la Crête Ectodermique Apicale du bourgeon des membres de l'embryon de poulet. Compt. Rend. Assoc. Anat. 42, 197-203. 1.955.

- 6.- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.- Ricerche eperimentali sulla morfogenesi degli arti nell pollo. J. Exp. Zool. 129, 453-493. 1.955.
- 7.- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.- Etude expérimentale de la morphogénèse de l'aile dans l'embryon de poulet. I. Recherches par le méthode des marques colorées. Arch. Biol. 67, 613-633. 1.956.
- 8.- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.- Aspetti della morfogenesi dell'ala nell'embrione di pollo. Atti. Soc. Ital. Anat. XVII Conv. Monit. Zool. Ital. Supl. 65, 96-104. 1957
- 9.- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.- Données expérimentales sur la morphogénèse de l'aile dans l'embryon de poulet. C.R. Ass. Anat. 44, 77-83. 1.957.
- 10.- AMPRINO, R.- and CAMOSSO, M.- Modificazione sperimentalmente indotte de nell'organogenesi degli arti. Boll. Soc. Ital. Biol. 34, 337-339. 1.958.
- 11.- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.- Analisi sperimentale dello sviluppo dell'ala nell'embrione di pollo. A. Entwicklungsmech. Or. 150, 509-541. 1.958.

- 12.- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.- Experimental observations on influences exerted by the proximal over the distal territories of the extremities. *Experientia*. 14, 241-243. 1.959.
- 13.- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.- On the role of the apical ridge in the development of the chick embryo limb bud. *Acta. Anat.* 68, 280-288. 1.959.
- 14.- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.- Observations sur les duplications expérimentales de la partie distale de l'ébauche de l'aile chez l'embryon de poulet. *A. Anat. Morph. Ex.* 48, 261-305. 1.959.
- 15.- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.- Greffes hétérotopiques d'ectoderme et mésenchyme marginal de l'ébauche des extrémités. *Etude histologique. Compt. Rend. Assoc. Anat.* 47, 62-68. 1.961.
- 16.- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.- La régulation d'excédents de l'ébauche des membres de poulet. *Arch. Anat. Micros. Morphol. Exptl.* In press. 1.965.
- 17.- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.- Developmental fate of heterotopically grafted proximal pre-axial material of the chick embryo limb bud. *Acta. Anat.* 61, 259-288. 1.965.

- 18.- ANCEL, P. et WOLFF, Et.- Sur la realisation expérimentale des monstruosites. C. R. Soc. Biol. 112, 798-801. 1.933.
- 19.- ANCEL, P.- L'achondroplasic. Sa réalisation expérimentale. Sa pathogénie. Ann. End. 6, 1-24. 1.945.
- 20.- ANCEL, P.- La chimioteratogenése chez les vertébrés. Doin. Paris. 393. 1.950.
- 21.- AUERBACH, C., ROBSON, J.M. and CARR, J.G.- The chemical production of mutations. Science, 105, 243-247. 1.947.
- 22.- BALINSKY, B.I.- An introductions to embryology. Saunders. Phyladelphia-London. 404-415. 1.965.
- 23.- BARASA, A.- Consecuence dell'ablazione della Cresta Ectodérmica Apicale sullo sviluppo dell'abbozo dell'ala dell'embrione di pollo. Rev. Biol. 52, 257-292. 1.950.
- 24.- BARASA, A.- Modificazione della vascolarizzazione dell'abbozo delle estremita nel pollo in conseguenza di dimolizione di parti. Atti. Soc. Ital. Anat. XIX Conv. 1.959.

- 25.- BARDEEN, Ch.R. and LEWIS, W.H.- Development of the limb body wall and back in man. Amer. Jour. Anat. I. 1-35. 1.901.
- 26.- BELL, E., KAIGHN, M.A. and FESSEDEN, L.M.- The role of mesodermal and ectodermal components in the development of the chick limb. Develop. Biol. I. 101-124. 1.959.
- 27.- BELL, E., SAUNDERS, J.W. Jr. and ZWILLING, E.- Limb development in the absence of ectodermal ridge. Nature, 184, 1.736-1.737. 1.959.
- 28.- BELL, E., GASSELING, M.T. and SAUNDERS, J.W. Jr.- On the role of the ectoderm in limb development. Develop. Biol. 4, 177-196. 1.962.
- 29.- BLECHSCHMIDT, E. Von.- Mechanische Genwirkungen. Muster schmidt KG. Göttingen. 1.948.
- 30.- BRETSCHER, A.- Experimentelle unterdrückung der polydactylie beim hühnchen. Rev. Suisse Zool. 57, 576-583. 1.956.
- 31.- CAIRNS, J.M. and SAUNDERS, J.W. Jr.- The influence of embryonic mesoderm on the regional specification of epidermal derivatives in the chick. J. Exptl. Zool. 127, 259-288. 1.954.

- 32.- CAMOSSO, M., JACOBELLI, V. and PAPPALETTERA, N.- Ricerche descrittive e sperimentali sull'organogenesi dell'abbozzo dell'ala dell'embrione di pollo. Riv. Biol. 52, 323-357. 1.960.
- 33.- CAMOSSO, M. and RACANELLI, A.- Comportamento della cresta apicale dell'ala dell'embrione di pollo in condizioni sperimentali. Mon. Zool. Ital. XXII Supl. 70. 1.962.
- 34.- CROSBY, G.M.- Developmental capabilities of the lateral somatic mesoderm of early chick embryos. Ph. D. Thesis Brandeis Univ. Waltham, Massachusetts. 1.967.
- 35.- CHAMBERS, H.S.- Regional potencies in the hind limb of the 72-hour chick. Anat. Rec. 67, 60. 1.957.
- 36.- CHAUBE, S.- On axiation and symmetry in transplanted wing of the chick. J. Exp. Zool. 140, 29-77. 1.959.
- 37.- DE HAAN, R.L. and EBERT, J.D.- Morphogenesis. Ann. Rev. Physiol. 26, 15-46. 1.964.
- 38.- DETWILER, S.R.- Exp. on the develop. of the shoulder-girdle and the ant limb of amblystoma punctatum. J. exp. Zool. 25, 499-537. 1.918.

- 39.- DETWILER, S.R.- An experimental study of limb development in relation temperature. J. exp. Zool. 79, 355-360. 1918
- 40.- DIETERLEN-LIEVRE, F.- Etude morphologique et expérimentale de la différenciation du pancréas chez l'embryon de poulet. Bull. Biol France Belg. 99, 3-116. 1.965.
- 41.- DOBER, E. y TSCHUMI, P.A.- Entwickeln sich die Extremitäten von xenopus laevis. Daud ohne Epidermisleiste?. Rev. Suisse Zool. 76, 1.046-1.055. 1.969.
- 42.- DOREMAN, A.- Biosynthesis and metabolism of acid mucopolysaccharides of connective tissue. Federation Proc. 21, 1.070-1.074.- 1.962.
- 43.- DOREMAN, A.- Polysaccharides of connective tissue. J. Histochem Cytochem II. 2-13. 1.963.
- 44.- DUBEY, P.N.- Role of mesoderm in the morphogenesis of chick limb. J. Anat. S. India 11, 24-28. 1962.
- 45.- EASTLICK, H.- Replacement of muscle by adipose tissue in transplanted embryonic limbs of the chick. Anat. Rec. 87, 439. 1.943.

- 46.- FELL, H.B.- The origin and developmental mechanics of the avian sternum. Phil. Trans. Roy. Soc. London. B 229, 407-463. 1.939.
- 47.- FELL, H.B. and CANTI, R.G.- Experiments on the development of the avian knee-joint. Proc. Roy. Soc. B 116, 316-351. 1.934.
- 48.- FRANCO-BROWDER, S., DE RYNT, J. and DOREMAN, A.- The identification of a sulfated mucopolysaccharide in chick. Proc. Natl. Acad. A. Sciencias U. S. 49, 643-647. 1.963.
- 49.- GARDNER, E. and GRAY, D.J.- Prenatal development of the human shoulder and acromioclavicular joints. Amer. J. Anat. 92, 219. 1.953.
- 50.- GARDNER, E. and GRAY, D.J.- Prenatal development of the human hipjoint. A. J. Anat. 87, 163. 1950.
- 51.- GERLINGER, P.- Contribution a l'étude de l'action teratogène du cyclophosphamide chez l'embryon de poulet et de lapin. Arch. Anat. Hist. et d'Embryol. 49, 251-309. 1.966.
- 52.- GOETING, P.F.- Genetic aspects of skin and limb development. I, 253-283. Acad. Press N.Y. 1.966.

- 53.- GOETING, P.F.- Studies on limb morphogenesis. Experiments with the polydactylons mutant endiplopodia. Dev. Biol. 10, 71-91. 1.964.
- 54.- GOFF, R.A.- The relation of developmental status of limb formation to X radiation sensitivity in chick embryos. I. Gross study. J. exp. Zool. 151, 177-200. 1.962.
- 55.- GRAY, D.J., GARDNER, E. and O'RAHILLY, R.- The prenatal development of the skeleton and joints of the human hand. Amer. Jour. Anat. 101, 169. 1.957.
- 56.- GUIRAO, M., MURILLO-FERROL, N.L., TORRALBA, A. y ROCA, L.- Fenocopias experimentales del aparato locomotor. Revista Ortopedia y Traumatología, 3, 422-428. 1.959.
- 57.- HAMBURGER, V.- Morphogenetic and axial differentiation of transplanted limb primordia of 2-day chick embryos. J. Ex. Zool. 77, 379-400. 1.938.
- 58.- HAMBURGER, V. and HAMILTON, H.L.- A series of normal stages in the development of the chick embryo. J. Morphol. 88, 49-82. 1.951.

- 59.- HAMBURGER, V.- The development and innervation of transplanted limb primordial of chick embryos J. Exp. Zool. 80, 347-389. 1.939.
- 60.- HAMILTON, W.J., BOYD, J.D. and MOSSMAN, H.W.- Human embryology. 2^d. ed. Williams & Wilkins. Baltimore. 1.962.
- 61.- HAMPE, A.- Sur la topographie des ébauches présumptives du membre postérieur du poulet. Compt. Rend. Acad. Sci. 243, 970-973. 1.956.
- 62.- HAMPE, A.- Sur la régulation de pièces excédentaires dans le bourgeon de membre de l'embryon de poulet. C. R. Soc. Biol. Paris. 150, 1.726-1.729. 1.956.
- 63.- HAMPE, A.- Recherches sur la régulation des déficiences et des excédents du bourgeon de la patte du poulet. Arch. Anat. Micr. Morph. exp. 46, 265-281. 1.957.
- 64.- HAMPE, A.- Sur le rôle du mésoderme et de l'ectoderme du bourgeon de patte dans les échanges entre le poulet et le canard. C. R. hebdomadaire. Séances Acad. Sci. Paris. 244, 3.179-3.181. 1.957a.

