

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

Morfogénesis de la tonsila palatina

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

José Julián Martínez Padilla

DIRIGIDA POR

Manuel María Gómez del Moral Martín-Consuegra

Eva Maranillo Alcaide

José Ramón Regueiro González-Barros

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS MÉDICO-QUIRÚRGICAS



TESIS DOCTORAL

MORFOGÉNESIS DE LA TONSILA PALATINA

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

José Julián Martínez Padilla

Madrid, 2024

DIRECTORES

Prof. Manuel María Gómez del Moral Martín-Consuegra, Prof. Eva Maranillo Alcaide y Prof. José Ramón Regueiro González-Barros

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. José Ramón Sañudo, quien me propuso el tema de la presente Tesis, por haber sido mi mentor desde la primera vez que entré en el Aula 3 de la Facultad de Medicina, hace muchos años pero que recuerdo como si fuera ayer.

A mi tutora la Dra. M.^a Teresa Vázquez y a mis directores el Dr. Manuel María Gómez del Moral, el Dr. José Ramón Regueiro y la Dra. Eva Maranillo, que han sido unos guías de enorme atención y paciencia durante esta travesía cuyos frutos están plasmados en las siguientes páginas.

A la profesora Clara Simón y su equipo, del departamento de Informática y estadística de la Universidad Rey Juan Carlos, por su gran esfuerzo en idear técnicas y buscar soluciones a problemas casi irresolubles.

A la Dra. Sara Quiñones, cuya ayuda ha sido inestimable a la hora de ordenar ideas y resultados para darle forma, estructura y coherencia a la presente Tesis.

A Dña. Cristina Navarro Collín por su arte y sus preciosos dibujos con los que he podido ilustrar parte de la tesis.

A todo el personal administrativo de la Universidad Complutense, siempre dispuesto a ayudar tanto para cualquier tipo de trámite como para buscar caminos libres de barreras arquitectónicas y que yo pudiese desplazarme con libertad.

A Carmen, Laura, Inés y Vanesa, porque juntos comenzamos una preciosa aventura a la que le queda mucho para acabar. Primero como compañeros, luego como amigos y ahora casi como una gran familia cada vez más numerosa.

Y hablando de familia, por último y más importante, a mis padres y mi hermana. Lo son todo para mí, y todo lo que soy en este momento se lo debo a ellos. Mi mayor fuente de orgullo y felicidad, de la que me siento muy afortunado.

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	6
2. ABSTRACT.....	8
3. INTRODUCCIÓN.....	10
3.1 Anatomía Macroscópica.....	12
3.2 Anatomía Microscópica.....	15
3.3 Embriología.....	19
4. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	29
4.1 Justificación.....	29
4.2 Hipótesis.....	30
4.3 Objetivos.....	31
5. MATERIAL Y MÉTODOS.....	32
6. RESULTADOS.....	45
6.1 Desarrollo embrionario.....	45
6.2 Desarrollo fetal temprano.....	58
7. DISCUSIÓN.....	85
7.1 Aparición del esbozo de la tonsila palatina.....	90
7.2 Morfogénesis. Seno tonsilar, recesos y pliegues.....	92
7.3 Morfogénesis. Sistema de criptas. Patrón glandular.....	93
7.4 Aparición de acúmulos linfoides.....	96
7.5. Acinos y conductos glandulares	96
7.6 Relaciones Musculares, Cápsula y Trabéculas	97
8. CONCLUSIONES.....	98
9. BIBLIOGRAFÍA.....	99

1. RESUMEN

Morfogénesis de la tonsila palatina

Introducción: La mayoría de los estudios embriológicos sobre la tonsila palatina han sido realizados en especies animales. Algunos de estos autores sostienen que esta estructura no se forma de la segunda bolsa faríngea, como principalmente se ha considerado, si no que la segunda bolsa faríngea es una estructura transitoria, que desaparece por completo al inicio del desarrollo, formándose posteriormente una neoproducción, gracias a complejos mecanismos, que dará lugar a la tonsila palatina. La posición que ocupará la amígdala después de que finalice todo el proceso, explicaría la falsa percepción de que las segundas bolsas faríngeas son el lugar aparente donde posteriormente se desarrollan las tonsilas.

Esta teoría no ha sido considerada en los estudios realizados en muestras de embriones y fetos humanos. Respecto a estos estudios hay que destacar que son muy escasos, que muchos de ellos no tienen muestras de todos los estadios y semanas del desarrollo embrionario y fetal, por lo que se basan en el análisis de series incompletas y que las secciones de las muestras utilizadas no son consecutivas al faltar cortes en algunos casos.

Hipótesis y objetivos: Por todo ello, el objetivo de esta tesis realizar un estudio detallado de una amplia muestra seriada y completa de embriones y fetos humanos para poder afirmar o negar la hipótesis de que en el humano, la tonsila palatina no se origina de la segunda bolsa faríngea. A su vez, también nos hemos propuesto determinar que las distintas etapas de la formación del sistema de criptas ocurren en un periodo más temprano de lo que se tiene constancia y que

el músculo constrictor superior de la faringe se inserta en la cápsula de la tonsila palatina, al igual que los músculos palatogloso y palatofaríngeo.

Material y métodos: Para ello hemos utilizados 25 embriones y 11 fetos humanos procedentes de donaciones, y pertenecientes todos ellos a la colección “Puerta Fonollá” del Departamento de Anatomía y Embriología Humana I de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid.

Resultados y conclusiones: Observamos que la tonsila palatina no se origina de la segunda bolsa faríngea, sino de una neoformación, independiente en la pared de la faringe en el estadio 20, por lo que podemos concluir que la hipótesis principal es correcta.

El proceso de formación de las criptas, puede observarse ya en la 10ª semana del desarrollo, lo cual corrobora la segunda hipótesis.

La tonsila palatina recibe inserciones del músculo constrictor de la faringe a partir del estadio 19, por lo que podemos concluir que la tercera hipótesis es correcta.

2. ABSTRACT

Introduction: Most embryological studies on the palatine tonsil have been conducted on animal species. Some of these researchers argue that this structure is not formed from the second pharyngeal pouch, as is traditionally considered, but that the second pharyngeal pouch is a transient structure that completely disappears at the beginning of development. Subsequently, a neoplasm is formed through complex mechanisms, which eventually gives rise to the palatine tonsil. The final position occupied by the tonsil explains the misconception that the second pharyngeal pouch is the apparent place where the tonsils develop later.

This theory has not been considered in studies conducted on human embryo and foetal samples. It is important to note that such studies are scarce, many of them lack samples from all stages and weeks of embryonic and fetal development, and they often rely on incomplete series. In some cases, the sections of the samples used are not consecutive due to missing slices.

Hypothesis and Objectives: For these reasons, the objective of this thesis is to conduct a detailed study of a large, complete, and serial sample of human embryos and fetuses to confirm or refute the hypothesis that, in humans, the palatine tonsil does not originate from the second pharyngeal pouch. Additionally, we aim to determine that the different stages of crypt formation occur earlier than previously documented and that the superior pharyngeal constrictor muscle inserts into the palatine tonsil capsule, just as the palatoglossus and palatopharyngeus muscles do.

Materials and Methods: We used 25 human embryos and 11 human fetuses obtained from donations, all belonging to the “Puerta Fonollá” collection of the Department of Human Anatomy and Embryology I, Faculty of Medicine, Complutense University of Madrid.

Results and Conclusions: We observed that the palatine tonsil does not originate from the second pharyngeal pouch but from an independent neof ormation in the pharyngeal wall at stage 20, thus confirming that the primary hypothesis is correct.

The process of crypt formation can already be observed by the 10th week of development, which supports the second hypothesis.

The palatine tonsil receives insertions from the pharyngeal constrictor muscle starting from stage 19, confirming that the third hypothesis is correct.

3. INTRODUCCIÓN

El sistema inmunológico es, por definición, el conjunto de estructuras y procesos biológicos que protegen al organismo de los agentes patógenos externos (Lozano Soto, 2012). Por ello, una parte de este sistema inmunológico, se halla rodeando los diversos orificios naturales que comunican el interior de nuestro cuerpo con el exterior, facilitando que los linfocitos entren en contacto con los antígenos externos. Cuando este contacto se produce, los linfocitos B generan una respuesta inmune adaptativa y específica, mientras que los linfocitos T eliminan a los antígenos directamente (Regueiro y cols., 2003).

Las partes del sistema inmune que realizan esta función se denominan órganos linfoides secundarios, a diferencia de los primarios cuya principal función es la producción de linfocitos (Regueiro y cols., 2003).

Los órganos que componen el sistema inmune pueden clasificarse atendiendo a diferentes criterios. Desde un punto de vista anatómico, nos encontramos con órganos con cápsula bien definida (tales como el bazo, el timo, la médula ósea y los nodos linfáticos) y acumulaciones difusas (tejido linfoide no encapsulado, que se denomina de forma genérica Mucous-Associated Lymphoid Tissue o MALT), recibiendo un nombre más específico según su localización (Regueiro y cols., 2003). Se le atribuyen características inmunológicas únicas, como el hecho de tener una capacidad mucho mayor que los nodos linfáticos periféricos para inducir la síntesis de la cadena J en las células plasmáticas. Esta cadena J es indispensable para la formación de dímeros y trímeros de IgA, así como también de pentámeros de IgM, los cuales pueden ser secretados a la superficie de las mucosas (Brandtzaeg, 2011).

El tejido linfóide, si bien está presente de forma difusa en toda la pared faríngea, cuenta también con acúmulos linfáticos bien definidos llamados amígdalas o tonsilas. Las tonsilas, reciben su nombre en función de su ubicación, habiendo tonsilas linguales (situadas en la porción faríngea de la lengua, por detrás del surco lingual terminal), palatinas (entre los pilares anterior y posterior del istmo orofaríngeo), faríngeas (en el techo de la nasofaringe) y tubáricas (prolongación lateral de la tonsila faríngea ubicada por detrás del orificio tubárico) (McHanwell, 2016). Todo este tejido linfóide, tanto el difuso como las tonsilas, está dispuesto alrededor de los orificios de entrada a la vía respiratoria (coanas) y a la digestiva (istmo orofaríngeo), formando el anillo linfático de Waldeyer (Figura 1).

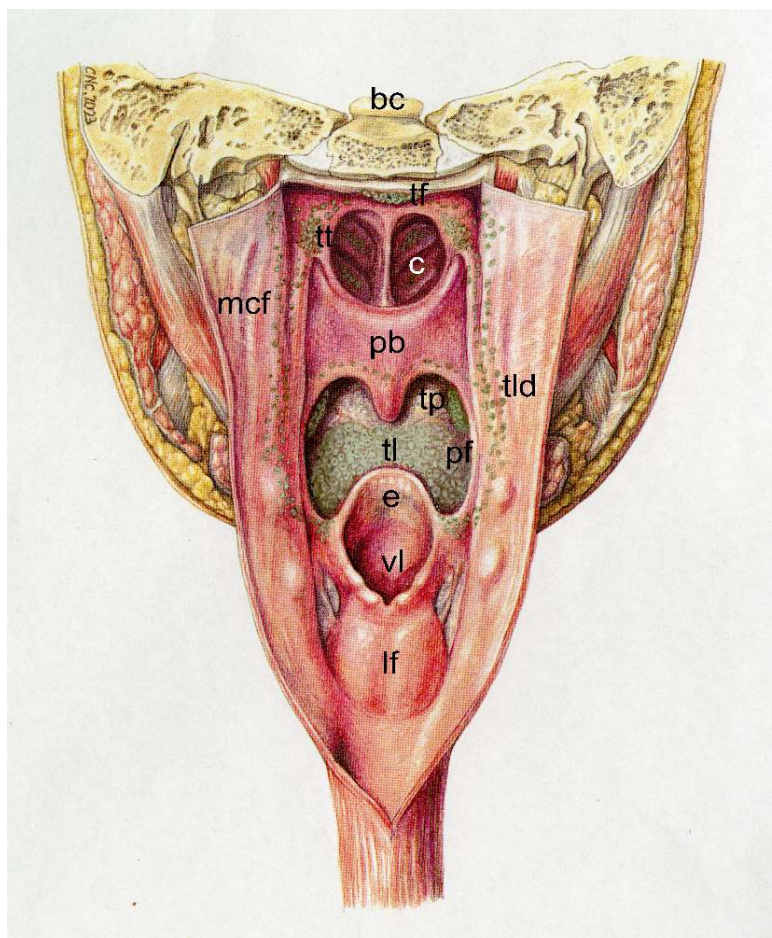


Figura 1. Dibujo del anillo linfático orofaríngeo o de Waldeyer. Visión posterior. La pared posterior de la faringe ha sido seccionada longitudinalmente en la línea media y reclinada hacia los lados. **bc**, base de cráneo; **c**, coanas; **e**, epiglotis; **mcf**, músculos constrictores de la faringe; **pb**, paladar blando; **fl**, faringo-laríngeo; **pf**, pliegue palatofaríngeo; **tf**, tonsila faríngea; **tl**, tonsila lingual; **tld**, tejido linfoide difuso; **tp**, tonsila palatina; **tt**, tonsila tubárica; **vl**, vestíbulo laríngeo. (Adaptado de Testut y Latarjet, 1931. Dibujo realizado por Dña. Cristina Navarro Collín)

Entre todas las tonsilas o amígdalas destaca la palatina por ser la de mayor tamaño (Figura 2).

3.1 ANATOMÍA MACROSCÓPICA DE LA TONSILA PALATINA

La tonsila palatina, se halla próxima a la entrada tanto del tracto digestivo como del respiratorio, formando parte del anillo linfático de Waldeyer (Figura 1).

Tiene forma de almendra, siendo alargada de superior a inferior y aplanada de lateral a medial. Su eje mayor es ligeramente oblicuo de arriba abajo y de delante atrás por lo que destacan dos polos, anterosuperior y posteroinferior, dos caras, medial y lateral, y dos bordes, anterior y posterior (Figura 2).

Mide como promedio 2 cm de altura, 15 mm de anchura y 1 cm de grosor (Rouvière, 1932), aunque su tamaño varía mucho según los sujetos, pudiendo ir desde una lámina que apenas sobresale, medialmente, de la pared faríngea a unas tonsilas voluminosas, mameladas, que sobresalen notablemente entre los pliegues palatogloso y el palatofaríngeo (Figura 2) (Testut y Latarjet, 1931; Rouvière 1932).

La tonsila palatina es bilateral, habiendo una tonsila derecha y otra izquierda, aunque también puede ser ectópica, doble, accesoria o agenésica (Sahov y Vu, 1959; Gniazdowski y Trybuś, 1974; Sinha y Singh, 1978; Grewal y

cols., 1985; Tubbs y Loukas, 2016; McHanwell, 2016). Hay que destacar que la agenesia de tonsila palatina se halla asociada a la agenesia (anotia) o a defectos del desarrollo del pabellón auricular (microtia) (Sinha y Singh, 1978; Grewal y cols., 1985).

Las amígdalas palatinas de ambos lados pueden ser asimétricas en cuanto a tamaño y según su morfología se clasifican en dos tipos: pedunculadas o enterradas. En el tipo pedunculado la tonsila es casi esférica y está unida por una base pequeña a una fosa tonsilar poco profunda, en la pared lateral de la orofaringe. En el tipo enterrado la tonsila está unida por una base ancha a una fosa tonsilar profunda (Tubbs y Loukas, 2016).

La fosa o seno tonsilar es una depresión triangular, de vértice superior, con los siguientes límites; 1) Anterior: el arco palatogloso (o pilar anterior del paladar blando) y el borde de la parte faríngea de la lengua; 2) Posterior: el arco palatofaríngeo (o pilar posterior del paladar blando) y el pliegue mucoso faringoepiglótico; 3) Vértice superior: el origen de los arcos palatogloso y palatofaríngeo en el paladar blando; 4) Inferior: pliegue glosopiglótico lateral; 5) Lateral: capa celular submucosa, denominada fascia faringobasilar, que reviste profundamente la mucosa faríngea y la tonsila palatina, así como también el músculo constrictor superior de la faringe que la reviste externamente (Testut y Latarjet, 1931; Rouvière, 1932; McHanwell, 2016) (Figura 2).

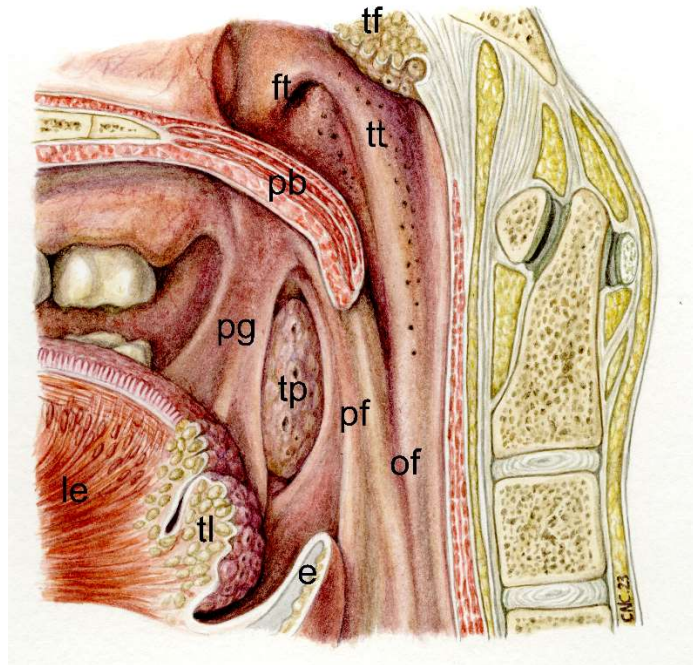


Figura 2. Sección sagital de una cabeza en la que se muestra una visión medial de la fosa y de la tonsila palatina derecha. **e**, epiglotis; **le**, lengua; **of**, orofaringe; **ot**, orificio tubárico; **pb**, paladar blando; **pf**, pliegue palatofaríngeo; **pg**, pliegue palatogloso; **tf**, tonsila faríngea; **tl**, tonsila lingual; **tp**, tonsila palatina; **tt**, tonsila tubárica (Adaptado de Testut y Latarjet, 1931. Dibujado por Dña. Cristina Navarro Collín)

La vascularización de la tonsila palatina es muy importante debido a que su conocimiento es fundamental para los procesos quirúrgicos que requieren su exéresis.

La tonsila palatina recibe su irrigación de cinco arterias diferentes; arteria palatina ascendente, arteria facial, arteria faríngea ascendente, arteria lingual dorsal y arteria palatina menor, rama esta última de la arteria palatina descendente (Testut y Latarjet, 1931; Rouvière y Delmás, 2005, McHanwell, 2016).

Todas estas arterias suministran ramas tonsilares a la amígdala palatina aportándole un abundante riego sanguíneo, aunque hay que destacar que en el

interior de la tonsila su distribución no es uniforme, como se verá en el apartado de anatomía microscópica (Olah, 1978; Perry y cols., 1988; Perry, 1990).

El drenaje venoso de la tonsila palatina tiene lugar por medio del plexo periamigdalino o peritonsilar que drena en las venas lingual y faríngeas para finalizar en la vena yugular interna (Testut y Latarjet, 1931; Rouvière y Delmás, 2005; McHanwell, 2016).

