

Estudio de la dinámica embrionaria aplicando técnicas de registro de vibraciones. Correlación morfofuncional del desarrollo articular del embrión de pollo

Manuel Llusá Pérez

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

ESTUDIO DE LA DINÁMICA EMBRIONARIA APLICANDO TÉCNI-
CAS DE REGISTRO DE VIBRACIONES. CORRELACIÓN MORFOFUN-
CIONAL DEL DESARROLLO ARTICULAR DEL EMBRIÓN DE POLLO.

TESIS PRESENTADA PARA ASPIRAR
AL GRADO DE DOCTOR

MANUEL LLUSÁ PÉREZ

BARCELONA 1985.

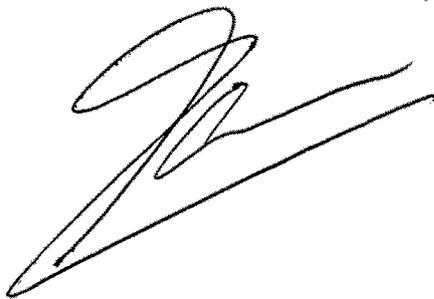
FACULTAD DE MEDICINA DE BARCELONA
DEPARTAMENTO DE ANATOMIA
PROF. DR. D. RUANO GIL

CASANOVA, 143 - BARCELONA - 36 (ESPAÑA)

Santiago SUSO VERGARA, Profesor Titular Interino del Departamento de Anatomía Humana de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona y Director de la Tesis Doctoral que con el título ESTUDIO DE LA DINAMICA EMBRIONARIA APLICANDO TECNICAS DE REGISTRO DE VIBRACIONES. CORRELACION MORFOFUNCIONAL DEL DESARROLLO ARTICULAR DEL EMBRION DE POLLO, realizada por D. Manuel LLUSA PEREZ,

INFORMA: Que la mencionada Tesis está en condiciones de ser leída en la próxima convocatoria.

Y para que conste firma en Barcelona a treinta de octubre de mil novecientos ochenta y cinco.

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized initial 'S' followed by a long, sweeping horizontal stroke.

Esta Tesis ha sido realizada en el Departamento de Anatomía Humana de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona, que dirige el Profesor Dr. Domingo Ruano Gil y el Departamento de Acústica de la Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica de Telecomunicaciones La Salle Bonanova de Barcelona, que dirige el Hno. Josep Martí Roca.

AL PROFESOR DR. D. DOMINGO RUANO GIL,
EN TESTIMONIO DE RESPETO Y GRATITUD.

AL DR. D. SANTIAGO SUSO VERGARA,
DIRECTOR DE ESTA TESIS, NO SÓLO POR
LA ORIENTACIÓN Y AYUDA SINO TAMBIÉN
POR EL APOYO MORAL, CONFIANZA Y AMIS
TAD QUE ME HA BRINDADO.

A MI PADRE.

**A MI FAMILIA, POR SU APOYO Y COMPREN
SIÓN Y CON EL DESEO DE QUE TODOS SUS
SACRIFICIOS HAYAN TENIDO UN SENTIDO.**

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS:

La presente tesis es el resultado, no sólo de un trabajo personal, sino también del de otras personas que de una u otra forma han colaborado en su realización. Sería injusto no expresar mi mayor gratitud:

*Al **Hermano Josep Martí Roca**, Director del Departamento de Acústica de la Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica de Telecomunicaciones La Salle Bonanova, por facilitarnos todo el material que ha sido preciso utilizar, así como por sus consejos y sugerencias, haciendo posible que este proyecto se hiciese realidad.*

*A **D. Fernando Bolaños Balaré**, profesor de esta misma Escuela de Ingeniería Técnica de Telecomunicaciones, por habernos guiado en el complicado campo de las medidas acústicas y de vibraciones y de quien hemos recibido inestimable ayuda y el asesoramiento necesario.*

*A **Andrés García Santos**, compañero de trabajo, por la gran labor realizada en la obtención del sistema de medida y registro, así como por la ilusión y fe depositados en el proyecto inicial.*

*Al **Hermano Antoni Baqueró Coll**, del Departamento de Video de la Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica de Telecomunicaciones La Salle Bonanova, y a **Javier Cacho Burgos**, por su valiosa cooperación en la realización de la videocinta.*

*Al **Dr. D. Celestino Barastegui Almagro**, cuyo ejemplo y consejos han ayudado a superar momentos adversos.*

Al Dr. D. Joan Moya Amorós, por el apoyo y cariño que me ha ofrecido siempre.

Al Dr. D. Angel González, profesor ayudante del Departamento de Física Médica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona, por sus comentarios y sugerencias.

A Pilar Peris Bernal, Jaime Suñol Sala y Alberto Prats Galino por su noble amistad y por la ayuda y cooperación recibida en todo momento.

A Dña. María Cayuela Vergés, por el magnífico trabajo realizado con el material histológico. Agradezco especialmete el entrañable trato recibido.

A todos mis compañeros del Departamento de Anatomía Humana, por su estímulo constante.

La realización de esta Tesis, ha contado con el apoyo económico de una de las "Ayudas al estudio, a la formación y a la investigación", concedida por la Obra Social de la CAJA de BARCELONA en el año 1983.

I N D I C E - TOMO I

INTRODUCCION	Pág.	1
MATERIAL y METODOS	"	69
OBSERVACIONES	TOMO II	
DISCUSION	Pág.	150
CONCLUSIONES	"	173
BIBLIOGRAFIA	"	178

I N D I C E - TOMO II

OBSERVACIONES	Pág.	1
A) Observaciones preliminares	"	2
B) Observaciones definitivas	"	9
B-1 Descripción de la evolución diaria de los datos dinámicos de un mismo embrión desde el día 5º hasta la eclosión.....	"	15
B-2 Descripción de los datos dinámicos y morfológicos de 16 embriones testigos de la evolución diaria del desarrollo articular	"	120

. . . .

INTRODUCCION

Desde el inicio de nuestros estudios de Licenciatura hemos sentido una especial atracción por la Anatomía del Aparato Locomotor y en particular por su desarrollo embriológico. Recordamos con afecto las primeras clases que nos impartió el Prof. Dr. D. Ruano Gil, quien con gran capacidad docente su po contagiarnos su entusiasmo por ésta, para nos o tros, nueva ciencia.

Una vez superados los dos primeros cursos de la Li enciatura y habiendo adquirido una modesta pero más integral idea de las ciencias morfológicas y fisiológicas, solicitamos poder asistir al Departamento de Anatomía Humana para completar y ampliar nuestros conocimientos, incorporándonos poco a poco a las actividades en él desarrolladas, en un principio como alumno interno y posteriormente como profesor ayudante de clases prácticas.

En este Departamento se vienen realizando desde ha ce tiempo trabajos de reconocido nivel científico sobre el desarrollo del Aparato Locomotor, y en estos últimos años con especial énfasis sobre el desarrollo articular, pudiéndose citar por su importancia y relevancia las Tesis Doctorales del Dr. J. Nardi Vilardaga "Análisis experimental del de-

sarrollo de las articulaciones" (1976) y del Dr. A. Teixidor Johe "Influencia de la movilidad embrionaria en el desarrollo del sistema articular" (1982). El contacto mantenido con estas personas acrecentó nuestro interés por el desarrollo embriológico del Aparato Locomotor.

Todas estas circunstancias y en especial la inquietud que despertaron los comentarios de mi padre sobre las posibles causas etiopatogénicas de la Artrogriposis Múltiple Congénita -tema que él ha tratado con gran preocupación por haber vivido un caso con leve afectación en uno de sus hijos - ha sido motivo para que nos inclinásemos y escogiésemos como objeto de nuestra Tesis Doctoral un tema en relación con el desarrollo articular.

El esbozo de los miembros de embriones de pollo a partir del tercer día (estadio 18) es un sistema que se autodiferencia y que se vuelve progresivamente organizado en un patrón mosaico, es decir: determinados fragmentos, cuando se han diferenciado, dan lugar sólo a determinadas estructuras o regiones (O'Rahilly y Gardner, 1978).

Los factores principales que regulan el desarrollo primario de la forma del esqueleto son intrínsecos a los segmentos esqueléticos.

Los trabajos de Saunders (1948, 1972) sobre papel que juega la cresta ectodérmica apical en el desarrollo de los miembros de las aves señalan la im-

portancia de ésta en su formación. Si se escinde la cresta ectodérmica apical no se formarán las partes distales del miembro; cuanto más tarde se efectúe esta ablación menos territorio se verá afecto. (Susó, 1976).

La morfogénesis de las articulaciones del embrión de pollo es muy similar a la del embrión humano (Amprino, 1965; Arey, 1965; Barnett, 1954; Bodermer, 1972; Genis Gálvez, 1970; Moffet, 1965; Ruano Gil, 1978; Willis, 1972) variando fundamentalmente en los patrones de osificación (O'Railly y Gardner, 1956).

El mesénquima de los esbozos de los miembros comienza a condensarse de un modo próximo-distal, para formar un blastema avascular orientado axialmente (Figura 1.a). Este blastema sufre una segmentación por la condricificación de los futuros elementos esqueléticos. Hay que resaltar, por la repercusión que tendrá posteriormente, que la condricificación en el embrión de pollo se efectúa también siguiendo una secuencia próximo-distal (Hinchliffe y Thorogood, 1974) Estos últimos autores comprueban que en el estadio 25-26 de Hamburger y Hamilton (día cuatro y medio-cinco de incubación) la tibia y el peroné se encuentran perfectamente sistematizados, datos corroborados por Archer y Cols. (1983); el tarso y el metatarso lo hacen hacia el estadio 28 de H-H (día 6) y las falanges en el estadio 30 de H-H (día seis y medio-siete).

El desarrollo de la interzona es muy similar para todas las articulaciones. El período inicial se

caracteriza por la presencia de paquetes densos homogéneos de tejido celular, sin ningún tipo de orientación en las células o sus núcleos (Figura 1.b). Según O'Rahilly y Gardner (1956) esto puede apreciarse ya al 4 1/2 día (estadio 24 de H-H).

Este tejido rápidamente sufre transformaciones por necrosis celular limitada y estratificación del mesénquima en tres capas (Figura 1.c) (O'Rahilly y Gardner, 1956; O'Rahilly Gardner, 1978; Mitrovic, 1982). Las interzonas exhiben metacromasia debido a la presencia de ácido hialurónico (Muratori y Munaron, 1955).

Romanoff (1960) aprecia que los núcleos de las células de la interzona se disponen transversalmente al eje mayor de los esbozos cartilagosos de ésta, en la rodilla del embrión de pollo al 5 1/2 día de incubación (estadio 27-28 de H-H).

Según Drachman y Sokoloff (1966) en el embrión de pollo de 7 días (estadio 30-31 de H-H) las futuras articulaciones de la rodilla, tobillo y pie están ya delineadas, aunque no se aprecia cavidad articular.

Los extremos articulares del fémur, tibia y tarso metatarso están claramente limitados, pero muestran una distribución primitiva de células que están hinchadas y acumuladas en capas gruesas.

Las zonas que posteriormente darán lugar a la cavidad articular están llenas de células basófilas que contienen núcleo redondo (Drachman y Sokoloff

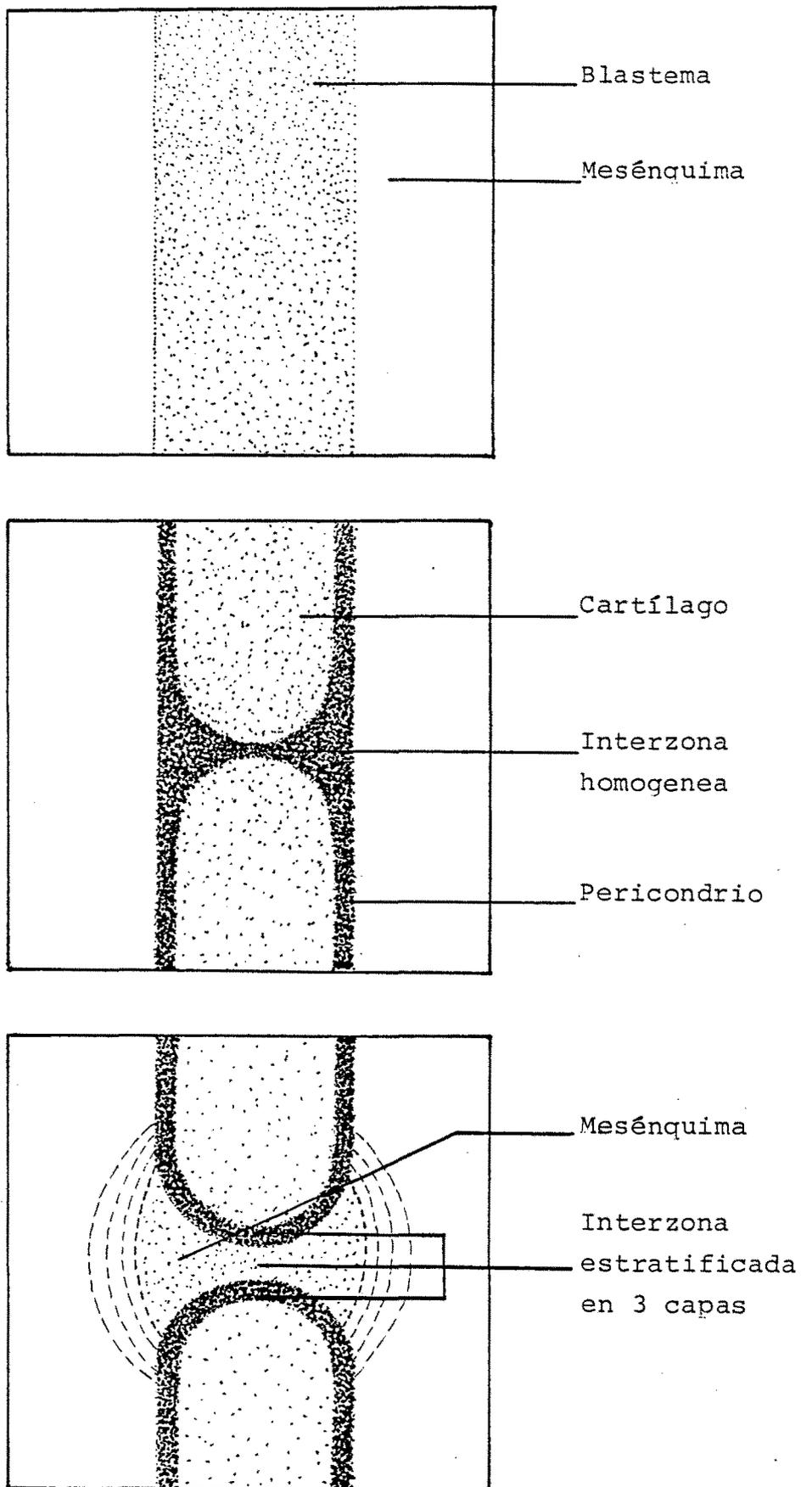


Fig. 1 a,b,c. -. Desarrollo de una articulación sinovial (O'Rahilly y Gardner, 1978).

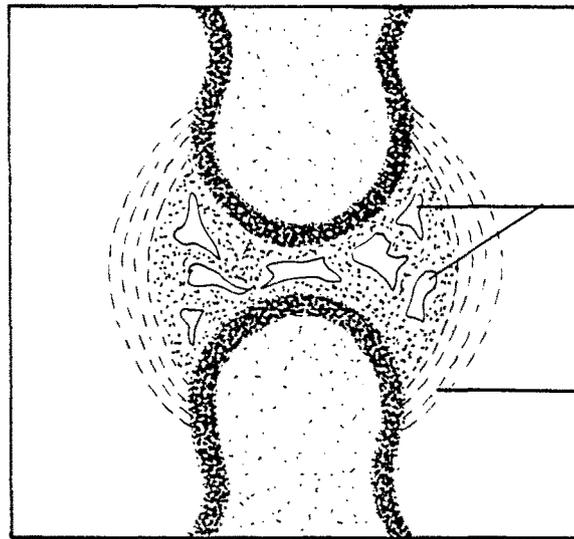
1966; Mitrovic, 1977 y 1978).

Al octavo día de incubación, la capa de células que rodeaba las presuntivas superficies articulares han adelgazado algo; las mismas células se han aplanado y orientado tangencialmente a la futura articulación (Romanoff, 1960; Drachman y Sokoloff 1966; Mitrovic, 1977). Romanoff (1960) refiere los trabajos de Fell y Canti (1934) que apoyan que la orientación de las células mesenquimatosas a lo largo de la futura superficie articular es debida a la presión que ejercen los esbozos de los huesos largos en crecimiento.

A la misma vez, y en un período que varía según la articulación considerada, el mesénquima sinovial de la periferia de la articulación comienza a ser invadido por la penetración de vasos sanguíneos hacia su interior (O'Rahilly y Gardner, 1978; Mitrovic, 1982). Esto ocurre 24 horas antes del inicio de la cavitación (Mitrovic, 1982). La naturaleza de este mesénquima periférico, y si es de origen blastemático o si deriva del mesénquima general periférico está aún en discusión tanto en las aves como en los mamíferos (O'Rahilly y Gardner, 1978).

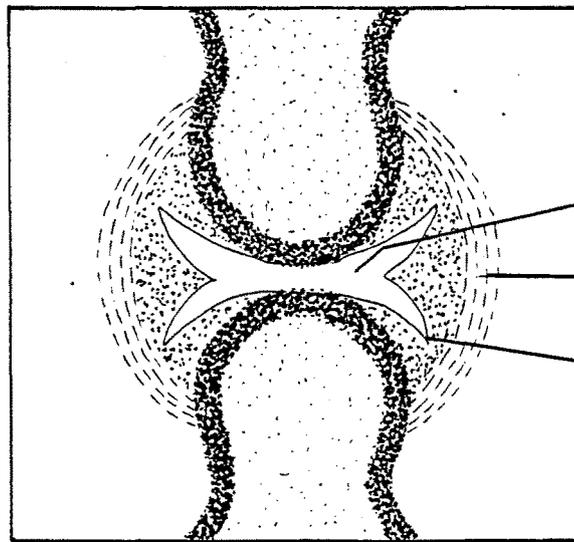
El próximo paso en el desarrollo de las articulaciones del embrión de pollo es la formación de la cavidad articular. (Figura 1. d y e)

Según Drachman y Sokoloff (1966) el material celular de la interzona comienza a ser más laxo y disgregarse al octavo día de incubación (estadio 34



Cavidades
(por confluencia
formaran la
cavidad articular)

Cápsula articular



Cavidad articular

Cápsula articular

Sinovial y
fondos de saco

Fig. 1 d y e. -. Desarrollo de una articulación sinovial (O'Rahilly y Gardner, 1978).

de H-H); esto es mucho más apreciable durante los días 9 y 10. Algunos datos morfológicos, como la basofilia nucleocitoplasmática y los signos de alteración de organelas, sugieren que estas células basófilas podrían estar degenerando; en tal caso, el proceso de cavitación sería fácilmente explicable por la desaparición de este tejido (Mitrovic, 1977). El papel de estas células en la cavitación de las articulaciones no está totalmente esclarecido.

La formación de las cavidades articulares progresa según un patrón próximo-distal, comenzando en la cadera, continuando con la rodilla, tobillo y finalmente en las articulaciones distales de la pata.

La cavitación de la cadera ha sido descrita por Muratori y Franceschini (1945) en el octavo día de incubación (estadio 34 de H-H). Según Romanoff (1960) la cavitación de la rodilla también se sitúa en el octavo día, iniciándose como una fisura en la periferia de la interzona fémorotibial, proximal al primordio de los meniscos; de aquí se expande hacia el centro de la interzona, entre el octavo y décimo día, ampliándose considerablemente y continuándose con el espacio entre fémur y pata. Para Mitrovic (1982) la cavitación de la rodilla se inicia el día 9 (estadio 35 de H-H). Y así mismo opinan Drachman y Sokoloff (1966), quienes creen que estas fisuras inicales que se observan al octavo día podrían ser artefactos producidos al manejar el material histológico. Andersen y Bro-Rasmussen (1961) ya apuntaron este hecho, y a su

parecer, el aspecto escabroso, de borde mellado o deshilachado y la localización periférica de las fisuras sugieren que sean debidas a la manipulación del material.

La cavitación de las articulaciones interfalángicas se suceden progresivamente, en dirección próximo-distal, con 24 horas de diferencia, requiriéndose se aproximadamente 48 horas para la cavitación total de cada una de ellas (Mitrovic, 1982). Hay que considerar, además, que el embrión de pollo posee la siguiente fórmula digital en las patas: el primer metatarsiano se continúa con dos falanges pertenecientes al primer dígito, el segundo metatarsiano con tres falanges, el tercer metatarsiano con cuatro falanges, el cuarto metatarsiano se continúa con cinco falanges pertenecientes al cuarto dígito (Figura 2), el quinto metatarsiano sólo presenta continuidad con un pequeño nódulo cartilaginoso que desaparece incipientemente. (Hamilton, 1965).

El proceso de cavitación de las articulaciones digitales se inicia, según Mitrovic (1982), en la periferia del llamado mesénquima sinovial; originalmente, una sola o varias hendiduras irán progresivamente invadiendo la parte axial intercartilaginosa de la interzona, asegurando así una completa separación de los elementos esqueléticos. Henrikson y Cohen (1965) encontraron, tras realizar un minucioso estudio con microscopía óptica y electrónica del desarrollo de las articulaciones interfalángicas del embrión de pollo, que esta cavitación podría empezar periféricamente en el mesénquima sino

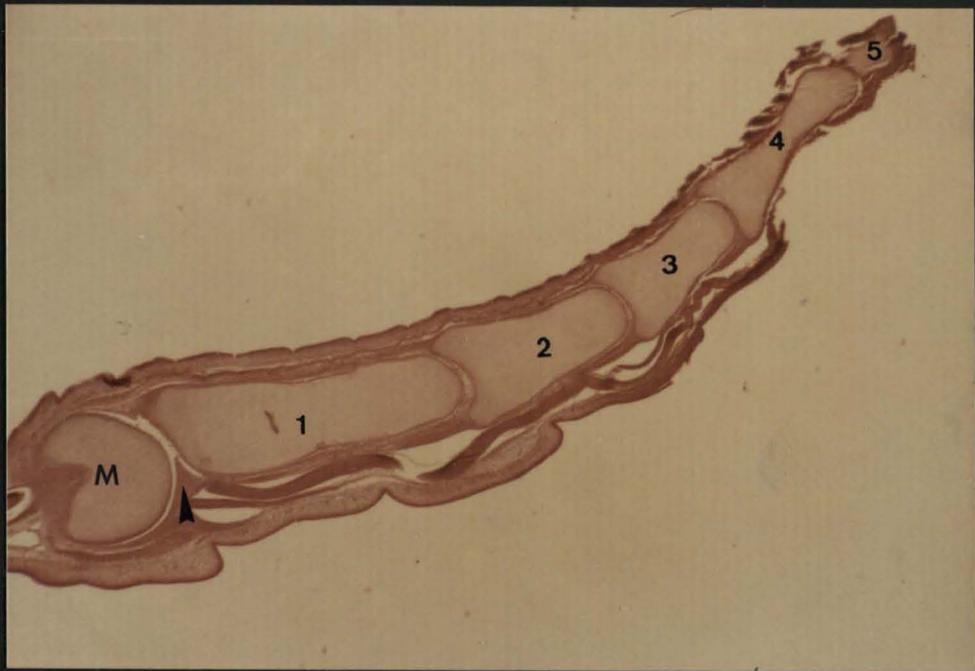


Fig. 2-. Corte sagital del cuarto dígito de la pata de un embrión de pollo de 13 días de incubación (estadio 39 de Hamburger-Hamilton).

M = Cabeza del cuarto metatarsiano.

1, 2, 3, 4 y 5 = Primera, segunda, tercera, cuarta y quinta falange.

La flecha señala la presencia de un fibrocartilago plantar en la articulación metatarsofalángica.

vial o centralmente entre las superficies articulares.

Teixidor (1982) encuentra que la cavitación se inicia en el centro de la interzona progresando posteriormente hacia la periferia. En los mamíferos queda por aclarar este punto (O'Rahilly y Gardner, 1978).

El mecanismo de producción de la cavidad sigue todavía siendo bastante obscuro. Las teorías mecanicistas sobre dicho proceso son cada vez menos seguidas, puesto que las modernas técnicas permiten ir conociendo nuevos aspectos de los fenómenos que ocurren a nivel celular, prestándose especialmente atención a los procesos de muerte celular y enzimáticos (Saunders, Gasseling y Saunders, 1962; Mitrovic, 1977).

Hacia el día 15 (estadio 41-42 de H-H) prácticamente todas las articulaciones de la extremidad inferior están separadas y las cavidades articulares bien diferenciadas (Drachman y Sokoloff, 1966; Mitrovic, 1982): Posteriormente en el desarrollo de las articulaciones ocurren pequeños cambios relativos. No todos los autores coinciden en cuanto al calendario del desarrollo de las articulaciones; así para Hamilton (1965) la aparición de la primera cavidad se sitúa entre el quinto y sexto día de incubación (estadio 25-29 de H-H). Nardi (1976) observó inicio de cavitación en el estadio 25 de H-H (día quinto de incubación) llegando a apreciar todas las articulaciones cavitadas en el estadio 35 de H-H (día décimo de incubación).

Es importante volver a resaltar que la formación de las cavidades articulares progresan, al igual que lo hacían la condensación blastemática o el proceso de condricificación, en una secuencia próximo-distal. Así pues no tiene porque extrañar observar en el día 11 de incubación (estadio 37 de H-H) la presencia de cavidades articulares avanzadas en la cadera (Figura 3), moderadamente avanzadas en la rodilla (Figura 4) y tobillo (Figura 5) (con sus respectivos ligamentos intraarticulares), mientras que las articulaciones metatarsofalángicas lo están discretamente, o en las últimas interfalángicas puede todavía estar iniciándose esta cavitación (Figura 6) (Drachman y Sokoloff, 1966; Mitrovic, 1982).

Según Romanoff (1960) la condensación mesenquimatosa de los esbozos de los miembros así como su condricificación ocurre ligeramente antes en las alas que en las patas; sin embargo, el desarrollo de las articulaciones de las alas, ha observado, que ocurre ligeramente después que el de las patas. Hay que tener también presente que en el día 10 y 11 se desarrollan los cartílagos sesamoideos de las grandes articulaciones de las patas: la patela, en forma de estructura triangular localizada en el tendón del cuádriceps, delante de la rodilla (Figura 4) y el sesamoideo tarsoplantar de la articulación del tobillo del embrión de pollo, que se sitúa en la cara posterior de esta articulación (Figura 5). La existencia de este último sesamoideo en la articulación del tobillo, entre tibiotarsus y tarsometatarsus, hace que esta zona se parezca y pueda ser confundida, cuando se observa en cortes histológicos, con la rodilla. Barnett (1954) encuentra que



Fig. 3-. Articulación de la cadera del embrión N 30-22 de 11 días de incubación (estadio 37 de H.-H.).

1 y 2 = Esbozos cartilaginosa de la cabeza femoral y cótilo. 3 = Cavidad articular. 4 = Ligamento redondo.



Fig. 4-. Corte sagital de la rodilla del mismo embrión

- 1 = Femur
- 2 = Tibia
- 3 = Patela
- 4 = Menisco
- 5 = Ligamento intraarticular
- 6 = Paquete adiposo infrapatelar



Fig. 5-. Corte sagital de la articulación del tobillo del embrión N 30-22 a los 11 días de incubación (estado 37 de H.-H.).
 1 = Tibiotarsus. 2 =Tarsometatarsus.
 3 = Sesamoideo tarsoplantar. 4 = Cavidad articular.



Fig. 6-. Corte sagital de una articulación digital de la pata del mismo embrión.
 1 y 2 = Primera y segunda falange.
 3 = Tejido mesenquimatoso en la zona de la futura cavidad articular.

estructuralmente es muy similar a la rodilla humana (Drachman y Sokoloff, 1966).

En cuanto a la formación de las articulaciones vertebrales hay que decir que después de haber sufrido la segmentación vertebral durante el estadio membranoso, similar a la que ocurre en los mamíferos, se inicia al quinto día de incubación la condrificación del cuerpo vertebral, delimitándose poco a poco el disco intervertebral (Hamilton, 1956).

Paulatinamente van apareciendo otros centros de condrificación secundarios; al 7º - 8º día (estadio 31-34 de H-H) la condrificación se ha extendido a todas las partes de la vértebra (Figura 7), siendo la apófisis espinosa la última en condrificarse.