- 65.- HAMPE, A.- Le développement du péroné dans les expériences de régulation des déficiences et des excédents dans la patte du poulet. J. Embryol. exp. Morph. 6, 215-222. 1.958.
- 66.- HAMPE, A.- Contribution à l'étude du développement et de la régulation des déficiences et des excédents dans la patte de l'embryon du poulet. Arch. Anat. Morphol. 48, 345-478. 1.959.
- 67.- HAMPE, A.- La variabilité du développement du péroné chez les oiseaux actuels et fossiles. Bull. Serv. Car. Géol. Als. Lor. 13, 57-62. 1960
- 68.- HANSBOROUGH, L.A.- Regulation in the wing of the chick embryo. Anat. Record. 120, 698. 1.954.
- 69.- HANCOX, N.M.- The osteoclast. In Biochemistry and Physiology of Bone. (ed. Bourne), 213-250. Acad. Press. New York and London. 1.956.
- 70.- HARRISON, R.G., ASTBURY, W.T. and RODALL, K.M.- An Attempt at an X-ray analysis of embryonic processes. J. Exptl. Zool. 85, 339-363. 1.910.
- 71.- HARRISON, R.G.- Experiments on the development of the forelimb of Amblystoma, a self differentia-

- ting equipotential system. J. exp. Zool. 25, 413-462. 1.918.
- 72.- HARRISON, R.G.- On relations of symmetry in transplanted limbs. J. exp. Zool. 32, 1-136. 1.921.
- 73.- HARRISON, R.G.- The effect of reversing the mediolateral or transverse axis of the forelimb bud in the salamander embryo. Roux. Archiv. 106, 469-502. 1.925.
- 74.- HARRISON, R.G.- Experiments on the development and growth of limbs in the amphibia. Science, 74, 575-576. 1.931.
- 75.- HASKIN, D.- Some effects of nitrogen mustard on the development of external body form in the fetal rat. Anat. Rec. 102, 493-511. 1.948.
- 76.- HAY, D.E.- Organization and fine structure of epithelium and mesenchyme in the developing chick embryo. In epithelial mesenchymal interactions. Edited by R. Fleischmajer, Williams & Wilkins. Baltimore. 1.968.
- 77.- HAYNES, R.W.- The development of joints. J. Anat, 81, 33, 1.947.

- 78.- HOLTFRETER, J.- Experimental studies on the development of the pronephros. Rev. Can. Biol. 3, 220-249. 1.944.
- 79.- HOLTZER, H. and DETWILLER, S.R.- An experimental analysis of the development of the spinal column. III. Induction of skeletogenons cells. J. Exp. Zool. 123, 335-370. 1.953.
- 80.- HOLTZER, H. and GROBSTEIN, H.- In "vitro" studies of cartilage induction in mouse somite mesoderm. J. Exptl. Zool. 128, 333-358. 1.955.
- 81.- HOLTZER, H.- Aspects of chondrogenesis and myogenesis. In "Synthesis of molecular and cellular structure". Proc. Symp. Soc. Develop. Biol. Ronald Press. New York. 19, 35-87. 1.961.
- 82.- HUGHES, A.F.W.- Aspects of neural ontogeny. Logos Press New York - London. 1.968.
- 83.- INGALLS, T.H.- Epiphyseal Growth: Normal sequence of events at the epiphyseal plate. Endocrinology. 29, 710. 1.941.
- 84.- INGRAM, V.M.- Gene mutations in human haemoglobin: The chem. diff. between normal and sickle cell haemoglobin. Nature. 180, 326-328. 1.957.

- 85.- JOLLY, H.- Diseases of children. 2d. ed. Phyladelphia
Davis. 1.968.
- 86.- JURAND, A.- Further investigations on the eytotoxic
and morphogenetic effects of some nitrogen
mustard derivatives. J. Embryol. exp. Morph.
9, 492-506. 1.961.
- 87.- JURAND, A.- Anti-mesodermal activity of a nitrogen
mustard derivative. J. Embryol. exp. Morph.
11, 689-696. 1.963.
- 88.- JURAND, A.- Ultrastructural aspects of early develop-
ment of the fore-limb buds in the chick and
mouse. Proc. Roy. S. Bl62, 387-405. 1.965.
- 89.- KALTER, H. and WARKANY, J.- Congenital malformations
of the rectum and urogenital systeme induced
by maternal hipervitaminosis A in strains of
vitred mice. Anat. Rec. 102, 2-219. 1.960.
- 90.- KEEGAN, J.J. and GARRET, F.D.- The segmental distri-
bution of the cutaneous nerves in the limbs
of man. Anat. Rec. 102, 409. 1.948.
- 91.- KIENY, M.- Sur la constitution du membre chimère pro-
duit par l'association d'un bourgeon d'aile

et d'un bourgeon de patte chez l'embryon de poulet. C. R. Soc. Biol. Paris. 152, 1.508-1.512. 1.959.

92.- KIENY, M.- Rôle inducteur du mésoderme dans la différenciation précoce du bourgeon de membre chez l'embryon de poulet. J. Embryol. exp. Morph. 8, 457-467. 1.960.

93.- KIENY, M.- Régulation des excédents et des déficiences du bourgeon d'aile de l'embryon de poulet. Arch. Anat. Micr. Morph. exp. 53, 29-44. 1.964.

94.- KIENY, M.- Etude de mécanisme de la régulation dans le développement du bourgeon de membre de l'embryon de poulet. I. Régulations des excédents. Develop. Biol. 9, 197-229. 1.964a.

95.- KIENY, M.- Etude du mécanisme de la régulation dans le développement du bourgeon de membre de l'embryon de poulet. II. Régulation des déficiences dans les chimères "aile-patte", et "patte-aile". Jour. Embryol. exp. Morph. 12, 357-371. 1.964b.

- 96.- KIENY, M.- Rôle du mésoderme et de l'ectoderme dans les phénomènes de régulation du bourgeon de membre de l'embryon de poulet. C. R. Acad. Sci. Paris. 262, 495-498. 1.966.
- 97.- KIENY, M.- Variation de la capacité inductrice du mesoderme et de la compétence de l'ectoderme au cours de l'induction primaire du bourgeon de membre chez l'embryon de poulet. Arch. Anat. micr. Morph. 57, 401-418. 1.968.
- 98.- KOECKE, H.U.- Normalstadien der embryonalentwicklung bei der hausente (*Anas boschas domestica*). Embriologia. 4, 55-78. 1.958.
- 99.- KOECKE, H.U.- Entwicklungsphysiologie der Vögel. Fortschr. Zool. 16, 395-468. 1.963.
- 100.- KOCHER, W.- Wirkung des TEM auf spatstadien der hühnerentwicklung Z. Naturforsch. 18 b, 1.128-1.130. 1.963.
- 101.- KOCHER, W.- Die wirkungsmuster des triathylenmelamin TEM und ihre behandlungsphasen spezifität während der organogenese des hühnerkeimes. II veränderungen des knorpeligen primordialskelettes der extremitaten und des rumples. Roux. Arch. fur. Entw. Mech. 165, 53-86. 1.970.

- 102.- LAMY, M. and MAROTEAUX, P.- The genetic study of limb malformations. Springfield. III. Charles Thomas, 170-174. 1.969.
- 103.- LANDAUER, W.- Studies on the creeper fowl. III. The early development and lethal expression of homozygous creeper embryos. J. Genetics, 25, 367-394. 1.932.
- 104.- LANDAUER, W.- Rumplessness of chicken embryos produced by the injection of insulin and other chemicals. J. exp. Zool. 98, 65-77. 1.945.
- 105.- LANDAUER, W.- Hereditary abnormalities and their chemically induced phenocopies. Growth Symp. 12, 171-200. 1.948.
- 106.- LANDAUER, W.- Malformations of chicken embryos produced by boric acid and the probable role of riboflavin in their origin. The Jour. Exper. Zool. 120, 469-508. 1.952.
- 107.- LANDAUER, W.- On the teratogenic effects of pilocarpine in chick development. The Jour. Exper. Zool. 122, 469-483, 1.953.

- 108.- LANDAUER, W.- Rudimentation and duplication of the radius in the duplicate mutant form of fowl. J. Genet. 54, 199-218. 1.956.
- 109.- LANDAUER, W. and BAUMANN, I.- Rumplessness of chicken embryos produced by mechanical sheking of eggs prior to incubation. The Jour. of Expe. Zool. 93, 51-74. 1.943.
- 110.- LANDAUER, W. and BLISS, C.I.- Insulin-induced rumplessness of chicken. III. The relationship of dosage and of developmental stage at time of injection to response. J. E. Zool. 102, 1-22:1946.
- 111.- LANDAUER, W. and LANG,, E.H.- Insulin-induced rumplessness of chicken. II. Experiments with inactivated and reactivated insulin. Jour. Exper. Zool. 101, 41-50. 1.946.
- 112.- LANGMAN, J.- Embriología Médica: Desarrollo humano normal y anormal. Edit. Interamerica. 1976
- 113.- LASH, J.W.- Somitic mesenchyme and its response to cartilage induction. In "Epithehal-Mesenchymal interaction". R. Fleischmajer and R. Billingham ed. 165-172. 1.968.

- 114.- LEBLOND, C.P. and GREULICH, R.C.- Autoradiographic studies of bone formation and growth. In The Biochemistry and Physiology of Bone. Ed. By G. H. Bourne. Academic. New York. 1.956.
- 115.- LENZ, W.- Thalidomide and congenital abnormalities. Lancet. 1, 1.219. 1.962.
- 116.- LENZ, W. and KNAPP, K.- Foetal malformations due to thalidomida. German Med. Monthly. 7, 253. 1.962.
- 117.- LEWIS, W.H.- The development of the arm in man. Amer. Jour. Anat. 1, 145. 1.902.
- 118.- LEWIS, W.H.- The cartilaginous skull of a human embryo 21 mm. in length. Con. Embr. 9, 209. 1.920.
- 119.- LUNDVALL, H.- Ueber demonstration embryonaler knorpelskelette. Anat. Anz. 25, 219. 1.904.
- 120.- LUNDVALL, H.- Ein ueber skelettfärbung und aufhellung. Anat. Anz. 40, 639. 1.912.
- 121.- LUNDVALL, H.- Färbung des skelettes in durchsichtigen weichteilen. Anat. Anz. 62, 353-373. 1.927.

- 122.- LUTZ, H. and MAMET, G.- Influence du systeme nerveux sur le developpement de l'ébauche de l'aile d'oiseaux en greffe chorioallantoïdienne. C. R. Acad. Sci. 240, 1.271-1.273. 1.955.
- 123.- MEDOFF, J.- Enzymatic events during cartilage differentiation in the chick embryonic limb bud. Develop. Biol. Paris. 67, 297-391. 1.956.
- 124.- MILAIRE, J.- Contribution a l'étude morphologique et cytochimique des bourgeons de membres chez le rat. Arch. Biol. Paris. 67, 297-391. 1.956.
- 125.- MILAIRE, J.- Contribution a la connaissance morphologique et cytochimique des bourgeons des membres chez quelques reptiles. Arch. Biol. Paris. 68, 429-512. 1.957.
- 126.- MILAIRE, J.- Le rôle de la cape apicale dans la formation des membres des vertébrés. Ann. Soc. Zool. Belg. 91, 129-145. 1.961.
- 127.- MILAIRE, J.- Histochemical aspects of limb morphogenesis in vertebrates. Adv. in Morphogenesis. Ed. by Abercrombie. M. et. Brachet. J. II. Acad. Press. New-York. 183-209. 1.962.