Respecto a la vascularización linfática hay que destacar que se considera que las amígdalas palatinas, al igual que el resto de órganos linfáticos secundarios, están desprovistas de vasos linfáticos aferentes. Sin embargo, presentan vasos sanguíneos especializados, conocidos como vénulas post-capilares de endotelio alto, a través de las cuales los linfocitos migran desde el sistema vascular sanguíneo hasta el parénquima de los órganos linfáticos secundarios, por rutas interendoteliales y transendoteliales (Indrasingh y col, 2002). En el apartado de anatomía microscópica hablaremos más de estas venas.

La inervación de la tonsila palatina proviene de la rama maxilar del nervio trigémino (V par craneal), así como por los ramos tonsilares del nervio glossofaríngeo (IX par craneal) (Testut y Latarjet, 1931; Rouvière y Delmás, 2005, McHanwell, 2016).

3.2 ANATOMIA MICROSCÓPICA DE LA TONSILA PALATINA

La tonsila palatina es uno de los órganos linfoepiteliales asociados al intestino y su tejido linfoide está asociado con la membrana mucosa oral. Está constituida por una voluminosa masa de nodulillos linfáticos cerrados y su superficie es aproximadamente de 300 cm² /tonsila palatina (Howie, 1980). Su

cara medial es libre y presenta un gran número de orificios que comunican con unas invaginaciones de la superficie de la tonsila hacia el interior, llamadas criptas amigdalinas. Su cara lateral está cubierta por un tejido denso y resistente, el cual constituye la cápsula tonsilar y la separa del resto de los tejidos (Testut y Latarjet, 1931).

En esta cápsula, se han descrito inserciones de fibras procedentes de los músculos palatogloso, palatofaríngeo y del músculo amigdalogloso de Broca (Tubbs y Loukas, 2016)

Desde el punto de vista histológico, destacan especialmente dos estructuras principales; la correspondiente al epitelio y a las criptas y la correspondiente al parénquima y a su contenido (Figura 3).

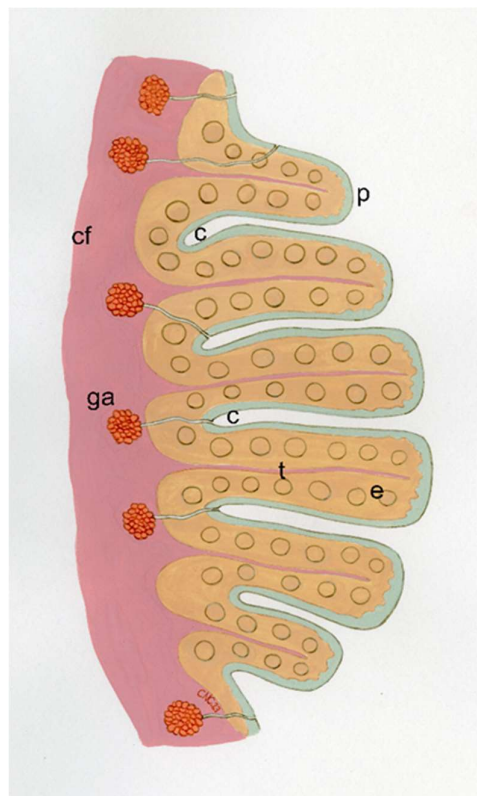


Figura 3. Dibujo que representa una sección transversal de la tonsila palatina. **ga**, glándula acinosa abriéndose en la superficie de la mucosa; **c**, criptas que separan los pliegues; **cf**, cápsula fibrosa; **e**, epitelio y dermis de la mucosa bucofaríngea, continuándose en la tonsila con el epitelio y la capa propia de este órgano; **p**, pliegues epiteliales; **t**, tabiques conjuntivos procedentes de

la cápsula y elevándose verticalmente en la mitad de estos pliegues (Adaptación de Testut y Latarjet, 1932. Dibujo realizado por Dña. Cristina Navarro Collín)

Epitelio y criptas

La cara superficial (medial) de las amígdalas está recubierta por un epitelio plano estratificado no queratinizado, que se invagina en 10 a 20 criptas profundas en el parénquima amigdalino (Perry, 1994) (Figura 3)

El sistema de criptas de la tonsila palatina no es un simple grupo de invaginaciones del epitelio tonsilar sino una muy complicada red de canales con un especial tipo de epitelio estratificado y con varias estructuras del parénquima que los rodean, como vasos sanguíneos, linfáticos y centros germinales (Abbey and Kawabata, 1988). Abbey and Kawabata realizaron en 1988 un estudio tridimensional de tonsilas palatinas extraídas a niños, mediante tomografía computerizada. Observaron dos tipos de criptas; las no ramificadas que se localizaban en la periferia de la tonsila y las muy ramificadas, localizadas en el centro de la misma (Abbey y Kawabata, 1988).

Parénquima y su contenido

El parénquima se compone de múltiples folículos linfoides, los cuales presentan una polaridad estando estructurados en tres zonas; la zona inferior o zona A, la zona central o zona B y la zona superior o zona C. Las zonas A y B constituyen el centro germinal mientras que la zona C es el manto de linfocitos pequeños y se halla debajo del epitelio de la cripta (Curran & Jones, 1977).

Los centros germinales son núcleos activos en los que los linfocitos B son estimulados por antígenos y por las células T auxiliares (linfocitos T auxiliares-

inductores) para generar células de memoria que darán lugar a anticuerpos con una alta afinidad por el antígeno (Brandtzaeg, 1996) (Figura 3).

Las áreas parafoliculares rodean los centros germinales de la tonsila palatina y están compuestas por linfocitos T y otras células inmunitarias.

Se dispone de poca información sobre el suministro vascular del folículo linfoide y, aunque se requerirían técnicas especiales para determinarlo con precisión, la frecuencia con la que se observó a una pequeña arteria o arteriola entrando en la región basal de un folículo, recordaba mucho a la vascularización de los corpúsculos de Malpighi del bazo, cada uno de los cuales está irrigado por una rama peniciliar de la arteria central de la pulpa blanca (Curran & Jones, 1977). En relación a la vascularización de la tonsila palatina, también hay que destacar que los folículos linfoides se hallan relativamente hipovascularizados mientras que las áreas parafoliculares reciben una profusa red vascular (Olah, 1978; Perry y cols., 1988; Perry, 1990).

Respecto a las vénulas de endotelio alto, estas están presentes en las regiones parafoliculares de la amígdala palatina, pero están ausentes en los folículos germinales y en el epitelio de la orofaringe. Las vénulas de epitelio alto vénulas son fundamentales para el desarrollo de los centros germinales (Perry, 1990).

3.3. EMBRIOLOGÍA DE LA TONSILA PALATINA

Se ha descrito desde el punto de vista embriológico que la amígdala palatina muestra una estrecha correlación morfológica y funcional con el tejido linfático de origen mesenquimatoso y el epitelio endodérmico de la segunda bolsa faríngea (von Gaudecker y Müller-Hermelink, 1982; von Gaudecker, 1988). De manera que vamos a empezar esta introducción revisando el origen de la tonsila palatina y a continuación su morfogénesis propiamente dicha

Bolsas faríngeas

Kingsbury, en 1915, realizó el primer estudio clásico sobre el desarrollo de la faringe humana y sus derivados. Su extenso trabajo, de 68 hojas y 5 planchas fotográficas, está basado en el estudio de 30 embriones humanos, comprendidos entre 3 mm y 19 mm, pertenecientes a las colecciones Cornell y Harvard (Kingsbury, 1915)

Este autor, describió la existencia de 6 arcos faríngeos o branquiales mesodérmicos, asociados a sus correspondientes 5 hendiduras ectodérmicas y bolsas endodérmicas (Gosser, 1912; Kingsbury, 1915; Arey, 1965; Morris-Key, 2016). Hay que tener en cuenta que, el quinto arco faríngeo, así como también su bolsa y hendidura, no se considera que existan en embriones humanos (Gosser, 1912; Kingsbury, 1915; Arey, 1965; Morris-Key, 2016). A los arcos faríngeos se les denomina de craneal a caudal: I, II, III, IV y VI, al igual que a las bolsas y hendiduras que los separan (Gosser, 1912; Kingsbury, 1915; Arey, 1965; Morris-Key, 2016).

De las primeras hendiduras y bolsas faríngeas (I) se originan la caja timpánica y la tuba faringotimpánica o de Eustaquio respectivamente; de las segundas bolsas (II) se ha interpretado que se origina la tonsila palatina, objeto de esta tesis doctoral; de las terceras bolsas (III), se origina el seno cervical, el timo y las glándulas paratiroides inferiores; de las cuartas bolsas faríngeas (IV), se originan las glándulas paratiroides superiores, y de las últimas bolsas (VI), el cuerpo ultimobranquial, quedando por determinar si este participa o no en la formación de la glándula tiroides (Gosser, 1912; Kingsbury, 1915; Arey, 1965; Morris-Key, 2016).

No todos los autores consideran que el destino de la segunda bolsa faríngea sea la tonsila palatina. Hay autores que consideran a la segunda bolsa faríngea como una estructura transitoria, que desaparece por completo al inicio del desarrollo, formándose posteriormente como una neoproducción gracias a complejos mecanismos entre los que destacan la formación del paladar, el hioides y la lengua (Kingsbury y Rogers, 1927; Levin, 1930; Ramsay, 1935). La posición que ocupará después de que finalice todo el proceso, explicaría la falsa percepción de que las segundas bolsas faríngeas son el lugar aparente donde posteriormente se desarrollan las tonsilas (Kingsbury y Rogers, 1927).

No obstante, hay que destacar que ninguno de los trabajos de los autores que sostienen esta teoría fue realizado en humanos. Kingsbury y Rogers (1927) estudiaron 50 especímenes bovinos, Levin (1930), 45 porcinos y Ramsay (1935), 6 gatos.

Por ello destacan los trabajos de His (1891) y Hammar (1903), siendo los primeros estudios dedicados al origen, desarrollo y morfología de la tonsila palatina realizados en especímenes humanos.

Para estudiar el origen de la fosa tonsilar y de la tonsila palatina, en el primer trimestre de gestación, Hammar (1903) utilizó 10 embriones que iban del estadio 13 al estadio 20, y 7 fetos que se escalonaban desde la 11 semana a término, incluyendo una tonsila de una niña de 8 años. Esta será la única y mejor serie casi completa de embriones y fetos humanos existente hasta la fecha dedicada a estudiar la tonsila palatina (Hammar, 1903). Según Hammar (1903), en los embriones de los estadios 13 a 15, la segunda bolsa aparece como una pequeña evaginación horizontal del intestino anterior o faríngeo, por debajo del segundo arco. En el estadio 16 las segundas bolsas faríngeas de cada lado están separadas, en la línea media, por la formación de la raíz de la lengua y en su región posterior se conectan con el conducto branquial o seno cervical de Rabl (placoda II de Kingsbury, 1915). Hammar (1903) considera que el conducto braquial de Rabl está en íntimo contacto con los ganglios petroso y nodoso, y que se asocia a la bolsa 2ª, a la que incorpora células ectodérmicas (Hammar, 1903).

Este detalle descrito por Hammar (1903) hizo pensar a posteriores investigadores que el epitelio de las tonsilas podía tener origen ectodérmico (Testut y Latarjet, 1931)

Hammar (1903) considera que en el Estadio 19 (embriones de 17mm y 18.5 mm) ya se ha perdido el vestigio de la segunda hendidura. De la misma forma, la segunda bolsa también ha experimentado una gran atrofia en su mayor parte, excepto en su parte dorsal donde se puede ver en la pared ventral de la faringe un pequeño relieve al que se denomina tubérculo tonsilar (Hammar, 1903). Finalmente, considera que en los embriones del estadio 20 (20 mm y 24.4 mm) el denominado tubérculo tonsilar, situado por debajo de los pliegues

palatinos, dará lugar por encima de ellos a la cavidad timpánica y por debajo al seno tonsilar (Hammar, 1903). Hammar (1903) no dispuso de embriones de los estadios 22 y 23, final del periodo embrionario.

Seno, fosa tonsilar

Llegados a este punto, creemos importante considerar que a los especímenes que exceden de la octava semana (2º mes) se les debe denominar fetos y no embriones. Este error, que todavía se sigue cometiendo, también lo hacían los autores clásicos. Sin embargo, esto cambió a partir de los trabajos de Streeter (1951) que agrupó a los embriones en diferentes “horizontes” o estadios (I-XXIII) en función, no de la longitud Crown-Rown, sino de la madurez real observada en los diferentes órganos y aparatos (Streeter, 1951). Estos trabajos aparecieron publicados como Contribuciones de la Colección Carnegie, que posteriormente fueron recopiladas en los trabajos de O’Rahilly y Müller (1987). Patten (1973) hizo lo propio con la clasificación del material fetal dejando una clasificación por semanas de ellos. Generalmente en el periodo embrionario se realiza la morfogénesis de los órganos (excepto para los aparatos locomotor y nerviosos que acaba en el quinto mes) y en el periodo fetal se produce la maduración de los mismo (Langman, 1969)

Si retomamos el hilo de las bases del desarrollo de la tonsila basándonos en los estudios de Hammar (1903), debemos empezar diciendo que en el periodo fetal todo se sucede desde el tubérculo, fosa o seno tonsilar, independiente de que este represente o no a la segunda bolsa faríngea, y que está situado en la pared lateral de la faringe.

Al seno tonsilar se le sitúa en la faringe posterior a la fusión de los segundos arcos faríngeos (Kingsbury y Rogers, 1927) por debajo del paladar y extendido hasta la raíz de la lengua (Hammar, 1903)

Desde el punto de vista descriptivo, Hammar (1903), al igual que His (1885), consideran que este seno tonsilar presenta las siguientes características morfológicas: 1) una fosa supratonsilar; 2) un arco palatino anterior que forma el denominado pliegue triangular que se extiende desde el velo del paladar a la base lateral de la lengua; 3) un arco palatino posterior o borde posterior que cubrirá parcialmente a la tonsila y 4) dos recesos, uno inferior (fosa triangular) y otro posterior (fosa retrotonsilar) con un importante 5) pliegue intratonsilar. Y será desde este espacio donde se produzca la morfogénesis de la tonsila palatina (His, 1885; Hammar, 1903; Kingsbury y Rogers, 1927). La fosa supratonsilar se ha descrito como muy prominente en el periodo prenatal tardío, primer mes postnatal (Minear y cols. 1937)

Es importante destacar que Hammar (1903) considera que el pliegue intratonsilar se extiende en dirección vertical, en toda la extensión de la fosa, por lo que se forman dos recesos amigdalares: uno anterosuperior, y otro posteroinferior que carece de delimitación posterior clara. Sin embargo, las fosas se comunican cranealmente al pliegue (Hammar, 1903; Kingsbury y Rogers, 1927). La separación entre ambas fosas se ha descrito en el 3,5 mes y 4,2 mes (Minear y cols. 1937)

El receso superior, es el más grande de los dos, y presenta una forma irregular con pequeños engrosamientos epiteliales. El receso posterior, con paredes planas, carece por completo de proliferaciones epiteliales. Esta descripción lleva a Hammar (1903) a describir la tonsila palatina formada por dos

lóbulos derivados de ambas fosas. En estos dos recesos se han descrito pliegues de la mucosa, unos con carácter constante en la fosa superior y otros de carácter variable en la inferior (Hammar, 1903; Minear y cols. 1937).

Morfogénesis de las criptas y patrón glandular

El trabajo más detallado que representa la base del estudio sobre el desarrollo prenatal y postnatal de las criptas de la tonsila humana, es el realizado por Minear y cols. (1937). Este trabajo, como el de Hammar (1903), también se basa en el estudio de material humano. En el periodo prenatal estudia 5 fetos de: 3, 4, 6^{1/2} y 10 meses. En el periodo postnatal estudia una serie más amplia de tonsilas pertenecientes a niños, jóvenes y adultos de: 3, 5, 6, 6^{1/2}, 8,10,11, 21, 25 7 y 65 años. Hay que destacar que Minear y cols. (1937) también realizaron reconstrucciones en 3D de la tonsila palatina a partir de secciones seriadas de todo el material fetal y del postnatal de 3, 21 y 65 años siguiendo el método de Born.

Las amígdalas tienden a atrofiarse en la mediana edad y en la vejez (Fox, 1886). Pero su formación se ha descrito que inicia a partir de la semana 12 (Ernst y cols., 2019), semana 14 (Ernst y cols., 2019) o semana 16 (von Gaudecker, 1988), cuando un sistema de criptas epiteliales crece hacia el mesénquima. Parece que la membrana basal persiste intacta en fetos a término y neonatos en estudios de inmunohistoquímica (Ernst y cols., 2019). Sin embargo, se ha demostrado la existencia de poros en la membrana basal que permiten el paso de linfocitos al epitelio, mediante microscopio de barrido en el segundo trimestre.

Para explicar el sistema de cripta debemos volver al punto de partida que era la fase de los dos recesos: el receso superior, que se hace más grande y se

solapa caudalmente con el inferior, a medida que progresa en su tamaño también comienza a presentar invaginaciones a modo de dedos como cordones sólidos (Hammar, 1903; Kingsbury y Rogers, 1927). Unas 15 a 20 criptas principales se desarrollan sucesivamente, cada una de las cuales se infiltra luego intensamente por células no epiteliales (von Gaudecker, 1988).

El tejido linfático que rodea estas criptas se organiza en folículos y regiones parafoliculares con vénulas postcapilares de endotelio alto (von Gaudecker, 1988). La inmunotinción del tejido linfático fetal muestra claramente que las células B se acumulan principalmente en los folículos, las denominadas regiones de células B, mientras que las células T ocupan las regiones de células T parafoliculares.

El epitelio de los senos prolifera, pero sin que su membrana basal marque un límite claro con el mesénquima. La morfología de las bocas de las invaginaciones se forma por descamación de las células centrales, que son más grandes y pálidas, sin compactarse como un tapón epitelial. Algunas de las criptas así formadas se reabsorben (Minear y cols., 1937; von Gaudecker y Muller-Hermelink, 1982).

En su evolución la apertura de estos recesos presenta masas de epitelio queratinizado, con el mesénquima abundantemente infiltrado por leucocitos sin estar claramente delimitadas por tejido conectivo (Hammar, 1903).

El epitelio sigue engrosándose a partir de las 18 semanas asociándose con un incremento en el número de las invaginaciones (4 meses y medio) hasta llegar a los fetos a término donde el sistema de criptas de primer, segundo y tercer orden son evidentes en forma de placas (criptas características de la infancia y de la vida adulta) (Hammar, 1903; Minear y cols., 1937). De las criptas

de tercer orden se formarán en la vida posnatal las de cuarto y quinto orden en forma de vesículas (Minear y cols., 1937). Si se trata de contabilizar el número y generaciones de criptas, este trabajo lo hicieron Minear y col, (1937). Así se comienza con los iniciales simples brotes con sus aperturas en los senos en número variable de 3 a 8 invaginaciones cilíndricas, cortas o largas, (Hammar, 1903), localizadas en las regiones superior (fosa supratonsilar), media e inferior (fosa triangular) (Hett y Butterfield, 1909; Minear y cols., 1937). De forma secuencial podríamos resumirlo diciendo que a las 18 semanas observan 17 invaginaciones de primer orden, 11 de las cuales tienen ramas de segundo orden. La mayoría de las criptas de trayectos paralelos están unidas por cuellos estrechos, destinados a la atrofia y posterior desaparición. En la semana 26 se duplica el número de criptas primarias y la mayoría de las de segundo y tercer orden ya son permeables (Minear y cols., 1937).