En el curso del desarrollo, el disco intervertebral se diferencia en una parte periférica, que da lugar a los ligamentos intervertebrales, y una central, que originan el ligamento suspensorio que al principio contiene restos de notocorda, formándose una cavidad sinovial entre ambos ligamentos, intervertebral y suspensorio. Según Hamilton (1965) esta diferencia es debida que las células de la zona pericordal se vuelven más laxas y sufren proceso de reabsorción.

Con objeto de tener una visión más integrada del desarrollo de las articulaciones consideraremos las características más remarcables de la osificación en el embrión de pollo.

Los primeros puntos de osificación pericondral (la

principal en las aves) aparecen alrededor del 7º día, formando pequeñas cantidades de tejido óseo que rodea en forma de anillo la zona media del esbozo óseo progresando hacia los extremos (Hamilton, 1965). Durante este séptimo día el fémur, la tibia y los huesos tarsometatarsianos son principalmente cartilaginosos. En el noveno día se puede apreciar claramente el centro de osificación del fémur, (Figura 8) continuándose la aparición de estos centros en dirección próximo-distal. En el embrión de pollo, al contrario que en los mamíferos, no hay centros de osificación secundarios en los huesos largos, es decir, en las epífisis o extremos óseos. Cuando la osificación de los huesos largos está bastante avanzada, los cuerpos vertebrales comienzan a hacerlo; su osificación es casi exclusivamente endocondral, a excepción de las superficies anterior y posterior del cuerpo y de los arcos en los que participa la osificación pericondral, y se efectúa siguiendo un orden anteroposterior o cráneocaudal, de forma que, en un único embrión, podemos observar diferentes estadios de osificación (Hamilton, 1965).

Los esbozos esqueléticos y musculares de la columna vertebral tienen su origen en los somitos. Los esbozos de las extremidades lo tienen en la somatopleura, no contribuyendo en su formación los somitos, al menos en concepto de tejido mesenquimatoso segmentado (Hamilton, 1965).

Hasta el momento hemos realizado una descripción meramente morfológica de la artrogénesis en el embrión de pollo. Los factores principales que regu-



Fig. 7-. Corte sagital de la columna vertebral dorsolumbar en estadio cartilaginosa de un embrión de 8 días de incubación (estadio 34 de Hamburger-Hamilton).

1 = Cuerpo vertebral
2 = Ganglio raquídeo



Fig. 8-. Corte sagital de la diáfisis femoral de un embrión de 9 días de desarrollo (estadio 35 de Hamburger-Hamilton). Centro de osificación primaria peridiafisario.

lan el desarrollo primario de la forma del esqueleto son intrínsecos a los segmentos esqueléticos. Ellos pueden llevar a una extremidad, incluyendo sus articulaciones, a un estado de desarrollo, pero son incapaces de mantenerlo por sí solos (O'Rahilly y Gardner, 1978).

Así, las características primarias de forma y tamaño general de los huesos, y la existencia y localización de las articulaciones entre ellos, es debida a autodiferenciación (Hamilton, Boyd y Mossman, 1964).

Los factores mecánicos, como la presión entre los extremos óseos o la contracción muscular, pueden tener una influencia modificadora sobre los detalles de la forma del esqueleto; especialmente importante es el papel que desempeñan los movimientos embrionarios (Hamilton, 1964).

Hamburger y Waugh (1940) en estudios realizados sobre el desarrollo de alas y piernas denervadas señalaron este hecho; observaron que se producía un grado remarcable de diferenciación pero no se apreciaban cavidades articulares, apareciendo diversos grados de fusión. Fell y Canti (1934) y Murray (1926), ya habían estado incidiendo sobre esta cuestión. En estudios experimentales posteriores como los de Drachman y Coulombre (1962), Drachman y Sokoloff (1966), Nardi (1976) y Mitrovic (1977), quienes inyectaban agentes bloqueadores neuromusculares dentro de la circulación corioalantoidea, o bien extirpaban quirúrgicamente la porción lumbosacra de la médula espinal, se llegaba a producir parálisis

total de los miembros en desarrollo. Observaron estos autores que los cambios preparatorios o previos a la cavitación ocurrían normalmente pero el tejido fibrovascular existente entre las superficies articulares no desaparecía y no se formaban cavidades articulares. Dicho tejido pasaba a ser fibroso y compacto.

Hamburgèr y Waugh (1940) y Crelin (1981), entre otros, señalan que, si bien los factores mecánicos como la presión entre los esbozos óseos o la con-tracción muscular pueden tener una influencia modificadora sobre los detalles de la forma del esqueleto, las características primarias de forma y tamaño de los huesos y la existencia de las articulaciones entre ellos, son debidos a un proceso de autodiferenciación (factores intrínsecos).

Sissons (1956), Drachman y Sokoloff (1966), Ruano, Nardi y Tejedo (1978) creen que en los estadios tempranos del desarrollo sólo tienen importancia los factores intrínsecos. En los estadios posteriores se da gran importancia a los factores extrínsecos, señalando que las contracciones de los músculos esqueléticos son esenciales para la formación y mantenimiento de las cavidades articulares.

Nardi (1976), además, señala el papel de los factores extrínsecos sobre el desarrollo y mantenimiento de las formaciones para-articulares, cápsula, ligamentos y meniscos.

La embriología experimental ha permitido comprobar que el movimiento embrionario es esencial para el

desarrollo normal y mantenimiento de las articulaciones; la inmovilización de éstas durante su período de formación, o algo después, aboca en fusiones fibrosas, o en ocasiones cartilaginosas, muy similares a las que se observan en lo que en patología humana se conoce como síndrome de artrogriposis múltiple congénita (A.M.C.) (Hamburger y Waugh, 1940; Drachman y Sokoloff, 1966; Ruano, Nardi Y Tejedo, 1979; Mitrovic, 1977 y 1982).

La definición etimológica de la A.M.C., dada por Stern en 1923, proviene de una mezcla del griego y latín: arthro - articulación
griposis - garra.

Stern, pionero en el estudio de la A.M.C. humana, describió las cápsulas engrosadas y el tejido muscular estriado de las extremidades falto de desarrollo, pero no apreció pérdida genuina de la función muscular o nerviosa. Observó que los reflejos y sensaciones eran normales. Definió la artrogriposis como "Una real -aunque rara- entidad médica" congénita, consistente en anquilosis fibrosa incompleta de articulaciones de las extremidades, pudiendo afectar a varias de ellas -múltiple- con completa extensión de brazos y piernas, no debidas a contracturas de músculo o tendón (Warkany 1971). La alteración fue atribuida a periartritis intrauterina o a presión intrauterina anormal.

Las diferentes denominaciones que ha recibido el cuadro (Amioplastia congénita, miodistrofia fetal de formante, rigideces articulares múltiples congénitas, etc.) hace referencia a las posibles etiolo -

gías que se le atribuían. Esto quedará reflejado al revisar las diferentes teorías invocadas en su patogenia.

Según Pous (1981) la A.M.C. es un síndrome clínico:

- Congénito, testigo de una agresión embrionaria o fetal precoz, existente de manera completa desde el nacimiento.
- Afecta preferentemente a los miembros, sufriendose diversos grados de rigideces articulares múltiples, de insuficiencia o ausencia de músculos, de anomalías cutáneas (piel dura, no elástica, con ausencia de pliegues de flexión hoyuelos típicos en la piel, etc).
- Es una enfermedad no progresiva después del nacimiento (no evolutiva en su afección primitiva). El déficit motor y las rigideces articulares son máximas al nacer.

En el momento actual, se considera que el término de "artrogriposis múltiple congénita" es sólo una definición clínica de lo que probablemente es un grupo heterogéneo de alteraciones, las cuales coinciden en tener rigideces externas y deformidades de las articulaciones, con ausencia de desarrollo muscular alrededor de ellas, entando presentes al nacer y de evolución no progresiva con la edad (Brown, Robson y Sharrard, 1980).

Además deben descartarse y excluirse todas deformidades articulares asociadas a algún síndrome reco-

nocido, siendo éste un factor que produce confusiones y dificultades a la hora de valorar la frecuencia de aparición de A.M.C., debido a que se incluyen casos de forma incorrecta. (ver tabla 1).

CUADROS Y SINDROMES A EXCLUIR EN EL DIAGNOSTICO DE A.M.C.

- Displasias esqueléticas
- Disrafismos medulares
- Agenesia de sacro
- Síndrome de laxitud
- Malformaciones por malposición intrauterina
- Parálisis cerebral
- Espina bífida
- Distrofia miotónica de Steinert
- Síndrome de Schwartz
- Síndrome de Moebius
- Síndrome de Freeman-Sheldon
- Síndrome de Zellwegel
- Síndrome de Mietens
- Síndrome de Poland
- Síndrome de Turner

TABLA 1

La inmovilización de las extremidades durante la artrogénesis o incluso algo después (final del período embrionario e inicio del fetal) abocaría en rigideces y fusiones articulares; así pues, la inmovilización fetal "in utero" (o "in ovo" en los trabajos experimentales en embrión de ave) se ha invo

cado como un factor primordial en la embriopatogé-
nia de la A.M.C. (Drachman y Sokoloff, 1966; Browne,
1954; Dubousset, 1980; Rubin, 1967; Nelson, 1975;
Cruz, 1984; Gibson y Urs, 1970; Nardi, 1976).

Hay que reseñar que aún hoy día existen diversas
hipótesis referentes a factores productores de in-
movilización no comprobadas plenamente.

De forma esquemática podemos efectuar la siguiente
clasificación de los factores sugeridos como pro-
ductores de inmovilización y A.M.C.:

- PARALISIS MUSCULAR POR MIOPATIA
- PARALISIS MUSCULAR POR NEUROPATIA
- BLOQUEO DE LA SINAPSIS NEUROMUSCULAR
- FACTORES MECANICOS (malposición, aumento de
la presión mecánica, aumento de la presión
hidráulica).

Paralisis muscular por miopatía

La miopatía debe producir parálisis muscular y ocu-
rrir durante la vida intrauterina, no debiendo pro-
gresar después del nacimiento.

Esta hipótesis sugiere una miopatía primaria, rara
que ha sido denominada "distrofia muscular congéni-
ta no progresiva" (Lebenthal y Cols., 1970)

Ionacescu (1970), refirió encontrar aumento en la
síntesis de colágeno en dos casos de artrogriposis
y especula con una posible causa metabólica que

afecte al tejido muscular y conectivo.

En la mayoría de los casos, los anatomopatólogos sólo han encontrado tejido muscular hipoplásico, pálido y friable, y en casos más avanzados el tejido muscular está reemplazado por una sustancia gelatinosa y grasa. Y además en muchos de los supuestos afectos por miopatía se encontraron cambios histológicos típicos de atrofia por denervación, lo que conduce directamente a asegurar que en realidad era un caso de afectación muscular, pero de causa neurogénica, que tal como veremos enseguida es la hipótesis defendida y comprobada.

La hipótesis que defiende la miopatía como causa de inmovilización es aceptable, pero no es aceptable como causa de A.M.C. pues tal como hemos expuesto es muy difícil que una miopatía sea no progresiva y afecte solamente al período prenatal. No hay pues resultados concluyentes que apoyen esta hipótesis.

Experimentalmente, Pai (1964) estudiando el desarrollo de la disgenesia muscular en el ratón (mutación letal) observó fusiones articulares debido a la falta de movimientos secundarias a la miopatía congénita, y aunque se pudo apreciar el inicio de la cavitación tanto en fetos afectos de la disgenesia muscular como en fetos testigos, en los fetos afectos no se llegaron a formar cavidades articulares.

Parálisis muscular por neuropatía

Hay que excluir de este grupo las parálisis debidas a causa conocida, como espina bífida, agenesia del sacro, etc.

Los estudios histológicos de muestras provenientes de biopsias o necropsias demostraban tejido muscular con cambios típicos de atrofia por denervación (Dubousset J, 1980; Pous, 1981); esto y el hecho de que tales pacientes conservasen intacta su sensibilidad, indujeron a pensar en una lesión de las células de las astas anteriores de la médula espinal, con predominio de un segmento neuronal específico.

Drachman y Banker (1961) practicaron estudios anatomopatológicos de muestras de necropsias de pacientes sospechosos de estar afectados de A.M.C. de causa neurogénica. Encontraron en todos ellos ausencia o disminución en el número de las células de las astas anteriores de la médula en los segmentos cervical y lumbar y disminución del tamaño de las raíces anteriores de los nervios raquídeos.

Sharrard (1957) cree que las motoneuronas afectadas son las mismas que las lesionadas por el poliovirus; sin embargo la A.M.C. se diferencia de la parálisis por poliovirus en que la primera tiene tendencia a la bilateralidad y simetría, cosa extremadamente rara en la polio. Es posible que un virus destruya específicamente estas células en niveles esporádicos durante la vida intrauterina, pero que

no progrese una vez nacido el niño, o sea, sería una infección "poliomielitis-like" intrauterina y autolimitada. Esta opinión es compartida por Wynne Davies y Lloyd-Roberts (1976), quienes estudiaron sesenta y seis casos esporádicos de A.M.C, sin encontrar evidencia de ello; sin embargo, a este respecto es interesante el estudio experimental practicado por Drachman (1964) quien obtiene rigideces articulares por inyección, "in Ovo" en el embrión de pollo, de virus Coxsackie A₂ responsable de miopatía.

La agresión es entonces mixta, articular y muscular y se acompaña de una disminución de las células del asta anterior de la médula espinal que, en este caso, puede ser debida a una agresión retrógrada.

Así pues, tanto los datos obtenidos en patología humana como en patología comparada, aportan pruebas de la validez de esta hipótesis, que hoy por hoy, es la más defendida en la literatura mundial.

Bloqueo de la Sinapsis Neuromuscular

Los principales trabajos son aportados por Drachman. Este autor y Coulombre (1962) producían artrogriposis en embriones de pollo de siete a quince días de incubación, inyectando curare por perfusión continua a través de los vasos corioalantoideos, período de la artrogénesis y posterior mantenimiento de las articulaciones en movimiento. (Hamburger y Cols., 1965). Conseguían anquilosis de las articulaciones

en todo comparable a la A.M.C. humana. Nardi (1976) confirma estos resultados (Figura 9).

Drachman (1964), Drachman y Sokoloff (1966) obtuvieron idénticos resultados utilizando decametónio y toxina botulínica, que poseen una estructura química diferente y además bloquean de diferente manera la placa neuromuscular. Se puede concluir que la acción común de ambos fármacos, la parálisis de la musculatura esquelética, es lo esencial en esta producción de A.M.C.

En 1970, Jago informa sobre un caso excepcional, pero muy demostrativo; relata la historia de una madre de 29 años con un embarazo de 10-12 semanas, que sufre un intento de aborto instrumentalizado y al cabo de nueve días inicia una clínica de tétanos generalizado. Necesita asistencia ventilatoria que se conduce con curarización (D-tubocurarina) durante 10 días y por vía intramuscular. Dio a luz un niño con A.M.C. típica y extendida. Un caso similar al de Jago fue aportado por Crul (1974).

Factores mecánicos

Pueden existir alteraciones mecánicas en el claustro materno que afecten al feto de tres formas, principalmente:

- a) *Malposición*, desde el punto de vista obstétrico, por este término se entiende que el feto no guarda su "estática fetal normal". Se ha observado



Fig. 9-. Corte de la cadera de un embrión de pollo al que le fueron paralizados los movimientos mediante la perfusión continua, durante 48 horas, de curarizantes. No se desarrolló cavidad articular, estando ésta ocupada por tejido mesenquimatoso. Nardi, 1976. (Microfotografía cedida por el autor)

- 1 = Cabeza femoral.
- 2 = Cótulo.
- 3 = Tejido mesenquimatoso.

frecuentemente asociación entre artrogriposis, presentación de nalgas y oligoamnios (Mead y Cols., 1958; Drachman y Banker, 1961; Gibson y Urs, 1970).

Las madres percibían poco o en absoluto los movimientos fetales. Esto no indica que una cosa cause la otra, sino simplemente asociación de A.M.C., malposición y oligoamnios (Wynne-Davies y Lloyd-Roberts, 1976).

En cirugía ortopédica, se entiende por malposición, a la alteración en la relación de los diferentes segmentos de los miembros entre sí, que puede afectar a todo un miembro o a un área localizada (frecuentemente pies) (Browne, 1954) y desde este punto de vista, la inmovilización de una articulación dada, por malposición, puede derivar en deformidad articular, pero esto solo no cumple los requisitos para considerar el caso como A.M.C.

- b) *Aumento de presión mecánica.* El aumento de presión mecánica va a tener como consecuencia la inmovilización fetal (Fuller, 1975). El útero engrosado y/o hipertónico suele ser la causa más aceptada. Denis Browne hizo un estudio retrospectivo de las historias obstétricas de madres que habían tenido un niño artrogripótico y confirmó embarazos poco confortables y de pequeño volumen.

Afirma también, que en estos casos encontró ma-

yor afectación en extremidades inferiores que en superiores, pues éstas están protegidas de la presión mecánica directa por la curvatura del tronco y cabeza fetal. Esta podría ser la causa en niños que sólo tienen afectas sus extremidades inferiores, pero también podría serlo la afectación neurológica localizada en la intumescencia lumbar.

- c) *Aumento de presión hidráulica*. El aumento de presión hidráulica puede deberse al menos teóricamente tanto a oligoamnios (Wynne-Davies y Lloyd Roberts, 1976) como a un polihidramnios (Warkany, 1971) y dependerá de la relación contenido-conteniente, influyendo la elasticidad y tono del miometrio, cantidad de líquido amniótico, tamaño del feto, período de instauración de la alteración, etc.

El efecto de esta presión hidráulica se diferencia del de la presión mecánica en que seguirá las leyes de fluidos, distribuyéndose homogéneamente esta presión sobre las cuatro extremidades y el tronco. (Browne, 1954).

Es muy difícil encontrar casos en la literatura que confirmen o nieguen la importancia de estos factores en la embriopatogenia de la A.M.C.

La embriología experimental y la patología comparada nos permiten encontrar explicaciones y pruebas más precisas sobre los mecanismos embriopatogénicos de la A.M.C.

En embriología experimental aplicada al aparato locomotor, el animal de experimentación usado es casi siempre el embrión de pollo, dadas las características de idoneidad que presenta para este tipo de trabajos. (Figura 10 a, b y c).

Han sido numerosos los trabajos de embriología experimental revisados a los que nos hemos ido refiriendo. Hay que destacar sin embargo, que a pesar de que algunos autores partían de los mismos postulados y trabajaban con metodologías similares, los resultados no siempre coincidían (Drachman y Sokoloff, 1966; Nardi, 1976; Mitrovic, 1982).

La mayoría de los trabajos experimentales revisados trataban de lograr la inmovilización de las articulaciones por medio de la administración de fármacos que paralizasen la musculatura esquelética, o bien, seccionando zonas motoras de la médula espinal. Ninguno de estos métodos logra evitar los movimientos pasivos del embrión que le pueden ser inferidos por la contracción del amnios; en el caso de que se hubiese extirpado en hemibloqueo la zona anterior (astas motoras) de la médula lumbar, las contracciones de la musculatura de las alas, tronco y cuello pueden ser capaces de transmitir pasivamente algunos movimientos a las zonas denervadas. La objetivación de los grados de inmovilización obtenidos se efectuaba por medio de *control visual directo* a través de una ventana practicada en el punto más proclive del huevo. Esto requiere previamente la extracción de 2 centímetros cúbicos de alúmen por el polo agudo (técnica de Wolff) o efectuar un pequeño orificio en el cascarón del polo

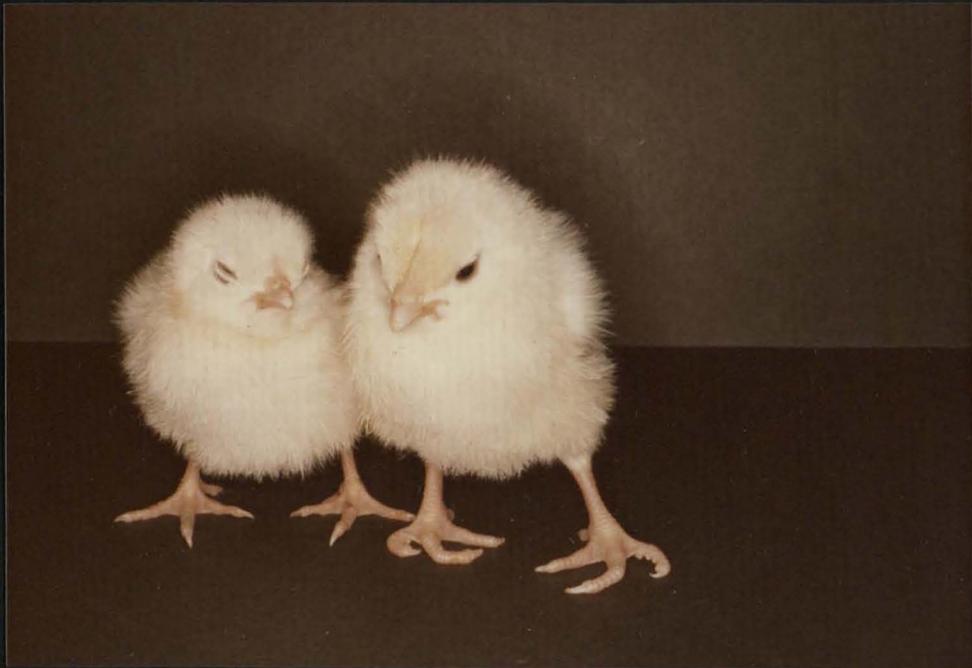


Fig. 10a-.Pollitos de tres días de edad.El de la izquierda presenta un aspecto totalmente normal;el de la derecha presenta deformidades articulares secundarias a malposición e inmovilización de las patas y dedos,debidas al efecto de la presión mecánica sobre dichas zonas.Ésto lo logramos inyectando albumen de un huevo no fecundado, previamente calentado a 38° C,por el polo agudo del huevo en cuestión,a los 8,10,12, 14 y 16 días de incubación.De ésta forma aumentábamos el aporte hídrico y protéico del polluelo,consiguiendo embriones de mayor volumen corporal.

Variando la relación contenido/ continente se creó un problema de espacio que abocó en una malposición e inmovilización de los pies y dedos del polluelo.

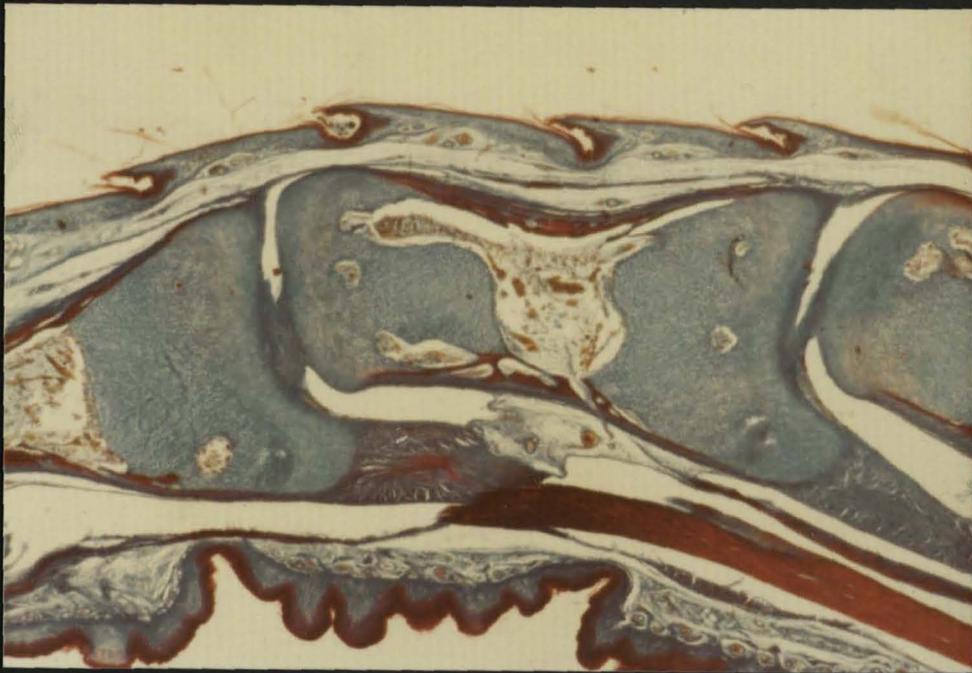


Fig. 10 b -. Corte sagital de uno de los dedos del embrión mostrado en la figura anterior. Puede apreciarse como entre las superficies articulares de las falanges existe, en la zona central, un tejido fibrovascular que no se observa en los embriones desarrollados normalmente. Además, las superficies articulares no muestran el modelado característico de una articulación interfalángica pues, sus superficies están aplanadas en lugar de presentar el aspecto con cavo-convexo típico.

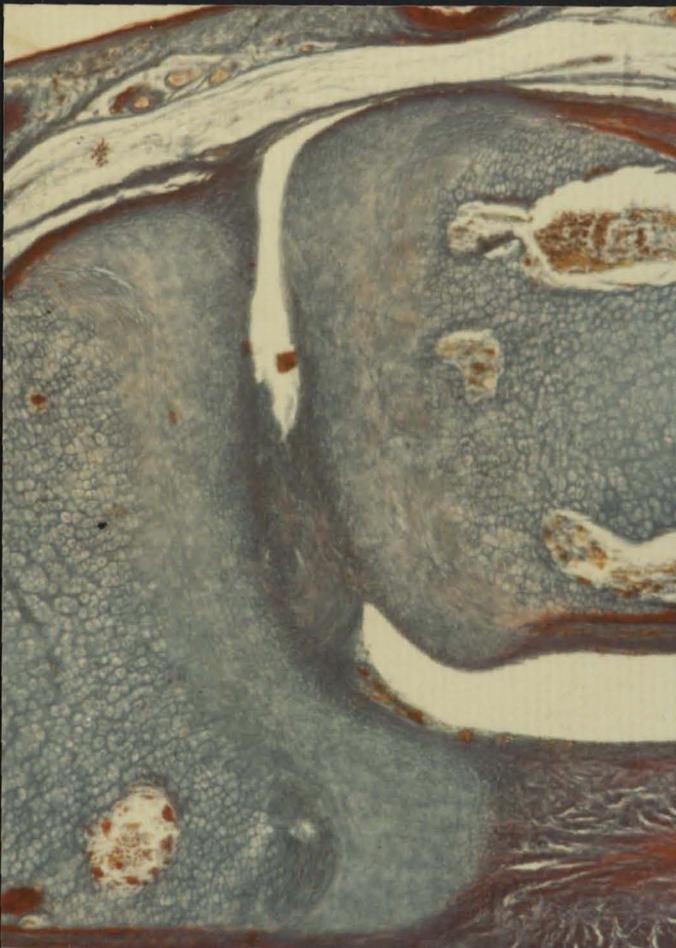


Fig. 10 c -.Detalle de la imagen anterior

obtuso para así deplecionar la cámara de aire ahí localizada, (Mitrovic, 1982); con cualquiera de estas manipulaciones lo que se pretende es producir un descenso del saco vitelino y del disco embrionario, para de esta forma, no lesionarlo en las maniobras posteriores de apertura de la ventana. Esta presenta la ventaja de poder ser sellada con papel parafinado y permitir la reincorporación del huevo a la incubadora; de esta forma es posible observar la evolución del embrión durante su desarrollo, hasta que la membrana corioalantoidea demasiado gruesa y vascularizada o el tamaño alcanzado por el embrión lo evite.

El estudio y conocimiento de los factores que influyen y condicionan los movimientos del embrión, desde las contracciones musculoesqueléticas, hasta los movimientos extrínsecos del huevo, pasando por las contracciones de la musculatura lisa del amnios, debería ser un paso previo a la valoración de cualquier resultado morfológico.

Al revisar los trabajos relacionados con el tema, sorprende observar una *falta de correlación entre los estudios morfológicos de la artrogenesis y los estudios que hacen referencia a los movimientos embrionarios*, a pesar de la abundancia de datos existentes en cada uno de estos campos considerados independientemente. Ya en 1968 (2) Viktor Hamburger señalaba la importancia de un *abordaje multidisciplinario* y la necesidad de una amplia comunicación entre investigadores de las diferentes áreas; precisamente de su laboratorio de Neuroembriología han surgido los principales trabajos re-

lacionados con los movimientos embrionarios.