- 128.- MILAIRE, J.- Détection histochimique de modifications des ébauches dans les membres en formation chez le souris oligosyndactyle. Acad. Roy. Belg. B: Sci. 48, 505-528. 1.962a.
- 129.- MILAIRE, J.- Etude histochimique des premiers stades du développement des membres chez le poulet. Compl. Rend. Ass. Anat. 51, 688-698. 1.966.
- 130.- MILAIRE, J. and MULNARD, J.- Le rôle de l'épiblaste dans le chondrogénèse du bourgeon de membre chez la souris. J. E. Mor. 28, 215-230. 1968.
- 131.- MORGAN, W.- Embryonic age and traumatic stress interactions during differentiation. Ann. Embryo. Morph. Suppl. 1, 283. 1.969.
- 132.- MORGAN, W.- Quantitative studies of irradiation induced avian digital reduction. Ann. Embryo. Morph. 3, 273-282. 1.970.
- 133.- MOSCONA, A.- Cell suspensions from organ rudiments of the early chick embryo. C. R. 3, 535-539. 1.952.
- 134.- MOSCONA, A.- The development "in vitro" of chimeric aggregates of dissociated embryonic chick

and mouse cells. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. 43, 184-194. 1.957.

- 135.- MOSCONA, A.- Patterns and mechanisms of tissue reconstruction from dissociated cells. In "Developing cell systems and their control". Proc. Soc. Develop. Biol. 18, 45-70 1.960.
- 136.- MOSCONA, A.- Rotation-mediated histogenetic aggregation of dissociated cells. A quantifiable approach to cell interactions "in vitro". Exp. Cell Res. 22, 455-475. 1.961.
- 137.- MURILLO-FERROL, N.L.- Etude causale de la différenciation la plus précoce de l'ébauche morphologique des membres. Analyse expérimentale chez les embryons d'oiseaux. Acta. Anat. 62, 80-103. 1.965.
- 138.- MURILLO-FERROL, N.L.- Descripción de una nueva estructura en la diferenciación de los párpados. An. Fac. Vet. Zaragoza. 4, 17-23. 1 969.
- 139.- MURILLO-FERROL, N.L., CLIMENT PERIS, S. y VILLAR LACILLA, J.M.- Diferenciación estructural y morfológica de células disociadas y cultiva-

das "in vitro". Com. . a la I. Reunión Científica de la Soc. Esp. de Citología. Alicante. 1.972.

140. MURRAY, P.D.F. and HUXLEY, J.S.- Self differentiation in the grafted limbs-bud of the chick. Jour. Anat. 59, 379-384. 1.925.

141.- MURRAY, P.D.F.- An experimental study of the development of the limbs of the chick. Proc Linn. Soc. N. S. W. 51, 187-263. 1.926.

142.- NAUJOKS, H.- Der einfluß kurzfristigen sauerstoffmangels auf die entwicklung des hühnchens in den ersten fünf bruttagen. Beitr. path. Anat. 113, 221-252. 1.963.

143.- NICHOLAS, J.S.- Factor influencing symmetry, posture and reduplication of the developing limb of "Ambrystrima Punctatum". Anat. Rec. 131, 475-485. 1.958.

144.- NISHIMURA, H. and TANIMURA, T.- Clinical aspects of the teratogenicity of drugs. American Elsevier Pub. Comp. Inc. New-York. 1.976.

145.- NOBACK, G.L.- The use of the van wijhe method for the staining of the cartilaginous skeleton Anat. Rec. 11, 292. 1.916.

- 146.- NOBACK, C.R.- The developmental anatomy of the human osseous skeleton during the embryonic, fetal and circumnata periods. Anat. Rec. 88, 91. 1.944.
- 147.- O'RAHILLY, R., GARDNER, E. and GRAY, D.J.- The ectodermal thickening and ridge in the limbs of staged human embryos. J. Embryol. exp. Morph. 4, 254-264. 1.956.
- 148.- ORTS-LLORCA, F.- Malformaciones congénitas. Etiología y mecanismo patogénico de las anormogénesis. Cirugía, Ginecología y Urología. Vol XVII. 3, 139-163. 1.963.
- 149.- ORTS-LLORCA, F. y MURILLO-FERROL, N.L.- Duplicités expérimentales des membres chez l'embryon de poulet. 2a. Réunion Eur. d'Anatomie. Brs. C. R. Ass. Anat. 122, 294-303. 1.964.
- 150.- PINOT, M.- Le rôle du mésoderme somitique dans la morphogénèse précoce des membres de l'embryon de poulet. J. E. Morph. 23, 109-151. 1.970.
- 151.- PINOT, M.- Développement de l'ébauche des membres après traitement à l'ypérite azotée, irradiation aux rayons X et culture "in vitro". Etu-

de comparative chez l'embryon de poulet. Ann.
Embryol Morph. 3, 215-234. 1.970a.

- 152.- RAYNAUD, A.- Etude histologique de la structure des
ébauches des membres de l'embryon d'orvet,
(*Anguis fragilis* L), au cours de leur déde-
veloppement et de leur régression. C. R. Acad.
Sci. 254, 1.505-1.507. 1962
- 153.- RAWLES, M.E.- Some observations of the developmental
properties of the presumptive hind-limb area
of the chick. Anat. Rec. 99, 648-649. 1.947.
- 154.- ROTH, R., ASHWORTH, J.M. and SUSSMAN, H.- Periods of
genetic transcription required for the synthe-
sis of three enzymes during cellular slime
mold development. Proc. Natl. Acad. Sci.
U. S. 59, 1.235-1.242. 1.968.
- 155.- RUANO GIL, D. and PUCHADES-ORTS, A.- Differentiation
of limb grafts in the nervous system of the
chicken embryo. Arch. Anat. Histol. et Em-
bryol. Normales et exp. XLIX. 5, 493-498.
1.966.
- 156.- RUBIN, A. and FRIEDNBERG, Z.B.- Musculokeletal sys-
tem, in A. Rubin. Ed. A. Handbook of Conge-

nital malformations. Phyladelphia. W. B. Saunders Co. 51-85. 1.967.

157.- RUDNICK, D.- Limb-forming potencies of the chick blastoderm: Including notes on associated trunk structures. Trns. Conn. Acad. Arts. Sci. 36, 253-371. 1.945.

158.- RUDNICK, D.- Differentiation of prospective limb material from creeper chick embryos in coelomic grafts. J. Exp. Zool. 100, 1-17. 1.945.

159.- RUDNICK, D.- Regulation and localization in the limb bud of the chick embryo. Anat. Rec. 94, 492-493. 1.946.

160.- RUTTER, W.J., BALL, W.D., BRADSHAW, W.S. and SAUNDERS, T.G.- Levels of regulation in cytodifferentiation. Exptl. Biol. Med. I. 110-124. 1.967.

161.- RUTTER, W.J., CLARK, W.R., KEMP, J.D., BRADSHAW, W. S. SAUNDERS, T.G. and BALL, W.D.- Multiphasic regulation in cytodifferentiation. In "Epithelial-Mesenchymal Interaction". R. Fleischmajer and R. Billingham eds. Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland. 114-131. 1.968.

- 162.- RUTH, E.B.- A study of development of the mammalian pelvis. Anat. Rec. 53, 207. 1.932.
- 163.- SALAUN, J.- L'action tératogène de la thalidomide chez les vertébrés supérieurs. Ann. Biol. 7, 307-326. 1.968.
- 164.- SALZGEBER, B.- Sur la production expérimentale de phocoméles chez l'embryon de poulet à l'aide d'ypérite azotée. C. R. Acad. Sci. 254, 3.591-3.593. 1.962.
- 165.- SALZGEBER, B.- Production électrique de la phocomélie sous l'influence d'ypérite azotée. J. Embryol. exp. Morph. 11, 413-429. 1.963.
- 166.- SALZGEBER, B.- La genèse de la phocomélie: altérations observées dans les bourgeons de membres d'embryons de poulet traités par l'ypérite azotée. C. R. hebdomadaire. Seances Acad. Sci. Paris, 259, 2.149-2.151. 1.964.
- 167.- SALZGEBER, B.- Production électrique de la phocomélie sous l'influence d'ypérite azotée chez l'embryon de poulet. II. Etude histologique des bourgeons de membres au cours du développement. J. E. exp. Morph. 16, 339-354. 1.966

- 168.- SALZGEBER, B.- Sur l'étude expérimentale de la genèse de la phocomélic chez l'embryon de poulet. C. R. hebd. Séanc. Acad. Sci. Paris. 264, 395-397. 1.967.
- 169.- SALZGEBER, B.- Etude des malformations distales obtenues après traitement à l'ypérite azotée du constituant ectodermique des bourgeons de membres. C. R. heb. Séanc. Acad. Sci. Paris. 267, 90-92. 1.968.
- 170.- SALZGEBER, B.- Etude sur la genèse de malformations des membres chez l'embryon de poulet: micro-mélic, phocomélic, ectromélic. II. Expériences de dissociation et de reassociation des deux constituants du bourgeon de membre après traitement par l'ypérite azotée. Annls. Embryol. Morph. 1, 313-331. 1.968a.
- 171.- SALZGEBER, B.- Etude comparative des effets de l'ypérite azotée sur les constituants mésodermique et ectodermique, des bourgeons de membres de l'embryon de poulet. J. Embryol. exp. Morph. 22, 373-394. 1.969.
- 172.- SALZGEBER, B.- Sur l'évolution des ébauches de mem-

bres de l'embryon de poulet traité a l'ypérite azotée au stade de 18 heures d'incubation. C. R. Acad. Sci. 272, 3.083-3.086. 1.971.

173.- SALZGEBER, B.- Production expérimentale de malformations distales des membres chez l'embryon de poulet et de caille après traitement par l'ypérite azotée. A. E. Morph. 5, 145-163. 1.972.

174.- SALZGEBER, B. and WOLF, Et.- Experimental production of malformations of the limbs by means of chemical substances. Intern. Rev. exp. Path. 329-361. 1.964.

175.- SALZGEBER, B. and WOLF, Et. Sur l'explication embryologique de la phocomélic expérimentale chez l'embryon d'oiseau. Bull. Acad. Nat. Med. 150, 565-570. 1.966.

176.- SALZGEBER, B. and PINOT, M.- Etude sur la genèse de malformations expérimentales des membres chez l'embryon de poulet: micromélic, phcomélic, ectromélic. I. Traitement á l'ypérite azotée de bourgeons de membres entiers. Annl. Embryol Morph. 1, 83-95. 1.968.

177.- SAUNDERS, J.W. The differentiation in situ of isola

ted halves of the limb bud of the chick.
Anat. Rec. Suppl. 61-63. 1.934.

178.- SAUNDERS, J.W.- The proximo-distal sequence of origin of the parts of the chick wing and the role of the ectoderm. J. exp. Zool. 108, 363-404. 1.948.

179.- SAUNDERS, J.W.- An analysis of the role of the apical ridge of ectoderm in the development of the limb in the chick. Anat. Rec. 105, 567-568. 1.949.

180.- SAUNDERS, J.W. and GASSELING, M.T.- Trans-filter propagation of apical ectoderm maintenance factor in the chick embryo wing bud. Dev. Biol. 7, 64-78. 1.963.