Es curioso destacar como se describe que el ahuecamiento de las criptas se produce en sentido de distal a proximal, pudiéndose observar en algunas de ellas tapones que teniendo una zona permeable en el interior de la cripta le dan la apariencia de quistes (Minear y cols., 1937). A medida que el epitelio de células escamosas se invagina revistiendo la cripta y se ramifica, sus fondos se ven rodeados por infiltrados linfocitarios que forman unidades de tejido epiteliolinfocitario en el mesodermo (Levin, 1930).

Es importante destacar que, aunque no existen trabajos sobre la vascularización de la tonsila, está muy bien vascularizada especialmente después del periodo de formación de las criptas. Los capilares penetran la periferia de los nódulos (Levin, 1930).

A medida que se produce la vesiculación de las criptas se sucede una interrupción de la continuidad epitelial y se produce la invasión linfocitaria. Paredes que finalmente se rompen y el espacio se rellena, primero de linfocitos y otro tipo de células libres para luego cubrirse de tejido conectivo, vasos sanguíneos y linfáticos que representan los folículos primarios (von Gaudecker y Muller-Hermelink, 1982). Este proceso se completa en los primeros meses del desarrollo postnatal (Minear y cols., 1937).

Un detalle curioso a mencionar es el área del epitelio de las criptas. Se ha descrito que a los 21 años una tonsila tiene un área de 295 cm², las dos de 590 cm², siendo el área total de la faringe sin tonsilas de 48,8 cm² (Minear y cols., 1937).

Con respecto a la presencia del tejido linfoide, siguiendo el trabajo de Minear y cols., 1937, podríamos decir que los linfocitos ya se observan en el tercer mes (Hammar, 1903), en el cuarto mes el tejido linfoide se muestra de forma difusa y en el sexto mes se observan los nódulos primarios sin centro germinal, aunque en el primer mes del periodo postnatal siguen sin verse nódulos secundarios que no aparecen hasta los tres años como grandes y abundantes (Minear y cols., 1937).

Es importante destacar que los nódulos linfáticos están separados de la superficie epitelial por una capa trabecular conectiva interconectada que contiene el sistema de criptas y éstas, a su vez, están rodeadas por una capsula fibrosa (Levin, 1930).

Se han descrito diferentes variaciones en la forma de las tonsilas determinadas por la forma de la distribución del tejido linfoide (Hett y Butterfield, 1909). Así, y con pocas excepciones en los mamíferos, se describen las tonsilas

desde simples divertículos (simios superiores) a tonsilas de forma tubular en gatos, tigres y leopardos; en forma de bolsillo en lémures, monos, gibones y *cecopithecus*; solidas proyecciones en, perros, osos, tejones, etc. (Hett y Butterfield, 1909).

Glándulas mucosas y sus conductos

Un aspecto que no se debe olvidar en la tonsila palatina es la presencia de las glándulas mucosas y sus conductos. Esos ductos raramente drenan en las criptas (Minear y cols., 1937). Las masas glandulares aún poco desarrolladas se comienzan a identificar en la semana 14 formada por 13 conductos. En los meses sucesivos y hasta los fetos a término cuentan con 8 que solapan con los polos superior e inferior de la tonsila. Posteriormente no aumentarán su número, pero drenarán en la fosa palatina rodeando la tonsila (Minear y cols., 1937).

Musculatura y cartílago

Un aspecto común en ciertos autores es la descripción de los músculos palatogloso y palatofaríngeo afirmando que se entrelazan sobre el constrictor superior de la faringe y se separan en sus dos tercios superiores de la cápsula por un tejido conectivo areolar mientras que en el tercio inferior están confundidos con la cápsula (Hett y Butterfield, 1909). No han sido descritas inserciones del músculo constrictor superior de la faringe en la cápsula de la tonsila.

Se ha descrito en el primer mes de la vida postnatal (Minear y cols., 1937) la existencia de cartílago hialino en un 20% de tonsilas palatinas, lo cual no debe ser considerado como patológico (Minear y cols., 1937).

4. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

4.1 JUSTIFICACIÓN

Estimamos que las siguientes consideraciones de orden metodológico y conceptual, justifican a la realización de la presente Tesis Doctoral.

1º Sorprende la escasez de estudios dedicados a la morfogénesis inicial de la tonsila palatina. Además, hay que destacar que la mayoría de estos trabajos hacen uso de otras especies animales, como el material bovino o el cerdo (Kingsbury y Rogers, 1927; Levin 1930), habiendo muy pocos estudios realizados en material embrionario y fetal humano.

2º Los primeros trabajos en humanos que existen son de finales del siglo XIX y principios del siglo XX. A partir de ese periodo han sido muy escasos los trabajos dedicados al estudio embriológico de la tonsila palatina, de modo que, en las búsquedas bibliográficas realizadas, no hemos encontrado estudios originales, sino transcripciones de los estudios clásicos de principios del siglo XX (Hammar, 1903).

3º La mayoría de los estudios embriológicos de la tonsila palatina, en humanos, no tienen muestras de todos los estadios y semanas del desarrollo embrionario y fetal, por lo que se basan en el análisis de series incompletas. También hay que destacar que en muchos de los trabajos basados en la observación de secciones histológicas, los especímenes no estaban cortados de forma seriada, no pudiéndose estudiar la morfología completa del primordio de la tonsila palatina y su relación con las estructuras adyacentes, al faltar algunos cortes y no ser estos consecutivos (Hammar, 1903; Kingsbury, 1915; Minear y cols., 1937).

4º No todos los autores consideran que el destino de la segunda bolsa faríngea sea la tonsila palatina. Hay autores que consideran a la segunda bolsa faríngea como una estructura transitoria, que desaparece por completo al inicio del desarrollo, formándose posteriormente como una neoproducción gracias a complejos mecanismos entre los que destacan la formación del paladar, el hioides y la lengua (Kingsbury y Rogers, 1927; Levin, 1930; Ramsay, 1935). La posición que ocupará después de que finalice todo el proceso, explicaría la falsa percepción de que las segundas bolsas faríngeas son el lugar aparente donde posteriormente se desarrollan las tonsilas (Kingsbury y Rogers, 1927). Hay que destacar que, ninguno de los trabajos de los autores que sostienen esta teoría fue realizado en humanos (Kingsbury y Rogers,(1927) estudiaron 50 especímenes bovinos, Levin (1930), 45 porcinos y Ramsay (1935), 6 gatos).

4.2 HIPOTESIS

Por todo lo anteriormente dicho en la justificación, en el presente estudio planteamos las siguientes hipótesis:

1ª La tonsila palatina en el humano no se origina de la segunda bolsa faríngea tal y como ha sido demostrado en animales.

2ª Las distintas etapas de la formación del sistema de criptas ocurren en un periodo más temprano de lo que se tiene constancia.

3ª El músculo constrictor superior de la faringe también se inserta en la cápsula de la tonsila palatina, al igual que los músculos palatogloso y palatofaríngeo.

4.3 OBJETIVOS

Para comprobar la veracidad de estas afirmaciones estudiaremos en una muestra amplia, seriada y fiable de embriones y fetos humanos los siguientes objetivos:

1. Describir el origen de la tonsila palatina. ¿Procede de la segunda bolsa faríngea o no?
2. Describir la morfogénesis inicial de la tonsila palatina en relación a la constitución de sus criptas e infiltrados linfocitarios.
3. Estudiar su patrón glandular.
4. Describir sus relaciones vasculares y musculares.

Para completar el estudio también nos hemos propuesto

5. Realizar reconstrucciones en tres dimensiones de la morfología de la tonsila palatina a partir de imágenes digitales en dos dimensiones de material fetal humano.
6. Establecer mediante técnicas inmunohistoquímica la colonización de la tonsila palatina por linfocitos T.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este estudio han sido utilizados 25 embriones y 11 fetos humanos procedentes de donaciones, y pertenecientes todos ellos a la colección “Puerta Fonollá” del Departamento de Anatomía y Embriología Humana I de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid. Todas las donaciones proceden de abortos espontáneos y se han realizado previo consentimiento firmado de los padres, siguiendo las normas y las leyes españolas.

La clasificación del material embrionario en estadios se ha realizado siguiendo los criterios expuestos por O’Rahilly y Müller (1981) y la clasificación del material fetal se ha realizado según los criterios determinados por Patten (1973)

Todos los especímenes han sido cortados seriadamente. Los detalles referentes a la orientación del corte, grosor, tinción y demás técnicas utilizadas se hallan recogidas en la tabla 1 para los embriones y en la tabla 2 para los fetos.

Estadio (mm aprox.)	Edad Días	Referencia	Longitud C.R. mm	Orientación corte	Espesor corte en μ	Tinción	Comentario
13	28	S.5	5	T/OBLICUO	8	HE	Histología mal
14	32	JP (9)	6	T	10	HE, AZAN, VOF	
15 (7-9 mm)	33	PV.8	8	T	8	HE	
		BI.8.5	8.5	T	7	HE, VOF	MRI- 3D
16 (11-14 mm)	37	DD.10	10	T	8	HE	
17 (11-14 mm)	41	BI-12	12	T	7	HE, VOF	3D
		A	13	T	10	Bielschowsky	
18 (13-17 mm)	44	FO.15	15	T	10	HE, VOF, Azan	
		C.7	15	T	7	HE, VOF, Azan	
19 (17-20 mm)	47-48	ES-18	18	T	7	HE, VOF, Azan	3D
		ES-19	18,5	S	7	HE, VOF, Azan	MRI
		ES- 20	20	T	8	HE	3D
		ES-22	22	T	7	HE	MRI
20 (21-23 mm)	50-51	C-9	20	T	7-8	HE, VOF, Azan	
		F-27	21	T	10	HE	
21 (22-24 mm)	52	AC-23	23	T	7	HE, VOF, Azan	
		MARC.1	16	T	10-11	HE, VOF, Azan	3D
		BI-22	22	T	10	VOF	
		NO.1	22	T	7	HE	
		AC-23	23	T	7	HE, VOF, Azan	
22 (25-27 mm)	54	A-4	25	T	10	B	
		F-8	25	T	8	HE, VOF, Azan	3D
23 (28-30 mm)	56-57	F-18	37	T	8-12	HE, VOF, Picrosirus red	
		VD-34	34	T	10	HE, VOF, Azan, Bielschowsky	
		ES-37	37	T	8	HE	

Tabla 1. Material embrionario. Abreviaturas utilizadas T, sección transversal; S, sección sagital; HE, Tinción de Hematoxilina y Eosina; VOF, tinción VOF; 3D, Reconstrucción tridimensional realizada.

Referencia	Longitud en mm	Edad semanas	Orientación del corte	Espesor corte en μ	Tinción	Comentario
CB-32		9				
VD-2	34	9	T	10	Bielschowsky	3D
F-18	37	9	T	8 – 12	HE, VOF Tricromico	3D
COLL	44	9	T	10	HE, VOF, Cajal, Castro, etc....	3D
F-9	55	10	T	10	HE, VOF, Azan	
F70	70	11	T	10	Bielschowsky	
F76	76	11	T	10 – 12	Bielschowsky	3D
F-101	101	14	Cabeza T	12	Bielschowsky	3D
FP-110	110	15	Cabeza F Tronco T	10	Bielschowsky	
MF 150	150	17	T	20	HE-VOF.A	Holoprosencefalia
JF		18	T	10	Bielschowsky	Anencéfalo

Tabla 2. Material fetal. Abreviaturas utilizadas T, sección transversal; S, sección sagital; F, sección frontal; A, tinción de Azan; HE, Tinción de Hematoxilina y Eosina; VOF, tinción VOF; 3D, Reconstrucción tridimensional realizada.

Todos los especímenes, embriones y fetos, han sido fijados en formol neutro tamponado con carbonato de magnesio al 4% y posteriormente lavado en agua para retirar impurezas. A continuación, se deshidrataron en una serie de alcoholes crecientes (de 50° a alcohol absoluto) y fueron sumergidos en butanol con la finalidad de que el espécimen pudiese embeber la parafina. Se constituyeron los bloques de parafina con las muestras, mediante el método de “colado en bloque”. Por último, los bloques de parafina se cortaron mediante un

microtomo de forma seriada. Los cortes de las muestras se estiraron en un baño caliente y se depositaron en un portaobjetos. En una siguiente serie de pasos se procedió a la desparafinación de los portas, mediante la inmersión en dos cubetas de xilol en tiempos de 15 minutos cada una. Se rehidrataron en alcoholes decrecientes (96° a 70°) en sesiones de 10 minutos por cada uno de los alcoholes, y finalmente se procedió al lavado en agua, a la correspondiente tinción y a la colocación del cubre objetos mediante bálsamo del Canadá o DPX.

Los portas así preparados fueron sido teñidos con diferentes técnicas histológicas, V.O.F., Hematoxilina – Eosina y Azocarmín (AZAN). En la técnica de Bielschowsky en bloque, la impregnación de la muestra se realiza previamente a la constitución del bloque de parafina.

Para el estudio de las muestras se emplearon microscopios Nikon Eclipse E800 y Nikon Optiphot. Las preparaciones fueron fotografiadas con cámaras fotográficas Jenoptik Progres C-14 Plus y JVC.

Reconstrucciones tridimensionales

Por último, se realizaron reconstrucciones tridimensionales mediante el uso de un programa diseñado específicamente con la ayuda del departamento de Informática y estadística de la Universidad Rey Juan Carlos bajo la dirección de la profesora Clara Simón.

Las imágenes tratadas en este proyecto han sido digitales y bidimensionales. La particularidad de estas imágenes, es que se almacenan como una larga lista de píxeles (unidades básicas) junto con las dimensiones de ancho y longitud de la misma. Es muy común usar el modelo RGB, basado en la

síntesis aditiva de colores. Cada píxel tiene establecido una terna de valores que indica la intensidad de los tres colores primarios (rojo, verde y azul).

Para el proceso de reconstrucción, se han seguido las etapas clásicas de un sistema de visión artificial (Figura 4).

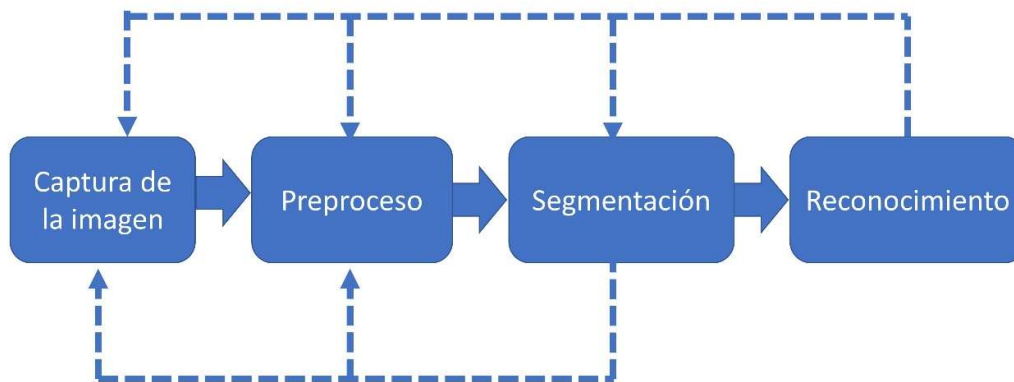


Figura 4. Etapas clásicas de un proceso de visión artificial

1. Fase de Captura de la imagen

Para este trabajo, se han obtenido las imágenes digitales en dos dimensiones de material fetal humano, previamente procesado en diferentes planos del espacio (sagital, coronal y axial). Esto ha supuesto una notable limitación para las reconstrucciones, como se verá más adelante, puesto que, al no disponer de las piezas completas, no se ha podido disponer de diferentes cortes de cada feto.

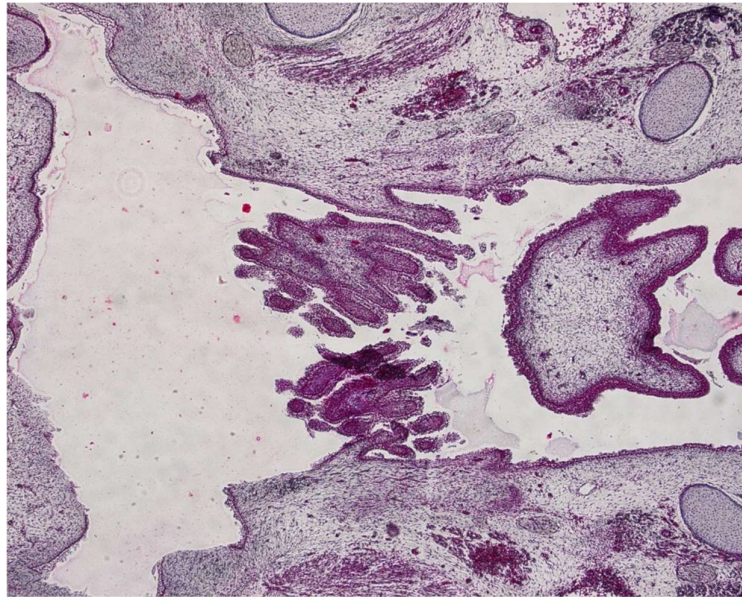


Figura 5. Imagen del feto F-1 de 9 semanas, caja 5 porta 155.4 (4X).

2. Fase de Preproceso

En esta etapa se ha hecho uso de filtros y transformaciones geométricas para minimizar la información no relevante en la tarea de reconstrucción en 3D de las imágenes. En primer lugar, se ha reconvertido las imágenes en una escala de grises, para utilizar un único canal de color en lugar de los tres canales correspondientes a colores primarios.

La aplicación de filtros, permite mejorar la calidad de saturación o contraste de una imagen. Los algoritmos de filtro aplicados a las imágenes van a ayudar a destacar los elementos de interés en la misma.

En este trabajo, se han aplicado filtros de paso alto, para destacar los bordes de los objetos de las imágenes, tratando de reducir al máximo las zonas de intensidad constante. Estos algoritmos, se basan en aplicar una transformación a los puntos de la imagen donde la variación del gradiente asociado es máxima. Es decir, se consideran aquellos valores que alcanzan el

valor máximo al calcular la primera derivada de la transformación aplicada a los puntos de la imagen. De esta manera, se elimina el ruido generado por falsos bordes.

Se han explorado distintas transformaciones, siendo el operador Sobel (Patnaik, y Yang, 2012) el que ofreció mejores resultados.

3. Fase de Segmentación

La segmentación es el proceso de clasificación por píxel que asigna una categoría a cada píxel de la imagen analizada. Dependiendo del objetivo, existen diferentes métodos de segmentación. En este trabajo, nos hemos ceñido al caso de segmentación por color para el reconocimiento de formas en la imagen.

Dentro de las técnicas de segmentación por color, hemos considerado una de las más sencillas donde se clasifica cada píxel dentro de dos categorías. Esta técnica, conocida como umbralización, permite clasificar como claro u oscuro cada píxel comparando su intensidad con una intensidad de referencia dada denominada umbral. Esta clasificación binaria permite la detección de segmentos, i.e., regiones formadas por píxeles vecinos con la misma categoría.

Los segmentos forman una partición de la imagen de manera que no se superponen y entre todos cubren la imagen completa.

La selección del umbral se ha realizado en base al histograma de la imagen donde se identifican modas que se adoptan como color base para una categoría.