Es bien conocido que dichos movimientos comienzan temprano en el desarrollo de varias especies, habiéndose realizado estudios de la actividad muscular espontánea embrionaria, principalmente en la tortuga, (Decker, 1967), pollo (Preyer, 1885; Kuo, 1938; Hamburger y Balaban, 1963; Hamburger y Cols., 1965; Hamburger y Oppenheim, 1967; Hamburger, 1968: 1 y 2), cordero (Natale y Cols. 1981, Nathanielsz, Cols., 1982) y hombre (Minkowski, 1920).

En los embriones de los vertebrados el primer signo de motilidad es un cimbreo de la cabeza y cuello. Según Hamburger (1968, 2) estos movimientos se expanden desde la musculatura del cuello hacia la cola, reflejando la secuencia céfalocaudal de la maduración neuromuscular. Este mismo autor refiere una estrecha relación entre la maduración estructural y funcional: los neuroblastos son capaces de transmitir impulsos, siendo suficientes las conexiones sinápticas primitivas y los incipientes contactos neuromusculares para procurar una motilidad manifiesta.

Bodian (1966) describió los detalles de la formación de sinapsis en las motoneuronas durante el período de inicio de los movimientos embrionarios (Hamburger 1968, 1).

En los somitos del embrión de pollo se puede apreciar el inicio de la diferenciación de las miofibrillas al 3 1/2 o 4º día de incubación, justamente cuando el tronco comienza a moverse (Allen y Pepe, 1965) y la colinesterasa está difusamente dis-

tribuida en las miofibrillas (Mumenthaler y Engel, 1961); Michelson y Zeimal (1973) refieren que también los receptores colinérgicos están difusamente distribuidos en el músculo embrionario durante el inicio del desarrollo.

La actividad neuronal espontánea, demostrada con cultivo de tejido nervioso de mamíferos, ha sido definida por Bullock y Horridge (1965) como un "cambio repetitivo de estado de las neuronas sin cambio de estado del ambiente real", es decir, actividad sin otra estimulación que las condiciones de sostén. Si tal actividad es transmitida al músculo se habla entonces de "motilidad espontánea" (Hamburger, 1968, 1 y 2).

Los movimientos iniciales del embrión de pollo que se inician a los 3 1/2 ó 4 días de incubación, son un ejemplo de descargas rítmicas espontáneas de las jóvenes neuronas localizadas a nivel medular (Hamburger y Balaban, 1963).

Preyer (1885) fue el primero en establecer sin dudar que los movimientos del embrión eran autónomos o "impulsivos", tal como él los denominaba, e independientemente de los movimientos miogénicos del amnios. La pregunta de si estos primeros movimientos del embrión de pollo, que comenzaban a los 3 1/2 días, eran de origen neurogénico o miogénico, fue considerada por Visintini y Levi-Montalacini (1939). Se inclinaron a favor de la naturaleza neurogénica de los movimientos, cuando observaron que la estimulación eléctrica del cerebro, en los estadios iniciales de los movimientos, producía contracciones

musculares idénticas a las espontáneas características de este estadio y cuando se percataron que los movimientos más precoces coincidían con el establecimiento de las conexiones mioneurales provisionales (Hamburger y Balaban, 1963).

Existen evidencias que revelan que los movimientos embrionarios rítmicos son efectivamente espontáneos (definidos tal como se ha hecho anteriormente). Se prestó especial atención al posible papel de la estimulación sensorial que pudiese llegar al embrión, pero este factor se pudo desestimar para los períodos iniciales de los movimientos hasta el día 7 1/2 (3 1/2-4 días después de haberse iniciado los movimientos) por la simple razón de que los circuitos reflejos no están cerrados hasta este estadio (Visintini y Levi-Montalicini, 1939; Hamburger y Balaban, 1963) y por lo tanto, la transmisión de impulsos aferentes no es posible. Tal como veremos más adelante esta tendencia del tejido nervioso para efectuar descargas espontáneas es la única base para su motilidad hasta el día 17 de incubación.

De forma alternativa se ha considerado que los movimientos son disparados por cambios en el medio bioquímico. Ello es improbable; si a embriones de 36 horas se les extirpa la médula espinal a diferentes niveles, las porciones craneal y caudal a la zona extirpada muestran, en estadios posteriores, movimientos cíclicos pero sin sincronización entre ambas porciones; una parte puede estar en actividad, mientras que la otra puede estar inactiva (Hamburger 1968, 2).

Desde el día 3 1/2 el embrión de pollo realiza movimientos de todo el cuerpo, incluyendo todas las partes que son capaces de moverse (Hamburger, 1968, 2). Este tipo de movimientos es característico también de la primera fase del desarrollo de los movimientos de otros animales vertebrados. Decker (1967) los ha observado en la tortuga, en el día 10 de incubación, en forma de ligeras contracciones o tirones en la región cervical que flexionaban la cabeza lateralmente.

La mayoría de autores están de acuerdo acerca del origen y elaboración del patrón de motilidad; comenzando con ligeras flexiones de la cabeza (cimbreo) por contracciones de la musculatura del cuello, en el día 3 1/2 en el embrión de pollo, los movimientos se expanden hacia el tronco y la cola. (Hamburger, 1968, 2). Sin embargo, con excepción de Visintini y Levi-Montalicini (1939) y hasta que Hamburger (1963) llamó la atención sobre ello, ningún autor había enfatizado y profundizado en el estudio de la periodicidad de los movimientos del embrión de pollo. En condiciones normales realiza continuamente una serie de ciclos regulares, cada uno compuesto por una fase de actividad y otra de inactividad. Según Hamburger y Balaban (1963) las características de los movimientos embrionarios, observados a través de una ventana practicada en el punto más proclive del huevo, durante las fases de actividad desde el día 3 1/2-4 (estadio 21) hasta el día 7 1/2 (estadio 32) quedan resumidos de la siguiente forma:

Día 3 1/2-4 (estadio 21) los primeros movimientos

que se aprecian son ligeras flexiones del cuello hacia la derecha e izquierda. Sólo intervienen 3 ó 4 somitos.

Día 4 (estadio 23) Se aprecian movimientos ondulantes en forma de S que comenzando en el cuello se extienden hacia la base de los esbozos de las patas. Se aprecian flexiones aisladas del cuello.

Día 5 (estadio 26) Pueden observarse una sucesión de 2 o más ondas en forma de S; las primeras ondas de una secuencia de movimientos suelen dirigirse todas hacia la cola. Posteriormente existen ondas más cortas que terminan a nivel del cuello o del tronco. En alguna ocasión se aprecian de forma muy esporádica alguna contracción del tronco o de los somitos lumbosacros, o también que se propagan en dirección caudocraneal desde la región cervical baja. No se observan movimientos en las extremidades.

Día 6 1/2 (estadio 29) Comienzan a detectarse ligeros movimientos de las patas y alas. Las extremidades participan de forma bastante regular en los movimientos totales del cuerpo. Los primeros movimientos en una secuencia de actividad son ondas en forma de S, que se expanden desde el cuello a la punta de la cola, incluyendo las extremidades; ondas posteriores de la secuencia, frecuentemente comienzan en el tronco y continúan hacia la cola y puede o no incluir las extremidades. Ocasionalmente cuando los movimientos comienzan en el tronco, pueden originarse dos ondas que se expandean simultáneamente hacia arriba y abajo. Los movimientos de las extremidades consisten en ligeras abduccio-

nes y adducciones, producidas en la raíz de implan
tación al tronco, seguidos por suaves movimientos
de las porciones apicales. Raramente se observan
movimientos aislados de las alas o de las patas; si
así ocurre éstos aparecen sólo en los cortos intér
valos entre ondas durante la fase de actividad pe-
ro nunca en una fase de inactividad. En otras pala-
bras, son parte de la fase de actividad aunque no
integrados con los movimientos totales del cuerpo.

Día 6 1/2-7 (estadio 30) No se aprecian grandes di
ferencias con los movimientos que sucedían en el
estadio 29.

Día 7-7 1/2 (estadio 31) No se observan cambios
significativos en los movimientos espontáneos. Oca-
sionalmente se pueden producir respuestas a estímu
los exteroceptivos, pero no de forma constante,
tras estimular suave y repetidamente la piel de la
superficie superior o inferior de las alas o patas
(reflejos exteroceptivos).

Día 7 1/2-8 (estadio 32-33) Se obtienen reflejos ex
teroceptivos de forma mucho más regular tras esti-
mular suavemente la piel de la cabeza o miembros.

El inicio y naturaleza de estos movimientos ha si-
do motivo de controversia. Varios investigadores,
entre los que se incluye Kuo (1938), han considera-
do que eran de origen reflexogénico. Por el contra
rio el psicofisiólogo alemán Preyer (1885) observó
que el embrión era refractario a la estimulación
exteroceptiva hasta los 7 1/2 días de incubación.

Esta afirmación ha sido confirmada por Hamburger (1968, 1). Así pues, y tal como acabamos de citar, el punto más importante a resaltar es la naturaleza espontánea no reflexogénica de los primeros movimientos del embrión de pollo, desde su inicio al 3 1/2 día hasta el 7-7 1/2 día que es cuando tienen lugar los primeros reflejos exteroceptivos (Hamburger y Balaban, 1963).

W. Preyer (1885) quedó tan impresionado por este fenómeno que expresó: "considero este hecho como uno de los más importantes en todo el campo de la fisiología del embrión, y he realizado un gran número de observaciones y experimentos antes de convenirme a mí mismo de que la sensibilidad del embrión comienza mucho más tarde que su motilidad". Al principio los movimientos tienen lugar sólo por causas físicas internas, es decir, son movimientos impulsivos, que ocurren en ausencia de estímulos periféricos y sin posibilidad de eficacia de estos (Hamburger, 1968).

Windle y Orr (1934) y Visintini y Levi-Montalcini (1934) observaron que el cierre del arco reflejo por establecimiento de las uniones sinápticas entre las fibras de la raíz dorsal y las neuronas internunciales no ocurre hasta el 6-6 1/2 días esto es, mucho después de que comenzasen los movimientos y un poco antes de que sean eficaces los reflejos exteroceptivos (Hamburger y Balaban, 1963).

Después del 7 1/2 día y una vez que se ha establecido la base estructural para la llegada de los es

tímulos sensoriales, este patrón de movimientos rítmicos no muestra cambios manifiestos, habiéndose postulado que la mayor parte de los movimientos que se observan desde el 8º día y al menos hasta el 17º día continúan siendo espontáneos y no guiados por información sensorial (Hamburger y Cols. 1965).

Esta hipótesis se encuentra fuertemente apoyada por dos características de estos movimientos:

- 1- Los movimientos son periódicos. Aparecen fases de actividad alternando con fases de inactividad. La fase de actividad consiste en una serie de dos o más ondas de movimientos, totales o parciales, que pueden ir una tras otra en una rápida sucesión o bien estar separadas por cortos intervalos de tiempo. La fase inactividad se define como cualquier intervalo entre dos ondas que sea mayor o igual a diez segundos (Hamburger y Balaban, 1963).

Con el objeto de obtener datos más precisos y cuantitativos de las relaciones temporales de estas fases se puso a punto, en el laboratorio de neuroembriología de Hamburger, la siguiente técnica: se efectuaba una ventana en el punto más proclive del huevo, se colocaba a éste con el embrión a observar en el interior de una caja de plástico a temperatura constante de 37,5°C, la cual estaba cerrada excepto por dos aperturas circulares por donde se ajustaban los binoculares de un microscopio de disección; la tem-

peratura era mantenida por una unidad de calefacción y ventilación. Dos o tres horas después de haber colocado al embrión en tales condiciones, con la finalidad de que se recuperase de la agresión que le pudo suponer todas estas maniobras y cambios de temperatura, comenzaban su observación. Cada vez que se apreciaba un movimiento considerado de intensidad suficiente se pulsaba la plumilla de un poligrafo de forma que se obtuvieran registros que permitieran cuantificar las relaciones temporales de las fases de movimiento y reposo (Hambürger y Balaban, 1963).

Los registros realizados con embriones normales mostraban una considerable variabilidad en la duración de ambas fases, de actividad e inactividad, no existiendo relación entre la duración de éstas y el ciclo. Ahora bien, cuando se promediaba la duración de ambas fases de varios embriones durante estadios sucesivos, era evidente que la relación o proporción actividad-inactividad permanecía constante hasta el día 8 (estadio 32), comprendiendo la actividad aproximadamente 20 % del ciclo total. En el día 9 y 10 la fase de inactividad es cinco veces más larga que al fase de actividad. Esta última suele durar de cinco a quince segundos mientras que la primera dura de 30-60 segundos (Hamburger y Balaban, 1963).

La duración de las fases de actividad aumenta y a la vez descende la de las fases de inactividad (Figura 11) (Hamburger y Cols. 1965):

La actividad total, considerada como el porcentaje de actividad durante una observación standard de 15 minutos, aumenta gradualmente desde ocupar el 20% del ciclo total en 8º día hasta llegar a ser el 80% en el día 13, manteniéndose a este nivel hasta el día 17, época en que la actividad declina (Hamburger, 1968, 2). En este día el embrión está en movimiento el 70% de todo el período de observación y es aún cíclico, con fases de actividad e inactividad manifiestas aunque menos que en estadios previos (Figura 12). La duración de la fase de inactividad era sólo de 14.5 segundos de promedio mientras que la fase de actividad dura 65 segundos.

- 2- Son movimientos en forma de sacudidas que ocurren ocasionalmente y de forma fortuita, incluyendo torsiones del cuerpo y patadas (Hamburger 1968, 2). Durante una fase de actividad las diferentes partes del cuerpo se mueven independientemente unas de otras cambiando constantemente. Según Hamburger (1968, 1) todas las partes que son capaces de moverse en un determinado estadio participan durante una fase de actividad. Sin embargo, los movimientos de las diferentes partes no están coordinados, así por ejemplo las alas no se mueven a la vez como lo hace en los días preeclusión, las patas no se mueven con un patrón alternativo como lo harían al caminar. Este tipo de movimientos desorganizados son difícilmente compatibles con la noción de control o guía por información sen-

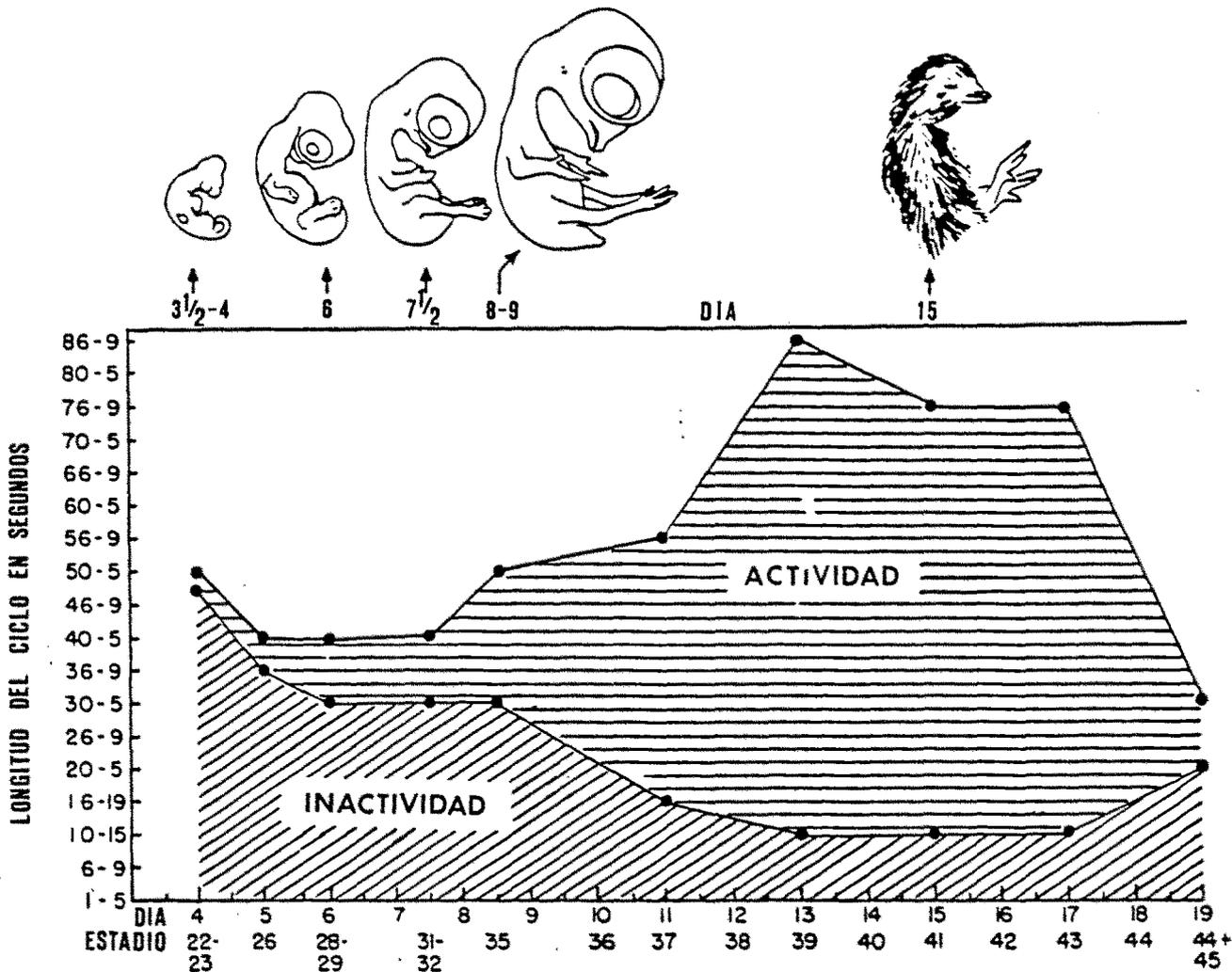


Fig. 11-. Duración media de las fases de actividad e inactividad y de la longitud de los ciclos en segundos. (Hamburger y Cols., 1965)

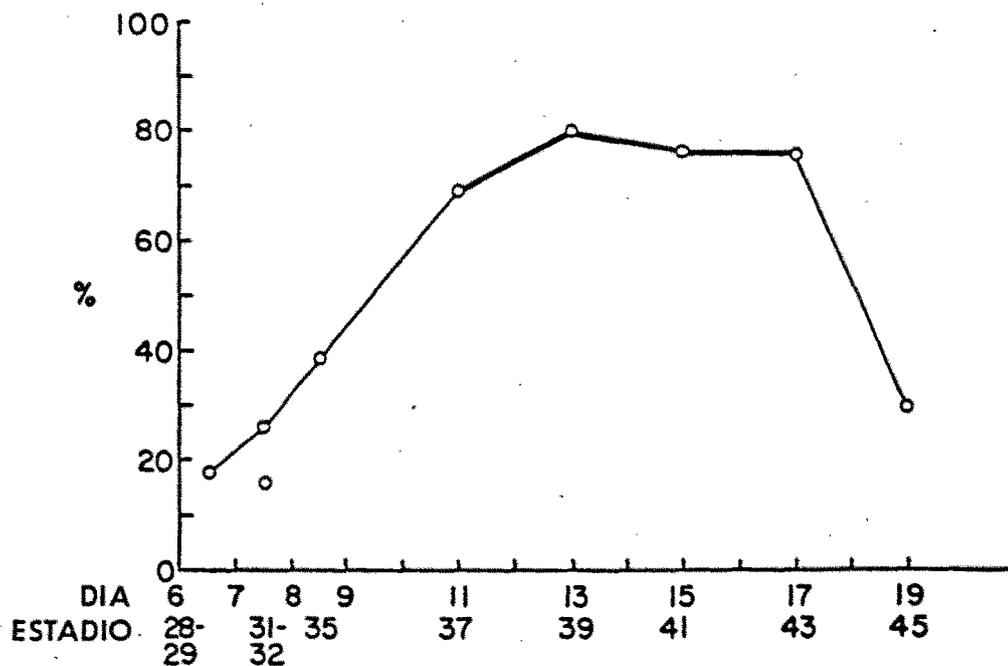


Fig. 12-. Evolución del porcentaje medio del tiempo empleado por embriones normales en fases de actividad de los 15 minutos que dura el período de observación o actividad total. (Hamburger y Cols. 1965)

sorial.

La falta de organización es la principal característica de estos movimientos. Estos son mayormente convulsivos, en forma de tirones y sacudidas y en ocasiones cabezazos; parecen ser movimientos fortuitos en el sentido de que diferentes partes se mueven con independencia de las otras.

Hamburger y Cols. (1965) efectuaron el siguiente experimento con objeto de evidenciar que los movimientos embrionarios desde el día 8 al 17 son también espontáneos: en embriones de dos días se procedió a realizar una total deaferentización de ambas patas por una doble operación consistente en extracción de la médula espinal torácica en la extensión de cinco somitos y extirpación de la mitad dorsal de la médula espinal lumbosacra, incluyendo la cresta neural. En la placa basal intacta se produjeron columnas de neuronas motoras que inervaron la musculatura de las patas tal como ocurre habitualmente. Las patas eran sin embargo insensibles a los estímulos extero o propioceptivo. La motilidad de las extremidades inferiores fue cuantitativamente normal en el recorrido hasta el día 15 en todos los embriones y en más de la mitad cualitativamente normal. La declinación de la motilidad observada entre los días 15 y 17 fue atribuida al deterioro del tejido nervioso, lo cual se apreció en todos los casos de motilidad reducida. Los embriones presentaron espina bífida en la médula lumbar y el estudio histológico mostró que la degeneración

y pérdida de motoneuronas corría íntimamente paralela a la declinación de la motilidad (Hamburger, Wenger y Oppenheim, 1966). Con este experimento se excluyó que la autoestimulación (choque de las patas con la cabeza, roce entre las patas y las alas, etc.), jugase un papel importante en el inicio y organización de los patrones de movimiento.

Para Hamburger (1968, 2) la motilidad manifiesta hasta el día 17 es debida a descargas generadas es pontáneamente en las neuronas de la médula espinal, las cuales activan todas las vías neuromusculares indiscriminadamente.

Hamburger y Balaban (1963), Hamburger y Cols. (1965) y Hamburger (1968, 1) concluyen, tras haber extirpado un trozo de médula raquídea en embriones de pollo y observar sus patrones de movimiento, que, porciones aisladas de la médula son capaces de producir descargas periódicas y que el cerebro estimula o transmite descargas a la médula, aumentando de esta forma la actividad del embrión a medida que va madurando todo el sistema nervioso.

Hamburger y Oppenheim (1967) definen tres tipos de movimientos:

Tipo 1- Denominan así a los movimientos fortuitos y espontáneos e irregulares, con poca amplitud y no existiendo coordinación entre las partes que se mueven. Son movimientos en forma de sacudidas que pueden ser debidas, en parte, a la falta de coordinación muscular; cabría esperar que, por ejemplo,

la flexión de una pata conllevara la excitación de los músculos flexores sinérgicos y la inhibición de sus antagonistas. Sin embargo, esto no siempre puede ser dado por supuesto. Un estudio electromiográfico realizado por Anggard y Cols. (1961) en ovejas de 60-67 días (tiempo de gestación de 140-150 días) demostró una respuesta miotática por parte de los músculos gastrocnemios cuando se le aplicaba una ligera tensión, pero los antagonistas, fundamentalmente el músculo tibial anterior, en vez de estar inhibidos, mostraban simultáneamente estar excitados. Hasta 30 días más tarde no empezaron a aparecer los primeros signos de inhibición de los antagonistas.

Tipo 2- Son movimientos espasmódicos, en forma de temblor, que pasan rápidamente a lo largo del cuerpo. Se consideran una variación de la motilidad tipo 1; son fortuitos, espontáneos y no coordinados.

Tipo 3- Su característica principal es que, al contrario que los movimientos tipo 1 y 2, son integrados y coordinados. Su papel esencial es la preparación del embrión para la eclosión. Son movimientos vigorosos pero no rápidos. Se inician en el día 17.

Según Hamburger (1968, 1) la actividad no integrada es la forma prevalente de movimientos hasta el día 17; a partir de entonces los movimientos tipo 1 y 2 declinan, apareciendo los movimientos inte -

grados tipo 3. Gracias a estos últimos y a través de una secuencia de pasos intermedios se llega a la posición de eclosión.

En el inicio del día 17, el embrión está orientado a lo largo del eje mayor del huevo, con las articulaciones del tarso cerca del polo agudo y la cabeza cerca de la cámara aérea, en el polo obtuso. El pico está oculto en el saco vitelino entre las patas. En el día 19 la mayoría de los embriones están en la posición de eclosión; el cuello está doblado hacia la derecha formando una espira muy cerrada, el lado derecho de la cabeza está arropado bajo el ala derecha la cual está aplicada a la membrana interna del cascarón, el pico está colocado oblicuamente contra la cáscara y frecuentemente ya ha perforado la membrana interna (rotura interna). El hombro y las articulaciones del tarso están apretados contra la cáscara.

La eclosión se acompaña de golpes bruscos de la espalda del embrión y de la parte más superior del pico contra la cáscara, hasta que el polluelo logra romper la continuidad de ésta. Estas arremetidas se vuelven a repetir varias veces, agrandándose el agujero del cascarón, a la vez que se añade un componente rotatorio del embrión respecto al cascarón. Cuando la cáscara está suficientemente abierta y tras unas cuantas sacudidas vigorosas del cuerpo y embestidas de las articulaciones del tarso contra el polo agudo, el embrión acaba de completar el proceso de eclosión.

Hamburger y Oppenheim (1967) consideran todos los

movimientos preeclosión como modificaciones de un patrón básico de motilidad integrada (tipo 3), y se ñalan que deben distinguirse de los movimientos tipo 1 fundamentalmente por ser integrados, es decir, incluyen todas las partes del cuerpo de forma ordenada; la mayoría de estos movimientos, con excepción de las arremetidas ocasionales, son más suaves y contrastan con los movimientos tipo 1 que son más bruscos. Quizás la evidencia más convincente de la diferencia entre ambos tipos de movimientos es la observación de que los movimientos tipo 1, no integrados, no desaparecen después del día 17 sino que solamente están interrumpidos durante los episodios de movimientos integrados, reanudándose entre los intervalos de tales episodios aunque reduciendo su frecuencia. Obviamente, la motilidad no integrada no es transformada en motilidad integrada de una forma simple.

Existe un vínculo entre los dos tipos de motilidad. El mismo grupo muscular que flexiona y extiende las patas durante la motilidad espontánea inicial es el que actúa en los movimientos integrados que se producen posteriormente. Para Hamburger (1968, 2) los componentes de motilidad tipo 1 se incorporan en los patrones de acción de los movimientos integrados de la preeclosión y eclosión y las "vías comunes finales" de Sherrington (conexión de motoneurona con los músculos) son las que activadas alternativamente por descargas eléctricas masivas excitan todas las motoneuronas indiscriminadamente, movimientos tipo 1, o bien por descargas más selectivas caracterizadas por un juego de excitación e inhibición de grupos musculares adecuados producen

los movimientos integrados, tipo 3.

El tipo de movimientos fortuitos parece estar limitado a embriones que llevan una prolongada vida en el útero o huevo durante su desarrollo. La significación biológica de estos movimientos es, según Hamburger, Drachman y Oppenheim, entre otros, garantizar el desarrollo normal y mantenimiento de las articulaciones y de los músculos. La parálisis prolongada durante el desarrollo del embrión de pollo da por resultado anquilosis y anomalías musculares (Drachman y Coulombre, 1962; Drachman y Sokoloff, 1966). Desde que se inicia la actividad embrionaria hasta el día 11 los miembros son puestos en movimiento por su musculatura extrínseca; a partir de entonces empiezan a incorporarse las contracciones de la musculatura intrínseca, en forma de flexiones y extensiones de los dedos (Decker y Hamburger, 1967).

A parte de los movimientos propios del embrión también se pueden observar movimientos que tienen su origen en las contracciones del amnios. Preyer (1885) Windle y Orr (1934) postularon cierta relación entre las contracciones del amnios y la motilidad activa del embrión de pollo, ya fuese como fuente de estímulos exteroceptivos o bien porque se transmitía el impulso mecánico de las contracciones amnióticas que lo hiciesen bambolear en el interior del fluido amniótico.

Al inicio de su formación, el amnios rodea íntimamente al embrión, pero muy pronto comienza a acumularse líquido en el interior de la cavidad amniótica

ca de forma que en el quinto día de incubación éste se encuentra flotando en el interior de un saco lleno de líquido. La secreción de fluido amniótico continúa aumentando hasta alcanzar un máximo de tres-cuatro centímetros cúbicos hacia el treceavo día de incubación, luego desciende algo hasta el quinceavo día, cuando vuelve a aumentar y finalmente desciende rápidamente, llegando a valores ínfimos durante los últimos días de incubación (Romanoff, 1960).