181.- SAUNDERS, J.W. Jr. and GASSELING, M.T.- Ectodermal-mesenchymal interactions in the origin of limb symmetry. In "Epithelial Mesenchymal Interaction". (R. Fleischmajer and R. Billingham, ed.) Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland. 78-97. 1.968.

182.- SAUNDERS, J.W. Jr., CAIRNS, J.M. and GASSELING, M.T.- The role of the apical ridge of ecto-

derm in the differentiation of the morphological structure and inductive specificity of limb parts in the chick. J. Morphol. 101, 57-87. 1.957.

183.- SAUNDERS, J.W. Jr., GASSELING, M.T. and GFELLER, M.D.- Interactions of ectoderm and mesoderm in the origin of axial relationships in the wing of the fowl. J. E. Zool. 137, 39-74. 1.958.

184.- SAUNDERS, J.W. Jr., GASSELING, M.T. and CAIRNS, M. T.- The differentiation of prospective thijh mesoderm grafted beneath the apical ectoderm ridge of the wing bud in chick embryo. Develop. Biol. 1, 281-301. 1.959.

185.- SAUNDERS, J.W.- Control of growth patterns in limb development, in C.H. Frantz (Ed). Normal and anormal embryological development. Washington National Research Council. 16-26. 1.967.

186.- SCHUE, M.- L'action des rayons X sur le développement des ébauches des pattes chez l'embryon de poulet. C. R. Soc. Biol. 145, 752-755. 1.951.

- 187.- SCHUMACHER, S.- Ein physiologischer sekundärer hintereuropäischer Neuroporus beim Hühnerembryo. Anatom. Anz. 64, 419-424. 1.928.
- 188.- SEARLS, R.L. and ZWILLING, E.- Regeneration of the apical ectoderm ridge of the chick embryo limb bud. Dev. Biol. 9, 38-55. 1.964.
- 189.- SEARLS, R.L.- An autoradiographic study of the uptake of ³⁵S-sulfate during the differentiation of limb bud cartilage. Develop. Biol. II. 155-168. 1.965a.
- 190.- SEARLS, R.L.- Isolation of mucopolysaccharide from the precartilaginous embryonic chick limb bud. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 118, 1.172-1.176. 1.965b.
- 191.- SEARLS, R.L.- The role of cell migration in the development of the embryonic limb bud. J. Exptl. Zool. 166, 39-50. 1.967.
- 192.- SEARLS, R.L. and JANNERS, M.Y.- The initiation of limb bud outgrowth in the embryonic chick. Dev. Biol. 24, 198-213. 1.971.

- 193.- SELBY, D. and MURRAY, P.D.F.- Frafts of longitudinal halves of limb buds of the four day chick. Ast. J. Exp. Biol. Med. Sci. 5, 181-186. 1.928.
- 194.- SENO, T.- An experimental study on the formation of the body wall in the chick. Act. Anat. 45, 60-82. 1.961.
- 195.- SENSENIG, E.C.- The early development of the human vertebral column. Cont. Emb. 33-21. 1.949.
- 196.- SILVER, P.H.S.- Embryonic growth relative to the vitelline membrane and its role in determining the level of post-operative abnormalities, as mesured in the chick. Vol. 7, 564-571. 1.959.
- 197.- SISSONS, H.A.- The growth of bone. In "Biochemistry and Physiology of Bone", edited by G.H. Bourne Academic. New York. 1.956.
- 198.- SMITH, D.W.- Recognizable patterns of human malformation: genetic, embryologic and clinical aspects. Phyladelphia. W.B. Saunders, Co. 347-349. 1.970.

- 199.- SPEIRS, H.L.- Thalidomide and congenital abnormalities. Lancet. 1, 303. 1.962.
- 200.- SPRATT, N. Jr.- Jour. Experimental Zoology. 134, 577. 1.957.
- 201.- SPURLING, R.G.- The effect of extirpation of the posterior limb bud in the development of the limb and pelvic girdle in chick embryos. Anat. Rec. 26, 41-56. 1.923.
- 202.- STEINBERG, M.S.- Reconstruction of tissues by dissociated cells. Sci. 141, 401-408. 1.963.
- 203.- STEINBERG, M.S.- The problem of adhesive selectivity in cellular interaction. In "Cellular Membranes in Development". Proc. Symp. Soc. Develop. Biol. Acad. Press. 22, 321-366. 1 964.
- 204 - STONE, L.S.- Experiments on the development of the cranial ganglia and the laterali line sense organs in "Amblystoma punctatum". J. Exper. Zool. 35, 421-496. 1.922.
- 205.- STRAUS, W.L. and RAWLES, M.E.- An experimental study of the trunk musculature and ribs in the chick. Amer. J. Anat. 92, 471-510. 1.953.

- 206.- STREETER, G.L.- Developmental horizons in human embryos (fourth issue). A review of the histogenesis of cartilage and bone. Contrib. Embryol. Carneg. Inst. 33, 149-167. 1.949.
- 207.- SUSSMAN, M.- Some genetic and biochemical aspects of the regulatory program for slime mold development. C.T. Dev. Biol. 1, 64-83. 1.966.
- 208.- SWEENEY, R.M. et WATTERSON, R.L.- Changing body wall and rib defects after local application of nitrogen mustard to different mediolateral portions or ribforming levels of two day chick embryos. Teratology. 2, 199-219. 1.969.
- 209.- SWETT, F.H.- The role of the peribrachiel area in the control of reduplication in ambystome. J. Exp. Zool. 100, 67-77. 1.945.
- 210.- SWINYARD, C.A.- Limb development and deformity: Problems of evaluation and rehabilitation. Springfield III. Charles C. Thomas. 1.969.
- 211.- TARIN, D. and STURDEE, A.P.- Early limb development of "Xenopus laevis". J. Embryol. exp. Morphol. 26, 169-179. 1.971.

- 212.- TESSIER, P.- Ostéotomies totales de la face syndrome de crouzon, syndrome d'apert, oxycéphalies, scaphocéphalies, turricéphalies ann chir plast. 12, 273. 1.967.
- 213.- TONDURY, G.- Entwicklungsgeschichte und fehilbildungen der wirbelsäule. Hippokrates Verlag. Stuttgart. 1.958.
- 214.- TOWNES, P.L. and HOLTFRETER, J.- Directed movements and selective adhesion of embryonic amphibian cells. J. Exptl. Zool. 128, 53-120. 1.955.
- 215.- TRELSTAD, R.L., HAY, E.D. and REVEL, J.P.- Cell contacts during early morphogenesis in the chick embryo. D. Biol. 16, 78-106. 1.967.
- 216.- TSCHUMI, P.A.- Ontogenetische realisationsstufen der extremität bei xenopus und die interpretation phylogenetischer strahlenreduktionen. Rev. Suisse Zool. 60, 496-506. 1.953.
- 217.- TSCHUMI, P.A.- Konkurrenzbedingte ruck bildungen der hinterextremitat von xenopus nach behandlung mit einem chlorethylamin. Rev. Suisse. Zool. 61, 177-270. 1.954.

- 218.- TSCHUMI, P.A.- The growth of the hindlimb of *xenopus laevis* and its dependence upon the epidermis. *J. Anat. Lond.* 91, 149-172. 1.957.
- 219.- VICKERS, T.H.- Congenital abnormalities and thalidomide. *Med. J. Aus.* 1, 649. 1.962.
- 220.- WEICKER, H. and HUNGERLAND, H.- Thalidomid-embryopathie. I. Vorkomen inner und ausserhalb Deutschlands. *Deut. Med. Wschr.* 87, 922. 1.962.
- 221.- WARKANY, J.- Congenital malformation: Notes and comments. Chicago. Year Book Medical Publishers. Inc. 1.971
- 222.- WARKANY, J. and KIRKPATRICK, J.A.- Skeletal defects: in W.E. Nelson, V.C. Vaughan and R.J. McKay (eds.) *Textbook of Pediatrics*. Philadelphia. W.B. Saunders Co. 1.329-1.350. 1.969.
- 223.- WARREN, A.E.- Experimental studies on the development of the wing in the embryos of *gallus domesticus*. *Amer. J. Anat.* 54, 449-486. 1934.
- 224.- WATERS, N.F. and BYWATERS, J.H.- A lethal embryonic wing mutation in the domestic fowl. *J. Hered* 34, 213-217. 1.948.

225. WEEL, P.B.- Histophysiology of the limb-bud of the fowl during its early development. Anat. 82, 49-57. 1.948.
226. WELL, J.- Development of the human diaphragm and pleural sacs. Contrib. E. 35, 107. 1.954.
227. WESSELLS, N.K. and EVANS, J.- Ultrastructural studies of early morphogenesis and cytodifferentiation in the embryonic manaban pancreas. Develop. Biol. 17, 413-446. 1.968.
- 228.- WOLFF, Et.- Production expérimentale et déterminisme d'une monstruosité inconnue: la Sy'élie antérieur. C. R. Acad. Sci. 119, 1.673-1.675. 1934.
- 229.- WOLFF, Et.- Les bases de la tératogénese expérimentale des vertébrés amniotes d'après les résultats des méthodes directes. Arch. Anat. Histol. Embryol. 22, 1-382. 1.936.
- 230.- WOLFF, E. and KAHN, J.- La régulation de l'ébauche des membres chez les oiseaux. C. R. Soc. Biol. 141, 915-916. 1.947.
- 231.- WOLFF, E. and KAHN, J.- Production expérimentale de la polydactyle chez l'embryon d'oiseaux. C. R. Acad. Sci. 224, 1.583-1.584. 1.947a.

- 232.- WOLFF, E. and HAMPE, A.- Sur la régulation de la
patte du poulet, après resection d'un seg-
ment intermédiaire du bourgeon du membre.
C. R. Soc. Biol. 148, 153-155. 1.954.
- 233.- WOLFF, E. and KIENY, M.- Genetic mechanism in limb
development. Cold. Spr. Harb. Symp. quant.
Biol. 21, 349-354. 1.956.
- 234.- WOLFF, E.- Le principe de compétition. Bull. Soc.
Zool. Fran. 83, 13-25. 1.958.
- 235.- WOLFF, E. and KIENY, M.- Résultats des irradiations
localisées des ébauches des membres anté-
rieurs chez l'embryon d'oiseaux. C. R. Soc.
Biol. 152, 712-714. 1.958.
- 236.- WOLFF, E., KIENY, M. et SCHUE, M.- Sur la variabili-
té du pérone de l'embryon de poulet démon-
tree par les irradiations aux rayons X. C.
R. Soc. Biol. 152, 1.459-1.461. 1.958.
- 237.- WOLFF, E. and HAFFEN, K.- Sur une méthode de cultu-
re d'organes embryonnaires "in vitro". Texas
Rep. Biol. Med. 10, 463-472. 1. 952.
- 238.- WOLFF, E. and KIENY.- Mise en évidence par l'irra-
diation aux rayons X d'un phénomène de com-

pétition entre les ébauches du tibia et du péroné chez l'embryon de poulet. Dev. Biol. 4, 197-213. 1.962.

239.- WOLSTENHOLME, G.E.W. and MAEVE O'CONNOR.- Growth of the nervous system. A Ciba Found. Symp. (J. & A. Churchill Ltd. Londres). 1.968.

240.- ZWILLING, E.- The development of dominant rumplessness in chick embryos. Genetics. Vol. 27, 641-656. 1.942.