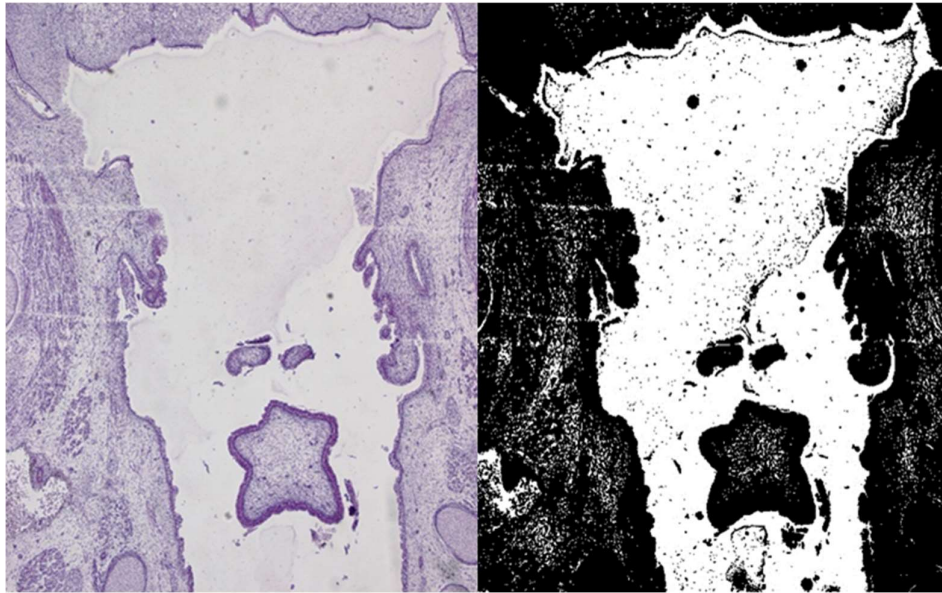


Figura 6. Imagen del feto F-1 de 9 semanas de caja 5 porta 153.1 (4X) antes y después de aplicar la umbralización binaria basada en el histograma de la imagen.

Se ha explorado también el Método de Otsu Nobuyuki (Nobuyuki, O., 1979), que trata de asignar cada pixel a una región de la imagen. La pertenencia de un pixel a una región se determina en función de su nivel de gris, comparándolo con el valor de establecido como umbral. En esta propuesta, el valor del umbral se calcula de forma que la dispersión dentro de cada segmento sea lo más pequeña posible, pero al mismo tiempo la dispersión sea lo más alta posible entre segmentos diferentes.

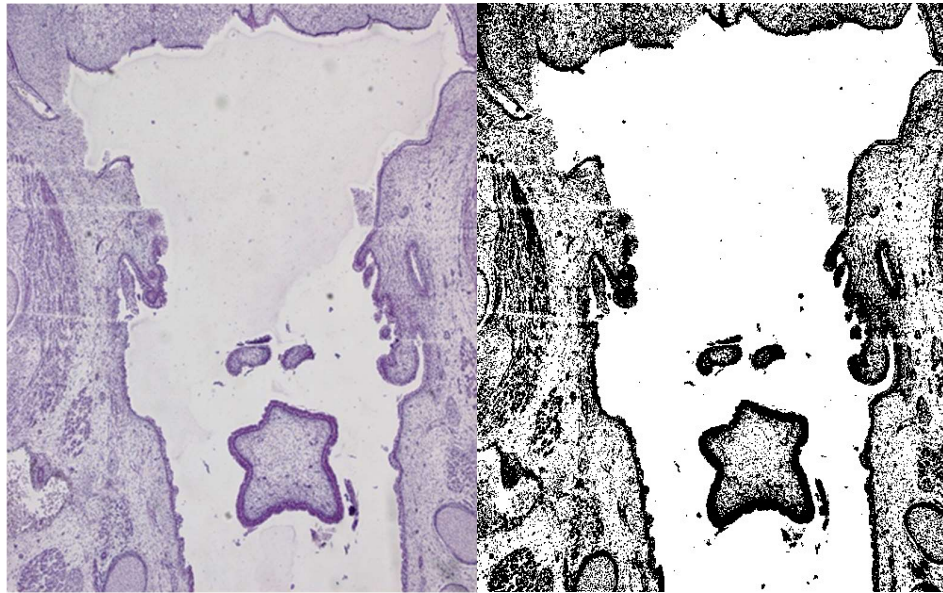


Figura 7. Imagen del feto F-1 de 9 semanas de caja 5 porta 153.1 (4X) antes y después de aplicar la umbralización propuesta por Otsu. Se puede observar que existen contornos que este método no cierra correctamente.

Adicionalmente, se ha aplicado un algoritmo de Canny de detección de bordes (Canny, 1986) con el fin de identificar el contorno del área de interés. Los bordes son las regiones de la imagen digital donde existe un cambio brusco de intensidad o color. Estas fronteras indican la localización de los puntos de la imagen donde se producen discontinuidades. Este algoritmo utiliza un filtro basado en la primera derivada de una gaussiana para evitar la detección de falsos bordes. El borde de una imagen puede apuntar en diferentes direcciones, por lo que este algoritmo utiliza cuatro filtros para detectar horizontal, vertical y diagonal en los bordes de la imagen borrosa generada a partir de la aplicación del filtro.

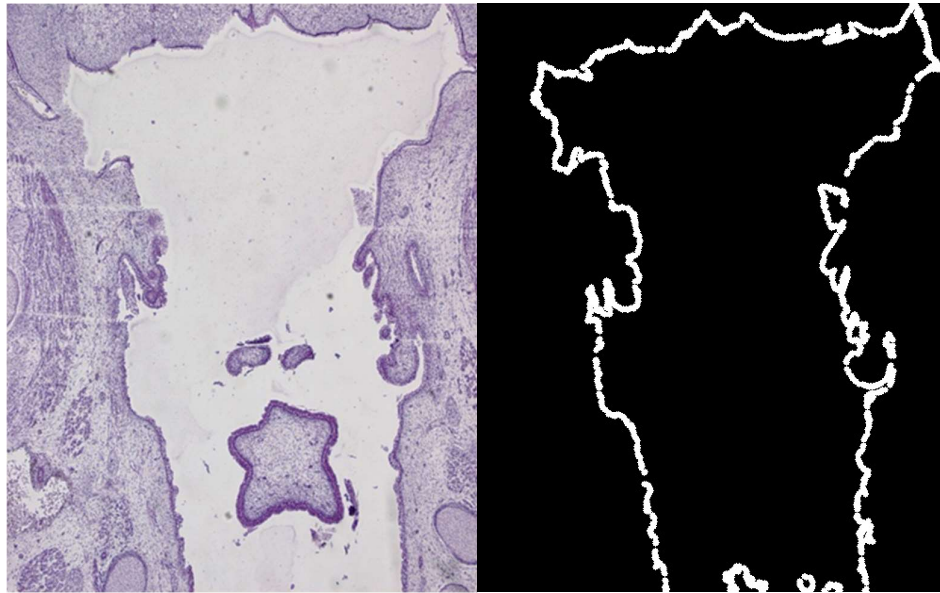


Figura 8. Imagen del feto F-1 de 9 semanas de caja 5 porta 153.1 (4X) antes y después de tras aplicar el algoritmo de detección de bordes de Canny (1986).

Para depurar este proceso, se ha aplicado un ajuste de contornos basado en B-splines. Esta técnica, permite aproximar el contorno de la figura, dividiendo en segmentos consecutivos el mismo, a partir de funciones polinómicas. Por simplificación computacional, se aplican polinomios de tercer grado (Figura 9).

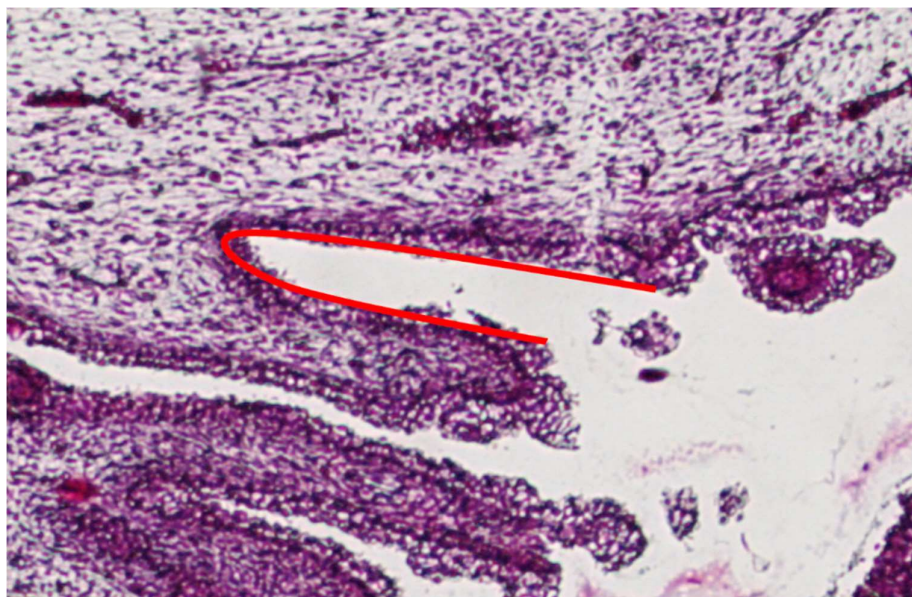


Figura 9. Ejemplo de aproximación por splines de un contorno de la imagen del feto F-1 de 9 semanas de caja 5 porta 155.4 (4X).

4. Fase de Reconocimiento

Es la última etapa de un proceso de tratamiento de imágenes digitales. En esta fase, se pretenden diferenciar los objetos previamente segmentados de manera automática y determinar la clase de pertenencia de cada uno de ellos.

El objetivo en este caso era determinar el inicio y el final de cada una de las tonsilas. Se han explorado diversos enfoques y alternativas, siendo conscientes de la limitación de la metodología adoptada. Se han explorado numerosas imágenes adquiridas del material de la embrioteca. En concreto, se han analizado un total de 963 imágenes de 23 especímenes, desde las 9 semanas hasta las 18 semanas.

5. Fase de Reconstrucción 3D

En esta última fase, el objetivo era integrar todas las imágenes de los cortes disponibles de cada espécimen. Sin embargo, la baja calidad de los bordes detectados y la ausencia de las piezas originales para obtener distintas imágenes del mismo espécimen en distintos ángulos no han permitido generar reconstrucciones razonables.

Para realizar la reconstrucción de la superficie en tres dimensiones de la amígdala, es necesario calcular, por un lado, los puntos de inicio y fin de la tonsila y, por otro lado, un punto de coincidencia de todos los cortes a partir del cual se superponen a la adecuada distancia las imágenes. Es importante remarcar que, si se realiza un recorte correcto de la tonsila, las opciones de encontrar estos puntos satisfactoriamente aumentan considerablemente. En este trabajo, se ha

considerado como punto de coincidencia el punto medio de la amígdala. Para hallarlo, hemos optado por calcular el promedio de los puntos de la tonsila en ambos ejes. Aunque también se han valorado opciones como el cálculo del foco de la parábola que pasa por los puntos de inicio y final de la amígdala, con resultados algo menos precisos.

Tras haber explorado distintas opciones de reconstrucción en tres dimensiones a partir de las diferentes láminas de la tonsila, como el 3D Surface de Matplotlib, se ha optado por crear un pequeño método ad hoc para este proyecto.

El funcionamiento de este algoritmo es el siguiente: por cada punto de cada imagen, se representa una línea que lo une al punto más cercano de la imagen del corte inmediatamente inferior.

Al corte a tratar le llamamos “padre” y al corte más cercano de la imagen inmediatamente inferior le denominamos “hijo”. Se va recorriendo cada punto de la curva padre para encontrar su punto más cercano en la curva hijo, y así sucesivamente hasta agotar las curvas. La información recogida se va almacenando en una matriz para su posterior representación.

Estudio inmunohistoquímico

En su momento el profesor Javier Puerta, creador de la colección, y con visión de futuro, dejó muchos especímenes fetales sin teñir con la esperanza de que con el tiempo las técnicas de inmunofluorescencia permitiesen hacer tinciones de ese tipo con diferentes anticuerpos. Por tanto, de todos los especímenes cortados se seleccionaba uno que se teñía con las técnicas

estándar y se dejaban los cuatro siguientes en el porta sin desparafinar con el fin de que algún año se pudiesen hacer técnicas inmunohistoquímicas.

Para establecer la colonización de la tonsila palatina por linfocitos T se han utilizado tinciones de inmunofluorescencia (IF). Para ello, en primer lugar, las secciones histológicas se lavaron con PBS tres veces durante 5 minutos. Se hizo una caja húmeda para evitar que los portaobjetos muriesen y se decoloraran. Se usó PBS que contenía suero de cabra al 5 % y Tritón al 0,3 % para el bloqueo, seguido de la incubación con anticuerpos primarios (OKT3-Alexa 488/ CK-Alexa 594) en solución de bloqueo en diluciones optimizadas a 4 °C durante la noche. El segundo día, los portaobjetos se lavaron tres veces durante 10 minutos en PBS. Los núcleos se contrastaron con medio de montaje Vectashield que contenía DAPI (Vector Laboratories, Burlingame, EE. UU.). La microscopía y la adquisición de imágenes se realizaron utilizando un microscopio Axio Imager A1 y el software AxioVision.

6. RESULTADOS

Como el material estudiado utilizado ha sido de embriones y fetos humanos, la descripción se hará en dos apartados, uno dedicado al estudio del material embrionario, desde el Estadio 13 al Estadio 23, y el otro capítulo dedicado a la exposición de los resultados de materia fetal temprano, desde la semana 9 a la semana 18. En el primer caso su uso es para responder a la pregunta ¿la tonsila palatina tiene su origen en la segunda bolsa faríngea? y en el segundo caso (muestra fetal), estará en relación con la morfogénesis del sistema de criptas, patrón glandular y otros detalles morfológicos como la invasión linfocítica, vascularización, cápsula, etc...

6.1 DESARROLLO EMBRIONARIO

ESTADIO 13

En este estadio el primer arco faríngeo se halla bien definido. Se aprecian los procesos maxilar y mandibular, separados por dos estrecheces; una interna, situada a nivel del esbozo del estomodeo, que corresponde a la primera bolsa faríngea (Ib) y otra externa, la cual corresponde a la primera hendidura o hendidura máxilomandibular (Figura 10.A).

En este estadio también se observa la presencia de la segunda bolsa faríngea, el segundo arco faríngeo con su correspondiente hendidura (en la parte externa del arco), y el segundo arco aórtico (Figura 10.B).

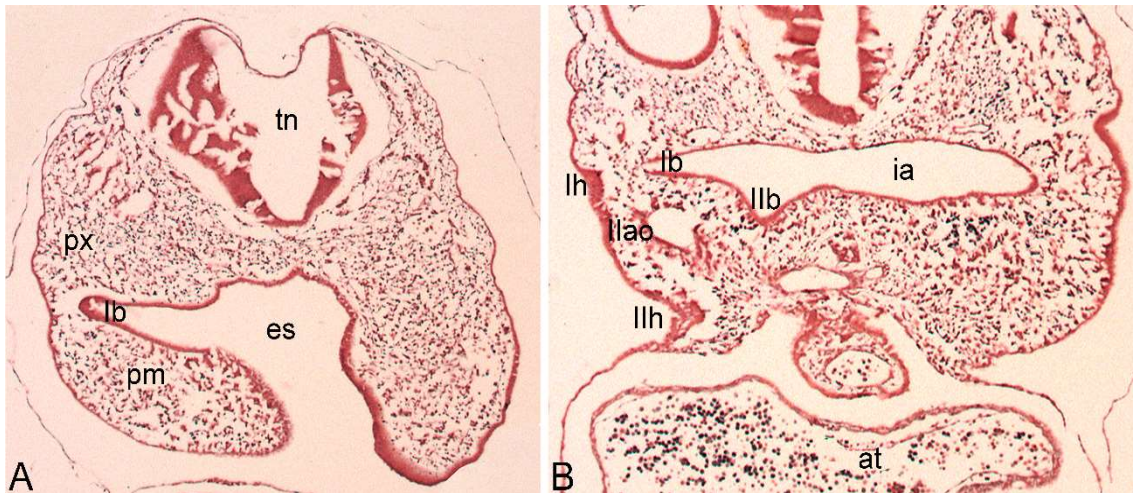


Figura 10. (Embrión S5. Estadio 13). Tinción hematoxilina-eosina. Cortes coronales. **A** (4X), sección a nivel del primer arco faríngeo. **B** (4X), sección a nivel del segundo arco faríngeo. **at**, atrio primitivo; **es**, estomodeo; **ia**, intestino anterior; **px**, proceso maxilar; **pm**, proceso mandibular; **tn**, tubo neural; **llao**, segundo arco aórtico; **lb**, primera bolsa faríngeo; **llb**, segunda bolsa faríngeo; **lh**, primera hendidura faríngeo; **llh**, segunda hendidura faríngeo.

ESTADIO 14

En este estadio la segunda bolsa faríngeo se muestra como un tubo orientado en sentido latero-medial y cráneo-caudal.

Las bolsas y las hendiduras faríngeas de cada arco se hallan confrontadas unas con otras y se han hecho más profundas, de modo que los todos los arcos faríngeos (I-IV, VI), que también han ido creciendo, se hallan perfectamente definidos (Figura 11). Debido a este crecimiento de las hendiduras y de las bolsas faríngeas, el mesénquima que separa a ambas estructuras cada vez es más delgado, pudiendo llegar a ser tan solo una fina membrana que en ocasiones se rompe, comunicando, en estos casos, el intestino anterior con la cavidad amniótica.

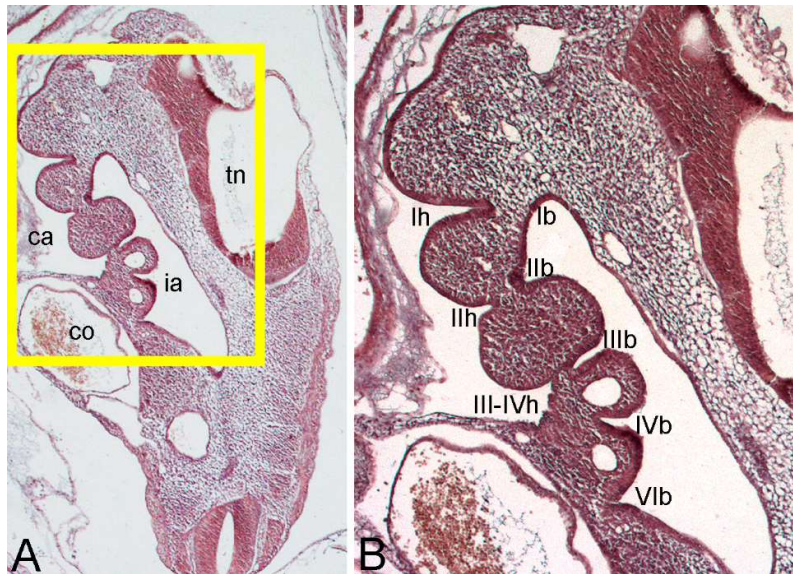


Figura 11. (A, 2X y B, 4X). Embrión JP9 (6mm, Estadio 14). Tinción hematoxilina-eosina, VOF. Cortes sagitales oblicuos. **ca**, cavidad amniótica; **co**, corazón; **ia**, intestino anterior; **tn**, tubo neural; **Ib**, primera bolsa faríngea; **IIb**, segunda bolsa faríngea; **IIIb**, tercera bolsa faríngea; **IVb**, cuarta bolsa faríngea; **VIb**, sexta bolsa faríngea; **Ih**, primera hendidura faríngea; **IIh**, segunda hendidura faríngea; **III-IVh**, tercera y cuarta hendiduras faríngeas.