Según Hamilton (1965) y Romanoff (1960) el amnios realiza una función principalmente de protección. El fluido salino que contiene evita la deshidratación de los tejidos y los cambios bruscos de temperatura; mantiene al embrión flotando en su interior, protegiéndolo de los efectos de la gravedad y de bruscas aceleraciones, así como de los impactos por choque mecánico, ya que distribuye los impactos localizados sobre una más amplia superficie. De forma secundaria la cavidad amniótica sirve como canal para la utilización del albumen, el cual llega a su interior a través de una comunicación sero-amniótica que se establece al onceavo día de incubación, siendo deglutido junto con el líquido amniótico durante los últimos días del desarrollo embrionario.

A partir del tercer o cuarto día aparecen en la pared del amnios unas fibras musculares lisas de forma fusiforme y que gradualmente van aumentando en número. Se disponen radialmente alrededor de la región umbilical, lugar de fijación del amnios al embrión, y se entrecruzan en la línea media de la par

te dorsal del amnios (Figura 13).

La membrana, aunque muy fina, es muy elástica. Esta elasticidad viene dada por las fibras de soporte de las células musculares. Cuando la membrana es estirada y puesta a tensión, inmediatamente después de relajarla vuelve siempre a su forma y tamaño original. Gracias a esta elasticidad la musculatura del amnios le confiere tono a la membrana, manteniendo el saco tenso (Pierce, 1933) y tiende a eliminar las variaciones de presión en el interior del amnios (Remotti, 1932).

A partir del quinto día comienzan a observarse lentas contracciones peristálticas del amnios (Hamilton, 1965). Las contracciones son irregularmente rítmicas (Romanoff, 1960). Se originan espontáneamente, tal como sugiere el hecho de ser una estructura libre de control nervioso (Pierce, 1933). Según Romanoff (1960) en el amnios del embrión de pollo no se han encontrado terminaciones nerviosas y las contracciones que presentan son autónomas y puramente miogénicas.

Una vez han comenzado, las contracciones amnióticas aumentan rápidamente hasta alcanzar su máxima intensidad y frecuencia. Se ha observado que los días que presentan mayor actividad son el noveno (Kuo, 1932) y doceavo (Preyer, 1885).

La frecuencia de contracción del amnios va de ocho o diez a veinte veces por minuto entre los días quinto y octavo (Pierce, 1933); Kuo (1932) encontró que el promedio máximo de frecuencias del sex-

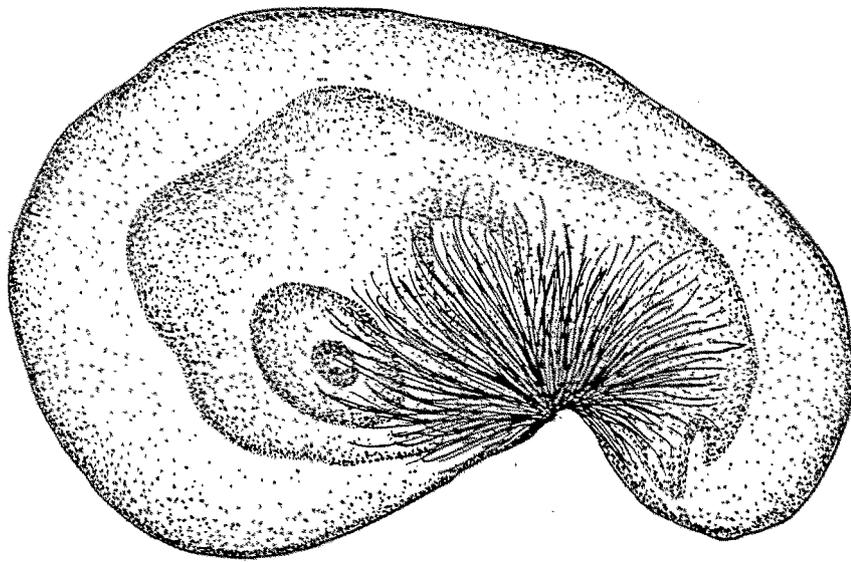


Fig. 13-. Disposición radial alrededor de la región umbilical de las fibras musculares lisas del amnios en un embrión de pollo de 9 días de incubación (Romanoff, 1960).

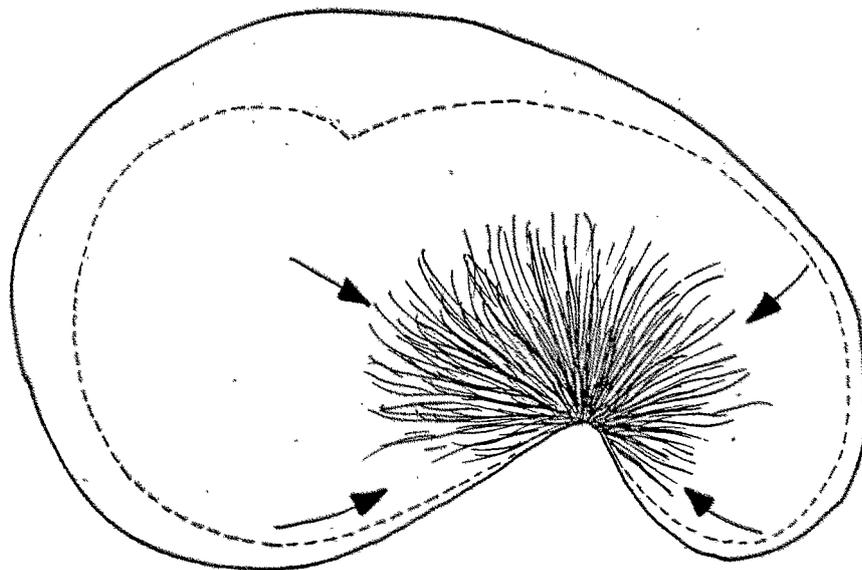


Fig. 14-. Modo en que se contraen las fibras musculares lisas no inervadas del amnios de un embrión de 7-8 días de incubación. Toman como punto fijo la región umbilical (Romanoff, 1960).

to al noveno día era de 18 a 25 contracciones por minuto. Para Hamilton (1965) las contracciones del amnios aumentan en frecuencia hasta alcanzar su máximo al octavo día y a partir de entonces disminuyen rápidamente, siendo muy lentas en el onceavo día y cesando antes del treceavo, encontrando que a partir de entonces el amnios no respondía ni incluso cuando era estimulado por medios físicos o químicos (Pierce, 1933) (Figura 15).

Las contracciones se originan espontánea y rítmicamente en las fibras musculares radiales, que actúan como marcapaso, localizadas alrededor de la región umbilical. De aquí se expanden hacia la línea media dorsal, ejerciendo su fuerza sobre el área umbilical (Figura 14) y dando como resultado el balance o bamboleo del embrión en el interior de la cavidad amniótica (Hamilton 1965).

El tejido muscular del amnios responde a estímulos térmicos, mecánicos, eléctricos y químicos sin control ni regulación neural (Pierce, 1933); un amento o descenso de la temperatura repercute en un aumento o descenso de la frecuencia de contracción del amnios.

Aparentemente los movimientos del amnios previenen la adhesión del embrión a la membrana (Hamilton, 1965; Romanoff, 1960) gracias a los movimientos pasivos de bamboleo del embrión que se producen con cada contracción intensa del amnios. Drachman y Sokoloff (1966) creen que hay que tener presentes estas contracciones del amnios, que se traducen en movimientos pasivos de las articulaciones, para po

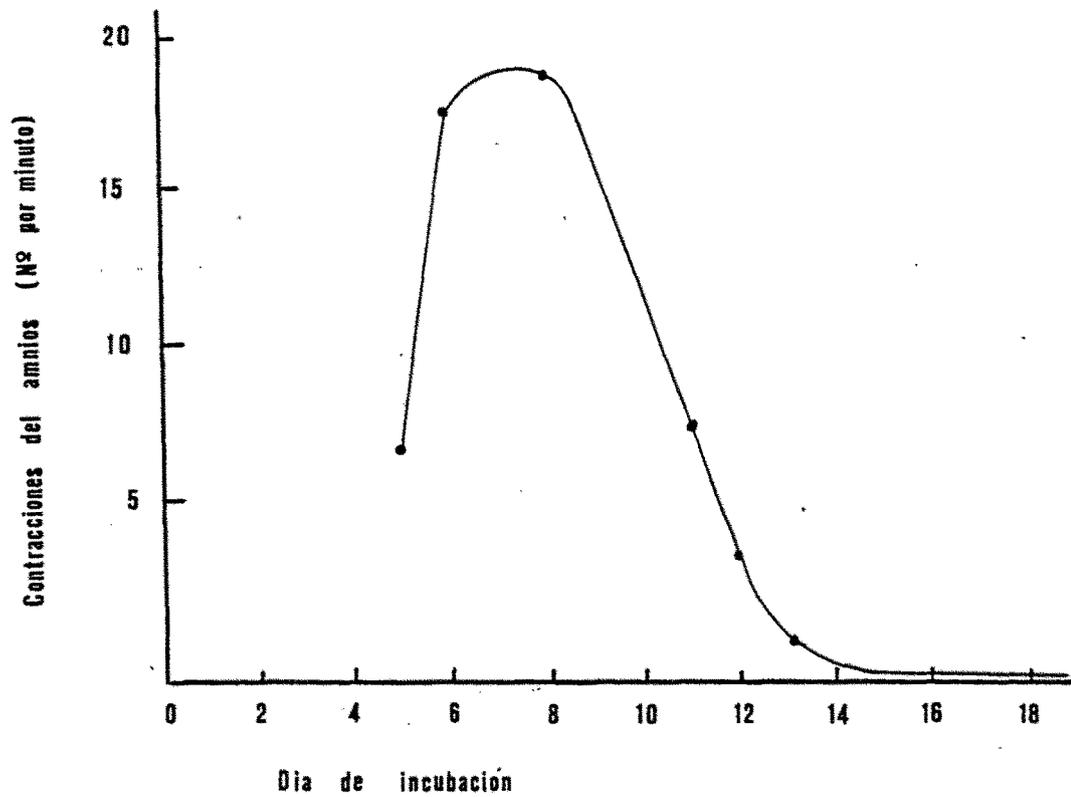


Fig. 15-. Frecuencia de contracción del amnios.
(Basado en datos de Hamilton, 1965, y
Romanoff, 1960).

poder explicar por qué en embriones de trece y quince días de desarrollo, que habían sido paralizados mediante agentes bloqueantes neuromusculares (deca metonio y toxina botulínica) aparecen, especialmente en las pequeñas articulaciones de los dedos de las patas, unas pequeñas vacuolas o espacios en la zona de la periferia de la articulación que son evidencia de formación parcial de la cavidad articular. O'Rahilly y Gardner (1978) también opinan que no se debe excluir el posible papel que pueda ejercer los movimientos inducidos pasivamente en la producción de cavitación articular, en los casos en que haya ausencia de movimientos activos.

Respecto a la relación entre las contracciones del amnios y motilidad activa del embrión, hay que señalar que Gottlied y Kuo (1965) observaron que los patrones de movimientos, en el caso del embrión de pato, estaban influenciados por factores no orgánicos tales como las contracciones del amnios y movimientos del saco vitelino. Kuo (1938) estudió la motilidad del embrión de pollo con amnios intacto y con el amnios resecaado; concluyó que al remover el amnios se reducía la frecuencia y amplitud de los movimientos del embrión. Oppenheim (1966) evaluó cuantitativamente, mediante registro con un kímografo controlado manualmente, los posibles efectos de la contracción amniótica y movimientos del saco vitelino sobre la motilidad cíclica embrionaria a los 9, 10 y 11 días de incubación. Observó que al extraer el amnios no se producía ningún tipo de efecto ni en la calidad ni en la cantidad de la motilidad cíclica exhibida por el embrión, excluyendo así que la contracción del amnios, actuando como estí-

mulo exteroceptivo, variase la periodicidad de los movimientos.

Decker (1967) estudiando embriones de tortuga no pudo constatar contracciones amnióticas y sin embargo estos embriones presentaban igualmente movimientos periódicos.

Estos últimos estudios dejan claro que las contracciones del amnios y los movimientos activos embriónicos son independientes.

Otro aspecto interesante hallado en la revisión bibliográfica es la relación existente entre la actividad embrionaria y la frecuencia cardíaca.

El período de máxima actividad del embrión de pollo coincide con el período en el que el corazón alcanzaba sus más altas frecuencias. (Romanoff, 1960).

Es bien conocido que en las aves, al igual que en los mamíferos, la frecuencia de latido del corazón es inversamente proporcional al peso del embrión y directamente a la tasa metabólica; asimismo el ciclo cardíaco consta de la misma secuencia de eventos (sístole, diástole) (Houillon, 1975).

Según Romanoff (1960) la frecuencia de pulsación exhibe cierta tendencia creciente a lo largo de la incubación. Al principio existe un período de aceleración, muy marcado al inicio y más regular después, hasta que se alcanza la máxima frecuencia. El aumento rápido inicial de la frecuencia cardíaca está asociado, según este mismo autor, con el esta

blecimiento de un marcapaso primitivo y refleja los diferentes grados de autonomía inherentes a varias regiones del corazón. Tal como se puede apreciar en la figura 16 este período de rápida aceleración termina al final del segundo día; desde el segundo hasta el quinto día la frecuencia aumenta de forma menos brusca. Este aumento continúa de forma más regular hasta el octavo-décimo día, cuando es alcanzada la máxima frecuencia. La continua pero más gradual aceleración de la frecuencia cardíaca que ocurre después del segundo día de incubación, se ha tratado de explicar por factores de origen circulatorio sobre la frecuencia de contracción inherente al marcapaso (Barry, 1941), ya sea bien debido a falta de distensión del corazón, por ser el desarrollo de las arterias mucho más rápido que el de las venas encargadas de retornar la sangre a la aurícula (Alexander y Glaser, 1941) o bien el resultado del aumento de la presión sanguínea a lo largo de la incubación (Barry, 1941) ya que la frecuencia de contracción intrínseca del tejido marcapaso está en función directa con la tensión existente en las paredes del miocardio (ley de Starling).

Según Hughes (1942) la presión sanguínea en el embrión de pollo es de 2 cm de agua al final del segundo día, aumenta gradualmente hasta los 16 cm de agua al doceavo día y finalmente al dieciochoavo día llega hasta los 35 cm de agua siendo a partir de entonces más o menos constante. Por otra parte, Barry (1941) observó que una exsanguinación parcial o completa causaba un descenso en la frecuencia cardíaca, que generalmente variaba con la edad del embrión, y que la reanudación de la corriente san-

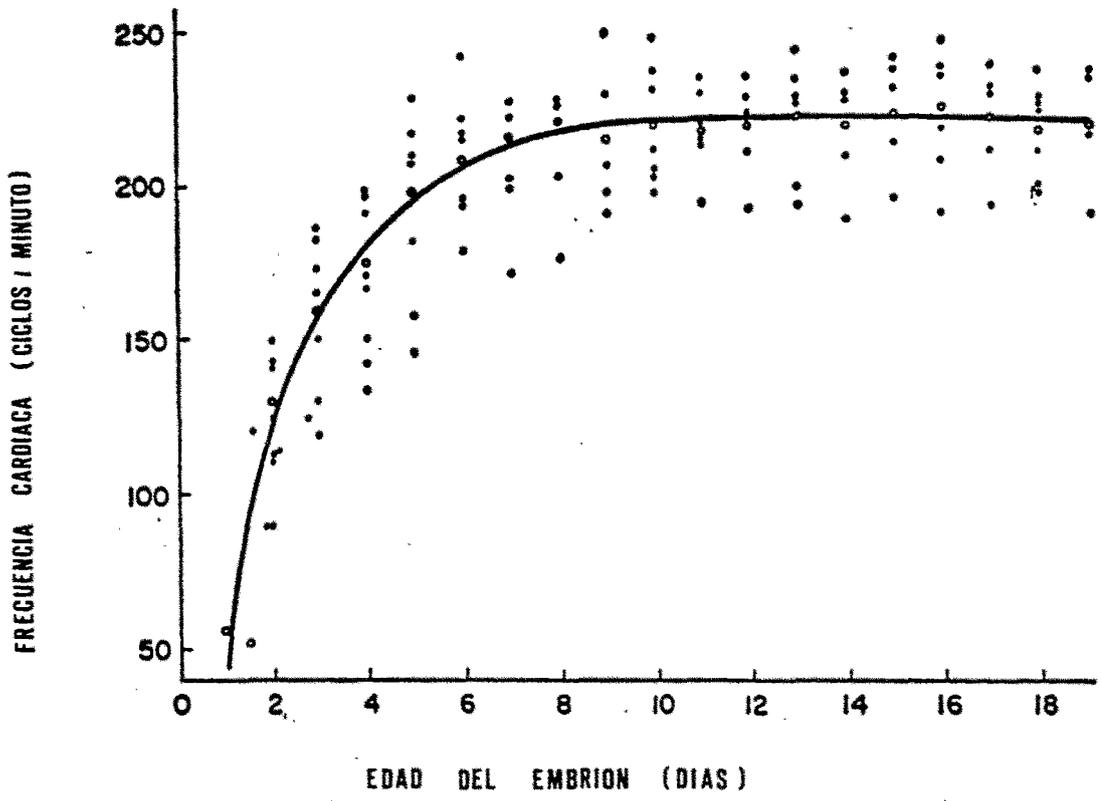


Fig. 16-. Variaciones de la frecuencia cardíaca de el embrión de pollo durante su desarrollo (Romanoff, 1960).

guínea, en el caso de una sangría parcial, restablecía la frecuencia original.

En el vigésimo día, y según en qué razas un día antes, el ductus arterioso comienza a contraerse, de forma que fluye más sangre a través de los pulmones; éste, en el momento de la eclosión, todavía está abierto (Hamilton, 1965). Según Romanoff (1960) las venas pulmonares llevan más volumen sanguíneo a la aurícula izquierda pero la vena cava posterior aporta menos volumen sanguíneo a la aurícula derecha y, como veremos inmediatamente, esto es debido al colapso que sufren los vasos alantoideos. La presión sanguínea en ambas aurículas tiende a igualarse y poco a poco se produce la obliteración de las numerosas foraminas existentes en el tabique interauricular (Patten, 1925), que equivalen al foramen oval del corazón de los mamíferos (Romanoff, 1960; Hamilton, 1965). El cierre total ocurre en los primeros días después de la eclosión (Hamilton, 1965).

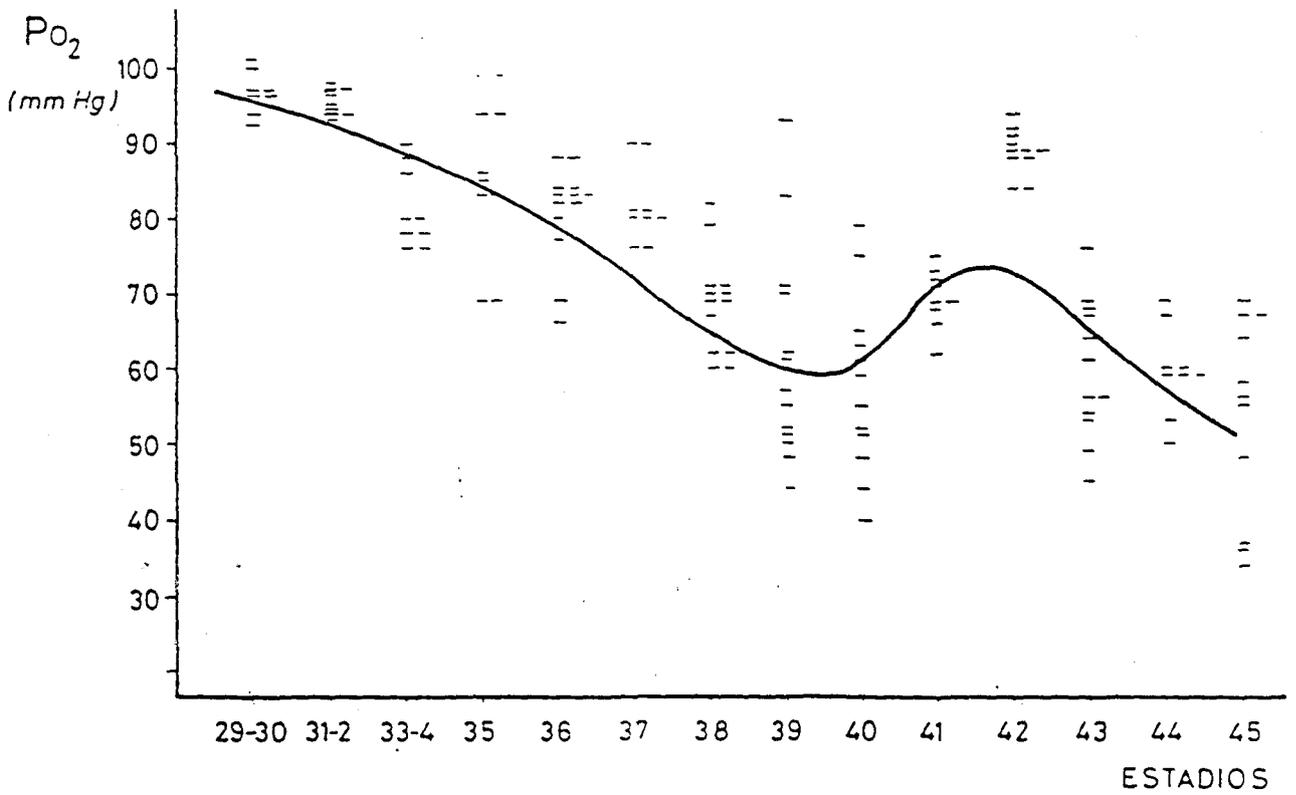
Precisamente también en el vigésimo día, o más frecuentemente en el diecinueveavo, se produce la rotura interna (penetración del pico en la cámara de aire) empezando la respiración a través de los pulmones, pero siendo asistida por la función respiratoria de los vasos corioalantoideos (Rahan y Cols., 1979).

Quince minutos después de haberse iniciado la última fase de la eclosión los grandes vasos alantoideos empiezan a cerrarse en el punto de donde emergen, es decir, a nivel de la región umbilical, lo

cual se ha observado no ocurre de forma repentina y en un único acto sino que estos vasos se reabren y se restablece la circulación, repitiéndose el proceso hasta que finalmente se ocluyen de forma definitiva (Hamburger y Oppenheim, 1967). Esto junto con el aumento de las demandas de oxígeno, debido a la actividad máxima del embrión en esta fase de eclosión, repercute en un descenso de la PO_2 en la sangre oxigenada y un ascenso de la PCO_2 (Ribera, 1980; gráficas 17 y 18).

Según Romanoff (1960) la frecuencia cardíaca en el embrión de pollo sufre un descenso antes de la eclosión, volviendo a elevarse de forma característica en las 12 primeras horas después de haberse producido ésta, alcanzando aproximadamente la frecuencia normal del polluelo adulto. Esto parece ser debido a la falta de control vagal (Bogue, 1932). Se ha observado que la excitación directa de los troncos vagales no produce descenso de la frecuencia cardíaca del embrión hasta después de la eclosión.

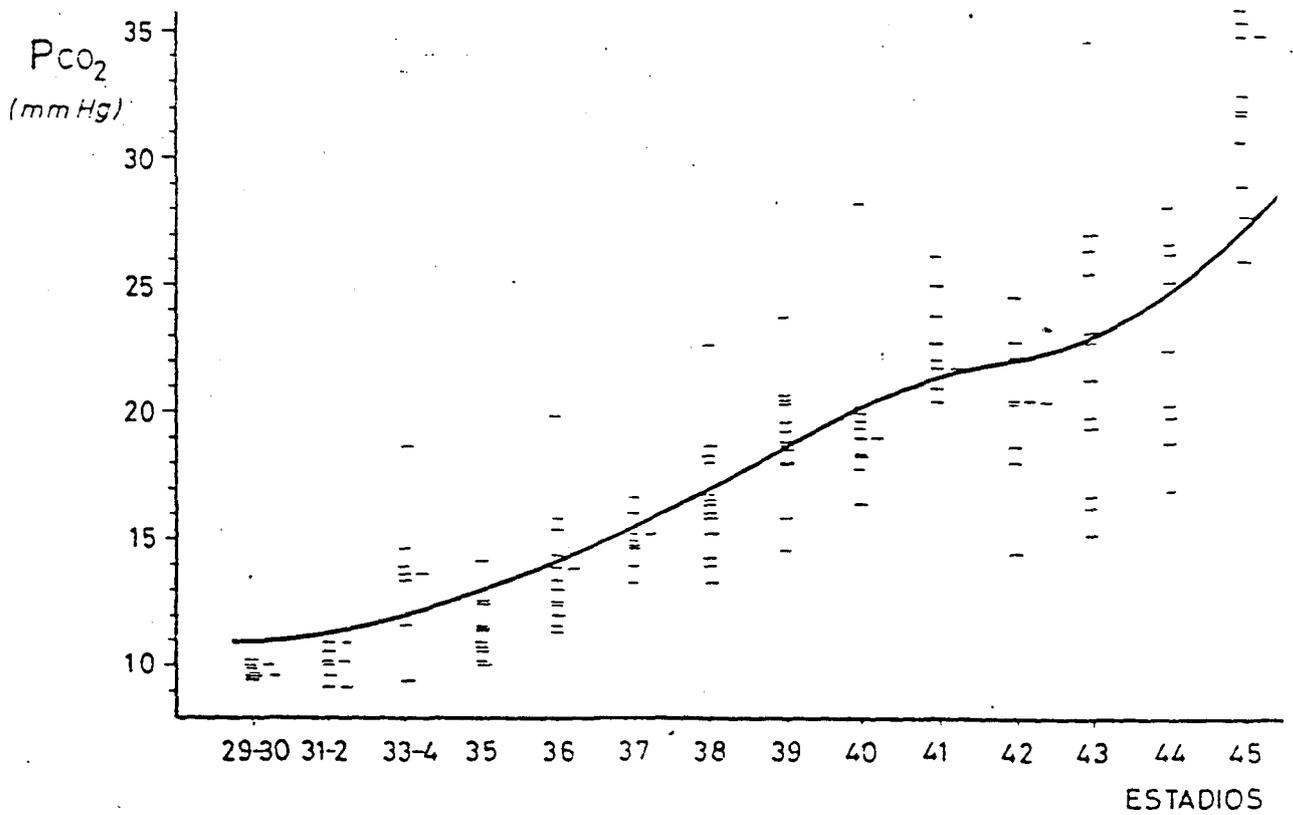
Aparte de la falta de control vagal, la frecuencia cardíaca del embrión de pollo se ve afectada por la temperatura; según Romanoff (1960) a temperatura constante de $38^{\circ}C$ la frecuencia cardíaca es de 128 pulsaciones por minuto al tercer día, aumenta hasta 220 al octavo día, después del cual se mantiene a un nivel de 190-200 pulsaciones por minuto durante el resto del desarrollo. La frecuencia cardíaca en el embrión de pollo está en función directa de la temperatura ambiental, sus ascensos producen un aumento del ritmo y sus descensos una disminución.



REPRESENTACION P_{O_2} / ESTADIOS

COMPENSADA

Gráfica 17-.Evolución de la P_{O_2} , en sangre oxigenada, durante el desarrollo del embrión de pollo (Ribera, 1980).



REPRESENTACION P_{CO_2} / ESTADIOS

COMPENSADA

Gráfica 18-.Evolución de la P_{CO_2} durante el desarrollo del embrión de pollo (Ribera, 1980).

Romanoff realizó un estudio detallado de las variaciones que se observan en la frecuencia cardíaca al exponer al embrión a cambios de temperatura en diferentes etapas de su desarrollo y durante diferentes períodos de tiempo. La susceptibilidad del corazón a temperaturas anormales decrece a medida que el embrión va desarrollándose. El embrión de pollo es poiquiloterma hasta cuatro días después de su nacimiento en que se ha establecido como homoterma (Lamoreux y Hutt, 1939).

La respuesta del corazón del embrión de pollo a las diferentes drogas dependerá del estadio en que se administren y de las peculiaridades propias embriónicas. Así, la inyección de adrenalina por la vena onfalomeséntérica al final del tercer día (antes de que comience la inervación del corazón) produce una aceleración temporal de la frecuencia cardíaca o no produce reacción alguna (Guelin-Schedrina, 1936). Durante y después que se haya producido la inervación del corazón la adrenalina no produce ningún efecto sobre la estimulación de la frecuencia cardíaca, o si es administrada antes del septimo día y la frecuencia original es menor de 180 pulsaciones por minuto se produce un cierto aumento inversamente proporcional a la frecuencia original (Barry, 1950).