241.- ZWILLING, E.- The embryogeny of a recessive rumpless condition of chickens. The J. of Exptl. Zool. 99, 79-91. 1.945.

242.- ZWILLING, E.- The role of epithelial components in the developmental origin of the wingless syndrome of chick embryos. J. Exp. Zool. III, 175-188. 1.949.

243.- ZWILLING, E.- Ectoderm-mesoderm relationship in the development of the chick embryo limb bud. J. exp. Zool. 128, 423-441. 1.955.

244.- ZWILLING, E.- Reciprocal dependence of ectoderm and mesoderm during chick embryo limb development. Amer. Nat. 90, 257-265. 1.956.

- 245.- ZWILLING, E.- Interaction between limb bud ectoderm and mesoderm in the chick embryo. II. Experimental limb duplication. J. Exptl. Zool. 132, 173-187. 1.956a.
- 246.- ZWILLING, E.- Interaction between limb bud ectoderm and mesoderm in the chick embryo. IV. Experiments with a wingless mutant. J. Exptl. Zool. 132, 241-253. 1.956b.
- 247.- ZWILLING, E. and HANSBOROUGH, L.A.- Interaction between limb bud ectoderm and mesoderm in the chick embryo. III. Experiments with polydactylous limbs. J. exp. Zool. 132, 219-238. 1.956.
- 248.- ZWILLING, E.- Limb morphogenesis. En "Advances in morphogenesis", edit. por M. Abercrombie y J. Brachet. Vol. I. Academic Press. New York y Londres. 1.961.
- 249.- ZWILLING, E.- Development of fragmented and of dissociated limb bud mesoderm. Develop. Biol. 9, 20-37. 1.964.
- 250.- ZWILLING, E.- Cartilage formation from so-called miogenic tissues of chick embryo limb buds.

Ann. Med. Exptl. Biol. Fenniae. (Helsinki).
44, 134-139. 1.966.

251.- ZWILLING, E.- Abnormal morphogenesis in limb development. In "Limb development and deformity: problems of evaluation and rehabilitation". edited by C.A. Swinyard C. Thomas. Springfield. III. 1.969.



UNIVERSIDAD DE BARCELONA

SECRETARIADO DE PUBLICACIONES,
INTERCAMBIO CIENTIFICO Y EXTENSION UNIVERSITARIA

**Efecto de la electrocoagulación selectiva del esbozo
de los miembros del embrión de pollo, sobre el
crecimiento de las extremidades.**

Resumen de la Tesis presentada para aspirar
al grado de Doctor en Medicina

por

SANTIAGO SUSO VERGARA

BARCELONA, 1977

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

FACULTAD DE MEDICINA

Tesis doctoral del Dr. D. SANTIAGO SUSO VERGARA

Tema:

**EFFECTO DE LA ELECTROCOAGULACION SELECTIVA DEL ESBOZO
DE LOS MIEMBROS DEL EMBRION DE POLLO,
SOBRE EL CRECIMIENTO DE LAS EXTREMIDADES**

TRIBUNAL DE TESIS

Presidente: Dr. D. DOMINGO RUANO GIL
Catedrático de Anatomía
Facultad de Medicina
Universidad de Barcelona

Vocales: Dr. D. RAMON ARANDES ADAN
Catedrático de Patología Quirúrgica
Facultad de Medicina
Universidad de Barcelona

Dr. D. DIEGO RIBAS MUJAL
Catedrático de Histología y A. Patológica
Facultad de Medicina
Universidad de Barcelona

Dr. D. FRANCISCO GONZALEZ FUSTE
Catedrático de Higiene y Sanidad
Facultad de Medicina
Universidad de Barcelona

Secretario: Dr. D. CRISTOBAL PERA BLANCO-MORALES
Catedrático de Patología Quirúrgica
Facultad de Medicina
Universidad de Barcelona

Director: Dr. D. DOMINGO RUANO GIL
Catedrático de Anatomía
Facultad de Medicina
Universidad de Barcelona

Realizada la presentación y lectura de la Tesis, en fecha 1 de diciembre de 196, obtuvo la calificación de SOBRESALIENTE «Cum laude» por unanimidad.

Barcelona, 16 de febrero de 1977.

(Sello de Facultad)

El Decano,
J. OBIOLS VIE

INTRODUCCION

Desde nuestra llegada a la Cátedra de Anatomía de la Facultad de Medicina de Barcelona, que dirige el Prof. D. Domingo Ruano Gil, hemos podido iniciarnos en el complejo campo de la Embriología, fundamentalmente en su faceta experimental, campo éste, en el que se prodigan los trabajos en la Cátedra.

Por otra parte, desde la terminación de nuestra Licenciatura, estamos desarrollando en la práctica clínica la especialidad de Cirugía Ortopédica y Traumatología, en el Departamento que dirige el Dr. F. Collado Herrero.

Por todo ello, a la hora de orientar nuestra tesis doctoral, nos inclinamos hacia un tema relacionado con el desarrollo del aparato locomotor, y concretamente al análisis experimental de la participación del mesodermo y de la cresta ectodérmica apical del embrión de pollo, en el crecimiento en longitud de las extremidades.

Es conocido el hecho de que las áreas que forman los miembros del embrión de pollo, no son morfológicamente reconocibles hasta el estadio 14 de HAMBURGER-HAMILTON (1951), y que es a partir del estadio 17 cuando se aprecia un engrosamiento del ectodermo que recubre el esbozo del futuro miembro. Este recubrimiento ectoblástico se hace más prominente a nivel de la región ventral y postaxial de la raíz del miembro, es decir, en las futuras regiones axilar e inguinal, constituyendo lo que MILAIRE (1956) describió en los reptiles como engrosamiento ectodérmico ventral y que posteriormente ha sido descrito en el embrión de otros vertebrados por el mismo autor (1962). Asimismo, ORTS-LORCA y MURILLO-FERROL (1963), lo describieron en el embrión de pollo, y a este último autor se deben otras observaciones en mamíferos domésticos. Este engrosamiento ectodérmico ventral, situado inicialmente en la base del esbozo, se va extendiendo por la cara ventral del mismo, para dar lugar a una porción engrosada del ectoblasto en el borde libre apical del esbozo. Esta estructura, es la cresta ectodérmica apical, identificada por primera vez por BALFOUR (1885).

La estructura de este esbozo ha sido estudiada desde entonces por autores como KOLLIKER (1889), BRAUS (1905), BARDEN Y LEWIS (1901), STREETER (1949), MILAIRE (1957), WOLFF (1947), RUNDNICK (1945), CHAUBE (1959), SEARLS Y JANNERS (1971). Gracias a estas investigaciones se llega a la conclusión de

que el primitivo esbozo de los miembros representa un modelo didérmico de desarrollo, formado por una parte por una condensación mesoblástica y por otra por un recubrimiento ectoblástico, con un engrosamiento inicial en la región ventral, que es sustituido posteriormente por otro más duradero —cresta ectodérmica apical— de situación más apical.

En cuanto al patrón de crecimiento del esbozo ya constituido, fue SAUNDERS (1948) el primero en evidenciar que sólo el estilopodio está individualizado en el esbozo del pollo de tres días de incubación. Este mismo autor demuestra que sólo en el cuarto día se individualiza el cigopodio, situado distalmente con respecto al estilopodio. El autopodio se diferencia más tarde en la región más apical del esbozo. El patrón que nos muestra SAUNDERS, semejante al obtenido por HAMPE (1956), para el miembro posterior del pollo, implica que la segregación de los segmentos del futuro miembro tiene lugar en la región distal del esbozo, en la zona subyacente al ectodermo engrosado.

De los estudios de SAUNDERS (1948-49), AMPRINO y CAMOSSO (1956-58) y HAMPE (1956), se deduce que las células mesodérmicas destinadas a formar parte de las porciones distales del futuro miembro, están localizadas en la región apical del esbozo, inmediatamente por debajo del recubrimiento ectodérmico, antes de que se inicie cualquier proceso de diferenciación en el componente mesodermal.

Por último, el tema de los factores responsables del crecimiento de los miembros, que es abordado en la actualidad por numerosos investigadores, plantea problemas de gran interés. No obstante, las hipótesis que hasta la actualidad han sido presentadas por los diversos autores, muestran numerosos puntos de coincidencia, los más importantes de los cuales son:

- I. Todas consideran al mesodermo como el primero de los dos componentes del esbozo en ser activado.
- II. La diferenciación de la c.e.a., depende de un efecto inductor que se propaga en sentido próximo-distal a través del mesodermo.
- III. La individualización, determinación y diferenciación de los segmentos del miembro, tiene lugar según una secuencia témporo-espacial dada, empezando desde la base del esbozo.

Sin embargo, persiste el desacuerdo respecto a la función que desempeña el ectodermo del esbozo, concretamente la c.e.a. Para unos (ZWILING, SAUNDERS, HAMPE, TSCHUMI, MURILLO-FERROL, MILAIRE, GOETING, etc.) el crecimiento apical y el sentido en que se desarrollan los procesos de diferenciación del mesodermo, dependen de la actividad inductora de la cresta ectodérmica apical.

Para otros (AMPRINO, CAMOSSO, BARASA, BELL, etc.), el crecimiento y diferenciación del mesodermo, es la expresión de un patrón intrínseco de desarrollo. Estos autores niegan, pues, el papel morfogenético de la c.e.a.

De ahí que nuestro interés se centrara en el análisis experimental de la participación de la c.e.a. en el crecimiento y diferenciación de las extremidades.

MATERIAL Y METODOS

Para la realización de nuestra tesis doctoral, hemos dispuesto exclusivamente de material embrionario experimental, proporcionado por embriones de pollo, pertenecientes a la raza Heisdorf-Nelson.

Tras proceder a su tratamiento, siguiendo la técnica de WOLFF (1936), los embriones fueron intervenidos en estadios 17 a 23 de HAMBURGER-HAMILTON (H.H.) (1951). Para ello, con la ayuda de un filamento de tungsteno, montado en una varilla de vidrio, se practicó un ojal en la membrana vitelina que permitía poner al descubierto el esbozo del miembro a intervenir. A continuación, con el electrodo OK/615-1, del cauterio Mini-Terman Opticon, utilizando el reostato a nivel 4 durante un período de contacto de 2 segundos, coagulamos, bien la cresta ectodérmica apical (c.e.a.), bien el mesodermo postaxial (m.p.) del esbozo elegido. Por lo general actuamos sobre esbozos del lado derecho, más accesibles dada la elevada proporción de embriones de pollo que descansan sobre el lado izquierdo.

Después de intervenidos, los embriones eran reintegrados a la estufa para que continuaran su desarrollo. Diariamente eran observados, bajo lupa, siendo anotados los detalles más interesantes que presentaban los supervivientes. Cuando se consideraba oportuno, eran sacrificados y fijados en formol al 10 %, procediéndose al estudio de su morfología externa. De los más interesantes se hicieron fotografías «in toto».

Un grupo de ellos fue incluido en parafina-celoidina, cortados transversal, sagital o frontalmente con un espesor que osciló entre 6 y 10 micras, y coloreados por Hematoxilina-Eosina. A otro grupo de embriones intervenidos, le fue aplicada la técnica de Diafanización, para el estudio del esqueleto. Utilizamos la modificación de NOBAK (1916) del método clásico de LUNDVALL (1904) para tinción del esqueleto cartilaginoso (figura 1).