ESTADIOS 15 y 16

En el estadio 15 ya se puede observar, en la línea media, los primordios correspondientes a la lengua y a la laringe, y lateralmente a los pliegues palatinos, puntos de referencia anatómicos importantes para situar el esbozo de la fosa tonsilar.

La referencia de los arcos y las hendiduras faríngeas se empiezan a perder, mientras se va formando poco a poco el seno cervical (Figura 12).

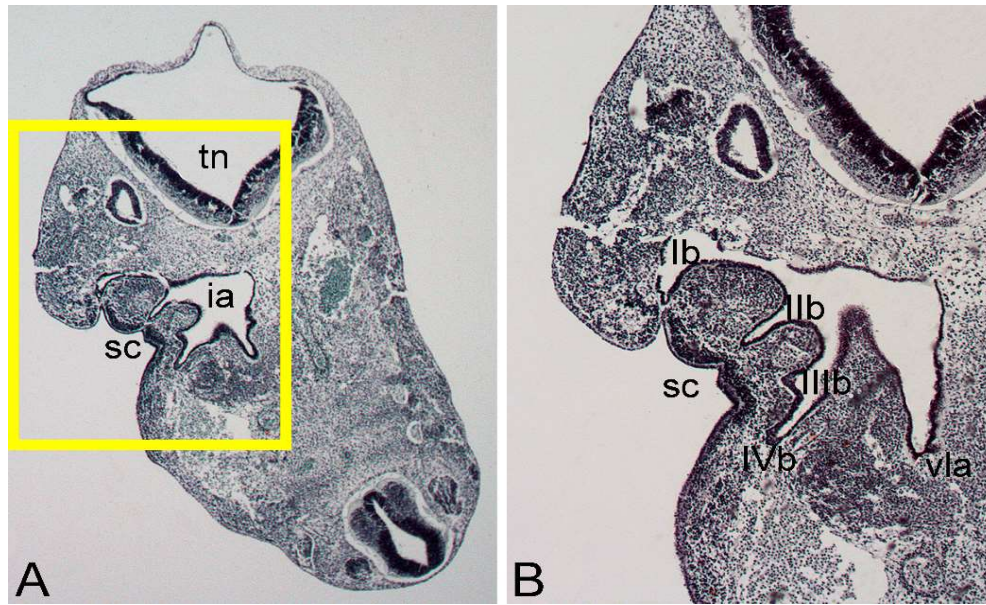


Figura 12. (A 2X y B 4X, detalle de la región encuadrada en A). Embrión PV.8 (Estadio 15). Tinción hematoxilina-eosina. Cortes coronales. Formación del seno cervical. **ia**, intestino anterior; **sc**, seno cervical; **tn**, tubo neural; **vla**, primordio del vestíbulo laríngeo; **lb**, primera bolsa faríngea; **IIb**, segunda bolsa faríngea; **IIIb**, tercera bolsa faríngea; **IVb**, cuarta bolsa faríngea.

Hay que destacar que el mesénquima subyacente al ectodermo de dicho seno, se va condensando e invaginando a nivel de las hendiduras faríngeas (Figura 12) para dar lugar a las placodas III-IV las cuales ya pueden observarse en el estadio 16 (Figura 14).

Las bolsas faríngeas segundas, terceras y cuartas, persisten bilateralmente como evaginaciones laterales de la parte del intestino anterior que dará lugar a la cavidad faríngea (Figuras 12 y 14). Sin embargo, la conexión de la segunda bolsa con la cavidad faríngea primitiva se irá perdiendo paulatinamente (Figura 14).

A nivel del primordio del vestíbulo laríngeo, la segunda bolsa faríngea se halla completamente individualizada del intestino anterior, a modo de tubo hueco en el mesénquima adyacente. Hay que destacar que en su extremo dorsal aparece una estructura tubular, de epitelio poliestratificado, que corresponde al

conducto seno cervical o conducto branquial de Rabl (Figura 13). Dicho conducto se forma por la invaginación de la tercera hendidura faríngea, como parte del seno cervical.

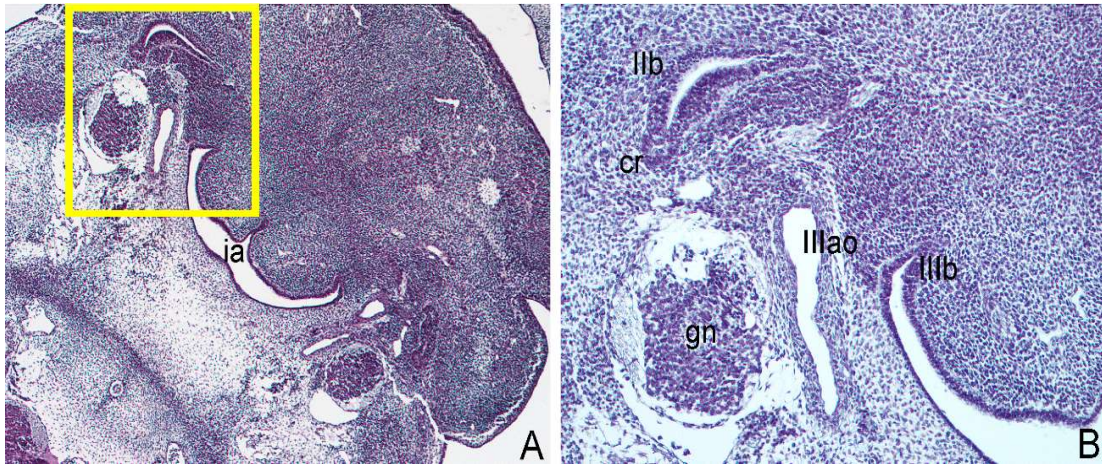


Figura 13. A, 4X y B, 10X, detalle de la zona encuadra en A). Embrión BI-8.5 (Estadio 15). Tinción hematoxilina-eosina. Cortes coronales. **cr**, conducto branquial de Rabl; **ia**, intestino anterior; **gn**, ganglio nodoso; **IIb**, segunda bolsa faríngea; **IIIb**, tercera bolsa faríngea; **IIIao**, tercer arco aórtico

Tanto la segunda bolsa faríngea como el conducto de Rabl se fusionan y relacionan, a este nivel, con el ganglio petroso, el nervio glossofaríngeo, el ganglio nodoso y el nervio vago. En este estadio también están definidos el nervio hipogloso invadiendo la musculatura lingual (Figura 13).

La parte caudal del conducto de Rabl, a diferencia de la craneal, carece de luz, y acaba fusionándose, con la parte dorsal de la segunda bolsa faríngea, la cual se irá cerrando progresivamente hasta finalizar en un fondo de saco ciego. (Figuras 13 y 14).

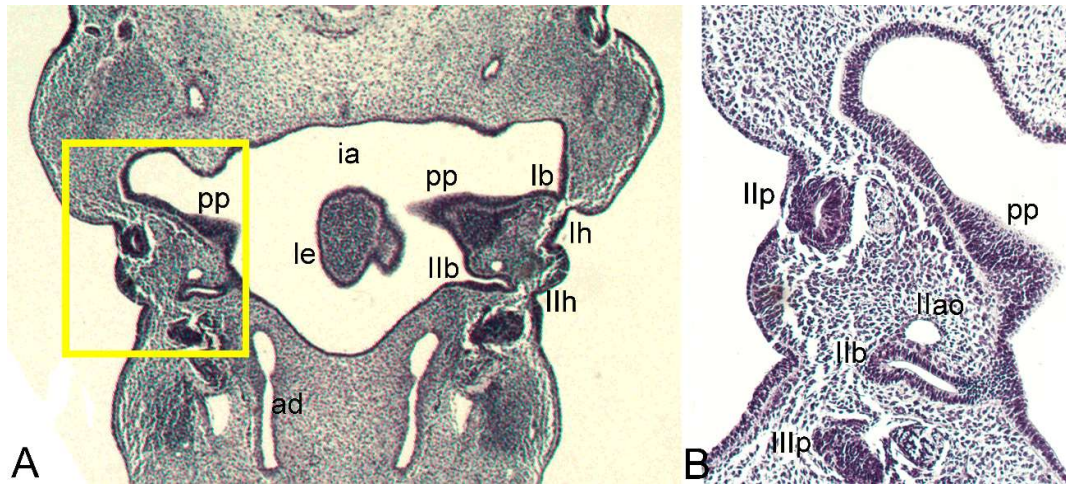


Figura 14. E16 (A, 2X y B 10X, detalle de la región encuadrada en A). Embrión DD10 (Estadio 16). Tinción hematoxilina-eosina. Cortes coronales. **ia**, intestino anterior; **le**, lengua; **pp**, pliegues palatinos; **llao**, segundo arco aórtico; **lb**, primera bolsa faríngea; **llb**, segunda bolsa faríngea; **lh**, primera hendidura faríngea; **llh**, segunda hendidura faríngea; **llp**, segunda placoda; **lllp**, tercera placoda.

El seno cervical se invagina para formar un tubo de epitelio poliestratificado que se puede identificar con el conducto braquial de Rabl, que se asocia a las placodas III y IV, de donde derivaran el ganglio petroso y nodoso de los nervios glossofaríngeo y vago (Figura 14).

En este estadio la segunda bolsa está conectada por un cordón sólido con la faringe y su conjunto formado con el seno cervical prácticamente colapsado.

ESTADIO 17 y 18

Durante estos estadios, suceden tres cambios importantes en la región faríngea primitiva que darán lugar al cuello: las bolsas faríngeas pierden definitivamente su conexión con la cavidad faríngea primitiva, el corazón migra hacia el tórax y los arcos aórticos se van verticalizando al acompañar al corazón en su descenso.

La lengua y la laringe han ido aumentando de tamaño, siendo especialmente voluminosa la primera, y el primordio del hueso hioides se ha constituido mediante la fusión de los segundos arcos faríngeos, por delante del vestíbulo laríngeo. El nervio facial aparece dorsalmente al hioides (Figura 15).

Los arcos faríngeos se han ido atenuado de modo que ya no es tan evidente su segmentación. Los únicos detalles externos que se conservan en el estadio 18, son la primera hendidura faríngea y el seno cervical (Figura 15).

Un detalle topográfico de gran importancia, a partir de este estadio, es que la segunda bolsa y el conducto de Rabl no son visibles, han desaparecido. Sin embargo, tenemos una estructura muy importante para localizar el nivel de la faringe donde posteriormente se diferenciará la fosa o seno tonsilar. La estructura no es otra que la punta del cartílago de Reichert, que siempre mira a la región faríngea donde se situará la fosa o seno de la futura tonsila palatina, limitada por la lengua medialmente y el paladar duro cranealmente.

Este es el momento clave del desarrollo de la segunda bolsa faríngea. Por detrás del hioides y del nervio facial, se observan unas prolongaciones laterales de la faringe que destacan por una importante proliferación epitelial, a modo de tapón, que se encuentra en su fondo (Figura 15).

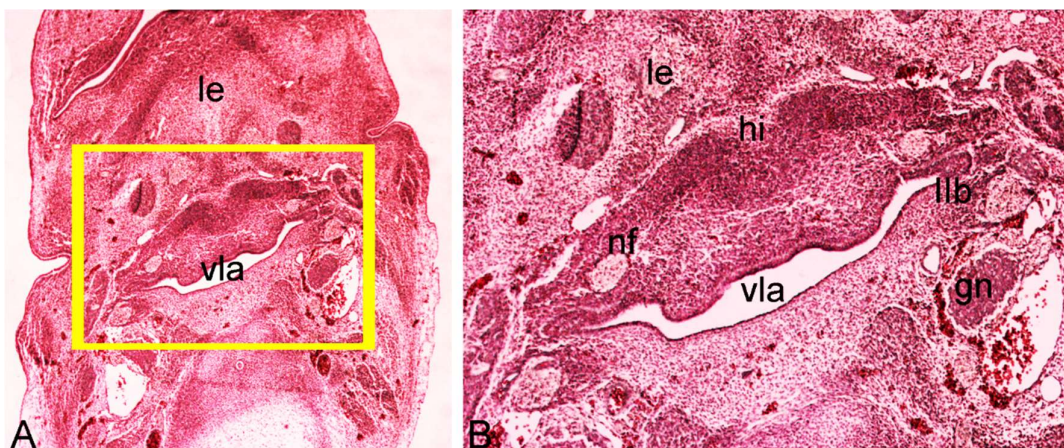


Figura 15 (A, 2X y B, 4X, detalle del área encuadrada en A). Embrión C-7 (Estadio 18). Tinción VOF. Cortes coronales. **Gn**, ganglio nodoso; **hi**, primordio del hueso hioides; **le**, lengua; **nf**, nervio facial; **vla**, vestíbulo laríngeo primitivo; **IIb**, segunda bolsa faríngea.

ESTADIOS 19 y 20

En este estadio, la parte lateral de la cavidad faríngea se prolonga hacia adelante en ambos lados, quedando la segunda bolsa faríngea como el fondo de saco de dicha prolongación. Destaca como referencia anatómica el cartílago de Reichert, el cual señala inequívocamente su ubicación, como se dijo anteriormente.

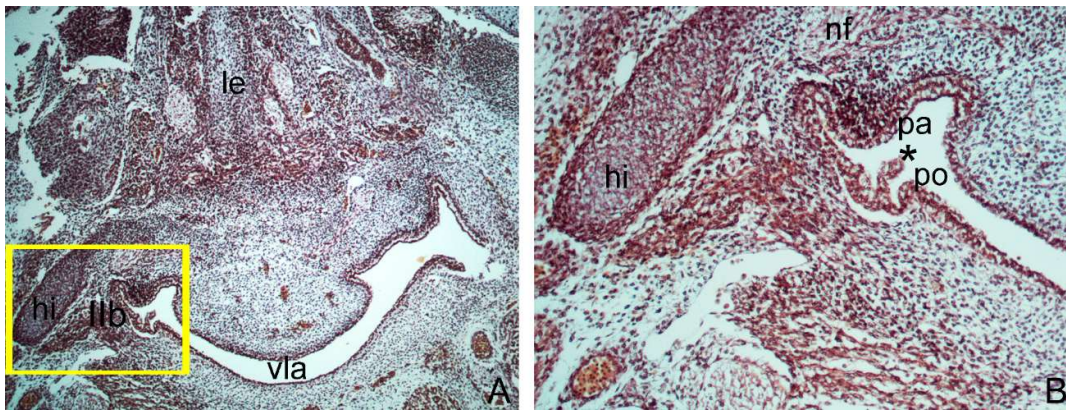


Figura 16 (A, 4X y B, 10X, detalle de la región encuadrada en A). Embrión E22 (Estadio 19). Tinción hematoxilina-eosina. Cortes coronales. **hi**, hueso hioides; **le**, lengua; **pa**, pliegue anterior; **po**, pliegue posterior; **nf**, nervio facial; **vla**, vestíbulo laríngeo primitivo; **IIb**, segunda bolsa faríngea; **asterisco**, pliegue intratonsilar.

En la pared lateral de la faringe, cerca del pliegue glosopiglótico, se observa una cavidad, poco profunda, vestigio del lugar que ocupaba la segunda bolsa faríngea, donde se desarrollará la fosa tonsilar. Esta fosa está delimitada por dos pliegues discretos, anterior y posterior, y se halla recubierta por una proliferación epitelial, que protruye hacia la luz de la faringe, a modo de digitación, constituyendo el pliegue intratonsilar. Este pliegue divide la fosa

tonsilar en dos senos: anterior y posterior, siendo el anterior generalmente más amplio que el posterior.

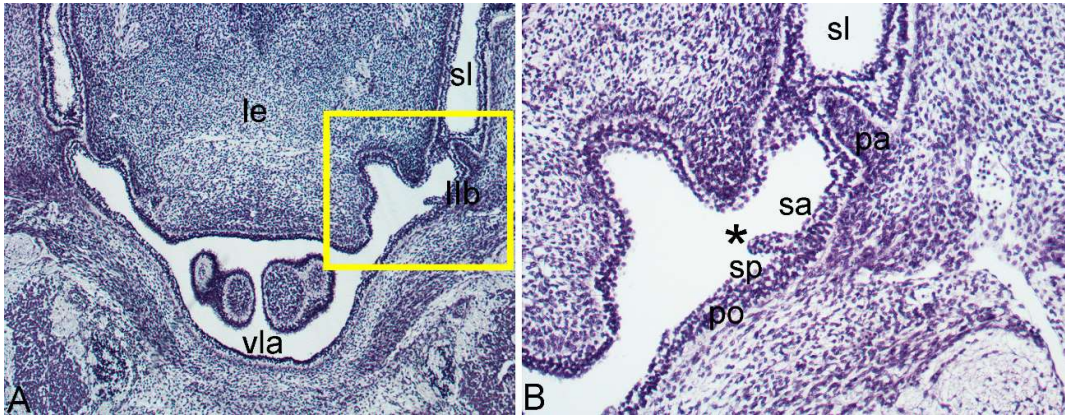


Figura 17. E19-2 (A, 4X y B, 10X, detalle de la región encuadrada en A). Embrión E18 (Estadio 19). Tinción hematoxilina-eosina. **le**, lengua; **pa**, pliegue anterior; **po**, pliegue posterior; **sa**, seno tonsilar anterior; **sl**, surco lingual; **sp**, seno tonsilar posterior; **vla**, vestíbulo laríngeo primitivo; **lib**, segunda bolsa faríngea; **asterisco**, pliegue intratonsilar.

El pliegue palatogloso separa el surco gingivolingual de la cavidad faríngea, a nivel del pliegue epitelial anterior de la fosa tonsilar. Dicho pliegue presenta una condensación celular que dará lugar al músculo del mismo nombre. El pliegue epitelial posterior se halla a nivel del surco glosopiglótico (Figura 17)

ESTADIOS 21 y 22

Estos estadios presentan pocos cambios respecto al estadio anterior. La fosa tonsilar es más amplia respecto a los estadios anteriores. Sigue estando compartimentada en un seno anterior y otro posterior por el pliegue intratonsilar, siendo el seno anterior, generalmente, más amplio que el posterior.

Se observa la fosa tonsilar en la parte anterolateral de la faringe, a nivel del surco glosopiglótico. Destaca su poca profundidad y sus dos pliegues

epiteliales anterior y posterior. Toda la fosa está recubierta de epitelio estratificado, y aunque no se puede observar el pliegue intratonsilar en la Figura 18, sí que se halla presente en este estadio.

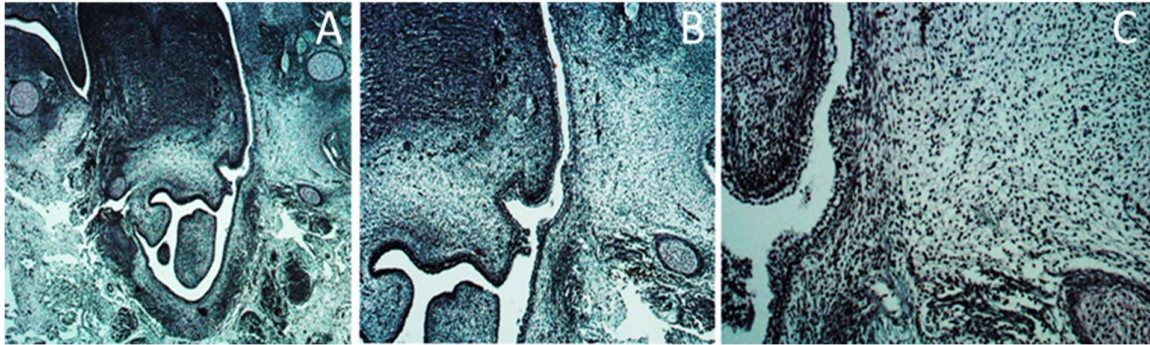


Figura 18. Embrión AC-23 (23 mm; E21). Tinción hematoxilina-eosina, VOF, Azan. Cortes coronales oblicuados. En el lado izquierdo la fosa tonsilar comunica con el surco lingual ventralmente y con la cavidad faríngea dorsalmente. En el lado derecho estas cavidades se hallan separadas.