Después que el polluelo ha eclosionado la adrenalina y acetilcolina, liberadas en las terminaciones nerviosas postganglionares, median el control neural de la función cardíaca; la adrenalina la estimula mientras que la acetilcolina la inhibe.

Los datos de la frecuencia cardíaca del embrión de pollo referenciados por los diversos autores revisados han sido obtenidos o bien a través de la visualización directa o mediante la aplicación de microelectrodos sobre la superficie del embrión.

En cuanto a los movimientos del embrión, a pesar de los múltiples trabajos realizados, no han sido estudiados con métodos cuantitativos sino que simplemente se han llevado a cabo mediante control visual a través de una apertura practicada en el punto más proclive o bien en el polo obtuso del huevo. Los trabajos más extensos sobre el tema han provenido en su mayoría del Laboratorio de Neuroembriología del Profesor Viktor Hamburger y colaboradores, en St. Louis (Missouri, 1963-1969) quienes registraban los movimientos embrionarios controlando manualmente un polígrafo, señalando cada vez que observaban un movimiento que ellos consideraban de suficiente intensidad para ser tenido en cuenta. A la vez tomaban notas sobre las cualidades de estos movimientos definiéndolos como bruscos, suaves, periódicos, etc., según pudiesen apreciar.

La falta de métodos objetivos a la hora de obtener datos sobre los movimientos, ya fuese de embriones normales, manipulados, o patológicos ha sido la causa de las grandes diferencias y discordancias entre los estudios realizados por diferentes autores; de hecho, la visualización y valoración de los movimientos del embrión, en el Laboratorio de V. Hamburger, los realizaba siempre la misma persona (R. Oppenheim) para tratar de paliar en lo posible este inconveniente. Asimismo, algunos autores que

trabajaban con postulados y metodologías similares obtuvieron resultados discordantes.

Otro factor que se debe tener en cuenta a la hora de explicar el porqué de estas diferencias obtenidas en los distintos trabajos es el hecho de que hasta el momento actual sólo se habían estudiado los movimientos embrionarios por visualización directa o filmándolos, lo que siempre implicaba tener que efectuar la apertura de una ventana en el cascarón del huevo, con los efectos que ello conlleva de disminución de la temperatura, alteración de la superficie calcárea (alterándose la difusión de oxígeno e intercambio gaseoso a través de la cáscara y sus membranas), falta de los movimientos rotatorios que imprime la gallina sobre el huevo mientras los empolla (evitando de esta forma la adhesión del embrión, a través de las membranas que lo envuelven, al cascarón), etc.

Para poder comparar resultados se necesita tener unos datos de referencia. En el caso que nos ocupa creemos es esencial disponer de datos obtenidos de forma objetiva acerca del tipo, intensidad y frecuencia de los movimientos que realiza el embrión de pollo, bajo condiciones normales, durante su desarrollo y especialmente durante el período de la artrogénesis y posterior mantenimiento de las superficies y cavidades articulares.

Dado que el embrión se encuentra inmerso en un medio líquido pensamos que sus movimientos podrían ser transmitidos a través de este medio y recogidos en la superficie calcárea. A partir de esta

premisa iniciamos contactos con el Departamento de Acústica de la Escuela de Telecomunicaciones de La Salle.

Tras haber analizado conjuntamente la problemática existente, pensamos que las técnicas de registro de vibraciones podrían aportar una gran ayuda en solventar los dos puntos principales del planteamiento:

- obtener un método objetivo de análisis y registro de los movimientos embrionarios.

- respetar lo máximo posible las condiciones normales de desarrollo del embrión de pollo.

Decidimos emprender este estudio conjunto, con gran entusiasmo a pesar del gran número de dificultades que se nos presentaban "a priori" pues creíamos sería de gran interés y provecho aportar conocimientos y técnicas de diversas ramas de la ciencia para llegar a clarificar, en la medida de lo posible, un problema existente. Evidentemente los estudios multidisciplinarios son más complejos de realizar, pero los resultados obtenidos suelen ser más completos.

Como quiera que la mayoría de los programas de investigación sobre movimientos embrionarios utilizan como animal de experimentación al embrión de pollo, dadas sus condiciones de idoneidad, se han buscado las soluciones técnicas necesarias y planteado el método de trabajo más adecuado para poder realizar el estudio con este animal de experimentación.

MATERIAL Y METODOS

Debe considerarse, para comprender el desarrollo de este trabajo, que las únicas informaciones disponibles sobre movimientos en embriones de aves, se basan en las apreciaciones visuales de quienes los han realizado. No se tiene conocimiento de ningún método experimental establecido, razón por la cual, éste, es un proyecto eminentemente práctico, ensayando todos los métodos disponibles hasta determinar el más adecuado. Bajo estas condiciones, cabe señalar que el desarrollo de este trabajo, corresponde a su evolución práctica en la que, tras un análisis básico del problema, se ha pasado a ir acotando las posibles soluciones al sistema a medida que se iba avanzando, supereditando el estudio teórico al práctico, pero sin olvidar nunca el primero, procurando en todo momento que ambos se complementasen. Para la realización de este trabajo ha habido, pues, que utilizar materiales propios de un laboratorio de acústica y adaptarlos a nuestro modelo experimental. De ahí que en el desarrollo del método de medida haya sido imprescindible la colaboración interdisciplinaria entre nuestro Departamento de Anatomía Humana de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona (dirigido por el Prof. Dr. D. Ruano Gil) y el Departamento de Acústica

de la Escuela de Telecomunicaciones de La Salle de la Bonanova (dirigido por el Hno. J. Martí Roca). Gracias a su cualificada ayuda ha sido posible superar nuestras limitaciones en este campo, llegándose por fin a obtener un método de medida original aplicable al estudio de los movimientos de los embriones de ave.

También hay que destacar que el trabajo está basado en los medios disponibles en el laboratorio en el momento de su realización, siendo posible encontrar otro método más exacto de medida; sin embargo el resultado obtenido posee las cualidades de ser práctico, fiable y económico en cuanto al método de obtención de señales, que es el punto más importante, sin perjuicio del trabajo que entraña su tratamiento e interpretación.

El primer punto que se planteó fue el tipo de señal que se iba a estudiar y la banda de frecuencia que és ta abarcaría, ya que esto determina todo el estudio posterior en cuanto al tipo de transductor más apropiado y el método de obtener una buena relación señal/ruido.

Las vibraciones en el cascarón del huevo, producidas por el embrión, corresponden a ondas transversales por ser la vibración perpendicular a la dirección de propagación, es decir, a la superficie del cascarón; la gama de frecuencias que abarca esta señal se supone comprendida entre las bajas y las muy bajas frecuencias puesto que la mayoría de las señales biológicas estudiadas, excepción hecha del sistema nervioso, son de este tipo. Esta hipótesis, verificada en

los pasos previos del trabajo, determina en gran medida el tipo de soporte que debe usarse para obtener una relación señal/ruido aceptable, toda vez que el ambiente exterior al laboratorio es "agresivo".

El hecho de que las vibraciones correspondan a ondas transversales hace pensar que el transductor más adecuado será del tipo de discos cerámicos piezoeléctricos ya que se adaptan mejor a este tipo de ondas, pudiendo decirse que vibran junto con el cascarón; sin embargo no pueden descartarse a priori otros tipos de transductores por lo que fue necesario probar su utilidad de una forma práctica.

DESARROLLO DEL MÉTODO DE MEDIDA

Los principales tipos de transductores cuya utilidad se ha planteado para este trabajo son los siguientes:

- Micrófono
- Acelerómetro miniatura
- Introducción de un sensor de presión en el interior del huevo
- Transductor de fuerza
- Disco cerámico piezoeléctrico

A continuación se analizan los resultados obtenidos con cada uno de los anteriores transductores.

Micrófono

Esta posibilidad se ha desechado casi desde el principio dada la gran dificultad de obtener una buena relación señal/ruido a tan bajas frecuencias como se ha de trabajar, puesto que ni siquiera la cámara anecoica es útil por debajo de los 200 Hz aproximadamente. Hay que considerar, además, la dificultad que añadiría la conversión de los resultados obtenidos a unidades de fuerza que es tal como nos interesa expresar los resultados.

Acelerómetro miniatura

El uso de un transductor de este tipo, el B & K 8307, adherido al cascarón del huevo, no dio resultados satisfactorios ya que debido a su baja sensibilidad ($0,079 \text{ pC/ms}^{-2}$) no proporcionó ninguna señal útil.

Introducción de un sensor de presión en el interior del huevo

Este método se planteó como una posibilidad, el obtener una medida más directa del nivel de actividad del embrión, al evitar la utilización del cascarón como elemento intermedio de comunicación pero, tras algunas pruebas, quedó descartado por sus grandes inconvenientes:

- Altera de forma considerable el medio ambiente del embrión.

- El sensor ha de ser completamente estanco para no verse afectado por el albumen en el interior del huevo.
- La medida es más lenta y compleja por ser necesario un transductor por cada huevo a estudiar.
- Es necesario conocer la sensibilidad de todos los transductores que se hayan de utilizar, siendo éstas diferentes entre sí probablemente.

Además en el momento de realizar este trabajo no se disponía en el laboratorio de un sensor adecuado de este tipo, atendiendo al tamaño y sensibilidad deseables.

Transductor de fuerza

El transductor de este tipo utilizado, el B & K 8001, con una sensibilidad de 350 pC/N, se ha montado tal como se muestra en la figura 19..

Se ha comprobado que esta sensibilidad es insuficiente puesto que se trabaja con señales muy pequeñas, de forma que no se consiguen señales útiles por ser la relación señal / ruido obtenida muy baja.

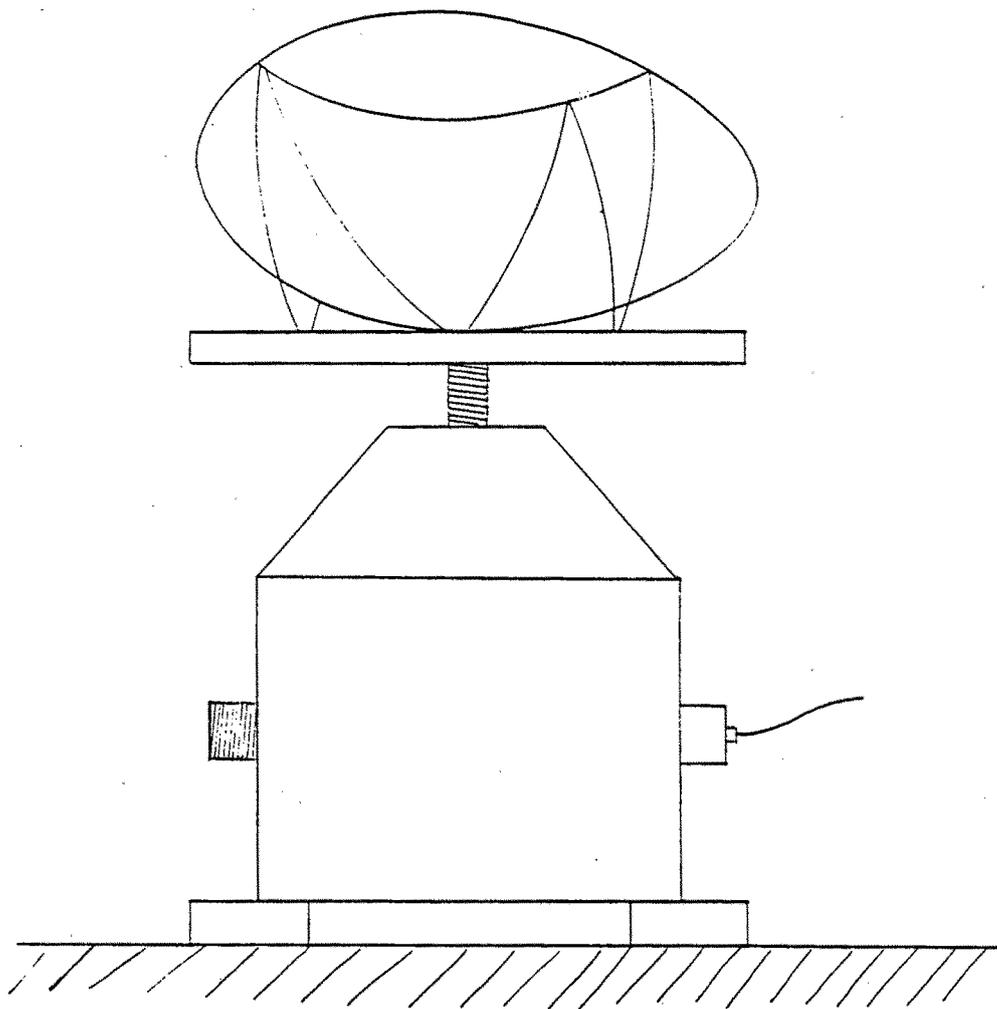


Fig. 19-. Transductor de fuerza B&K 8001. Dada su "baja" sensibilidad, se tiene una relación señal/ruido muy pobre, no obteniéndose señales útiles. Por otro lado, la elevada altura del transductor hace inestable la posición del huevo, lo cual podría generar más ruido (armónicos) en el caso de suspenderlo de un sistema masa-resorte.

Disco cerámico piezoeléctrico

Este sensor debe considerarse como un transductor en estado primitivo ya que los disponibles actualmente en el laboratorio no han sido concebidos como tales, sin embargo se optó por su utilización por no presentar ninguno de los inconvenientes mencionados anteriormente.

El sensor ha de vibrar junto con el cascarón del huevo, para lo cual es conveniente situarlo entre el huevo y un soporte que presenta alta impedancia, suspendido por su contorno tal como se muestra esquemáticamente en la figura 20. Es importante que el punto de contacto entre el huevo y el disco sea en el centro de éste, para lo cual se ha utilizado un sistema de fijación como se puede ver en la figura 23, que mediante hilos elásticos mantiene el huevo en la posición correcta sin ejercer una presión adicional sobre el sensor.

DESCRIPCION DEL TRANSDUCTOR A UTILIZAR

Se trata del disco cerámico piezoeléctrico de Philips nº 4322 020 08840, y cuyas características son las que se exponen en la figura 21.

El principio de funcionamiento consiste en que cuando se aplica una tensión a un disco cerámico piezoeléctrico polarizado, el disco se deforma mo

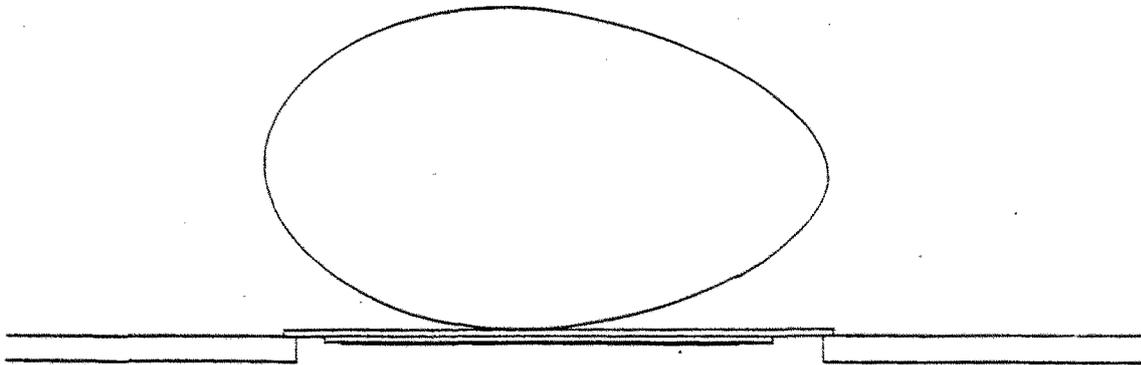
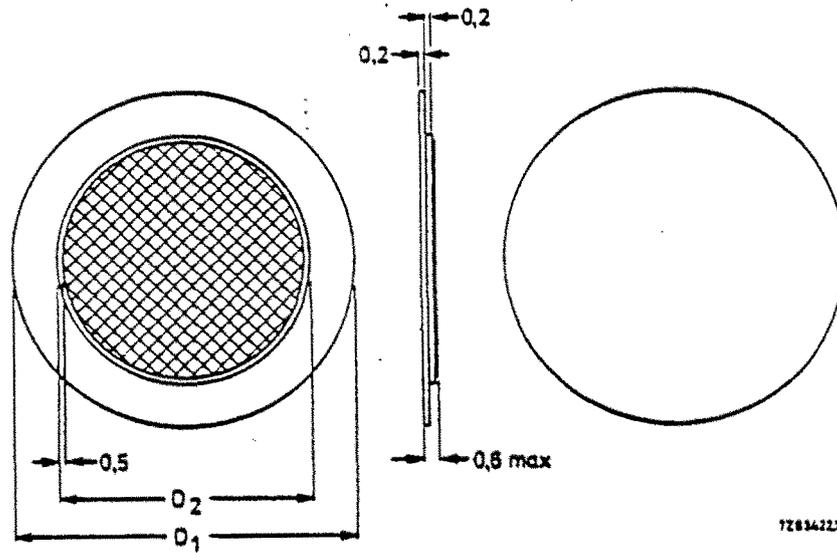


Fig. 20-. Esquema del montaje del disco cerámico piezoeléctrico sobre la base de sustentación de la masa y huevo.

DISCS GLUED ON MEMBRANE



Material: PXE 52

D_1 mm	D_2 mm	capacitance nF	catalogue number
12,5	10	6	4322 020 08860 (membrane thickness 0,1 mm)
20	16	15	4322 020 08820
* 27	20	25	4322 020 08840
35	25	40	4322 020 08850

Fig. 21-. Discos cerámicos piezoeléctricos Philips. El utilizado en este trabajo es el 4322 020 08840. *

dificando su superficie y grosor en función de la tensión aplicada y si éste está adherido a una placa metálica se produce el efecto mostrado en la figura 22. De la misma manera, si el disco cerámico es sometido a una deformación mecánica, se obtiene una tensión entre sus dos caras.

Debemos relacionar, por último, la tensión obtenida con alguna magnitud mecánica, como por ejemplo la fuerza, para lo cual será necesario conocer la salida eléctrica que se obtiene ante una fuerza determinada. Sin embargo, dada la importancia de este tema se tratará en profundidad por separado en el análisis de la sensibilidad del transductor.

RELACION SEÑAL/RUIDO

Una forma práctica de conseguir una buena relación señal/ruido, en la zona de las bajas frecuencias, es con un sistema masa-resorte ya que a pesar del inconveniente que supone la frecuencia de resonancia del mismo, se obtiene ventajas para frecuencias superiores a ésta, razón por la que es necesario obtener la frecuencia de resonancia más baja posible.

El sistema debe estudiarse como un oscilador forzado en el que la fuerza externa es el ruido, y cuya banda de frecuencias ocupa todo el espectro de interés; sin embargo para el estudio teóricos

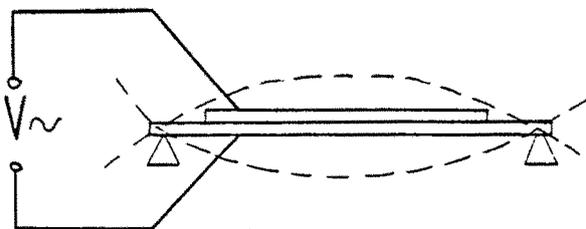
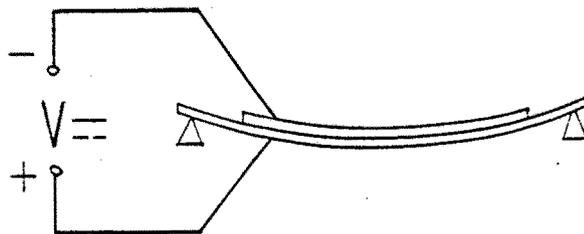
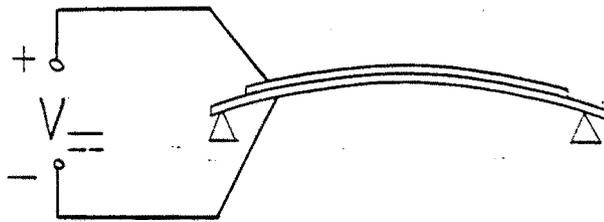


Fig. 22-.Principio de funcionamiento de un disco cerámico piezoeléctrico polarizado adherido a una membrana metálica.

muy interesante considerarla como una fuerza armónica tal como:

$$F_{\text{ext}} = F_0 \text{ sen } \omega t$$

donde ω es la frecuencia angular de la fuerza, que generalmente no está relacionada con la frecuencia angular del sistema

$$\omega_0 = \sqrt{\frac{k}{m}} \quad (\text{para amortiguamiento despreciable})$$

Una masa m , sujeta a un muelle de constante de fuerza (rigidez) $k = m \omega_0^2$, sometido a una fuerza amortiguadora $-bv$ y a una fuerza externa $F_0 \text{ sen } \omega t$, obedece entonces a la ecuación del movimiento dada por

$$m \frac{d^2x}{dt^2} + b \frac{dx}{dt} + kx = F_0 \text{ sen } \omega t$$

donde $v = dx/dt$ es la velocidad y b el coeficiente de amortiguación.

Consideremos el caso en que no hay amortiguamiento, aunque en la práctica siempre existe debido a que los elementos utilizados no corresponden a los modelos ideales del cálculo.

Así pues, cuando $b = 0$, la ecuación que define el movimiento se transforma en:

$$m \frac{d^2 x}{dt^2} + kx = F_0 \text{ sen } wt$$

Puede demostrarse, por sustitución, que esta ecuación se satisface con la función

$$x = A \text{ sen } (wt - \delta)$$

donde

$$A = \frac{F_0}{m |w_0^2 - w^2|}$$

y

$$\delta = 0 \quad \text{si } w < w_0$$

$$\delta = \pm \pi \quad \text{si } w > w_0$$

La amplitud A tiende a infinito cuando w tiende a w_0 , sin embargo en todos los casos reales existe un cierto amortiguamiento y la amplitud es finita para $w = w_0$.

En el caso de que exista amortiguamiento, la solución a la ecuación del movimiento viene dada por

$$x = A \text{ sen } (wt - \delta)$$

donde la amplitud A es

$$A = \frac{F_0}{\sqrt{m^2 (w_0^2 - w^2)^2 + b^2 w^2}}$$

A partir de estas ecuaciones podemos buscar cuál es el aislamiento que se obtiene ante las vibraciones por medio del factor de transmisión definido como:

$$\xi = \frac{\text{fuerza después del aislamiento}}{\text{fuerza antes del aislamiento}}$$

que aplicado al caso amortiguado es

$$\xi = \left[\frac{1 + \left[\frac{b w}{m w_0^2} \right]^2}{\left[1 - \left(\frac{w}{w_0} \right)^2 \right]^2 + \left[\frac{b w}{m w_0^2} \right]^2} \right]^{1/2}$$

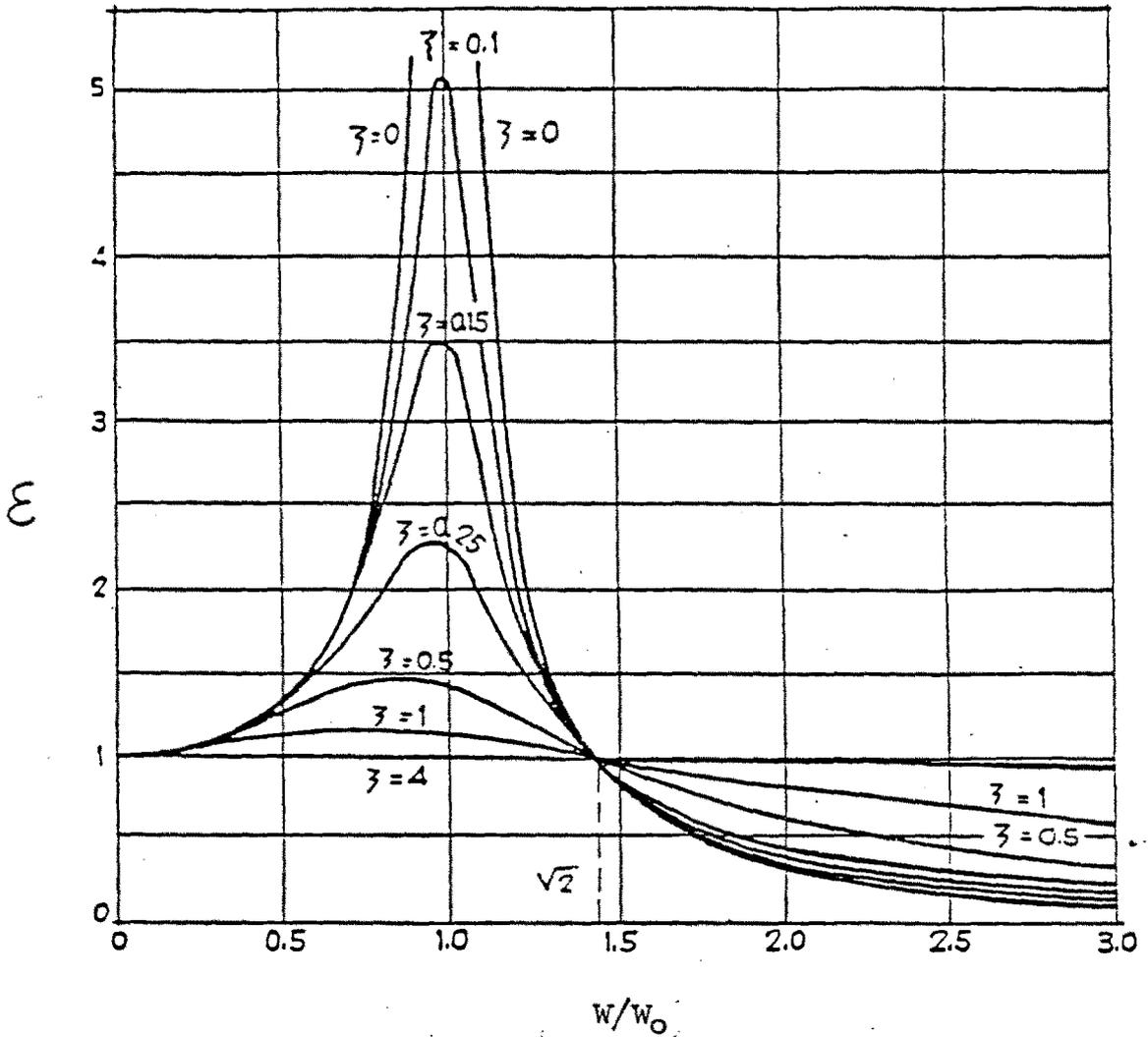
quedando para $b \doteq 0$ como:

$$\xi = \frac{w_0^2}{w^2 - w_0^2}$$

En la gráfica 1 se representa la evolución del factor de transmisión, en función de la pulsación del sistema, para distintos valores del coeficiente de amortiguamiento, b .

La frecuencia de resonancia del sistema afectará posiblemente a la medida ya que la banda de interés de la señal a estudiar abarca las muy bajas frecuencias; sin embargo, no es conveniente introducir un amortiguante ya que, según se deduce de la observación de la gráfica 1, aumentaría el factor de transmisión para frecuencias superiores a

$$f = \sqrt{2} f_0$$



Gráfica 1-.

b = coeficiente de amortiguación viscosa (dependiente de la velocidad).

W_0 = frecuencia natural del sistema sin amortiguación.

$W_d = \sqrt{W_0^2 - (b/2m)^2}$ = f natural con amortiguación.

$$\zeta = b/2m W_0$$

Esta gráfica muestra el factor de transmisión en función de la relación de frecuencias. Una transmisibilidad de 0,30 representa, por tanto, un aislamiento del 70 %. Como muestra la gráfica el amortiguamiento solo es ventajoso para $W < W_0 \sqrt{2}$.

Por esta causa se hará necesario, con toda probabilidad, la utilización de un filtro pasa altos que elimine esta frecuencia.

El cálculo teórico de los parámetros del resorte a utilizar no tiene utilidad práctica puesto que hemos de adaptarnos a las existencias del mercado, donde no es posible adquirir muelles en función de su rigidez k para una longitud dada; además, la idealización del sistema a un grado de libertad es, cuando menos, simplista. Por estas razones, se va a desarrollar el sistema masa-resorte de forma práctica, atendiendo a las limitaciones físicas existentes, como es por ejemplo el espacio físico disponible en el interior de la incubadora de monitorización, puesto que es necesario mantener el embrión a la temperatura de incubación, incluido el tiempo de medida.