El número de embriones intervenidos fue de 800. A 550 de ellos se les practicó la cauterización de la c.e.a. y a los 250 restantes la misma intervención sobre el mesodermo postaxial.

Del primer grupo fallecieron 483 (87,8 %) y sobrevivieron a la intervención 67 (12,2 %). Del segundo grupo fallecieron 231 (92,4 %), sobreviviendo a la misma tan sólo 19, lo que representa un 7,6 % de los intervenidos sobre el mesodermo.

Los embriones fueron clasificados en varios lotes, según el estadio de intervención y el tipo de la misma. Así, dentro del grupo de embriones intervenidos sobre la c.e.a., separamos desde el principio aquellos intervenidos en estadios 17 a 22 de H.H., de aquellos operados en estadios posteriores al 23 de H.H. Estos últimos, no los incluimos en el número total de nuestro estudio al haber comprobado que las consecuencias de la intervención eran las propias de una quemadura en un autopodio ya diferenciado.

Del grupo de embriones intervenidos sobre el mesodermo postaxial, descartamos desde el principio los intervenidos en estadios previos al 20 de H.H., dado el insuficiente desarrollo morfológico y la poca diferenciación topográfica de los dos componentes del esbozo. Cualquier intento de electrocoagulación de la base del esbozo llevó consigo la lesión de ambos.

El número total de embriones estudiados se eleva, por lo tanto, a 86, que han sido designados con la letra S seguida de un número que indica el orden en que fueron operados.

Simultáneamente han sido utilizados un total de 160 huevos, de la misma

raza, que como controles fueron colocados en la estufa para continuar su desarrollo y sacrificados conjuntamente con los embriones operados. En ninguno de los controles observamos malformaciones.

OBSERVACIONES

Debido a la corta extensión de una publicación de este tipo, nos vemos imposibilitados para describir todos los embriones observados, y por ello hemos tenido que limitarnos a la exposición de algunos de los casos más representativos.

S. 4. Embrión intervenido a los tres días de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 18 de H.H., al que le fue practicada la electrocoagulación total de la cresta ectodérmica apical, del esbozo del miembro superior derecho. Para ello se utilizó el reostato a nivel 4, durante un período de contacto de 2 segundos. Durante la intervención no se produjeron incidencias graves, salvo una discreta taquicardia que había remitido a la hora de la operación.

Las observaciones periódicas postoperatorias mostraron una rápida cicatrización de la lesión operatoria. A las 36 horas, ya se apreció la falta de desarrollo del esbozo intervenido, mientras el resto del embrión seguía una evolución semejante a los controles. A los 4 días de la intervención y cuando presentaba un estadio 31 de H.H., fue sacrificado y fijado en formol al 10 %.

El estudio macroscópico bajo lupa, evidenció la ausencia total de la extremidad superior derecha. El resto del embrión no presentaba alteración alguna, no existiendo retraso global del desarrollo con respecto a los controles.

Para el estudio esquelético, sometimos de inmediato al embrión a la técnica de diafanización. Tal como se observa en la figura 2, no existe estructura cartilaginosa que corresponda a segmento alguno de ala derecha. Sin embargo, la cintura escapular se observa totalmente desarrollada y al igual que el resto de estructuras esqueléticas corresponde a un estadio 31 de H.H. Se trata, pues, de una amelia de ala derecha.

Hemos presentado este embrión como ejemplo de la serie de 16 amelias obtenidas como consecuencia de la destrucción de la c.e.a. en estadios 17 y 18 de H.H.

S. 144. Embrión intervenido a los 2 ½ días de incubación cuando presentaba un estadio 19 de H.H., al que le fue practicada la electrocoagulación total de la c.e.a. del esbozo del miembro superior derecho. Se utilizó el reostato a nivel 4 durante un tiempo de contacto de 2 segundos. Durante la intervención se produjo una leve hemorragia focal, que se cohibió espontáneamente en 5 segundos. También se apreció una taquicardia de 3 horas de duración.

Las observaciones periódicas postoperatorias mostraron a partir del segundo día una aparente detención del crecimiento del ala derecha. Fue sacrificado al inicio del quinto día del postoperatorio, presentando un estadio 35 de H.H.

El estudio macroscópico bajo lupa mostró la presencia de un muñón de ala derecha, de características proximales. El resto del embrión era normal a excepción de una celosomía de componente fundamentalmente torácico.

El estudio del esqueleto tras someter el embrión al método de diafanización, nos permitió comprobar un desarrollo normal del mismo a excepción del ala derecha, representada exclusivamente por un estilopodio anor-

malmente corto, no articulado distalmente a segmento cartilaginoso alguno (figura 3).

S. 134. Embrión intervenido a los 3 ½ días de incubación, cuando presentaba un estadio 21 de H.H., al que se le practicó la destrucción por electrocoagulación de la c.e.a. del esbozo del ala derecha, utilizando el reostato a nivel 4 con un contacto de 2 segundos.

Las observaciones habituales postoperatorias evidenciaron al final del tercer día una evolución favorable del embrión y sólo a partir de entonces comprobamos la existencia de un acortamiento en el miembro intervenido. Al final del cuarto día y presentando un estadio 35 de H.H., fue sacrificado y fijado en formol al 10 %.

El estudio macroscópico bajo lupa nos permitió comprobar la existencia de un muñón de dos segmentos de características proximales en la localización del ala derecha con ausencia de plato autopodal. Se apreció asimismo una celosomía, que afectaba fundamentalmente al compartimento abdominal. El resto del embrión era normal.

El estudio del esqueleto cartilaginoso mediante la diafanización nos permitió comprobar la existencia de dos segmentos esqueléticos a nivel del ala intervenida (figura 4). El estilopodio estaba representado por un húmero corto articulado distalmente a dos radios óseos atróficos, únicos representantes esqueléticos del cigopodio del ala intervenida. No existía autopodio. El resto del esqueleto del embrión presentaba características morfológicas y de maduración normales.

Se trata, pues, al igual que el embrión S. 144, de una hemimelia del miembro intervenido, representantes ambos del grupo de 37 embriones intervenidos sobre la c.e.a. en estadios 19 a 22 de H.H.

S. 759. Embrión intervenido a las 90 horas de incubación, cuando presentaba un estadio de desarrollo 22 de H.H., al que se practicó la electrocoagulación focal de la mitad ventral y postaxial (zona axilar) del mesodermo de la base de implantación del esbozo del miembro superior derecho, utilizando el reostato a nivel 4 durante un período de contacto de 2 segundos.

Los controles habituales mostraron a partir del tercer día de postoperatorio un acortamiento y malposición del ala intervenida, la cual se situaba al lado del cuello. También éste adoptó una progresiva actitud en rotación y flexión lateral derecha. El crecimiento del resto del embrión era, sin embargo, normal.

Fue sacrificado al sexto día del postoperatorio, presentando un estadio 36-37 de H.H., el mismo en que se encontraban los testigos.

El estudio macroscópico con la lupa nos mostró un acortamiento grave del ala derecha, la cual presentaba un plato autopodal normal. El relieve del codo se encontraba a menos de 5 mm. de la base de implantación del ala. El cigopodio aparentemente normal estaba dirigido hacia arriba, si bien esta actitud era corregible pasivamente. El cuello presentaba las características propias de la torticolis congénita derecha.

Con el método de diafanización pudimos comprobar que el acortamiento del ala derecha se debía a la existencia de un estilopodio atrófico articulado distalmente con los dos radios cartilaginosos de un cigopodio normal. El esqueleto de la mano también era normal. La columna estaba en flexión pero no presentaba rotaciones. El resto del esqueleto era normal (figura 5).

Este embrión representa un ejemplo de la serie de 7 focomelias obtenidas como consecuencia de la electrocoagulación del mesodermo postaxial y ventral de la base de implantación del esbozo del futuro miembro.

DISCUSION

De la observación detenida de los 86 embriones de pollo, supervivientes de un total de 800, que fueron intervenidos mediante la electrocoagulación, bien de la c.e.a., bien del mesodermo postaxial del esbozo de los miembros, se han obtenido datos que consideramos de gran interés.

A pesar de que, según AMPRINO y CAMOSSO (1958) y HAMPE (1959), en el estadio 18 de H.H. ya se hallan determinados los territorios más proximales del futuro miembro, la destrucción por nosotros efectuada de la c.e.a., en estadios 17 y 18 de H.H., ha acarreado la no diferenciación de segmento alguno, siendo este tipo de intervención la responsable de todas las amedias de nuestra serie.

Por otra parte, la intervención efectuada en estadios posteriores —19 y 20 de H.H.— tuvo como consecuencia, en los embriones que sobrevivieron a la operación, la falta de desarrollo de los dos segmentos distales, lográndose con frecuencia una diferenciación y desarrollo del estilopodio normales.

La misma intervención sobre la cresta ectodérmica apical, practicada unas horas después, cuando los embriones habían alcanzado un estadio de desarrollo 20 a 22 de H.H., condujo también al desarrollo de miembros hemimélicos. En todos los supervivientes de este grupo fue constante la ausencia total de autopodio y la presencia de un segmento cigopodal con un grado variable de desarrollo esquelético.

Estos resultados por nosotros obtenidos concuerdan con los referidos por SAUNDERS, ZWILLING, HAMPE, ABBOT, MURILLO-FERROL, etc. Así SAUNDERS (1949), extirpando el recubrimiento ectoblástico apical del esbozo del ala, en diversos estadios, obtuvo malformaciones de marcada intensidad, llegando a obtener amelias empleando esta técnica en estadios 17-18 de H.H.

Las mismas malformaciones fueron obtenidas mediante diversos métodos de anulación y separación del componente ectoblástico del esbozo por estos autores. Estamos de acuerdo pues con ellos en que la c.e.a. del esbozo del miembro es el factor responsable de la diferenciación de las porciones de mesodermo ya determinadas. Así cuando electrocoagulamos la c.e.a. en estadios precoces, en los que no se halla determinado segmento alguno del futuro miembro, no se llega a diferenciar segmento esquelético alguno del miembro. Sin embargo, la destrucción del engrosamiento ectodérmico apical en estadios posteriores, permite el desarrollo de las porciones del miembro ya diferenciadas en el momento de la intervención.

Sin embargo, en 1969, AMPRINO, AMPRINO-BONETTI, y AMBROSIO, apoyando los criterios de BARASA, BELL, CAMOSSO, KOECKE, y otros autores, negaron la necesidad de la persistencia de la c.e.a. para el desarrollo normal de las extremidades. Para estos autores, todos los factores de desarrollo residirían en el mesodermo del esbozo y éste sería el único responsable de la individualización de los territorios, así como de la diferenciación de los mismos, según una secuencia temporal dada.

Tanto las experiencias de ZWILLIG (1964) como la de MURILLO-FERROL (1970) y las nuestras han demostrado la inexactitud de estas afirmaciones.

Con respecto a nuestras experiencias en el grupo de embriones en los que electrocoagulamos porciones limitadas del componente mesodérmico del esbozo podemos resumir que todas las malformaciones obtenidas en los embriones supervivientes, pertenecen al tipo de las focomelias. Estos resultados guardan relación con los obtenidos por SALZGEBER (1969), la cual

obtiene un elevado número de focomelias tratando mediante yperita azotada, las porciones ventral y postaxial de esbozos del ala del embrión de pollo. Resultados parecidos fueron obtenidos por WOLFF (1954), WOLFF y HAMPE (1954) y WOLFF y KIENY (1956) mediante la irradiación con rayos X de zonas localizadas de los esbozos de los miembros.