En los cortes más craneales, se puede observar a la fosa tonsilar conectando ventralmente con el surco lingual y dorsalmente con la cavidad faríngea (Figura 18 A-B). A medida que vamos descendiendo, estas cavidades pierden la comunicación, quedando individualizadas, ya que los pliegues anterior y posterior de la fosa tonsilar se unen a los esbozos de los pliegues palatoglosos y palatofaríngeos respectivamente (Figura 18 B). La fosa tonsilar queda delimitando una cavidad, junto a los esbozos de la lengua y la epiglotis. El pliegue palatoglosal puede tapar parcialmente a la fosa tonsilar a modo de opérculo (Figura 18 B).

Por debajo del epitelio de la fosa tonsilar, se observa una condensación del mesénquima subyacente, representando el inicio de la formación de la tonsila palatina (Figura 18 A).

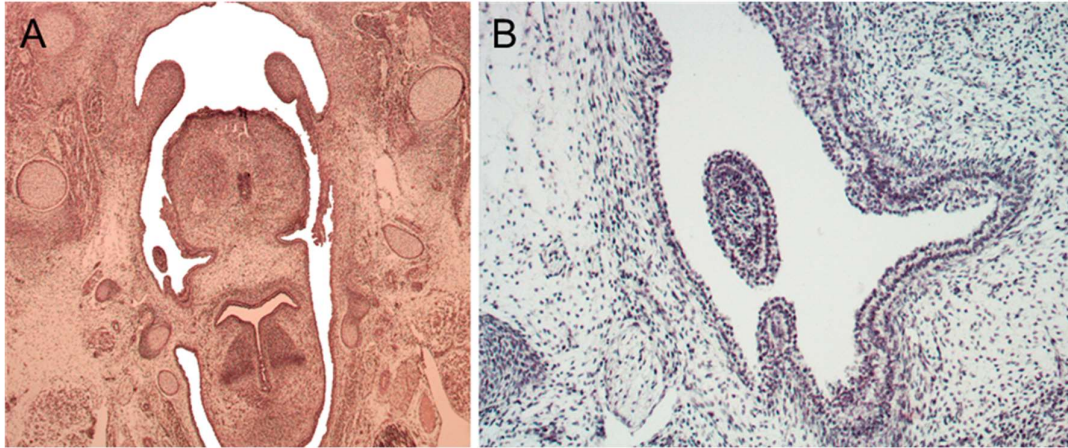


Figura 19. Embrión F-8 (25 mm; Estadio 22). Tinción hematoxilina-eosina, VOF, Azan. Corte coronal. B detalle del seno tonsilar izquierdo.

Es importante tener en cuenta la relación de la fosa tonsilar con el cartílago del segundo arco faríngeo, el cartílago de Reichert, ya que es una estructura que se puede identificar fácilmente y señala, como si de un perro pointer se tratara, el lugar en el que se halla la fosa tonsilar, siendo una buena referencia anatómica para localizarla

ESTADIO 23

En este estadio, la fosa tonsilar es más amplia respecto a los estadios anteriores. Sigue estando compartimentada en un seno anterior y otro posterior por el pliegue intratonsilar, siendo el seno anterior, generalmente, más amplio que el posterior (Figura 20 A y B).

Destacan las fibras las fibras del músculo constrictor superior de la faringe llegando al seno posterior de la fosa tonsilar (Figura 20 A y B).

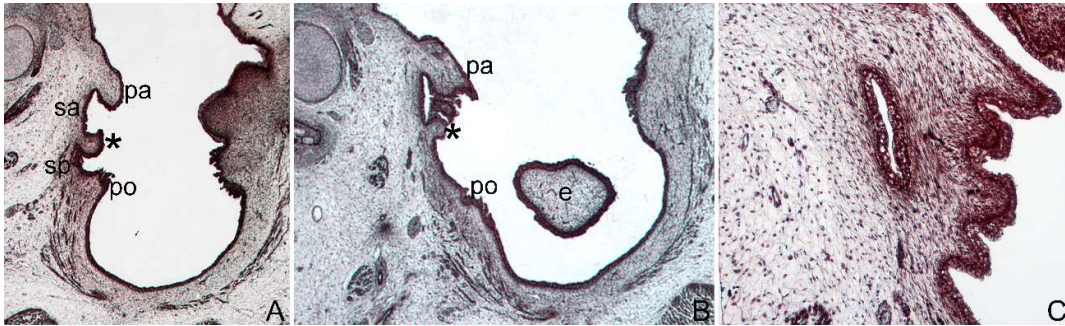


Figura 20. (A, 2X; B, 4X y C 10X. Embrión F-18 (E23). Tinción Azan, Bielschowsky. Cortes coronales. Detalles de la formación de la fosa tonsilar, en todo similares a los descritos en la figura anterior. e, epiglotis; pa, pliegue anterior de la fosa tonsilar; po, pliegue posterior; sa, seno palatino anterior de la fosa tonsilar con el músculo constrictor; sp, seno palatino posterior; asterisco, pliegue intratonsilar.

El pliegue intratonsilar, que inicialmente estaba formado exclusivamente por epitelio, ha crecido y se ha ensanchado, estando ahora constituido internamente por mesénquima (Figura 20 A y B).

La fosa tonsilar se va cerrando progresivamente a medida que descendemos y los pliegues se unen caudalmente para formar la fosa triangular. (Figura 19 B).

En nuestros especímenes la diferenciación de los dos senos: anterior y posterior es muy difícil de observar. Toda la fosa tonsilar acaba teniendo, en apariencia y caudalmente, un único seno, el cual finaliza en un fondo de saco recubierto por epitelio estratificado (Figura 21 C).

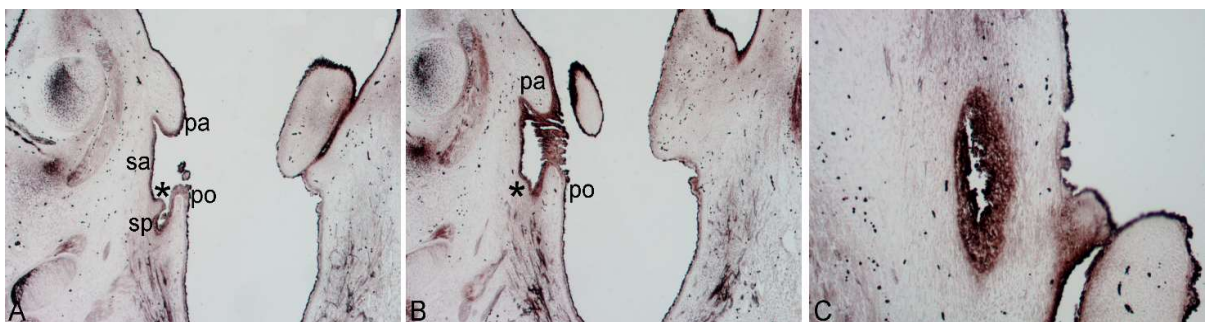


Figura 21. (A, 2X; B, 4X y C x 10X). Embrión VD-34 (34 mm; Estadio 23). Tinción Bielschowsky. Cortes coronales. Formación de la fosa tonsilar. **pa**, pliegue anterior de la fosa tonsilar; **po**, pliegue posterior; **sa**, seno tonsilar anterior; **sp**, seno tonsilar posterior; **asterisco**, pliegue intratonsilar.

Resumen del periodo embrionario:

En el proceso embrionario se podría diferenciar tres fases. La primera o branquial, una segunda, indiferenciada y la tercera o Tonsilar.

La primera se extiende desde el estadio 13 hasta el estadio 16. Se caracteriza por la presencia de los arcos faríngeos, bolsas y hendiduras, donde destaca el misterio de la segunda hendidura y bolsa. La primera transformándose en conducto de Rabl o seno cervical (placodas III y IV) que fusionado con la segunda bolsa dan origen a los ganglio petroso y nodoso.

La segunda fase, o indiferenciada, se extiende desde el estadio 17 al estadio 18, en el que los arcos han desaparecido y la superficie externa del embrión es lisa. Esta fase coincide con la desaparición de la segunda bolsa y del conducto de Rabl.

En la fase tonsilar (estadios 19-23) podemos observar que la punta del cartílago de Reichert (o pointer), señala la presencia de una fosa en la faringe delimitada por dos bordes: anterior y posterior y un pequeño pliegue, repliegue intratonsilar, que la divide en dos senos. El seno anterior es de mayor tamaño que el posterior. Generalmente el borde anterior es de un crecimiento dorsal muy marcado, que puede llegar a cerrar la fosa.

6.2 DESARROLLO FETAL TEMPRANO

En este apartado, utilizaremos material hasta la semana 14, los dos especímenes de las semanas 17 y 18 son un anencéfalo y un holoprosencéfalo que, al no tener cabeza, la longitud referenciada que les haría pertenecer a esas semanas no se corresponde por falta de cabeza, de ahí que su madurez es mucho mayor.

9 SEMANAS

En la 9ª semana de gestación, se han analizado 3 fetos humanos (Tabla 2).

En los 3 especímenes, encontramos hallazgos similares, hallando una depresión a ambos lados de la pared faríngea correspondiente a la fosa tonsilar (Figuras 22 y 23).

Aparentemente esta región no se diferencia del resto de la pared faríngea, observando con un mayor aumento (x10 y x20) un epitelio escamoso estratificado no queratinizado con un grosor similar al resto de la pared y sin signos de acúmulos linfoides (Figura 22). Por tanto, al ser una etapa tan temprana del desarrollo la zona de interés no muestra rasgos característicos de la formación de la tonsila palatina.

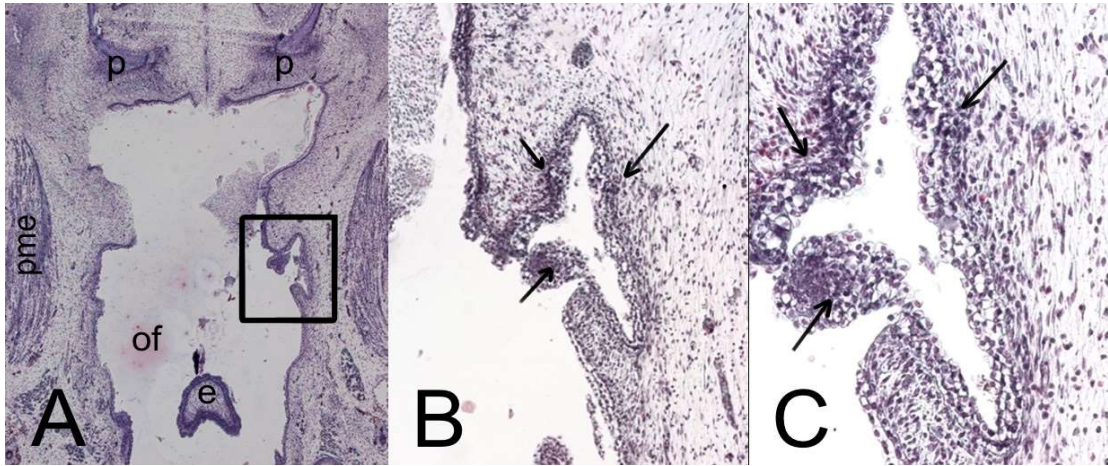


Figura 22. Cortes axiales consecutivos del espécimen F-1 de 9 semanas de gestación (45 mm)
A. Depresión de la pared faríngea derecha correspondiente con la fosa tonsilar (encuadrado en la imagen) con etapas iniciales del proceso al mismo nivel en la hemifaringe izquierda. **B y C.** Detalle del epitelio escamoso estratificado no queratinizado a nivel de la depresión faríngea similar al resto de la pared, sin presencia de acúmulos linfoides (x10 y x20 respectivamente). Las flechas señalan este detalle histológico. Abreviaturas: **p:** paladar duro; **pme:** pterigoideo medial; **of:** orofaringe; **e:** epiglotis.

A medida que descendemos la fosa pierde comunicación con la faringe, dando la imagen de una cavidad aislada cuya luz se va estrechando cada vez más hasta desaparecer, lo cual ocurre aproximadamente en el momento en que la lengua empieza a aparecer en los cortes (Figura 23 C).

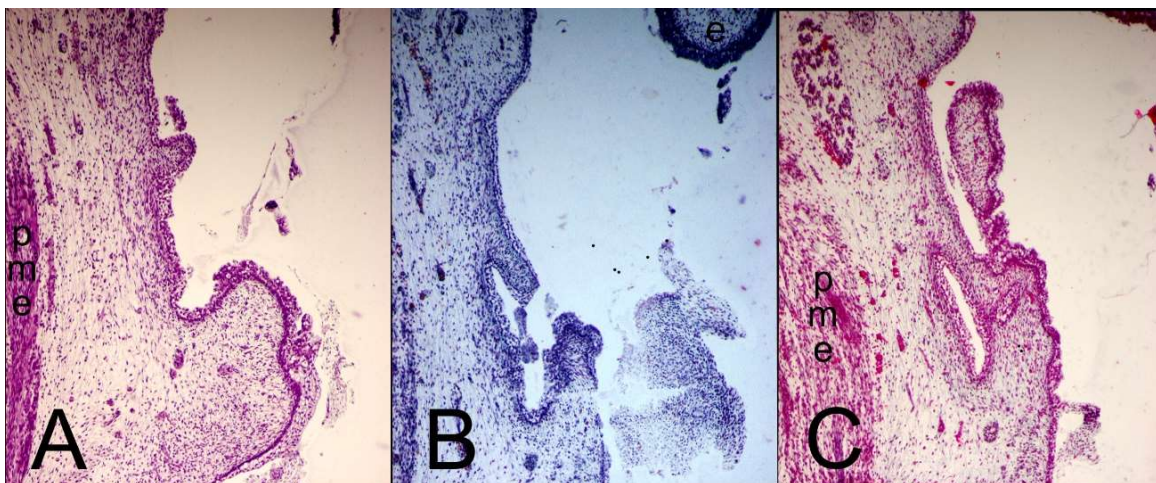


Figura 23. Cortes axiales consecutivos del espécimen F-1 de 9 semanas de gestación (45 mm) **A.** Inicial desarrollo de la depresión de la pared faríngea izquierda correspondiente con la futura fosa tonsilar. **B.** Depresión de la pared faríngea correspondiente con la fosa tonsilar izquierda. **C.** Cavidad aislada única observada en un corte posterior a la Figura 23 B. Abreviaturas: **pme:** pterigoideo medial; **e:** epiglotis.

A pesar de las similitudes en los hallazgos, encontramos algunas diferencias entre los especímenes estudiados. En COLL y F-46 la fosa parece estar dividida en dos por un pliegue, siendo en el caso del espécimen COLL solo a nivel superior (Figura 24 A).

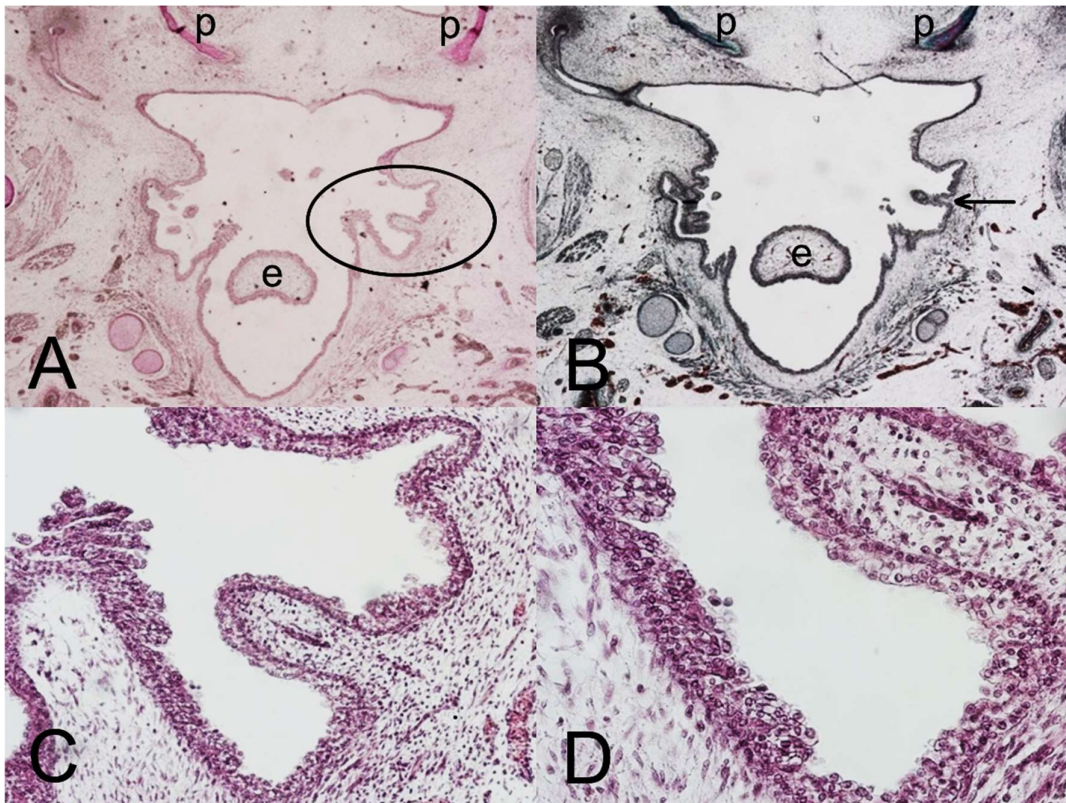


Figura 24. Cortes axiales consecutivos del espécimen COLL de 9 semanas (44 mm). **A.** División de la fosa tonsilar izquierda en dos secciones por un pliegue limitado solo a nivel superior (marcado por una elipse). **B.** Aspecto bilobulado (señalado por una flecha) de la región tonsilar izquierda. **C.** y **D.** Detalle del engrosamiento del epitelio, sugerente de puntos de inicio de formación de las futuras criptas primarias (x10 y x20 respectivamente). Estas imágenes detalladas a mayor aumento corresponden a un corte axial muy similar al de la figura 24 A (concretamente de la región marcada por la elipse). Abreviaturas: **p:** paladar duro; **e:** epiglotis.

En cambio, en el caso de F-46 este pliegue se extiende en toda su longitud (Figura 25).