La masa del sistema debe ser lo suficientemente elevada como para que las distintas masas de los huevos a estudiar no afecten de forma sensible sus características, presentando además la ventaja de que, para frecuencias superiores a la de resonancia la masa presenta una impedancia muy elevada, acercándose al caso ideal para la medida que sería impedancia mecánica infinita, a la vez que el sistema actúa como filtro ante las vibraciones parásitas externas al mismo.

Considerando conjuntamente las necesidades de fijación de la cerámica y de la utilización de un

sistema masa-resorte, se diseñó un soporte metálico tal como se muestra en las figuras 23 y 24.

Este está constituido por dos placas metálicas unidas con adhesivo "Araldit", cuyas cualidades de amortiguamiento ayudarán a atenuar los posibles modos propios de las mismas; en consecuencia, no debe existir ningún contacto directo entre ambas placas que forme un puente acústico. Se dispone también de una tercera placa que albergará la masa del sistema.

El sistema de sujeción del huevo, para asegurar su correcta colocación en el centro del disco cerámico piezoeléctrico, procura que el huevo esté en contacto y que al deformarse obligue al mismo, pero que no exista el efecto de "rebote".

Finalmente, el soporte completo quedó configurado tal como puede verse en la figura 25; sus dimensiones han quedado determinadas por las de la incubadora de monitorización como se ha comentado anteriormente.

La utilización de cuatro muelles en vez de uno solo, proporciona una gran estabilidad frente al movimiento de balanceo lateral, así como mayor estabilidad del soporte.

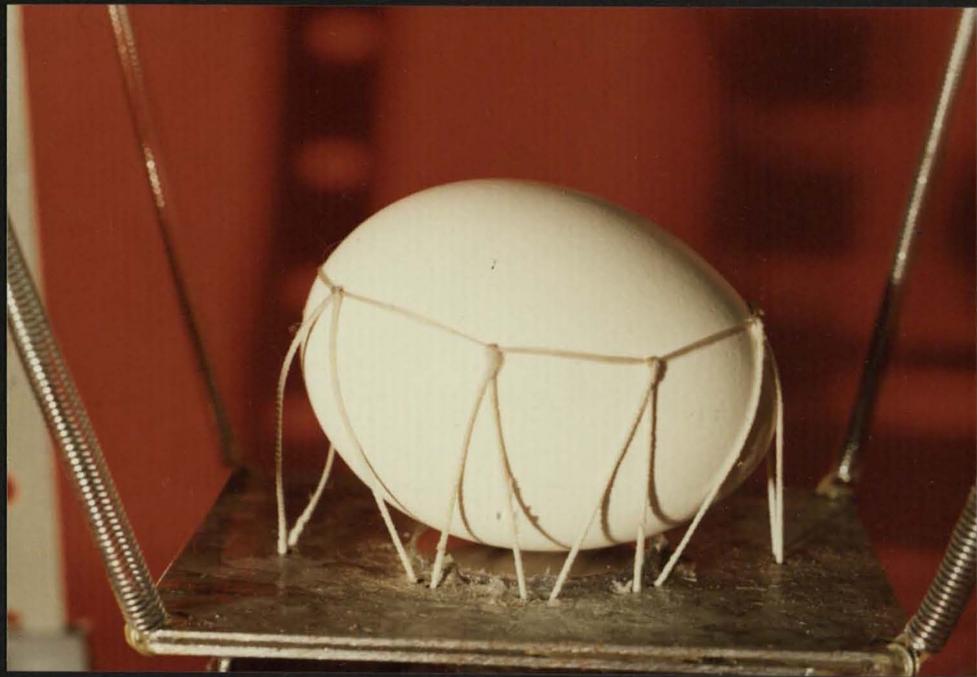


Fig. 23-. Sistema de fijación del huevo sobre el transductor.

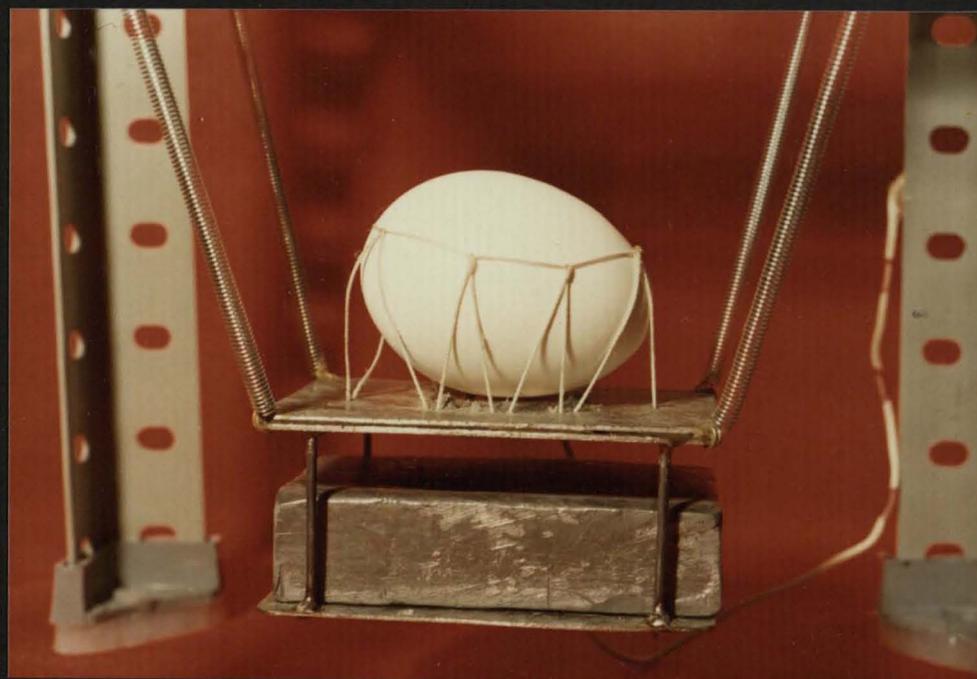


Fig. 24-. Detalle del soporte de medida.
Primer sistema masa-resorte.

MEJORA DE LA RELACION SEÑAL/RUIDO

A pesar de utilizar un sistema masa-resorte, pueden introducirse algunas mejoras en el conjunto del sistema que permitan reducir el nivel de ruido, causado generalmente por vibraciones externas tales como movimiento de personal en los alrededores, tráfico rodado, etc. Como estas vibraciones parásitas suelen ser de muy baja frecuencia, una forma de atenuarlas es utilizando otro sistema masa-resorte; así, se ha suspendido la incubadora de monitorización de unos muelles, y debido a su gran masa se consigue una frecuencia de resonancia inferior a 0,5Hz. (Figura 26).

Por otro lado, a los pies de la estructura de la que está suspendido el soporte de medida, se les ha aplicado una capa de silicona que le confiere un buen amortiguamiento a las frecuencias más altas.

Finalmente, el punto más importante ha sido la utilización de un cable de alta flexibilidad para la conexión de la cerámica, de forma que se evite el ruido de fricción; en efecto, tal como muestra la figura 27, una vibración del soporte A, ya sea por ruido o por movimiento del embrión, provoca, dado que el cable tiene en B movilidad nula por estar sujeto a uno de los pies de la estructura, una tensión mecánica C, en el centro del disco cerámico, tanto mayor cuanto mayor sea la rigidez del cable.

Por esta causa aumentaba el nivel de ruido en un factor de 15 a 20 dB aproximadamente, por lo que

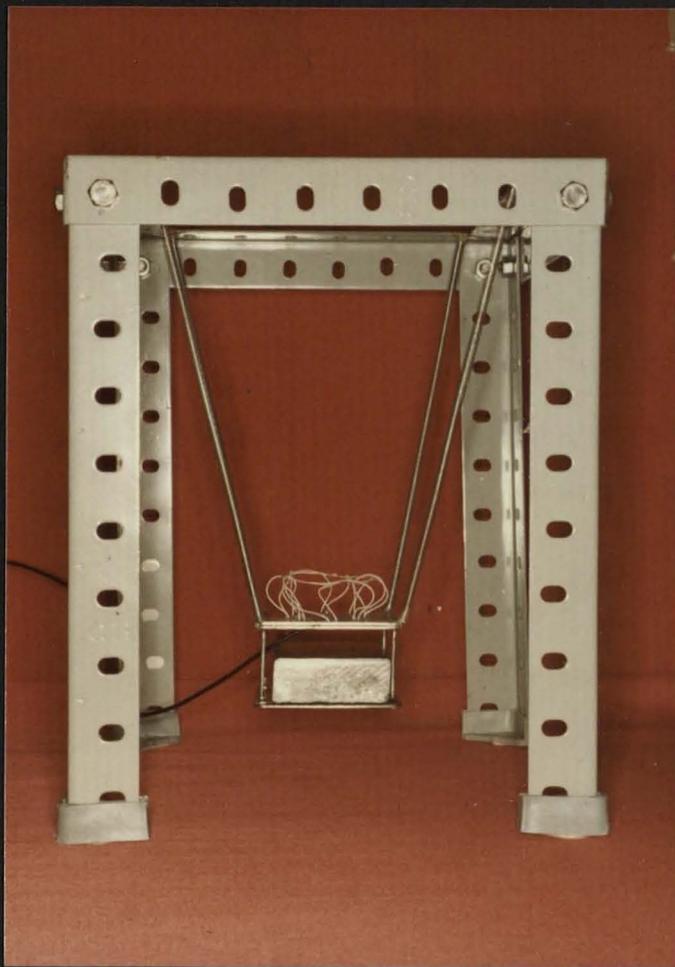


Fig. 25-.Vista completa del soporte de medida.
Primer sistema masa resorte.

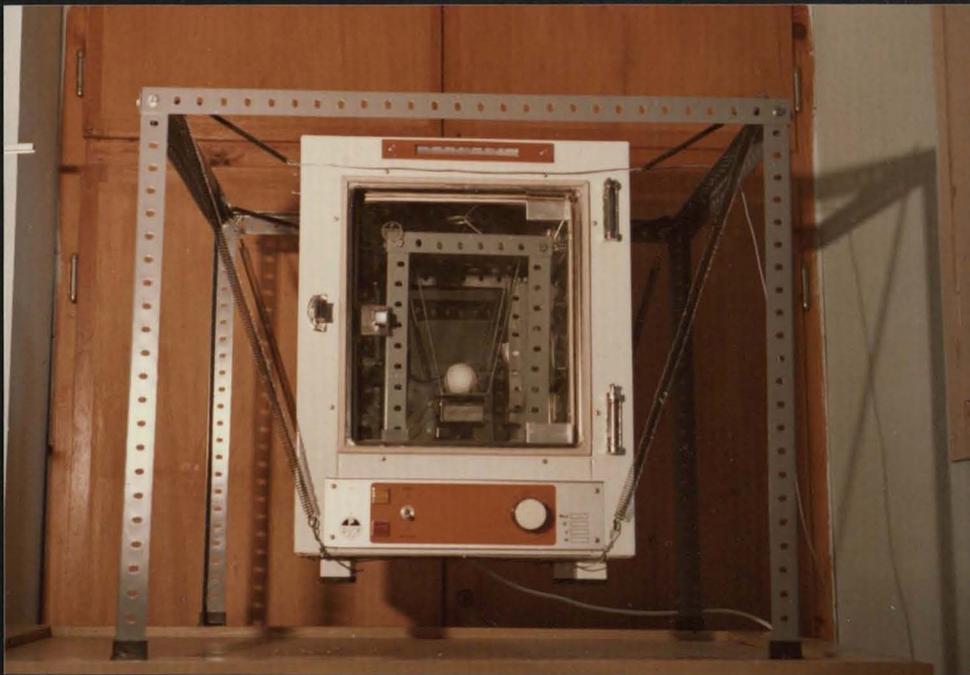


Fig. 26-. Segundo gran sistema masa-resorte.
Permite aislar, aún más, al huevo
de las vibraciones externas.

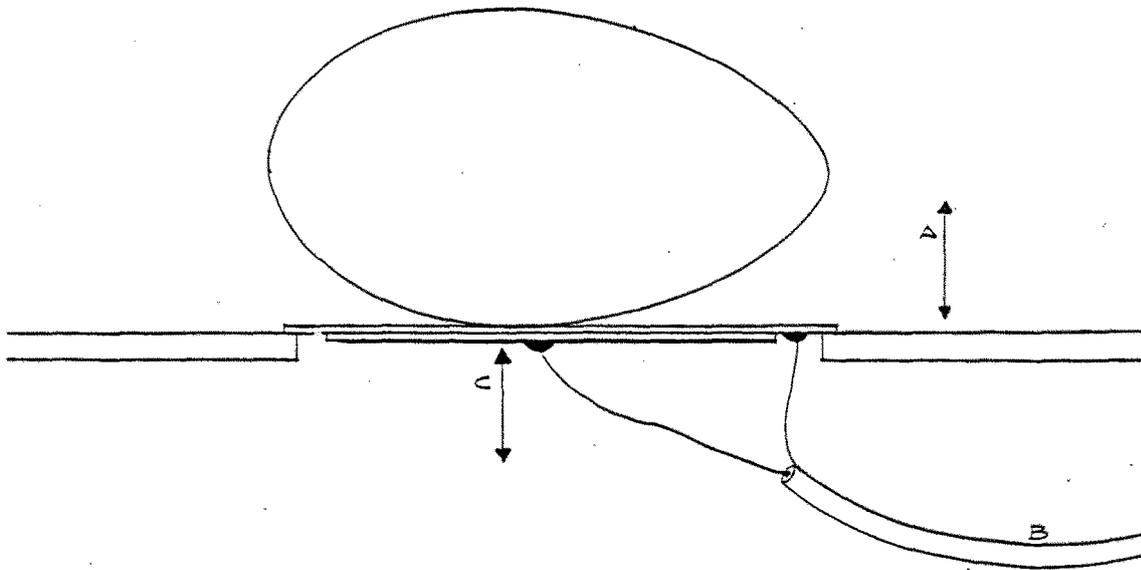


Fig. 27-.Efecto de la rigidez del cable sobre la relación señal/ruido. La vibración A provoca una tensión mecánica C (ruido) en el disco cerámico tanto mayor cuanto mayor sea la rigidez del cable, con movilidad nula en B.

su eliminación ha supuesto la posibilidad de obtener información de embriones extraordinariamente pequeños, llegándose a captar su latido cardíaco en el quinto día de incubación.

Así pues, una vez realizado el sistema de soporte conviene conocer su respuesta frecuencial. Esta se ha obtenido por medio de un acelerómetro colocado sobre las placas metálicas, midiendo la respuesta del soporte a una señal impulsional; este método, que se explica con detalle en el apartado siguiente, requiere de una señal de corta duración temporal, sin embargo, teniendo en cuenta que lo que nos interesa analizar son las muy bajas frecuencias, se hace necesario un largo tiempo de adquisición de la señal por parte del analizador de frecuencias, obteniéndose una relación señal/ruido muy pobre ya que la mayor parte de la señal analizada es ruido.

Los resultados obtenidos, gráficas 2 y 3, permiten no obstante apreciar las principales frecuencias de resonancia del sistema.

La masa de inercia tiene un peso de 850 g.

RESPUESTA FRECUENCIAL DEL TRANSDUCTOR

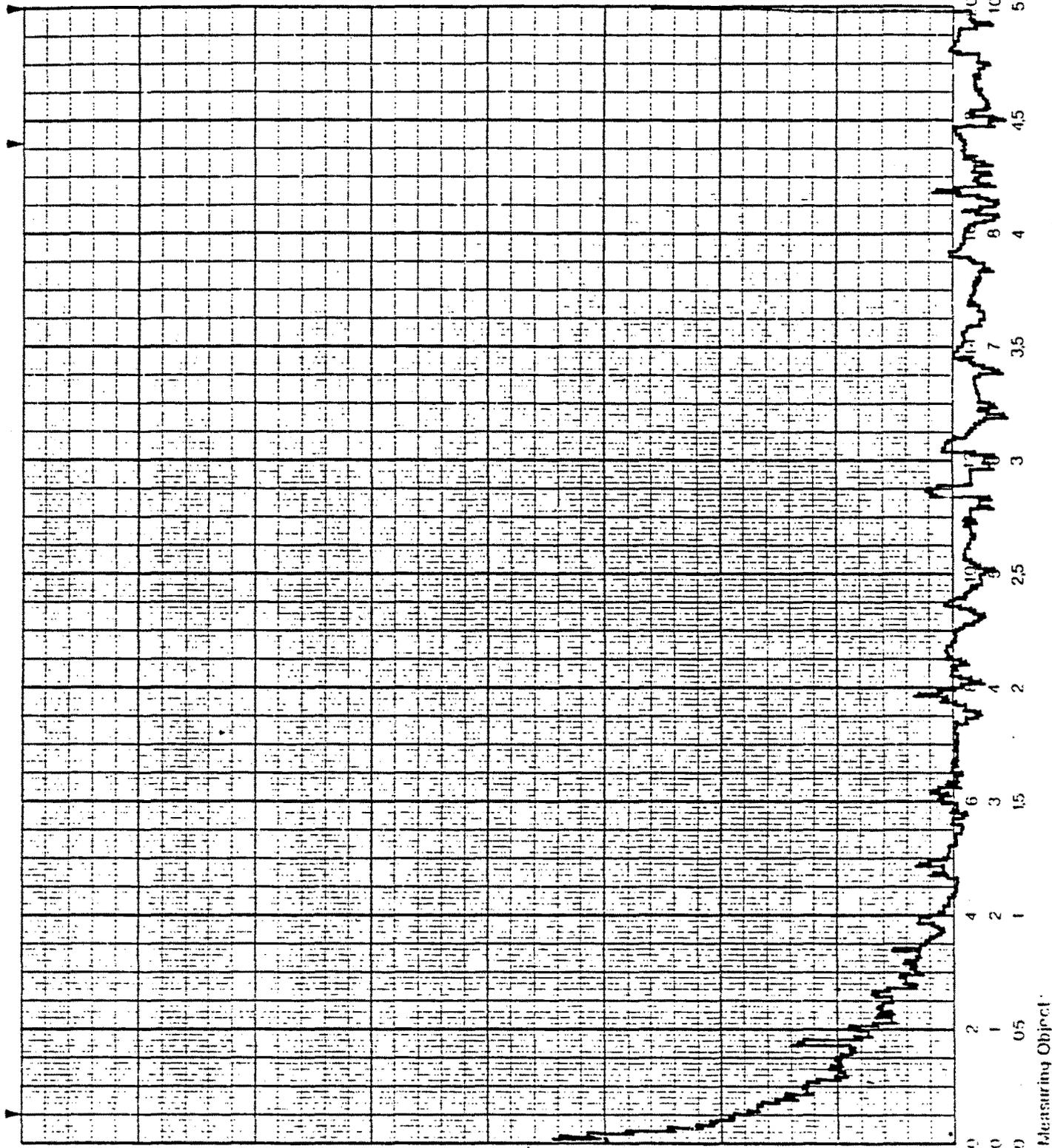
Este apartado, junto con el conocimiento de la banda de frecuencias que abarcan los movimientos del

Full Scale Level
 F S Frequency 50 Hz
 Weighting Hanning
 Average Mode Lineal
 No of Spectra 50

Comments:

Señal de ruido en el
 soporte, medido con un
 acelerómetro sobre las
 chapas del mismo.

Record No. 2
 Date
 Spec

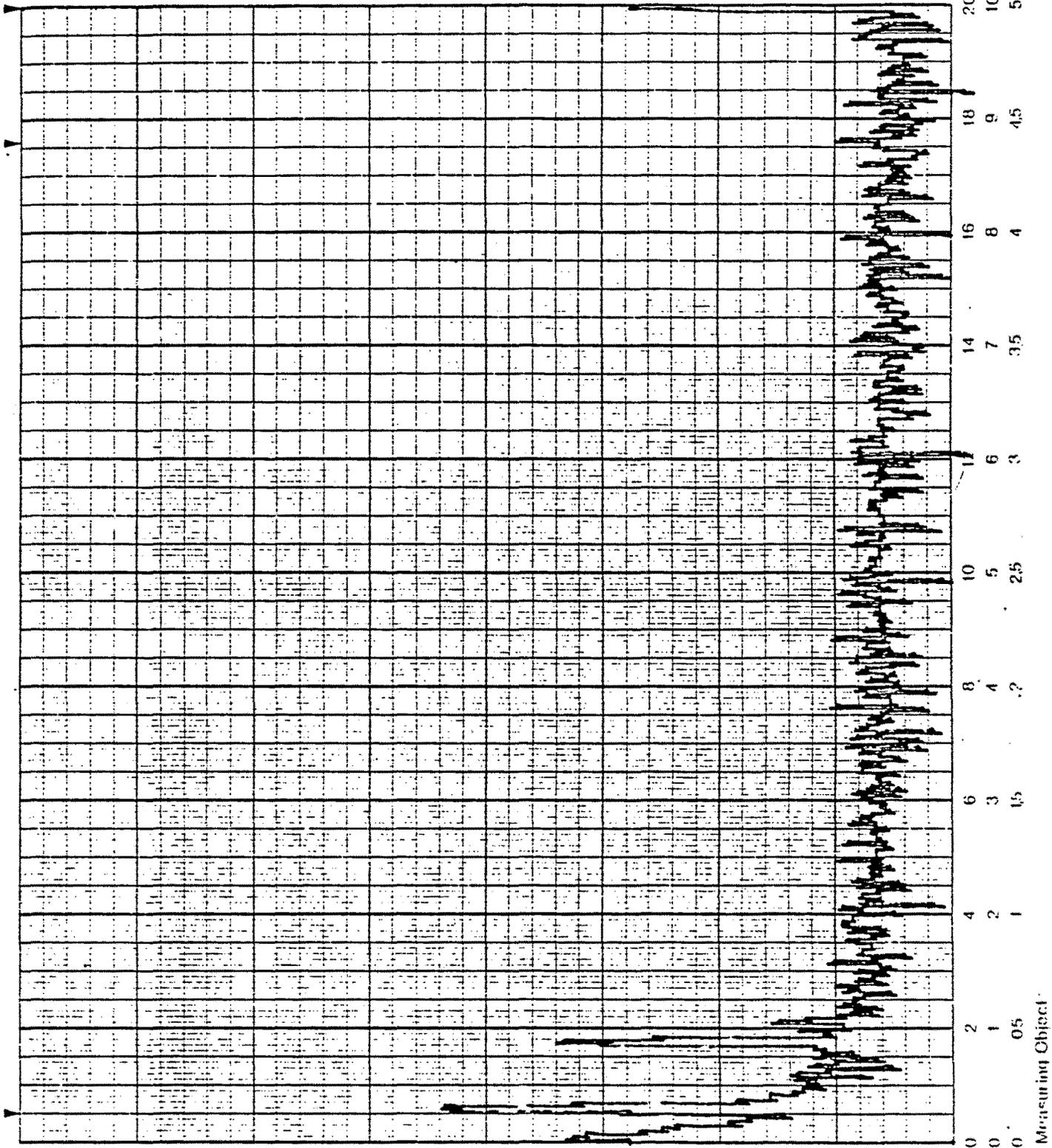


Board & Paper Time Function Start seconds End seconds Not Expanded Expanded

Full Scale Level 50 Hz
F.S. Frequency Hanning
Weighting Linear
Average Mode 20
No. of Spectra
Comments

Respuesta impulsional del soporte, medido con un acelerómetro sobre las chapas del mismo.

Record No: 3
Date
Gain



embrión, va a determinar la validez del método em
pleado.

Durante las pruebas de estudio de esta característi
ca del transductor, se observó que aparecía una
modulación de 20 Hz en la respuesta frecuencial
del sistema, que correspondía a un mal asentamient
o del disco cerámico sobre la chapa, lo cual se
comprobó excitando el soporte directamente sobre
la chapa. Para solucionar este inconveniente se
asentó el disco cerámico sobre silicona, de forma
que quedase correctamente fijado y sin contacto di
recto con las placas metálicas.

Para conocer su respuesta frecuencial es necesa-
rio ver cómo responde a las vibraciones externas,
pero por la morfología del soporte es imposible
la utilización de un "excitador de vibraciones",
por lo que es necesario aplicar una excitación de
banda ancha por medio de un impacto, que debe ser
lo más breve posible. En el método del impacto,
el impulsor contiene energía en un campo amplio de
frecuencias y por lo tanto excita todos los modos
de interés simultáneamente, la señal que así se
genera, convenientemente tratada, se analiza con
técnicas de la transformación Rápida de Fourier
(FFT), lo que nos permite conocer el módulo del
espectro de frecuencias de la señal en cuestión
y por lo tanto la magnitud de la respuesta fre-
cuencial del sistema soporte-transductor.

Conviene que el impacto sea lo más breve posible para obtener lo que matemáticamente se conoce como la delta de Dirac, cuyo espectro frecuencial es completamente plano. Para producir este impacto se ha dejado caer sobre el disco cerámico una masa de impacto esférica de muy poco peso, ya que cuanto más breve es el tiempo de impacto mejor es éste.

De igual forma que se estudia la respuesta frecuencial del transductor, es conveniente conocer cómo se ve afectada ésta al colocar un huevo sobre el mismo, y para evitar los efectos que podrían producir los modos propios de distintos huevos, se ha utilizado un cascarón de huevo relleno con escayola y con un peso similar al de los huevos que se van a estudiar.

Un hecho interesante que se ha comprobado es que el punto del cascarón donde se produce el impacto apenas modifica los resultados obtenidos, lo cual parece indicar que *el cascarón actúa integrando los impulsos que recibe en los diversos puntos de su superficie y distribuyendo su energía de igual forma por toda ella*, por lo que podemos suponer que los movimientos producidos por el embrión en el interior del huevo se transmiten con igual intensidad a todos los puntos del cascarón, con lo que podemos decir que el punto del cascarón donde se efectúa la medida no altera el resultado obtenido.

Aplicando el sistema explicado, se ha obtenido que la respuesta del soporte es completamente plana desde 25 hasta 500 Hz; las frecuencias superiores no entran dentro de nuestra banda de interés. El aumento de nivel que se observa en las frecuencias inferiores a 25 Hz, es debido a las frecuencias de resonancia del sistema, ya que por tener varios grados de libertad presenta más de una. Las principales se encuentran en 1,55 y 4,5 Hz. En la gráfica 4 puede observarse el resultado comentado; en la misma aparece una frecuencia parásita de 50 Hz correspondiente a la red eléctrica, y cuya influencia ha sido minimizada en el mayor grado posible, debiendo tenerse en cuenta que el disco piezoeléctrico actúa básicamente como un condensador respecto a los parásitos, siendo por tanto muy difícil su blindaje con los medios disponibles en el momento del experimento.