De las observaciones de estos autores y de las experiencias por nosotros realizadas podemos deducir que la destrucción de porciones del mesodermo ya determinadas, aún con integridad de la c.e.a., provocan la detención o ausencia del crecimiento del segmento que hubiese derivado de la zona anulada.

Así, pues, estamos en condiciones de afirmar que la c.e.a. es indispensable para el crecimiento y diferenciación de los distintos segmentos esqueléticos de la extremidad, los cuales se hallan determinados en el componente mesodermal del primitivo esbozo.

CONCLUSIONES

Del estudio detallado de los embriones de pollo supervivientes a la electrocoagulación de los componentes mesodermal y ectodérmico del esbozo de los miembros se han podido obtener las siguientes conclusiones:

1. Ha sido constante la presencia de alteraciones en el miembro intervenido.
2. La electrocoagulación total de la cresta ectodérmica apical, en estadios 17 y 18 de HAMBURGER-HAMILTON, dio lugar siempre a la ausencia total del miembro (amelia).
3. La misma intervención en estadios 19 a 23 de H.H. llevó a la obtención de hemimelias, con uno o los dos segmentos proximales presentes.
4. La electrocoagulación llevada a cabo en estadios 21 a 24 de H.H. de la porción ventral y postaxial del mesodermo de la base del esbozo, originó en todos los casos supervivientes, alteraciones graves de los segmentos proximales del miembro intervenido (focomelias).
5. En un número elevado de embriones se produjeron alteraciones del tipo de celosomías, ectocardias, escoliosis, etc.
6. En ningún caso (incluso en las amelias) se ha observado alteración grave de la cintura escapular o pelviana, lo que demuestra que en su formación no tiene interacción la c.e.a. del esbozo del miembro correspondiente.
7. El desarrollo de la musculatura esquelética de los miembros, es hasta cierto punto independiente de la c.e.a., como lo demuestran los casos en que se han observado grupos musculares en porciones de miembro ausentes de segmento esquelético.
8. También es independiente de la actividad de la c.e.a. el desarrollo del sistema nervioso periférico de los miembros, como se observa en todos los casos de embriones en los que presentando amelias y hemimelias se han encontrado troncos nerviosos y plexos de características similares al miembro contralateral sano (figura 6).
9. La morfogénesis normal de los miembros del embrión de pollo, depende de interacciones recíprocas entre los dos componentes del esbozo, el mesodermo y el ectodermo.
10. En el crecimiento longitudinal del miembro, la cresta ectodérmica apical va asegurando, en cada momento, la diferenciación de la porción más distal del mismo.

11. En los estadios 17 y 18 de H.H., no se halla morfológicamente determinada porción alguna de miembro. En efecto, la destrucción de la c.e.a. en estos estadios determina la ausencia total de la extremidad.

12. El mesodermo, a la vez que mantiene la actividad de la c.e.a., contiene en períodos anteriores al estadio 23 de H.H. el material en vías de diferenciación, la destrucción del mismo en estos estadios produce la ausencia del segmento o segmentos que derivarían de la porción destruida.

13. La mitad preaxial y dorsal del mesodermo del esbozo, en estadios precoces de desarrollo, no presenta capacidad morfogenética. La destrucción de la misma en estadios 20 a 24 de H.H., no produce alteración alguna del futuro miembro.

14. En muchos de los embriones intervenidos, más del 30 %, la electrocoagulación del esbozo de los miembros, produjo lesiones en los somitos, que dieron lugar a defectos de cierre de las paredes del cuerpo embrionario (celosomía y ectocardias), hecho que confirma la teoría que sustenta que el material somítico interviene en la formación de las paredes del tronco.

BIBLIOGRAFIA

- AMPRINO, R.: «Aspetti della morfogenesi dell'all estremità nei vertebrati». Mon. Zool. Ital. Sppl. 7.071, 7-130, 1962-63.
- AMPRINO, R.: «Aspects of limb morphogenesis in the chicken. Organogenesis». Ed. por De Haan, R. y Ursprung, H. New York, 255-218, 1965.
- AMPRINO, R. and BONETTI, D. A.: «Effect of the implantation site in the development of grafted limb bud mesoderm in chick embryos». Nature, 204-298, 1964.
- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.: «Le rôle morfogénétique de la Crête Ectodermique Apicale du bourgeon des membres de l'embryon de poulet». Compt. Rend. Assoc. Anat., 42, 197-203, 1955.
- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.: «Ricerche sperimentali sulla morfogenesi degli arti nell pollo». J. Exp. Zool., 129, 453-493, 1955.
- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.: Etude expérimentale de la morphogénèse de l'aile dans l'embryon de poulet. I. Recherches par le méthode des marques colorées. Arch. Biol., 67, 613-633, 1956.
- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.: «Aspetti della morfogenesi dell'ala nell'embrione di pollo». Atti. Soc. Ital. Anat. XVII Conv. Monit. Zool. Ital. Supl. 65, 96-104, 1958.
- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.: «Données expérimentales sur la morphogénèse de l'aile dans l'embryon de poulet». C.R. Ass. Anat., 44, 77-83, 1957.
- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.: «Modificazione sperimentale indotte de nell'organogenesi degli arti». Boll. Soc. Ital. Biol., 34, 337-339, 1958.
- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.: «Analisi sperimentale dello sviluppo dell'ala nell'embrione di pollo». A. Entwicklungsmech. Or. 150, 509-541, 1958.
- AMPRINO, R. and CAMOSO, M.: «Experimental observations on influences exerted by the proximal over the distal territories of the extremities». Experientia, 14, 241-243, 1959.
- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.: «On the role of the apical ridge in the development of the chick embryo limb bud». Acta Anat., 68, 280-288, 1959.
- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.: «Observations sur les duplications expérimentales de la partie distale de l'ébauche de l'aile chez l'embryon de poulet». A. Anat. Moph. Ex., 48, 261-305, 1959.
- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.: «Greffes hétérotopiques d'ectoderme et mésenchyme marginal de l'ébauche des extrémités. Etude histologique». Compt. Rend. Assoc. Anat., 47, 62-68, 1961.
- AMPRINO, R. and CAMOSSO, M.: «La regulation d'excédens de l'ébauche des membres de poulet». Arch. Anat. Micros. Morphol. Exptl., 1965.
- ANCEL, P. et WOLFF, Et.: «Sur la réalisation expérimentale des monstruosites». C. R. Soc. Biol., 112, 798-801, 1933.
- BARASSA, A.: «Consequeunce dell'ablazione della cresta ectodermica apicale sullo sviluppo dell'abbozzo dell'ala dell'embrione di pollo». Rev. Biol., 52, 257-292, 1950.
- BARASSA, A.: «Modificazione della vascularizzazione dell'abbozzo delle estremita nel pollo in conseguenza di dimolizione de parti». Atti. Soc. Ital. Anat. XIX Coanv., 1959.

- BELL, E.; KAIGN, M. A. and FESSEDEN, L. M.: «The role mesodermal and ectodermal components in the development of the chick limb». *Develop. Biol.*, 1, 101-124, 1959.
- BELL, E.; GASSELING, M. T. and SAUNDERS, J. W. Jr.: «On the role of the ectoderm in limb development». *Develop. Biol.*, 4, 177-196, 1962.
- BRETSCHER, A.: «Experimentelle unterdrückung der der polydactilye bein hühnchen». *Rev. Suisse Zool.*, 57, 576-583, 1956.
- CAIRNS, J. M. and SAUNDERS, J. W. Jr.: «The influence of embryo mesoderm on the regional specification of epidermal derivatives in the chick». *J. Exptl. Zool.*, 127, 259-288, 1959.
- CAMOSSO, M., JACOBELLI, V. and PAPPALLETTERA, N.: «Ricerche descrittive e sperimentali sull'organogenesi dell'abbozzo dell'ala dell'embrione di pollo». *Riv. Biol.*, 52, 323-357, 1960.
- CHAUVE, S.: «On axiation and symmetry in transplanted wing of the chick». *J. Exp. Zool.*, 140, 29-77, 1959.
- GARDNER, E. and GRAY, D. J.: «Prenatal development of the human shoulder and acromioclavicular joints». *Amer. J. Anat.*, 92, 219, 1953.
- GOETING, P. F.: «Studies on limb morphogenesis. Experiments with the polydactilous mutant endiplopodia». *Dev. Biol.*, 10, 71-91, 1964.
- GUIRAO, M. y cols.: «Fenocopias experimentales del aparato locomotor». *Rev. Esp. Ortop. y Traumat.*, 3, 422-428, 1959.
- HAMBURGER, V.: «Morphogenetic and axial differentiation of transplanted limb primordia of 2-day chick embryos». *J. Ex. Zool.*, 77, 379-400, 1938.
- HAMBURGER, V. and HAMILTON, H. L.: «A series of normal stages in the development of the chick embryo». *J. Morphol.*, 88, 49-83, 1951.
- HAMBURGER, V.: «The development and innervation of transplanted limb primordia of chick embryos». *J. Ex. Zool.*, 80, 347-389, 1939.
- HAMILTON, W. J.; BOYD, J. D. and MOSSMAN, H. W.: «Human embryology». Williams & Wilkins. Baltimore, 1962.
- HAMPE, A.: «Sur la topographie des ébauches présomptives du membre postérieur du poulet». *Compt. Rend. Acad. Sci.*, 243, 970-973, 1956.
- HAMPE, A.: «Sur la régulation de pièces excédentaires dans le bourgeon de membre de l'embryon de poulet». *C. R. Soc. Biol. Paris*, 150, 1726-1729, 1956.
- HAMPE, A.: «Recherches sur la régulation des déficiences et des excédents du bourgeon de la patte du poulet». *Arch. Anat. Micr. Morph. Exp.*, 46, 265-281, 1957.
- HAMPE, A.: «Sur le rôle du mésoderme et de l'ectoderme du bourgeon de patte dans les échanges entre le poulet et le canard». *C. R. Hebd. Séance. Acad. Sci. Paris*, 244, 3179-3181, 1957 a.
- HAMPE, A.: «Le développement du péroné dans les expériences de régulation des déficiences et des excédents dans la patte du poulet». *J. Embryol. Exp. Morph.*, 6, 215-222, 1958.
- HANSBOROUGH, L. A.: «Regulation in the wing of the chick embryo». *Anat. Record*, 120, 698, 1954.
- KIENY, M.: «Sur la constitution du membre chimère produit par l'association d'un bourgeon d'aile et d'un bourgeon de patte chez l'embryon de poulet». *C. R. Soc. Biol. Paris*, 152, 1508-1512, 1959.
- KIENY, M.: «Rôle inducteur du mésoderme dans la différenciation précoce du bourgeon de membre chez l'embryon de poulet». *Archiv. J. Embryol. Exp. Morph.*, 8, 457-467, 1960.
- KIENY, M.: «Régulation des excédents et des déficiences du bourgeon d'aile de l'embryon de poulet». *Arch. Anat. Micr. Morph. Exp.*, 53, 29-44, 1964.
- KIENY, M.: «Rôle du mésoderme et de l'ectoderme dans les phénomènes de régulation du bourgeon de membre de l'embryon de poulet». *C. R. Acad. Sci. Paris*, 262, 495-498, 1966.
- LENZ, W.: «Thalidomide and congenital abnormalities». *Lancet*, 1, 1962.
- LUNDVALL, H.: «Ueber demonstration embryonaler knorpelskelette». *Anat. Anz.*, 25, 219, 1904.
- LUNDVALL, H.: «Ein ueber skelettfärbung und aufhellung». *Anat. Anz.*, 40, 639, 1912.
- LUNDVALL, H.: «Färbung des skelettes in durchsichtigen weichteilen». *Anat. AAnz.*, 62, 353-373, 1927.
- MILAIRE, J.: «Le rôle de la cape apicale dans la formation des membres des vertébrés». *Ann. Soc. Zool. Belg.*, 91, 129-145, 1961.
- MILAIRE, J.: «Histochemical aspects of limb morphogenesis in vertebrates. Adv. in Morphogenesis». Ed. by Abercrombie. M. et Brachet J. II Acad. Press. New-York, 183-209, 1962.
- MILAIRE, J.: «Etude histochimique des premières stades du développement des membres chez le poulet». *Compt. Rend. Ass. Anat.*, 51, 688-698, 1966.
- MURILLO-FERROL, N. L.: «Etude causale de la différenciation la plus précoce de l'ébauche morphogénique des membres. Analyse expérimentale chez les embryons d'oiseaux». *Acta Anat.*, 62, 80-103, 1965.
- NOBACK, G. L.: «The use of the van wijhe method for the staining of the cartilaginous skeleton». *Anat. Rec.*, 11, 292, 1916.
- ORTS-LLORCA, F.: «Malformaciones congénitas. Etiología y mecanismo patogénico de las anormogénesis». *Cir. Gin. y Urol. Vol. XVII*, 3, 139-163, 1963.