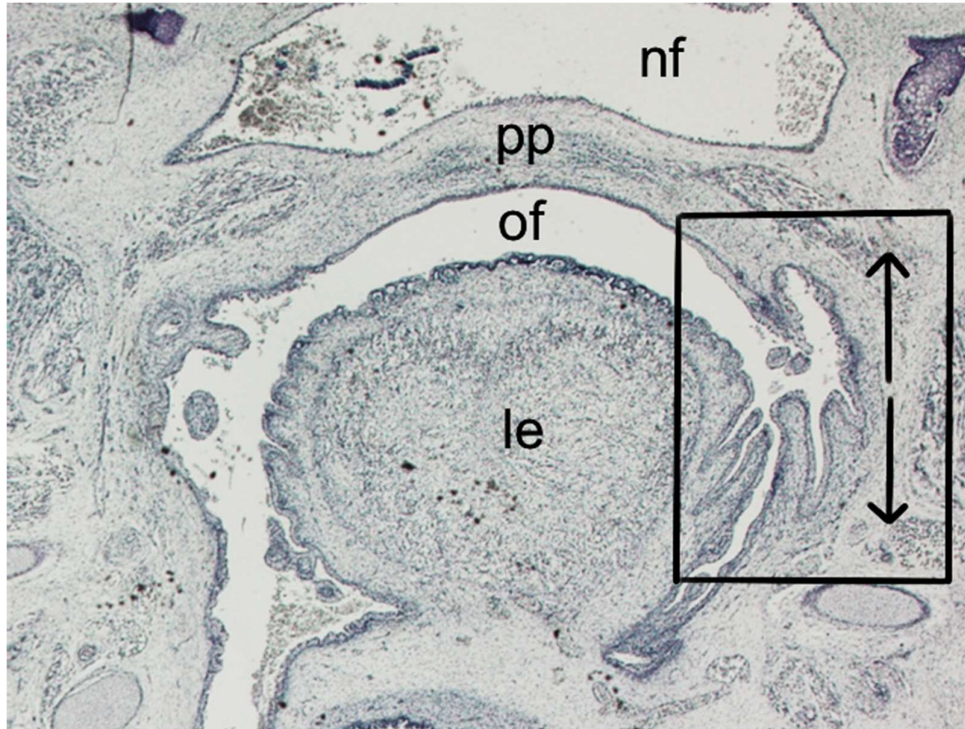


Figura 25. Corte axial de espécimen F-46 de 9 semanas (46 mm). División de la fosa por un pliegue más evidente que en la Figura 23 A, extendiéndose en este caso en toda su longitud (tanto superior como inferior como muestran las flechas). Abreviaturas: **nf**: nasofaringe; **pp**: pliegues palatofaríngeos; **of**: orofaringe; **le**: lengua.

Por estos motivos, a medida que descendemos en dirección caudal perdiendo comunicación con la faringe y con la fosa cerrándose, encontraríamos en COLL un aspecto bilobulado (Figura 24 B) y posteriormente una única cavidad, mientras que en F-46 veríamos dos cavidades aisladas. Dichas cavidades de manera habitual irán reduciendo su tamaño paulatinamente hasta desaparecer como mencionamos anteriormente.

Además, con respecto al epitelio, la pared de la fosa no siempre presenta un aspecto tan homogéneo, encontrando en algunas ocasiones puntos de

engrosamiento en el epitelio, lo que sugiere puntos de inicio de formación de las criptas primarias (Figura 24 C y D).

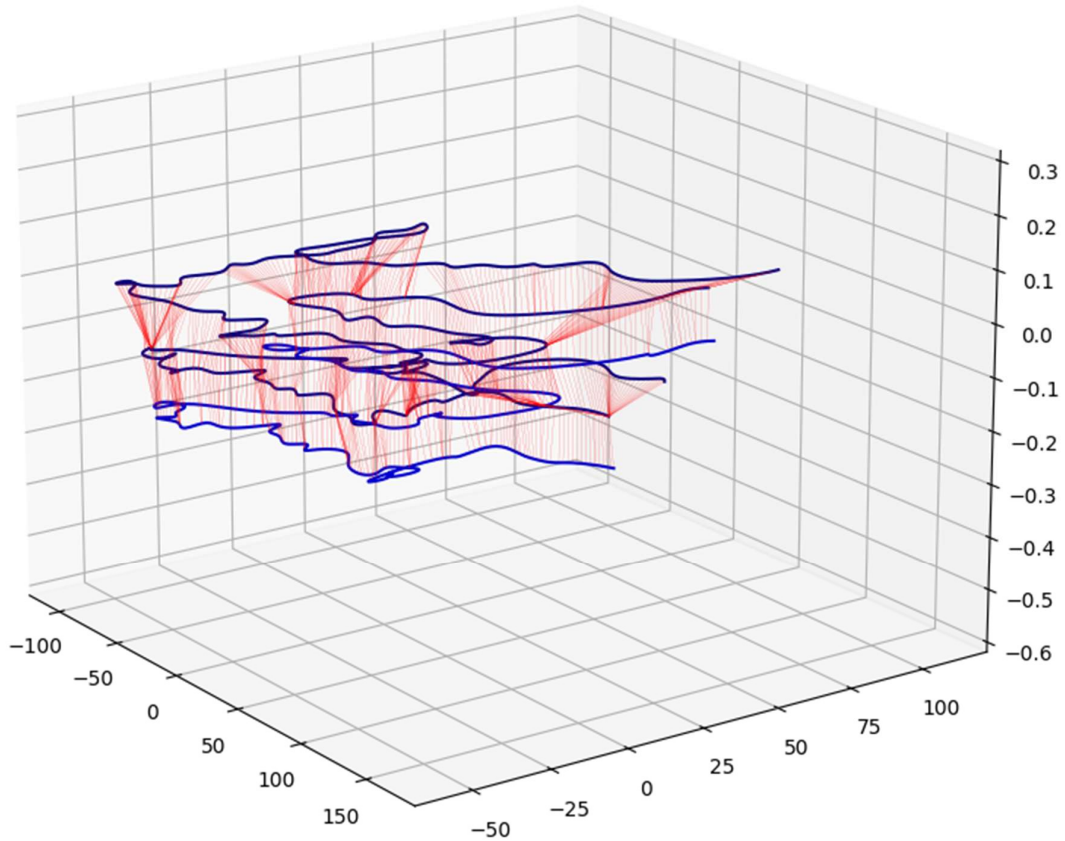


Figura 26. Imagen del feto F-1 de 9 semanas de caja 5 porta 153.1 (4X). Método de reconstrucción 3D tras el procesamiento de la imagen. Lamentablemente, la reconstrucción obtenida no tiene la suficiente calidad para el reconocimiento de formas y estudiar correctamente la evolución de la tonsila durante el desarrollo fetal. La microscopía actual permite utilizar algoritmos de reconstrucción en 3D con mucho mejor detalle y calidad que el propuesto en este trabajo, pero requiere del espécimen completo.

Resumiendo, en esta etapa tenemos una cavidad alargada y estrecha en un plano paralelo a la pared faríngea, que en algunos casos presenta un pliegue que la recorre longitudinalmente dividiéndola en dos, comunicándose con la luz faríngea en la parte superior, pero que se separa y aísla en su porción inferior sin poseer elementos destacables.

10 SEMANAS

Para estudiar el desarrollo de la tonsila palatina a las 10 semanas de gestación dispusimos de 4 fetos de dicha edad (Tabla 2). Se analizaron estos especímenes porque posibilitaban el estudio completo en todos los planos del espacio (F-9 en cortes axiales, MA-57 y F-28 frontales y F-25 sagitales).

En un plano frontal, observamos en primer lugar, el músculo tensor del velo del paladar (periestafilino externo) rodeando el gancho de la apófisis pterigoides, la tuba faringotimpánica y la mandíbula osificándose, ya que, aunque en este punto todavía no se pueda localizar la tonsila, ayuda a determinar la región a estudio. Avanzando hacia una zona más posterior, podemos ya sí visualizar unas pequeñas estructuras densas y sólidas que parecen introducirse desde el epitelio hacia el tejido subyacente, correspondientes con los esbozos de las primeras glándulas. Conforme avancemos en los cortes, en un plano en el que la lengua ocupara casi toda la cavidad oral, podríamos visualizar los primeros indicios de la presencia de la fosa tonsilar. En esta semana de gestación, observamos una estructura tubular con luz, tapizada por un epitelio plano estratificado no queratinizado (mismo epitelio recubriendo toda la cavidad oral) que corresponde a la sección de una cripta de segundo orden (Figura 27 A). En algunos casos, de estas depresiones surgen más de una invaginación (tres en el lado derecho del espécimen F-8) que corresponderían con dichas criptas de segundo orden.

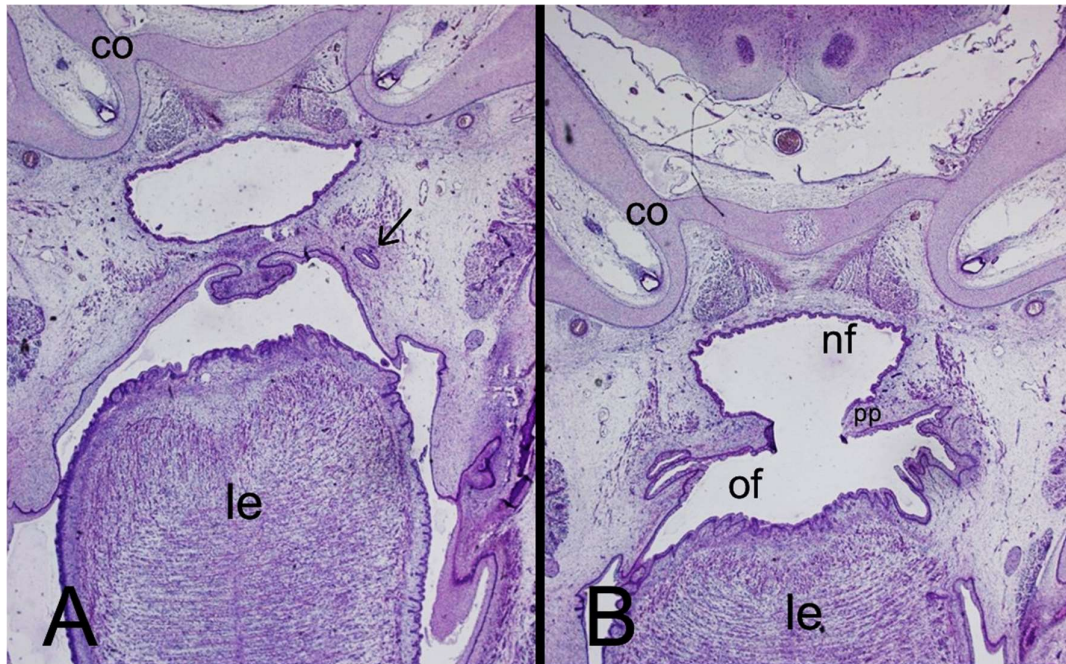


Figura 27. Cortes frontales de espécimen MA-57 de 10 semanas gestación (57 mm de longitud cefalocaudal). Centrándonos en el lado derecho podemos observar: A. Estructura tubular con luz (señalada con una flecha) correspondiente a la sección de una cripta de segundo orden. B. Invaginaciones principales correspondientes a criptas de primer orden. En este caso, las dos invaginaciones principales del lado derecho tienen cada una tres ramificaciones en los distintos cortes consecutivos. Alrededor de estas estructuras, se observa un acúmulo difuso de células pequeñas aparentemente linfocitos.

Abreviaturas: **nf**: nasofaringe; **pp**: pliegues palatofaríngeos; **of**: orofaringe; **le**: lengua.

En cortes más posteriores se puede obtener una imagen que claramente corresponde con la tonsila palatina en desarrollo. Es importante recordar que a este nivel el paladar todavía no se ha fusionado, ya que la fusión de los procesos palatinos termina antes en la parte anterior que posterior (siendo la úvula la última estructura en finalizar su formación). En la mayoría de los casos, a nivel de estos cortes, se observan unas invaginaciones principales que corresponderían a criptas de primer orden, cada una de las cuales tiene distintas ramificaciones en distintos puntos de desarrollo (algunas son esbozos sólidos mientras que otras tienen luz) (Figura 27 B).

El número de invaginaciones principales cambia según el individuo, siendo en el caso del espécimen MA-57 dos en el lado derecho, mientras que en el espécimen F-8 serían tres.

Alrededor de este complejo de criptas de primer orden, se observa en ocasiones un acúmulo difuso de células pequeñas con los núcleos muy próximos, aparentemente linfocitos (Figura 27 B).

Conforme seguimos retrocediendo este sistema de criptas deja de ser visible (fosa tonsilar sin invaginaciones), pero seguidamente vuelve a aparecer el mismo patrón de criptas rodeadas de tejido linfoide difuso. Por tanto, este hecho nos muestra la complejidad de la naturaleza bilobulada de la tonsila palatina durante su desarrollo apreciando la estructura tridimensional de esta zona (Figura 27 B).

Esta tridimensionalidad y complejidad puede analizarse al detalle en algunos de los especímenes estudiados. Por ejemplo, en el caso del lado derecho del espécimen F-28, las depresiones superior e inferior se comportan de manera radicalmente distinta (Figura 28).

En el caso de la depresión superior no presenta apenas cambios en su aspecto (manteniendo sus 3 criptas como esbozos hasta que finalmente se presenta una simple invaginación sin ningún rasgo distintivo con una dirección anterosuperior), mientras que en la depresión inferior vemos grandes cambios en su estructura a medida que avanzamos en cortes consecutivos (Figura 28 B).

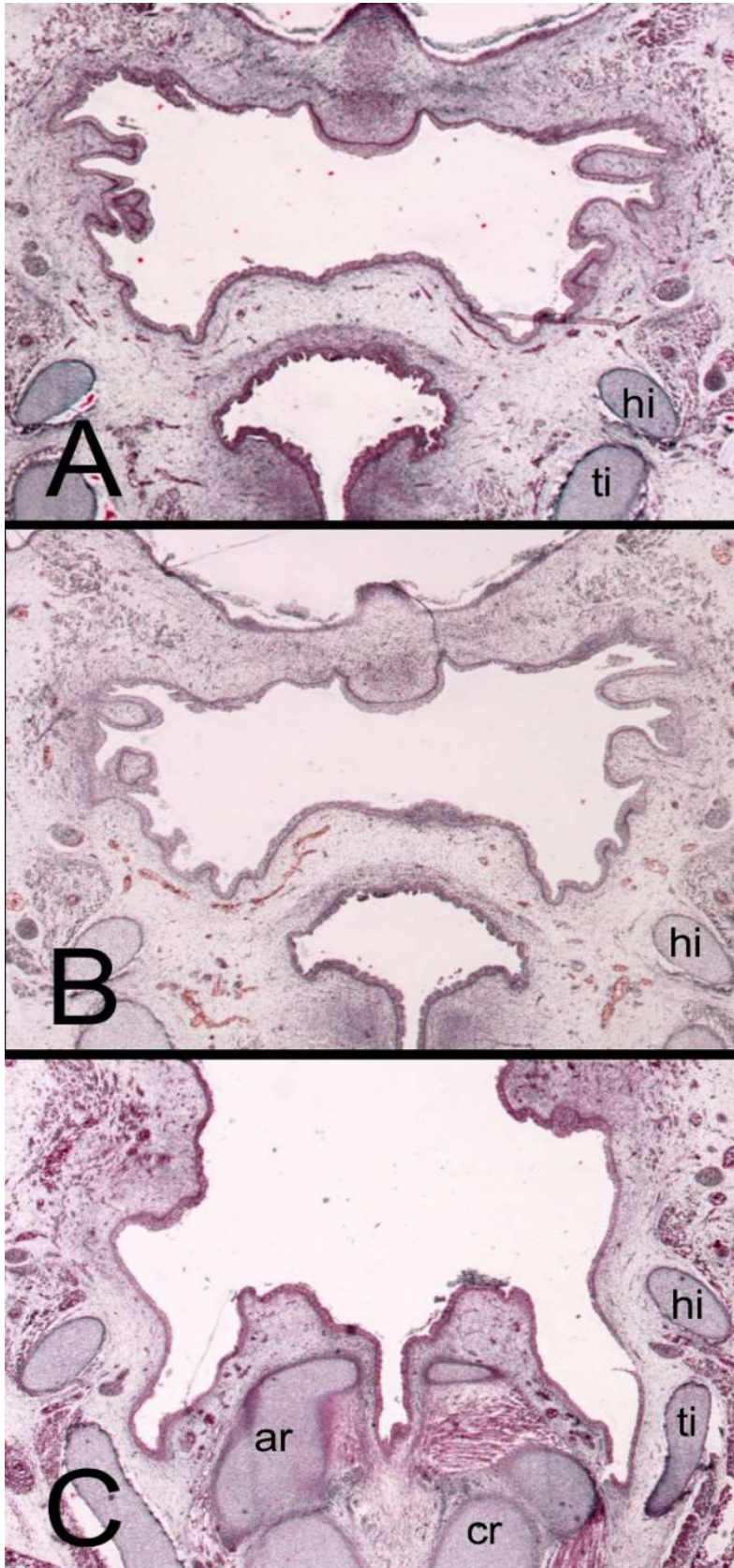


Figura 28. Cortes frontales de espécimen F-28 de 10 semanas gestación (57 mm de longitud cefalocaudal) Centrándonos en el lado derecho podemos observar: **A.** Invaginaciones principales correspondientes a criptas de segundo orden de las que surgen tres invaginaciones principales del lado derecho (invaginaciones provenientes de las depresiones de la fosa tonsilar). **B.** Complejidad del sistema de criptas. En el lado derecho, siendo la depresión inferior altamente variable con sus 3 criptas (la inferior deja de ser visible, pero la superior y la media se profundizan) mientras que en la depresión superior sus criptas son apenas esbozos. **C.** Desaparición del sistema de criptas conforme al avanzar en cortes consecutivos en dirección anteroposterior. Abreviaturas: **hi:** hueso hioides; **ti:** cartílago tiroides; **ar:** cartílago aritenoides; **cr:** cartílago cricoides.

De la depresión inferior surgen 3 criptas, la inferior deja de ser visible por el cambio de plano, mientras que las otras dos aparecen profundizando más y con una dirección cada vez más divergente, con ello se deduce que la cripta superior se dirige hacia craneal y la media hacia caudal. En los cortes consecutivos también desaparece la cripta media, quedando al final sólo la cripta superior (Figura 28 B).

Paulatinamente, las dos depresiones del principio van reduciendo su tamaño y aproximándose entre sí hasta formar un único engrosamiento de epitelio que finalmente desaparece a nivel del plano en el cual son visibles los cartílagos cricoides y aritenoides, estando ausentes la epiglotis y de las crestas palatinas (Figura 28 C).

En un plano sagital (especimen F-25), para localizar la tonsila recomendamos usar como referencia los alveolos dentarios, la mandíbula osificándose, el cartílago de Meckel y la glándula submandibular (Figura 29 A). Al tratarse de cortes sagitales en las primeras imágenes vemos únicamente una cavidad de forma irregular que se continúa con la faringe sin ningún rasgo distintivo. Sin embargo, a medida que nos dirigimos hacia una posición más lateral esa cavidad se aísla en una estructura irregular que marca el inicio del sistema de criptas.

Avanzando más vemos cómo esta cavidad se divide en otras más pequeñas. Primero aparece en la imagen una cresta que se hace cada vez más prominente hasta dividir la cavidad en una parte superior y una parte inferior (Figura 29 A).