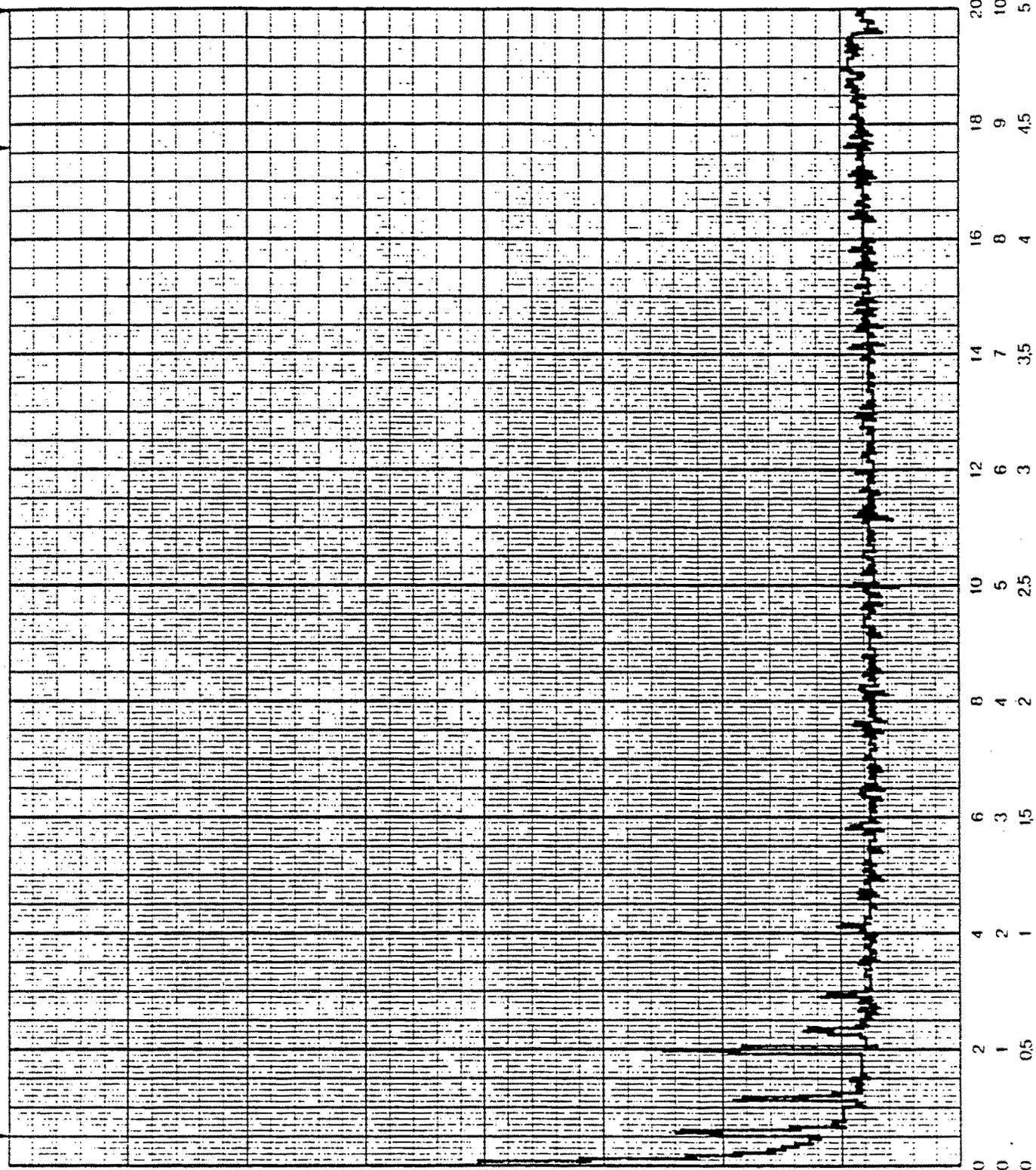
En la gráfica 5 se tiene la respuesta frecuencial del sistema con un huevo de 53,5 g sobre el disco cerámico y como puede verse aparece una clara resonancia en los 150 Hz, esta característica frecuencial corresponde exactamente a un sistema masa-muelle amortiguado, en este caso la masa es el huevo, el muelle es el disco cerámico que flexa al ser sometido al peso del huevo y la resistencia o amortiguamiento lo produce la propia constitución del transductor, ya que no es un muelle ideal, y especialmente el roce entre el huevo y el disco cerámico; la silicona modifica ligeramente

Full Scale Level 70 dB
 F.S. Frequency 500 Hz
 Weighting Hanning
 Average Mode Linear
 No. of Spectra 20

Comments:

Respuesta impulsional
 del conjunto transduc-
 tor-soporte obtenido
 por el método del
 impacto, producido éste
 en el centro del disco
 cerámico piezoelectri-
 co.

Record No. 4
 Date
 Sign



Measuring Object:

Brüel & Kjær

Time Function Start: seconds

End:

seconds

Not Expanded

Expanded

Full Scale Level

500 Hz

F. S. Frequency

Hanning Weighting

Linear Average Mode

20 No. of Spectra

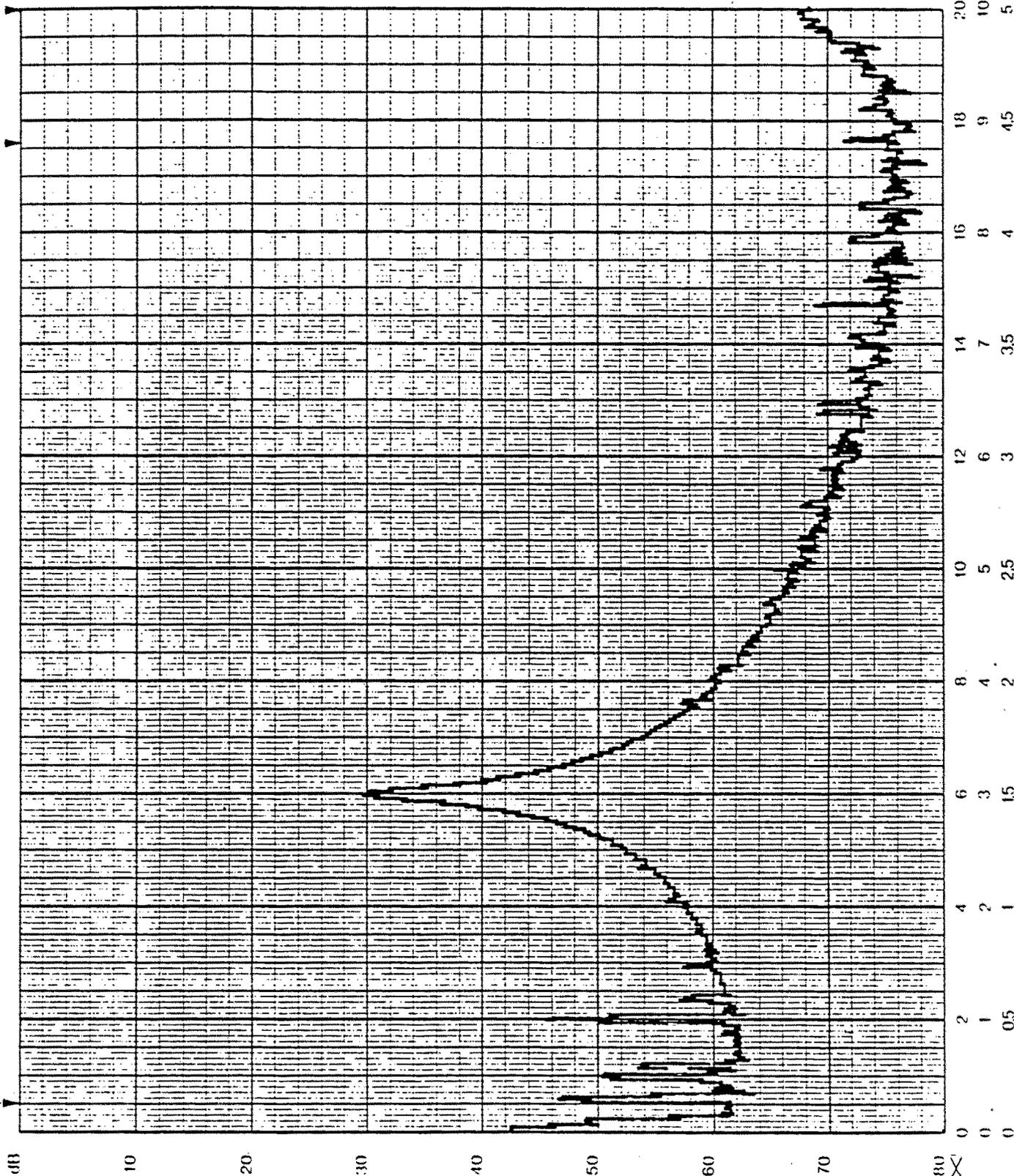
Comments:

Respuesta impulsional del soporte con un huevo de 53,5 grs sobre el disco cerámico, produciendo el impacto sobre el cascarón del huevo.

Record No.: 5

Date:

Step:



20 40 80

0 0.5 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

Measuring Object:

QP 100?

la frecuencia de resonancia. Según estas consideraciones, la frecuencia de resonancia debe variar con la masa del huevo, según la ecuación que define la pulsación de resonancia de un sistema de movimiento armónico simple

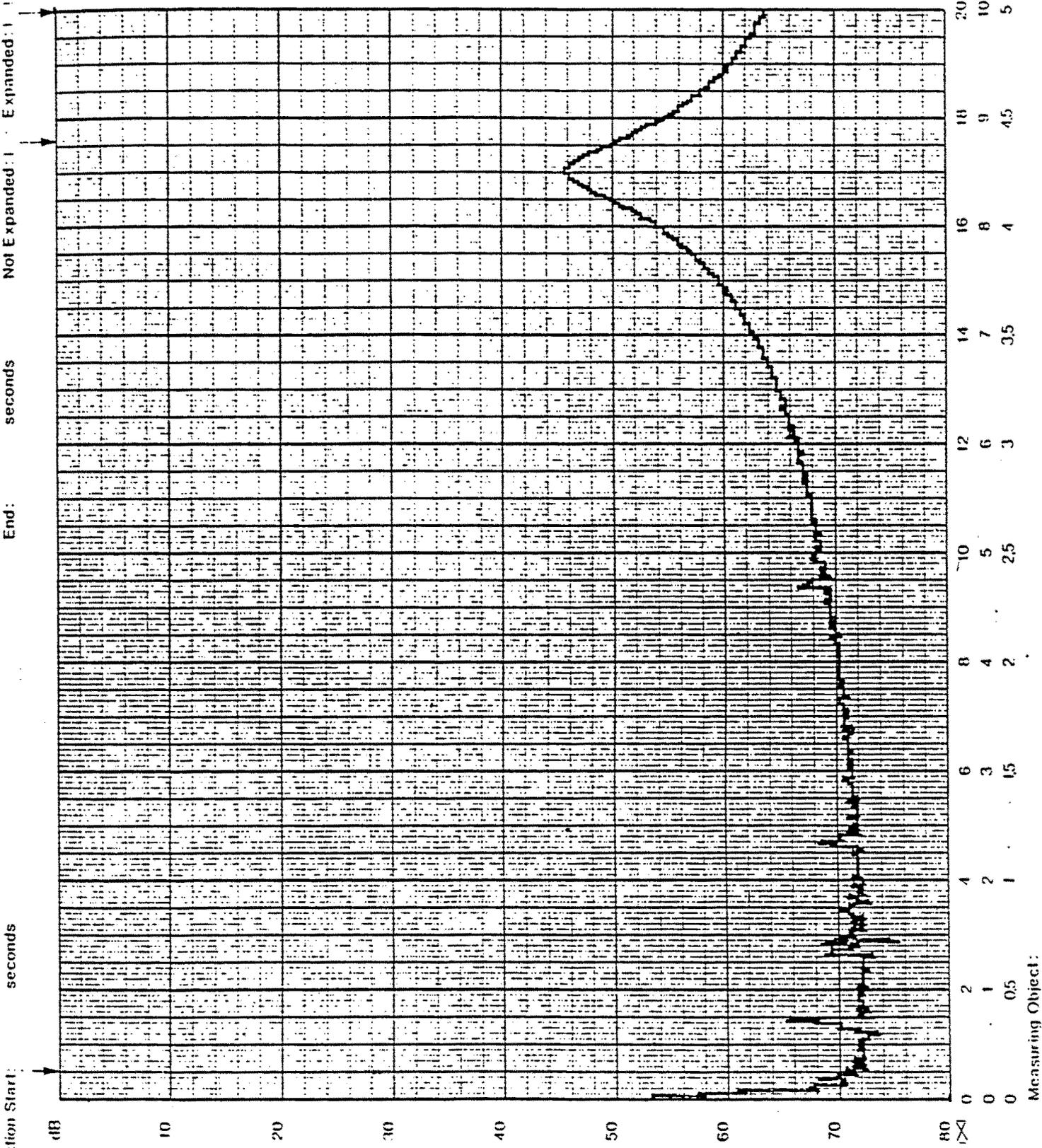
$$w_0 = \sqrt{\frac{k}{m}}$$

donde w_0 es la pulsación natural del sistema, k es la rigidez del muelle y m es la masa.

En las gráficas 6 y 7 se presentan respuestas correspondientes a huevos (igualmente con escayola en su interior) de distintos pesos; la relación entre w_0 y la masa del huevo que se ha obtenido en varios casos, da los siguientes valores de la rigidez k .

MASA (g)	$f_0 = \frac{w_0}{2\pi}$ (Hz)	$K \left(\frac{N}{m} \right)$
79,7	140	61,66 10^6
67,5	150	59,95 10^6
51,9	170	59,21 10^6
45	184	60,14 10^6
31,8	217,5	59,66 10^6
18	288	58,94 10^6

La máxima variación es del 4.6% por lo que puede tomarse



Bruel & Kjaer
 Full Scale Level
 F S Frequency 200 Hz
 Weighting Hanning
 Average Mode Linear
 No of Spectra 20
 Comments:

Respuesta impulsional
 del soporte con un hue
 vo de 51,9 grs sobre
 el disco cerámico, pro-
 duciendo el impacto so
 bre el cascarón del
 huevo.

Record No.: 6
 Date:
 Sign:
 Measuring Object:

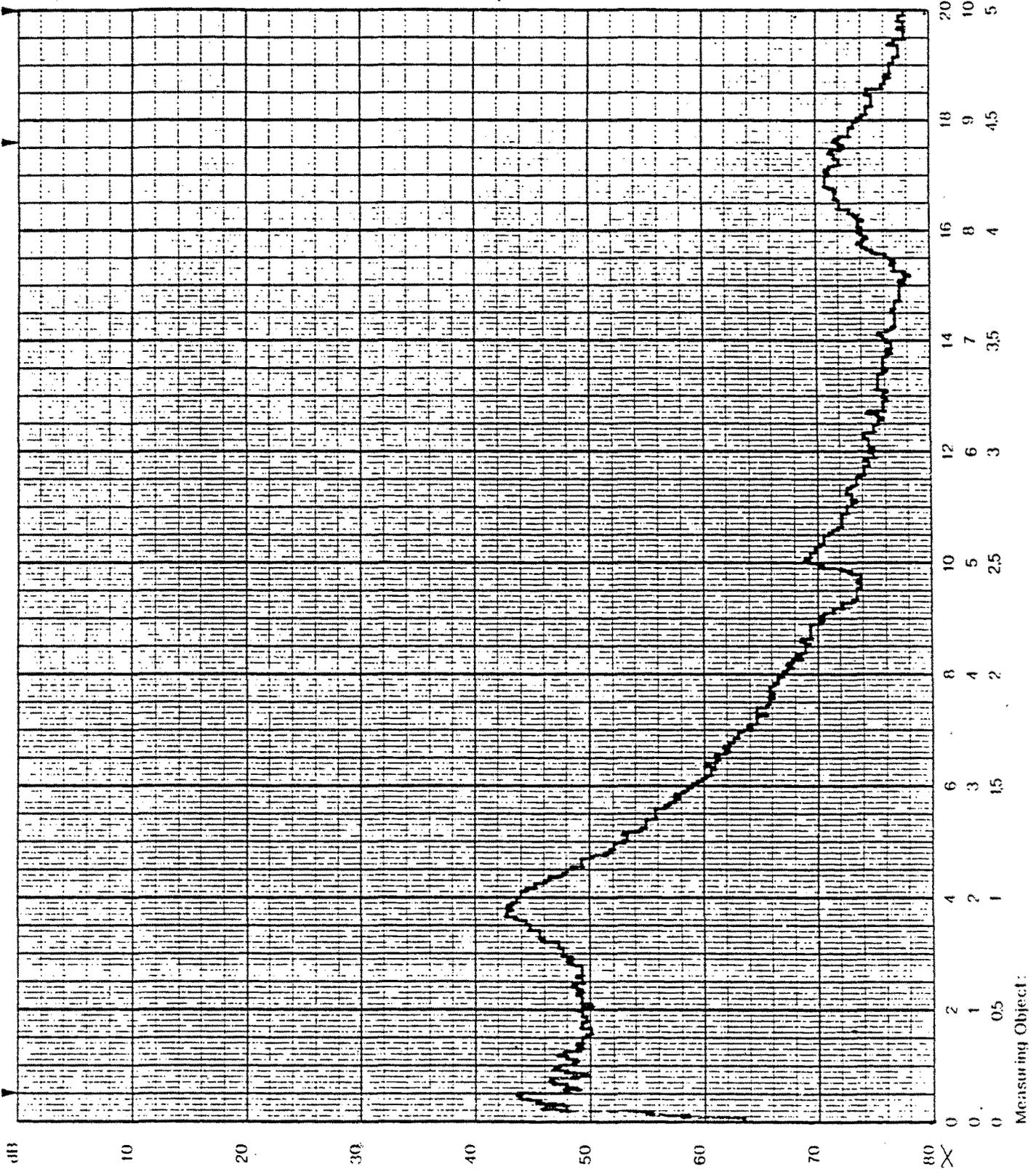
$$k = 60,3 \cdot 10^6 \pm 23\% \quad \text{N/m}$$

Esto nos plantea un problema, ya que la respuesta del transductor es muy buena, pero en las condiciones de medida, esto es, con un huevo sobre el mismo, se ve sensiblemente afectada; una posible solución sería utilizar un disco cerámico con una rigidez superior, lo cual equivale a que éste sea más grueso y por lo tanto tenga una sensibilidad inferior. No nos interesa puesto que perjudicaría la relación señal/ruido, aumentando el nivel umbral de la señal que es posible medir. Otra solución sería diseñar un filtro inverso a la respuesta del conjunto transductor-huevo, pero esta solución no es viable en la práctica ya que, según se ha visto, la frecuencia de resonancia varía con el peso del huevo, por lo que habría que diseñar varios filtros para los distintos huevos, y lo que es más importante, el peso del huevo va variando según aumenta su período de incubación en un promedio de 18 al 22% lo cual haría necesario un filtro de características controlables, demasiado complejo para ser útil. Queda por tanto evaluar cuanto afecta a la medida esta resonancia que no podemos eliminar, para lo que se ha de estudiar la banda concreta que ocupa la señal generada por el embrión; ésta varía con el período de desarrollo embrionario, pero puede considerarse que hasta que no supera los 18 días se mantiene por debajo de los 250 Hz, y desde los 18 hasta el momento de la eclosión llega hasta los 400 ó 500 Hz tal como muestran las gráficas 8 y 9, confirmando así la hipótesis inicial. Sin embargo, si tenemos en cuen-

Full Scale Level **110 dB**
 F.S. Frequency **1000 Hz**
 Weighting **Hanning**
 Average Mode **Lineal**
 No. of Spectra **900**

Comments:

Gráfica correspondien
 te a un embrión de 20
 días de incubación.



20 40 80 X
 0 0.5 1 1.5 2 2.5 3 3.5 4 4.5 5 10 15 20

Record No.: 8

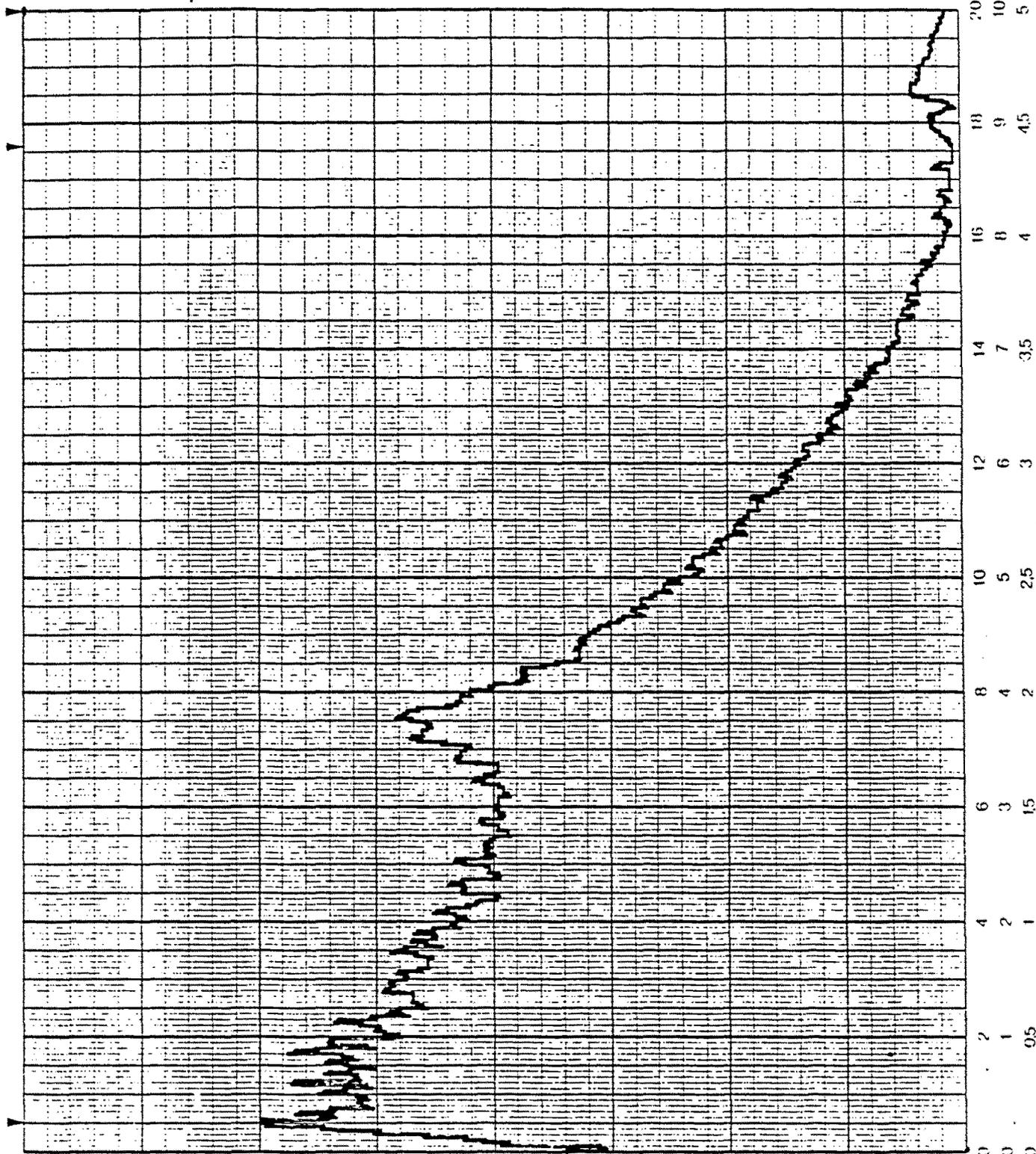
Date:

Step:

Full Scale Level 70 dB
1/3 Frequency 500 Hz
Weighting Hanning
Average Mode Lineal
No. of Spectra 10

Comments:

Gráfica correspondiente a un embrión de 18 días de incubación.



Record No.: 9

Date:

Sign:

ta que la densidad espectral de energía de esta señal es inversamente proporcional a la frecuencia, podemos aceptar la distorsión que se introduce en la medida como poco importante, especialmente para estadíos inferiores a 17-18 días que son los que centran el interés principal de este estudio.

Esta frecuencia de resonancia está en un punto en el que las ondas acústicas audibles tienen cierta importancia y, debido tanto al carácter microfónico del disco cerámico piezoeléctrico como a la vibración que éstas causan en el cascarón del huevo, se produce un aumento sensible del nivel de ruido en esta zona frecuencial, en comparación con el nivel umbral, por causa de las variaciones de presión sonora o ruido ambiental.

SENSIBILIDAD Y LINEALIDAD DEL TRANSDUCTOR

Una vez comprobada la utilidad del transductor se ha de proceder a su calibración, punto indispensable para conocer el índice de motilidad del embrión en unidades de fuerza, es decir, Newtons, que es lo que en definitiva nos permitirá interpretar los resultados que se obtengan. La calibración se realiza como un sensor de fuerza porque el montaje y el comportamiento del mismo así lo aconsejan, ya que la señal que se obtiene corresponde a la comprensión que sufre el material cerámico entre la masa de inercia por un lado y la masa del huevo por otro.

El procedimiento para realizar esta calibración

requiere la aplicación de una fuerza conocida que nos permita calcular la relación existente entre la entrada, en unidades de fuerza, y la tensión de salida. Esta fuerza ha de aplicarse sobre un huevo para simular las condiciones exactas de medida, y sin embargo los modos propios del cascarón podrían falsear la medida cuando realmente el tamaño, textura o dureza del mismo no varían la sensibilidad del transductor; por esta causa se ha utilizado, como en el caso anterior, un cascarón de huevo relleno de escayola y con un peso similar al de los huevos a estudiar.

Por las razones explicadas en el apartado anterior, la forma más correcta de aplicar una fuerza es con el método del impacto y para su aplicación se puede utilizar un martillo de impactos con transductor de fuerza, lo cual nos permitiría conocer la fuerza aplicada en cada golpe; pero dado que el soporte está formado por muelles, por tanto muy sensibles a las bajas frecuencias, es posible que al producir el impacto éste no fuese todo lo ideal que cabría desear y que contuviese mayor energía en la banda de las muy bajas frecuencias por la intervención humana en la aplicación del mismo.

Finalmente, en consecuencia, se ha aplicado la fuerza por medio del método del impacto tal como se vio en el apartado anterior; se ha hecho el promedio de las señales obtenidas por varios impactos para obtener una medida con mejor relación señal/ruido, controlando tanto el punto de impacto como la trayectoria descrita por la masa de impacto de forma que sean iguales en todos los casos, ya que

a pesar de que, como se ha comentado, el punto de impacto no afecta sensiblemente a la respuesta frecuencial, sí podría desarrollarse una fuerza distinta en caso de seguir una trayectoria diferente.

Una vez tenemos el medio de aplicar el impacto, se ha de encontrar cómo calcular la fuerza que éste produce, para lo cual se ha de utilizar un transductor cuya respuesta sea completamente conocida y fiable, transductor que en nuestro caso será el sensor de fuerzas B & K tipo 8001 tal como se puede ver en la figura 19.

Produciendo en ambos transductores los mismos impactos y comparando los resultados obtenidos, se puede conseguir una calibración fiable de nuestro sistema de medida.

Se ha hecho el análisis en la banda de 0 a 100 Hz ya que para frecuencias superiores se tiene la influencia de la resonancia producida por el conjunto del disco cerámico y el huevo, que ya se ha visto. Prescindiendo de este efecto, que por supuesto no modifica la sensibilidad de la cerámica, el cálculo es completamente válido en la banda elegida.

Otro factor de gran importancia, es comprobar la linealidad del disco cerámico, es decir, que la relación entre la excitación y la respuesta es completamente lineal; utilizando el mismo método impulsional se puede comprobar también esta característica utilizando masas de impacto de distinto tamaño y por tanto de distinto peso.

Las gráficas 10, 11, 12 y 13 representan los resultados obtenidos con ambos transductores para dos masas de impacto distintas. El sensor de fuerzas, por carecer de un sistema de aislamiento de las vibraciones externas, presenta por debajo de los 20 Hz componentes de ruido.

La sensibilidad del transductor B & K, 350 pC/N, está fuera del margen aceptado por el amplificador de carga utilizado, en el que se ha señalado como sensibilidad del transductor 3,5 pC/N, así pues los resultados obtenidos corresponden a los reales multiplicados por 100, lo que equivale a un aumento de 40 dB. Este factor ya ha sido corregido en las gráficas, que utilizan el mismo nivel de referencia.