- RUANO-GIL, D. and PUCHADES-ORTS, A.: «Differentiation of limb grafts in the nervous system of the chicken embryo». Arch. Anat. Histol. et Emb. norm. et exp. XLIX, 5, 493-498, 1966.
- RUNDNICK, D.: «Differentiation of prospective limb material from creeper chick embryos in coelomic grafts». J. Exptl. Zool., 100, 1-17, 1945.
- SALZGEBER, B.: «Etude comparative des effets de l'ypérite azotée sur les constituans mésodermique et ectodermique, des bourgeons de membres de l'embryon de poulet». J. Embryol. Ex. Morph., 22, 373-394, 1969.
- SALZGEBER, B.: «Production expérimentale de malformations distales des membres chez l'embryon de poulet après traitement par l'ypérite azotée». A. E. Morph., 5, 145-163, 1972.
- SAUNDERS, J. W.: «The proximodistal sequence of origin of the parts of the chick wing and the rôle of the ectoderm». J. Exp. Zool., 108, 363-404, 1948.
- SAUNDERS, J. W. Jr. and GASSELING, M. T.: «Ectodermal-mesenchymal interactions in the origin of limb symmetry». In Epithelial Mesenchymal Interaction. (R. Fleischmajer and R. Billingham ed.). Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland, 1968.
- SAUNDERS, J. W. Jr. and CAIRNS, J. M. and GASSELING, M. T.: «The role of the apical ridge of ectoderm in the differentiation of the morphological structure and inductive specificity of limb parts in the chick». J. Morphol., 101, 57-87, 1957.
- SAUNDERS, J. W. Jr.; GASSELING, M. T. and CAIRNS, J. M.: «The differentiation of prospective thigh mesoderm grafted beneath the apical ectoderm ridge of the wing bud in chick embryo». Develop. Biol., 1, 218-301, 1959.
- SEARLS, R. L.: «Isolation of mucopolysaccharide from the precartilaginous embryonic chick limb bud». Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 118, 1172-1176, 1965 b.
- SEARLS, R. L.: «The role of cell migration in the development of the embryonic limb bud». J. Exptl. Zool., 166, 39-50, 1967.
- SEARLS, R. L. and ZWILLING, E.: «Regeneration of the apical ectoderm ridge of the chick embryo limb bud». Dev. Biol., 9, 38-55, 1964.
- STREETER, G. L.: «Developmental horizons in human embryos». Contr. Embryol. Carneg. Inst., 33, 149-167, 1949.
- TSCHUMI, P. A.: «Ontogenetische realisationsstufen der extremität bei xenopus und die interpretation phylogenetischer strahlenreduktionen». Rev. Suisse Zool., 60, 496-506, 1953.
- WOLFF, E.: «Les bases de la tératogénese expérimentale des vertébrés amniotes d'après les résultats des méthodes directes». Arch. Anat. Hist. Embr., 22, 1-382, 1936.
- WOLFF, E. and KAHN, J.: «La régulation de l'ébauche des membres chez les oiseaux». C. R. Soc. Biol., 915-916, 1947.
- WOLFF, E. and HAMPE, A.: «Sur la régulation de la patte du poulet, après resection d'un segment intermédiaire du bourgeon du membre». C. R. Soc. Biol., 148, 153-155, 1954.
- WOLFF, E. and KIENY, M.: «Résultats des irradiations localisées des ébauches des membres antérieures chez l'embryon d'oiseaux». C. R. Soc. Biol., 152, 712-714, 1958.
- WOLFF, E. and KIENY: «Mise en évidence par l'irradiation aux R. X. d'un phénomène de compétition entre les ébauches du tibia et du péroné chez l'embryon de poulets». Dev. Biol., 4, 197-213, 1962.
- ZWILLING, E.: «The embryogeny of a recessive rumpless condition of chickens». The J. of Exptl. Zool., 99, 79-91, 1945.
- ZWILLING, E.: «The role of epithelial components in the developmental origin of the wingless syndrome of chick embryos». J. Ex. Zool., III, 175-188, 1949.
- ZWILLING, E.: «Ectoderm-mesoderm relationship in the development of the wingless syndrome of chick embryos». J. Exp. Zool., 128, 423-441, 1955.
- ZWILLING, E.: «Reciprocal dependence of ectoderm and mesoderm during chick embryo limb development». Amer. Nat., 90, 257-265, 1956.
- ZWILLING, E.: «Interaction between limb bud ectoderm and mesoderm in the chick embryo». J. Ex. Zool., 132, 241-253, 1956 b.
- ZWILLING, E. and HANSBOROUGH, L. A.: «Interaction between limb bud ectoderm and mesoderm in the chick embryo. III. Experiments with polydactylous limbs». J. Exp. Zool., 132, 219-238, 1956.
- ZWILLING, E.: «Limb morphogenesis». En «Advances in morphogenesis», ed. M. Abercrombie and Brachet. I. Academic Press. New York, 1961.
- ZWILLING, E.: «Development of fragmented and of dissociated limb bud mesoderm». Develop. Biol., 9, 20-37, 1964.
- ZWILLING, E.: «Cartilage formation from so-called miogenic tissues of chick embryo limbs buds». Ann. Med. Exptl. Biol. Fennicac. (Helsinki), 44, 134-139, 1966.

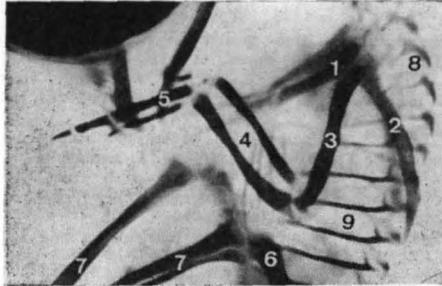


Fig. 1. Embrión testigo, tratado con el método de diafanización. 1, Clavícula. 2, Omoplato. 3, Húmero. 4, Esqueleto antebraquial. 5, Esqueleto de la mano. 6, Fémur. 7, Esqueleto de las piernas. 8, Columna. 9, Costillas.

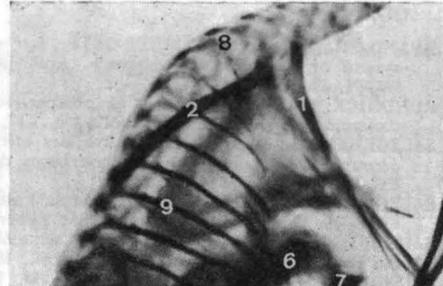


Fig. 2. Embrión S. 4. Amelia miembro superior derecho. Mismas indicaciones que la figura 1.

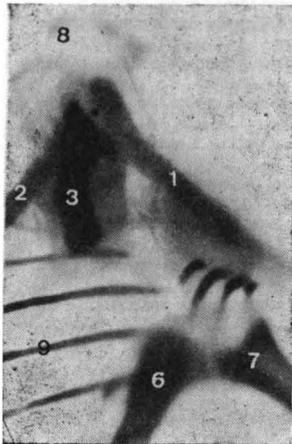


Fig. 3. Embrión S. 144. Hemimelia. Mismas indicaciones que la figura 1.

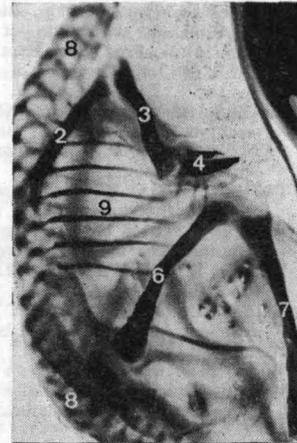


Fig. 4. Embrión S. 134. Hemimelia. Obsérvese la existencia del segmento antebraquial derecho, atrófico. Mismas indicaciones que la figura 1.

Fig. 5. Embrión S. 759. Focomelia miembro superior izquierdo. Obsérvese la corta longitud del número izquierdo. Mismas condiciones que la figura 1.

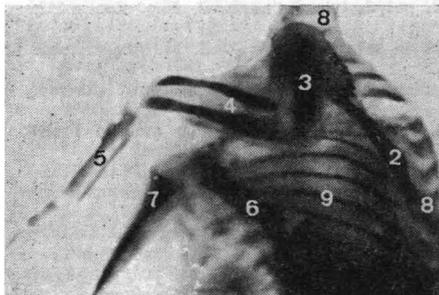
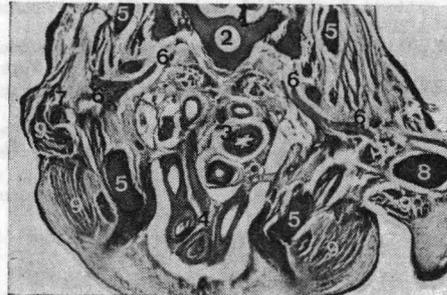


Fig. 6. Corte horizontal de un embrión de pollo, al que se practicó la electrocoagulación total de la C.E.A. del esbozo del ala derecha en un estadio 19 de H.H. 1, Canal medular. 2, Noto-corda. 3, Tubo digestivo. 4, Troncos venosos. 5, Cintura escapular. 6, Troncos nerviosos. 7, Corte del húmero derecho. 8, Corte del húmero izquierdo. 9, Grupos musculares.



EDICIONES DE LA UNIVERSIDAD DE BARCELONA

Depósito Legal: B. 12629-1977 — Imp. Fidel. Bot, 13. Barcelona, 1977