Las condiciones de medida son:

	<u>Sensibilidad</u>	<u>Ganancia</u>
-Transductor B&K 8001	350 pC/N	10 mV/N
-Disco cerámico	10 pC/N	0,1 mV/N

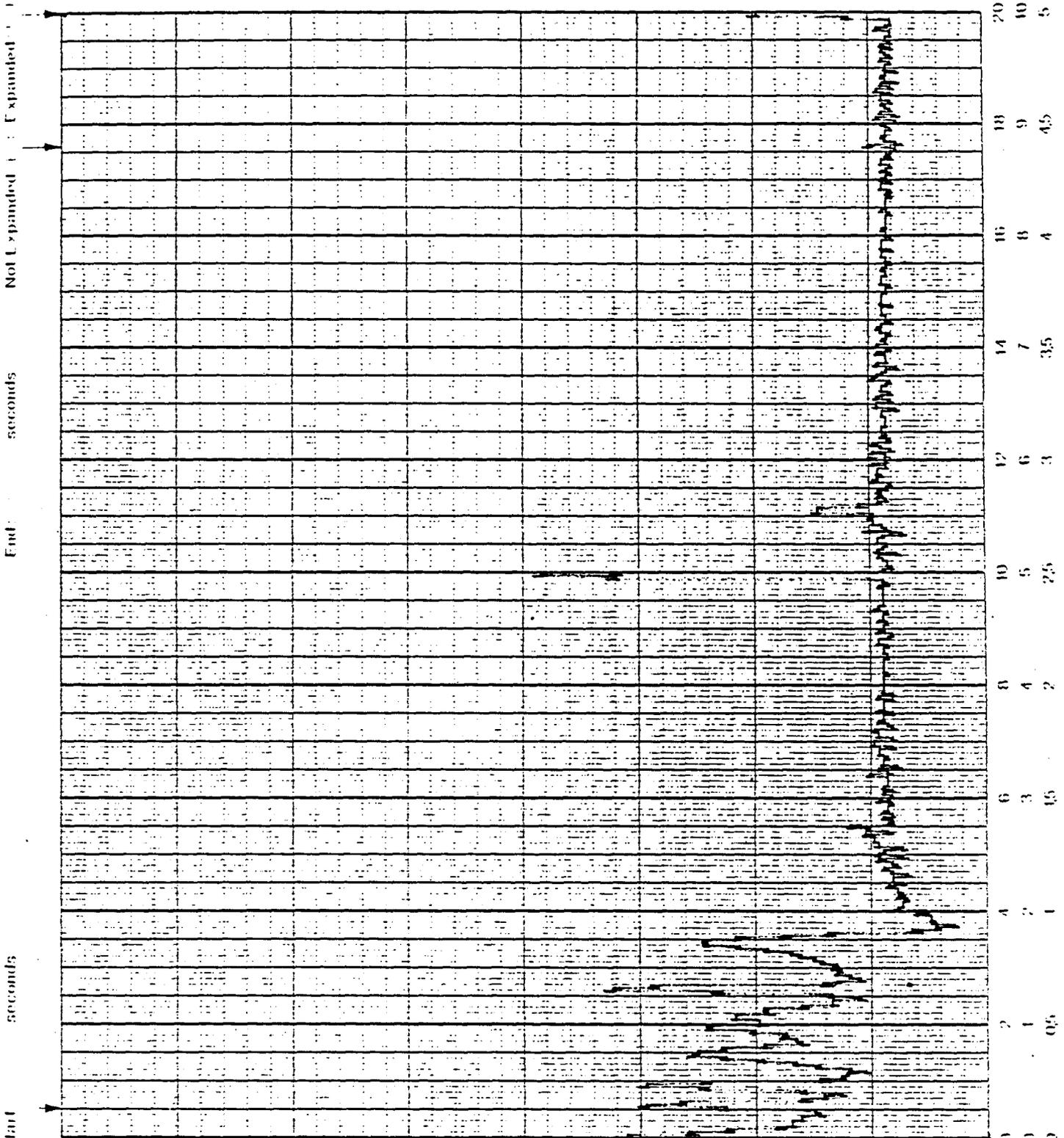
A continuación se calculó la sensibilidad del disco cerámico en función de la diferencia en dB obtenida entre ambos transductores

a= dB medidos con el transductor B&K 8001

b= dB medidos con el disco cerámico

$$a = 20 \log \frac{V_1}{V_0}$$

$$b = 20 \log \frac{V_2}{V_0}$$



Brüel & Kjær

seconds

Expanded

Not Expanded

seconds

Time Function Start

Full Scale Level 30 dB
 Filter Frequency 100 Hz
 Weighting Hanning
 Average Mode Lineal
 No. of Spectra 20

Comments

Respuesta obtenida por el método del impacto sobre el cascarrón de un huevo con el sensor de fuerzas B&K 8001, usando una masa de impacto esférica de acero de 1,5 mm. de diametro.

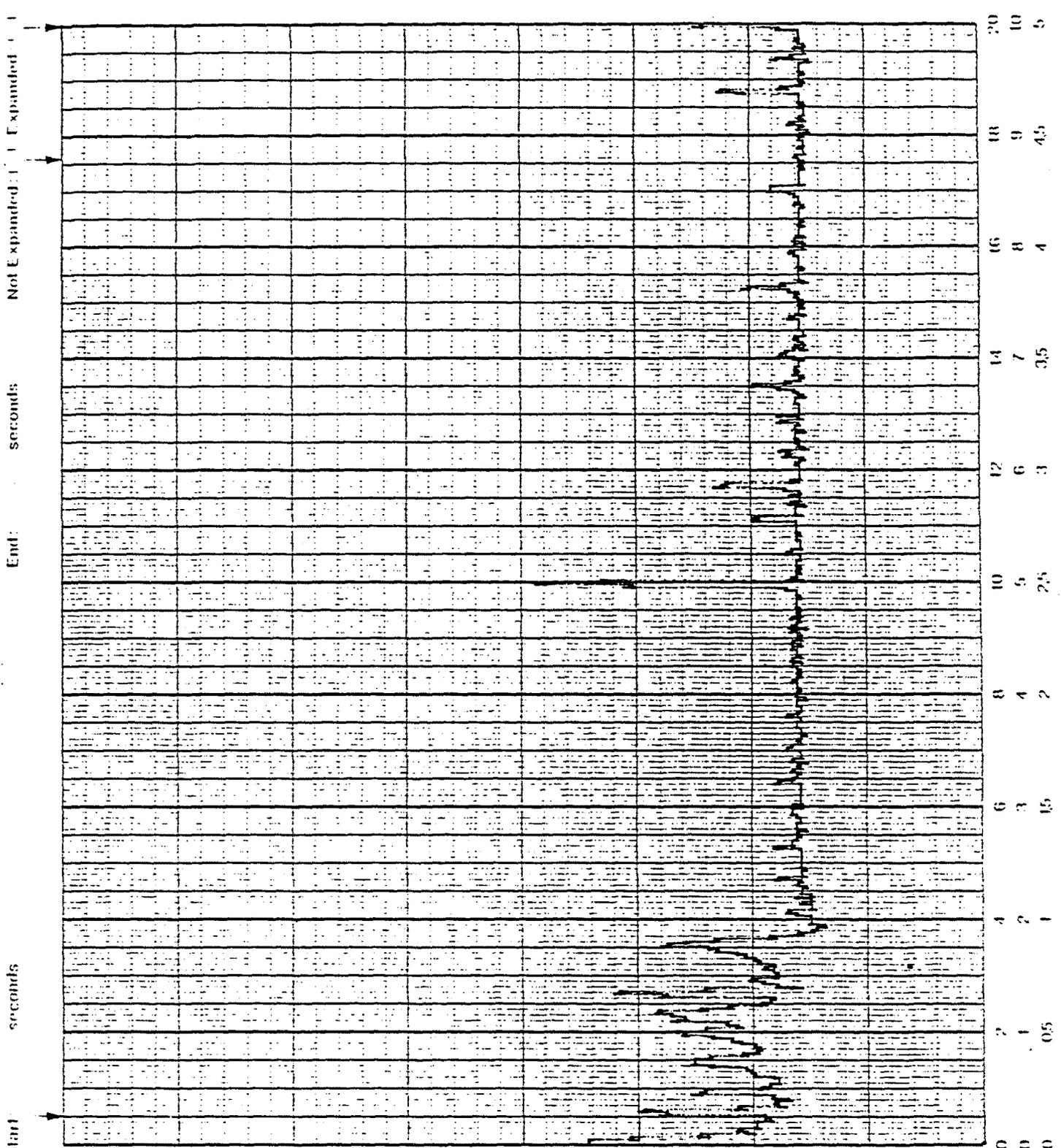
Record No. 10

Date

Sign

OP 1007

Measuring Object



Brand & Kjaer
 Filter Scale Level 30 dB
 Filter Frequency 100 Hz
 Weighting Hanning
 Average Mode Lineal
 No. of Spectra 20

Comments:

Idem que el anterior,
 ero la masa de impacto
 tiene un diametro de
 mm.

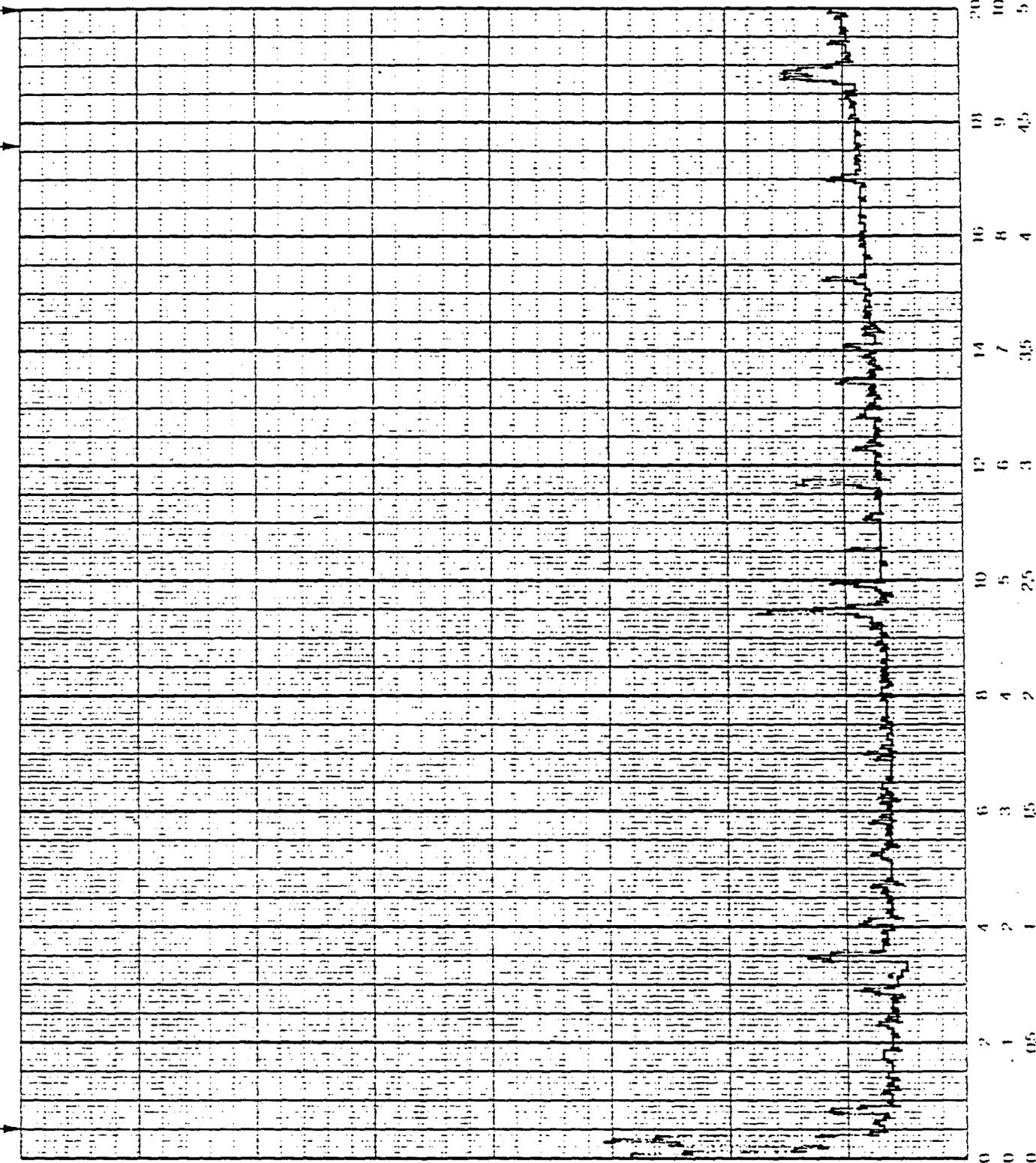
Record No. 11

Date

Scan

OP 4002

Measuring Object:



dB
 80
 100 Hz
 Hanning
 Linear
 20

Comments:

Respuesta obtenida por
 el método del impacto,
 sobre el cascarón del
 huevo, con el disco ce-
 ámico; usando masa de
 impacto esférica de
 acero de 1,5 mm. de
 diámetro.

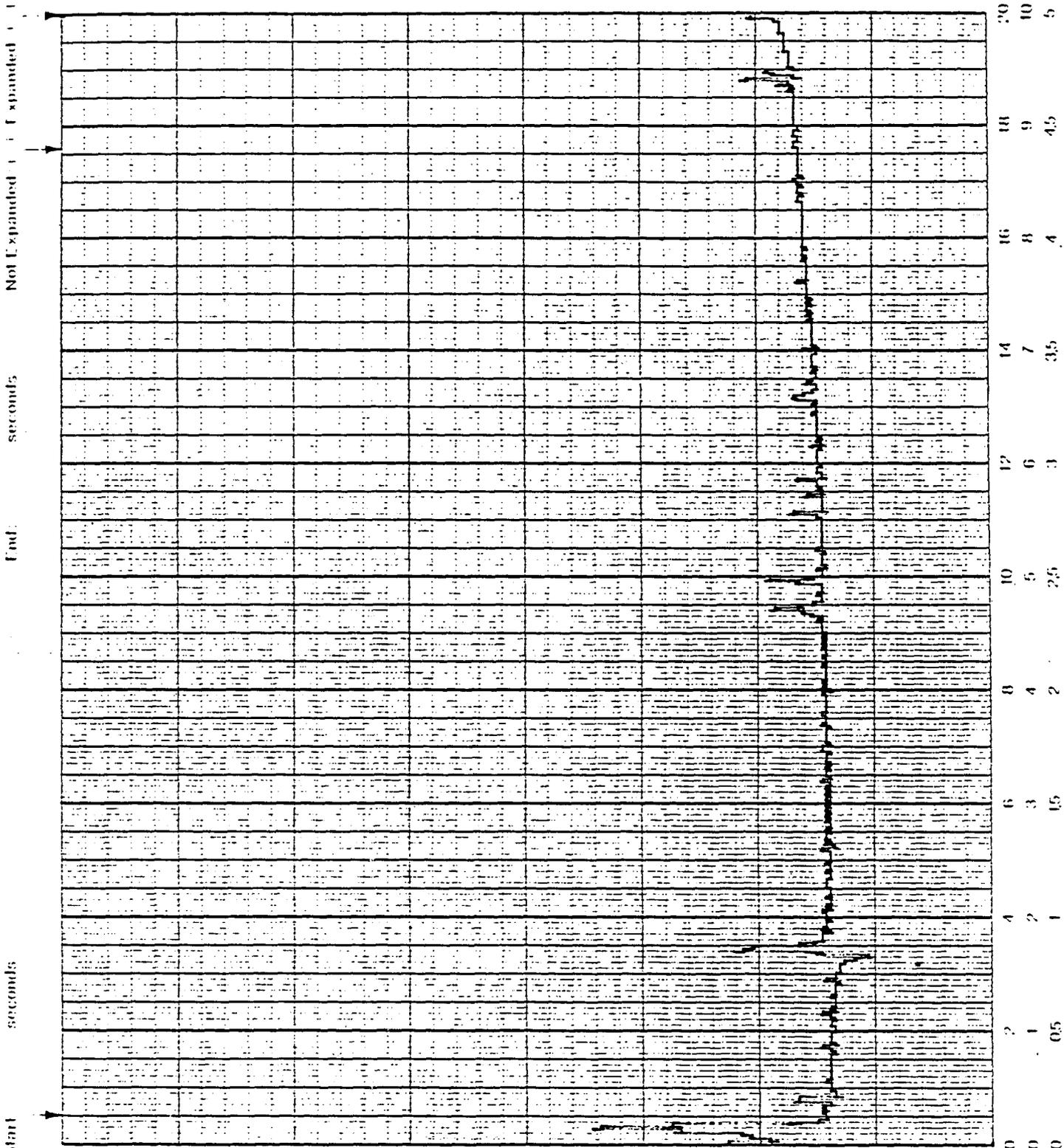
Record No 12

Date

Site

20 40 60 80
 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
 0 0.5 1 1.5 2 2.5 3 3.5 4 4.5 5
 0 10 15 20

Measuring Object:



Model & Kiper
 Off Scale Level 80 dB
 S Frequency 100 Hz
 Weighting Hanning
 Average Mode Lineal
 No of Spectra 20

Comments

Idem que la anterior
 pero el impacto lo pro
 dice una masa esférica
 de 2 mm. de diametro.

Record No 13

Date

Spec

Measuring Object:

OP 1002

donde V_0 es la tensión de referencia.
Podemos poner:

$$b - a = 20 \log \frac{V_2}{V_1}$$

es decir

$$V_2 = 10^{\frac{b-a}{20}} V_1$$

Pero por otro lado, V_2 y V_1 son proporcionales a la fuerza producida por la masa de impacto que es la misma en ambos casos y a la que llamaremos F . Teniendo en cuenta además que ambos transductores responden a esta fuerza produciendo unas cargas q_1 y q_2 diferentes, dada su diferente sensibilidad, se puede hacer:

$$V_1 = F \cdot 10 \text{ mV/N} = \frac{q_1}{350 \text{ pC/N}} \cdot 10 \text{ mV/N}$$

$$V_2 = F \cdot 0,1 \text{ mV/N} = \frac{q_2}{10 \text{ pC/N}} \cdot 0,1 \text{ mV/N}$$

Siendo q_1 y q_2 la carga producida por el sensor de fuerza y por el disco cerámico respectivamente.

Operando con las tres últimas ecuaciones se obtiene

$$q_2 = 10 \cdot \frac{b-a}{20} \cdot q_1 \cdot \frac{1000}{350}$$

y sabiendo que

$$q = \text{Fuerza} \cdot \text{Sensibilidad}$$

y que ambas fuerzas son iguales, podemos concluir que:

$$\text{Sensibilidad disco cerámico} = 10^{\frac{b-a}{20}} 1000 \text{ pC/N}$$

Buscando los valores de a y b en las gráficas 10, 11, 12 y 13 se tiene

	<u>b</u>	<u>a</u>	<u>b-a</u>
masa de \emptyset 1,5mm	6,8 dB	-41 dB	47,8 dB
masa de \emptyset 2 mm	14 dB	-34 dB	48 dB

En el caso del disco cerámico se han tomado estos valores en la zona de 0 a 50 Hz, donde no se tiene la influencia de la resonancia del conjunto disco cerámico - huevo. La diferencia que se obtiene entre los resultados de las dos masas de impacto, se debe a las imprecisiones derivadas de la apreciación visual de las gráficas, así como a un limitado número de muestras utilizadas en el cálculo del promedio, no obstante puede considerarse despreciable; la sensibilidad que se obtiene en ambos casos es:

\emptyset 1,5 mm	245470 pC/N
\emptyset 2 mm	251188 pC/n

Teniendo en cuenta que la diferencia entre ambas es de 5718 pC/N, que significa un 2,3% de su valor, se puede tomar como valor muy aproximado el de

$$250000 \text{ pC/N}$$

Así pues, la sensibilidad del disco cerámico es aproximadamente 714 veces la del transductor de fuerza, lo que viene a confirmar la ya comentada baja sensibilidad de éste para el tipo de señal que nos ocupa.

El segundo punto de este apartado es el de la linealidad del disco cerámico. La fuerza ejercida por la masa de impacto, en su choque con el cascarón del huevo, es directamente proporcional al peso de ésta ya que

$$F = \text{masa} \cdot \text{aceleración}$$

y la aceleración, por ser en este caso la fuerza gravitatoria, es constante; por esta causa la proporcionalidad entre las fuerzas producidas por ambas masas, puede expresarse como el cociente de su peso

$$\text{peso } \varnothing 1,5 \text{ mm} = 14,59 \text{ mg}$$

$$\text{peso } \varnothing 2 \text{ mm} = 33,06 \text{ mg}$$

$$\frac{F_2}{F_1} = \frac{\text{peso } \varnothing 1,5 \text{ mm}}{\text{peso } \varnothing 2 \text{ mm}} = 2,265753$$

Esta relación expresada en dB es:

$$n \text{ dB} = 20 \log \frac{F_2}{F_1} = 7,10 \text{ dB}$$

Por lo tanto, si el transductor es lineal, tendrá que haber una diferencia de 7,1 dB entre los módulos de los espectros correspondientes a las seña-

les producidas por ambas masas.

En el caso del transductor de fuerza B&K 8001, cuya linealidad es conocida, se tiene una diferencia de

7 dB

que teniendo en cuenta los errores de apreciación y del número limitado de muestras es un valor muy aceptable.

En el caso del disco cerámico son

7,2 dB

con lo que tanto por la teoría matemática como por comparación con un transductor de características conocidas, el transductor de fuerza, podemos concluir que *el conjunto formado por el soporte y el disco cerámico presentan una buena linealidad.*

SOPORTE

El desarrollo del soporte utilizado para las medidas ha sido parte importante de este trabajo. No es necesario, en el caso de querer reproducir esta experiencia, disponer exactamente del mismo soporte siempre que se mantengan ciertas normas ya comentadas, siendo las principales la disminución de las frecuencias de resonancia del sistema masa-resorte por medio de un filtro adecuado y que éstas sean de la frecuencia más baja posible.

En la figura 28 se muestra el soporte señalando sus principales características.

SISTEMA COMPLETO DE MEDIDA

Una vez conocidas las características del transductor, se han de analizar los restantes eslabones de la cadena de medida, constituida tal como se muestra en la figura 29.

Amplificador de carga B & K 2635 (Figura 30)

La carga directa de la salida de un transductor piezoeléctrico, incluso con altas impedancias, puede reducir considerablemente la sensibilidad del mismo y limitar su respuesta en frecuencia. Para minimizar estos efectos, el amplificador de carga realiza una adaptación de impedancias a un nivel más adecuado para la instrumentación de medida y análisis. Además limita, en nuestro caso, la frecuencia superior de la señal a 1000 Hz para evitar interferencias de ruido eléctrico o señales fuera de la gama de interés del estudio.

Filtro de ponderación C (Sonómetro B & K 2209) (Figura 31)

Partiendo de la base de que es inevitable el uso de un sistema masa-resorte para conseguir una buena relación señal/ruido, dadas las bajas frecuencias que componen la banda de interés, hemos de considerar ahora la influencia de las frecuen

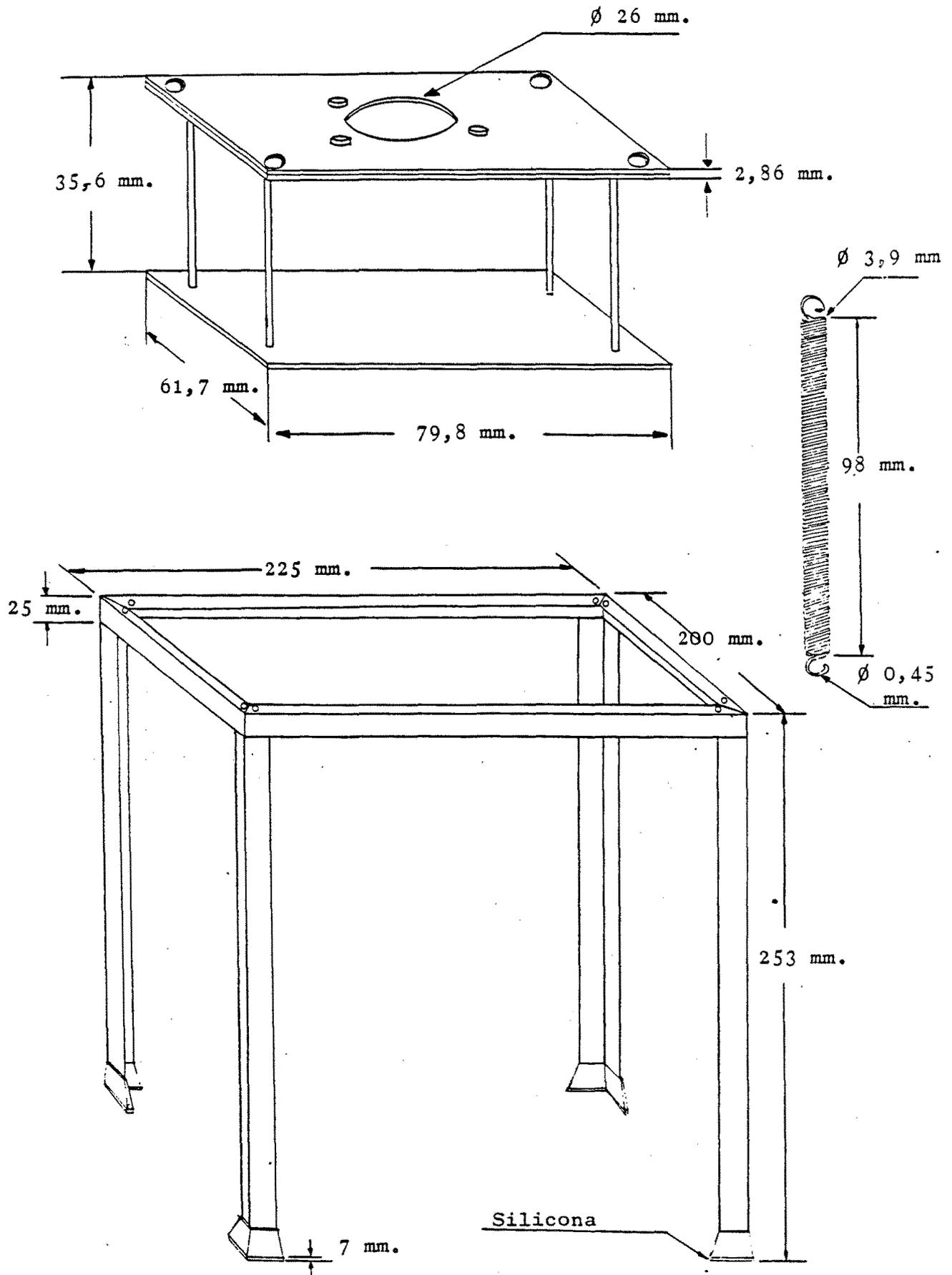


Fig. 28-. Características y medidas de la estructura del soporte del primer sistema masa resorte.

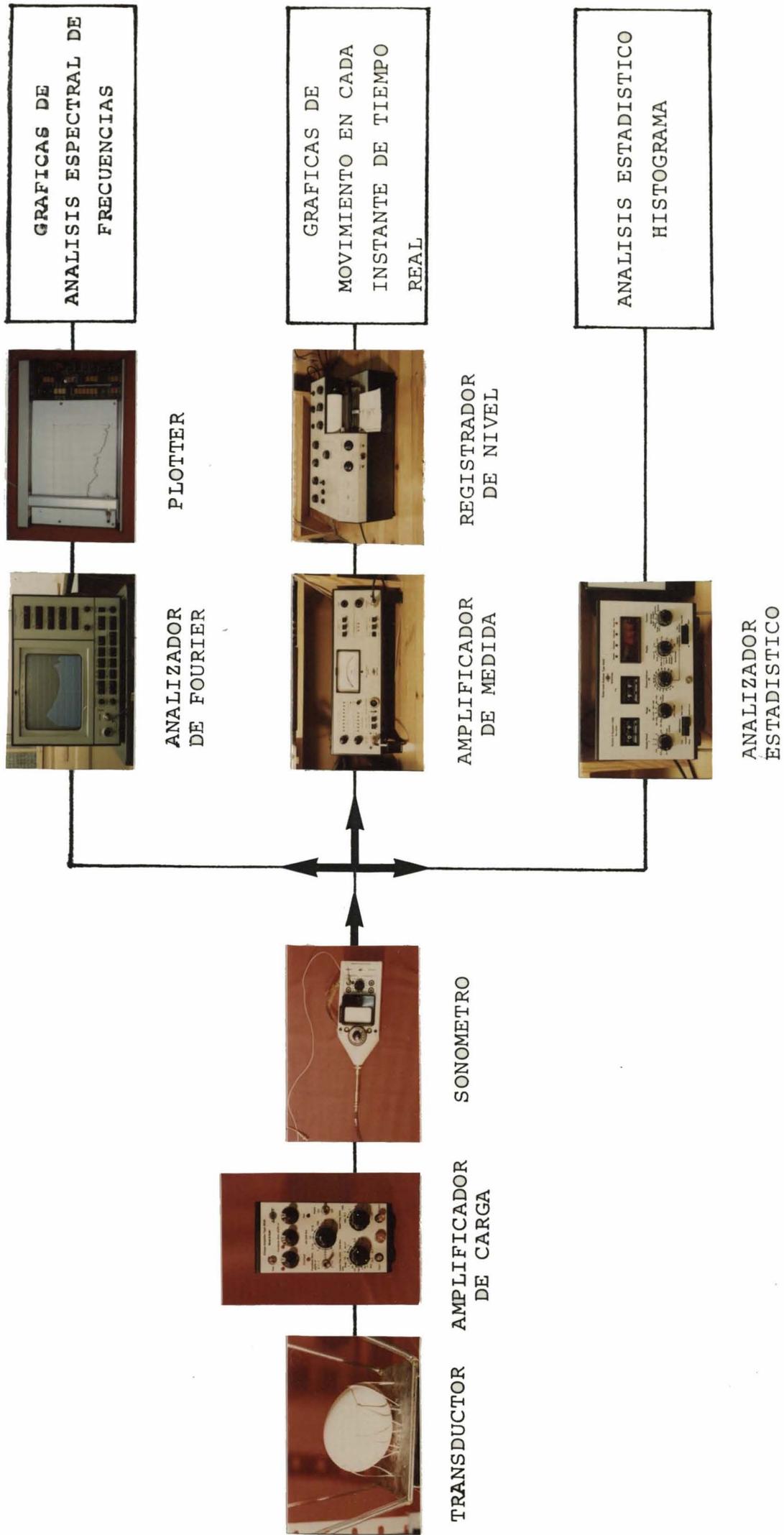


Fig. 29-.Cadena completa de medida.