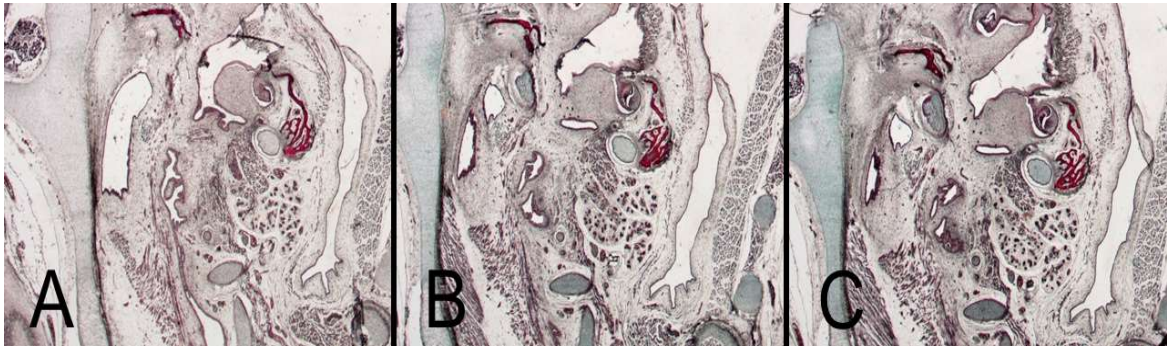


Figura 29. Cortes sagitales de espécimen F-25 de 10 semanas gestación (60 mm de longitud cefalocaudal). **A.** Estructura irregular que se continúa con la pared faríngea marcando el inicio del sistema de criptas, observando una cresta que marca el inicio de la división en dos cavidades iniciales (superior e inferior). **B.** Dos cavidades ya claramente divididas (superior e inferior), observando ya el inicio de la siguiente subdivisión de la parte superior que acabará generando la siguiente figura. **C.** Tres cavidades correspondientes con las criptas primarias. La cripta posterosuperior no presenta irregularidades en ninguna parte de su trayecto manteniendo una forma aplanada constante, mientras que la cripta anterosuperior presenta varias irregularidades en su contorno, llegando a verse hasta 5 criptas secundarias en distintas etapas de su formación (desde esbozos sólidos de epitelio engrosado que se introducen en el tejido subyacente hasta criptas con luz visible).

Más adelante un proceso similar divide la parte superior en dos partes independientes. Por lo tanto, en este punto tenemos 3 cavidades independientes de forma irregular que se corresponden con las criptas primarias (Figura 29 B). Las irregularidades de su superficie indican los puntos donde se ramifican las criptas secundarias, aunque esto varía según cada cripta primaria observada (Figura 29 C).

En la cripta situada más caudalmente una de las prolongaciones se separa de la luz principal formando una cripta amplia que discurre paralelamente a la principal y se va reduciendo hasta dejar de ser visible. La cripta posterosuperior no presenta irregularidades en ninguna parte de su trayecto, y mantiene una forma aplanada constante. Sin embargo, la cripta anterosuperior presenta varias irregularidades en su contorno, llegando a verse hasta 5 criptas

secundarias en distintas etapas de su formación, desde esbozos sólidos de epitelio engrosado que se introducen en el tejido subyacente hasta criptas con luz visible (Figura 29 C).

Si avanzamos más hacia la parte lateral las ramificaciones dejan de ser visibles, quedando sólo las 3 criptas primarias que van reduciendo su calibre hasta desaparecer.

También en algunas secciones axiales, pudimos apreciar que en la parte craneal de la fosa tonsilar aparecían los primeros esbozos de una glándula túbulo-acinosa.

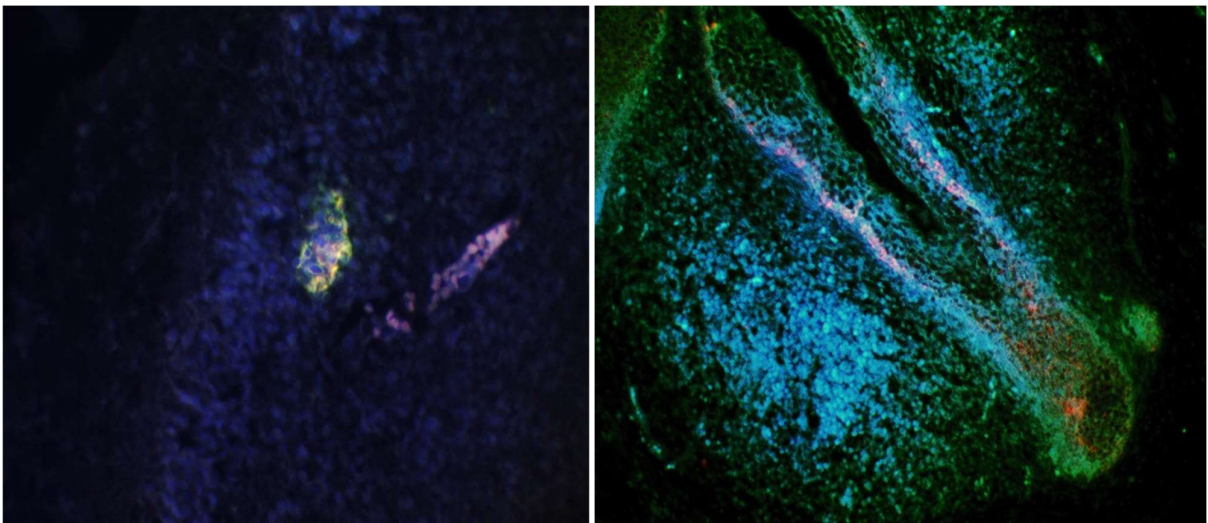


Figura 30. Imágenes de inmunofluorescencia en la semana diez de gestación en la que se visualizan poblaciones de linfocitos T (OKT3+). (Técnicas de inmunofluorescencia realizadas con anticuerpos primarios OKT3-Alexa 488/ CK-Alexa 594). Los acúmulos de linfocitos en lámina propia (verde) e infiltrados a nivel del epitelio. Control: marcaje de citoqueratinas (rojo).

Resumiendo, en esta etapa, podemos observar el inicio de la formación de las criptas y la aparición de las glándulas seromucosas. Sin embargo, todavía no aparecen detalles claros como la proliferación glandular.

11 SEMANAS

Para estudiar el desarrollo de la tonsila palatina a la 11ª semana de gestación dispusimos de 2 fetos de dicha edad (Tabla 2).

En esta etapa, encontraremos un sistema de criptas más complejo con más número de prolongaciones e invaginaciones que en la etapa previa. Este sistema de criptas en ocasiones varía según la lateralidad, siendo en el espécimen F-70 más complejo en el lado izquierdo que en el derecho (Figura 31).

En el lado izquierdo, esta compleja estructura comienza inicialmente por dos estructuras ovoides sin luz visible a nivel del plano axial del cartílago de Meckel (con la mandíbula en proceso de osificación), el músculo pterigoideo medial, la epiglotis, el músculo constrictor superior de la faringe y el músculo largo de la cabeza (Figura 31 A). Avanzando más hacia caudal estas estructuras aumentan de tamaño y muestran su luz mientras aparecen dos más, quedando así una imagen de 4 cavidades de forma aplanada situadas en 3 planos paralelos a la superficie faríngea y cuyo tamaño decrece con la profundidad a la que se encuentran (Figura 31 B).

Según descendemos todas las cavidades empiezan a comunicarse entre ellas hasta formar una única cavidad de forma irregular con luz amplia, con 3 prolongaciones en dirección posteromedial y 2 prolongaciones en dirección anterolateral (Figura 31 C).

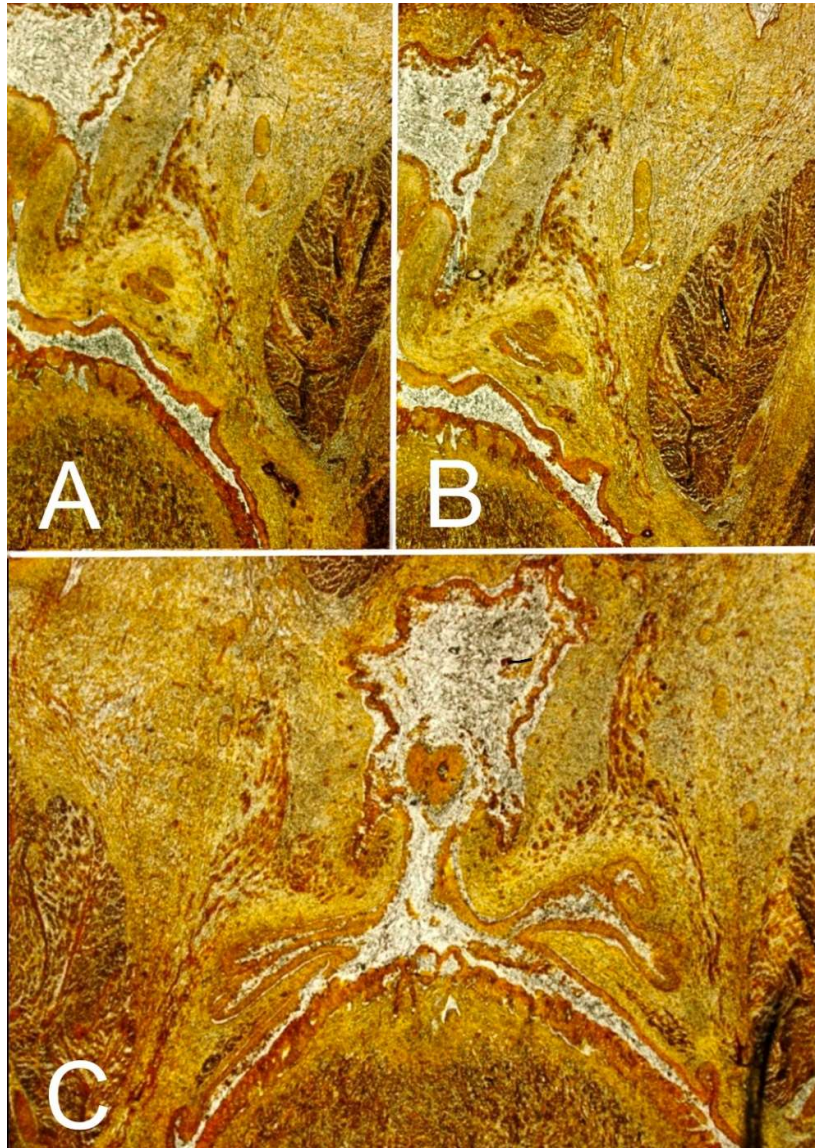


Figura 31. Cortes axiales de espécimen F-70 de 11 semanas gestación (70 mm de longitud cefalocaudal). **A.** En el lado izquierdo, estructuras ovoides sin luz visible (epitelio plano estratificado no queratinizado), mientras que en derecho no hay atisbos de cambios morfológicos en la zona. **B.** Cuatro cavidades aplanadas paralelas a la superficie faríngea en el lado izquierdo, sin cambios en el lado derecho. **C.** En el lado izquierdo, cavidad única con 3 prolongaciones en dirección posteromedial y 2 prolongaciones en dirección anterolateral; en lado derecho 2 prolongaciones en dirección anterolateral.

Más abajo, una de las prolongaciones posteriores se dirige hacia la cavidad faríngea hasta establecer una comunicación con ella. Mientras, aparecen más secciones de criptas secundarias, primero aisladas y luego como

prolongaciones de la cavidad principal. Paulatinamente, todas las ramificaciones van reduciendo su tamaño hasta verse únicamente como puntos (hasta siete a este nivel) donde el epitelio de una gran cavidad que comunica con la faringe se invagina y se introduce en el tejido subyacente. Avanzando más toda la pared posterior de la fosa pierde cualquier irregularidad y no hay indicios de criptas. Sin embargo, en la parte anterior empieza a aumentar de tamaño una prolongación de la cavidad formando una cripta de luz amplia en cuyo trayecto aparecen esbozos sólidos de nuevas ramificaciones.

En un plano superior aparecen 3 invaginaciones epiteliales sólidas poco profundas cuyo extremo distal está más densamente teñido, rodeadas de un acúmulo difuso de células pequeñas (Figura 32).

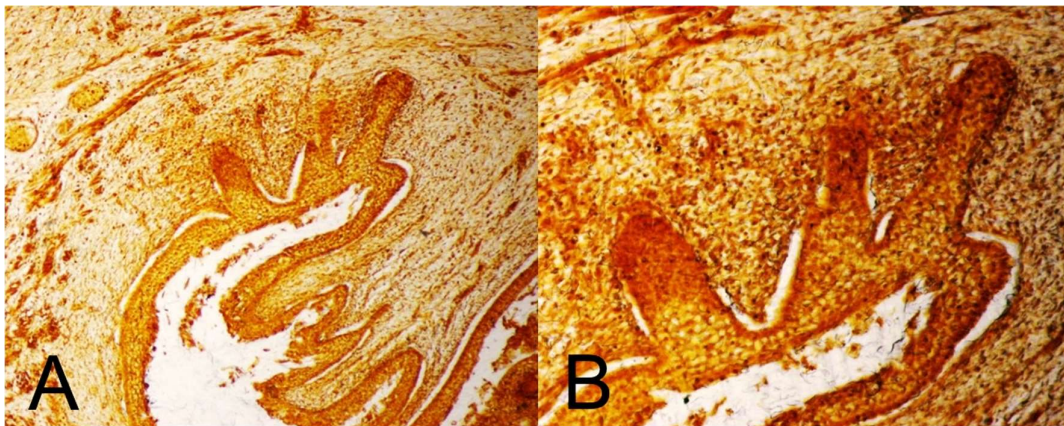


Figura 32. Cortes axiales de espécimen F-70 de 11 semanas gestación (70 mm). Sistema de criptas simples, ninguna de ellas permeable (x10 y x20 respectivamente). En la vecindad de la cripta se visualizan tímidamente acúmulos linfoides.

En un plano inferior, cuando estas 3 ramificaciones ya no son visibles, aparecen otras 2 de características similares (una próxima a la boca de la cripta, la otra cerca de su extremo distal). Descendiendo más la cripta comienza a retrotraerse hasta que sólo vemos la fosa tonsilar, pero mientras esto ocurre

aparecen 2 ramificaciones iguales a las anteriores (sólidas, poco profundas y de extremo denso). En total a lo largo de esta cripta hemos podido ver 7 esbozos de futuras criptas de orden menor.

En el lado derecho, como mencionamos previamente, se observa una secuencia similar, pero algo menos compleja. Al comienzo pueden verse 2 cavidades estrechas y alargadas en posición paralela a la pared faríngea y muy próximas al epitelio. Según vamos descendiendo aumentan de tamaño, se fusionan entre sí y establecen comunicación con la cavidad faríngea. Tenemos así una cavidad de entrada estrecha que emite 2 prolongaciones en dirección anterolateral. De ellas la cripta más posterior está presente durante un intervalo reducido de imágenes, dejando de ser visible poco después. Sin embargo, durante este intervalo ha dado lugar a 2 ramificaciones de orden inferior (una en forma de esbozo sólido y otra como cripta con luz visible). En ese mismo intervalo la cripta más anterior mantiene su longitud hasta que parece estrecharse primero y cortarse después en un punto medio de su trayecto, dando como imagen una cripta de longitud reducida y un acúmulo epitelial sólido aislado. Sin embargo, tal y como ocurría en el lado izquierdo, descendiendo un poco más en la parte anterior empieza a aumentar de tamaño una prolongación de la cavidad formando una cripta de luz amplia en cuyo trayecto podemos contar a diferentes alturas esbozos sólidos de nuevas ramificaciones (invaginaciones epiteliales sólidas poco profundas con extremo distal densamente teñido). En este caso, en el lado derecho encontramos hasta 6 esbozos, mientras que en el lado izquierdo vemos hasta 7.

12 SEMANAS

El estudio del desarrollo de la tonsila palatina a las 12 semanas de gestación se realizó mediante la observación de 2 fetos de dicha edad (F-79, F-88) (Tabla2).

En los cortes frontales estudiados, la sección obtenida en el espécimen F-79 no se ha realizado siguiendo una orientación totalmente coronal, sino que está ligeramente inclinada. Por ello, se observa el paladar y en el lado izquierdo se observa con claridad la glándula submandibular pero no hay indicios del sistema de criptas de la tonsila, mientras que en el lado derecho nos encontramos en una posición más anterior con la glándula sublingual, el cartílago de Meckel y la mandíbula en proceso de osificación. En este lado derecho, vemos dos criptas primarias de gran calibre que penetran profundamente en el tejido subyacente. La cripta superior se divide en dos ramificaciones secundarias: La primera presenta una pared relativamente homogénea en su recorrido, mientras que la segunda presenta esbozos sólidos de futuras ramificaciones en su extremo distal. La cripta inferior, de trayecto más reducido, presenta dos claras ramificaciones en su extremo y algunos esbozos a lo largo de su recorrido, visibles con más claridad en cortes más posteriores (Figura 33).

Según avanzamos hacia una zona más posterior observamos que todas las criptas y ramificaciones van estrechándose hasta desaparecer, siguiendo un orden de craneal a caudal. Esto puede deberse a que el corte no era totalmente perpendicular al plano transversal, o a que las criptas más craneales se sitúen en una posición más anterior.

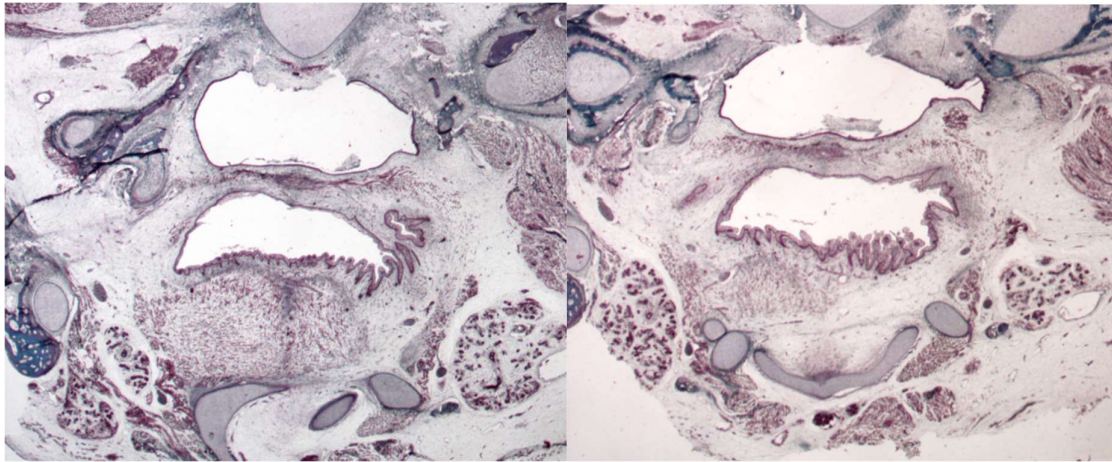


Figura 33. Cortes frontales de espécimen F-79 de 12 semanas gestación (79 mm de longitud cefalocaudal) pertenecientes a la Colección Javier Puerta.

Mientras tanto en el lado izquierdo ocurre el proceso inverso. Primero vemos unas pequeñas estructuras tubulares que se corresponden al extremo distal de las ramificaciones más pequeñas. Según avanzamos estas estructuras se van uniendo en una única cavidad, que va generando nuevas ramificaciones más posteriores.

Al mismo tiempo otras dos grandes criptas van apareciendo en una posición más caudal. Una aparece de una forma similar a la anterior, como una cavidad aislada que va aumentando de tamaño al avanzar. La otra, sin embargo, resulta más interesante porque en ella podemos observar cómo el epitelio de la cavidad oral se invagina y profundiza para formar lo que indudablemente es una cripta primaria. Avanzando en los cortes llegamos a un plano que engloba las tres criptas descritas anteriormente y nos ofrece una visión general del sistema de criptas (Figura 34). Así nos encontramos con que de una apertura común nacen:

- Una cripta superior de forma irregular debido a sus prolongaciones correspondientes a las ramificaciones que desembocan en ella.
- Una cripta media alargada con una rama más corta paralela a ella.

- Una cripta inferior más corta.

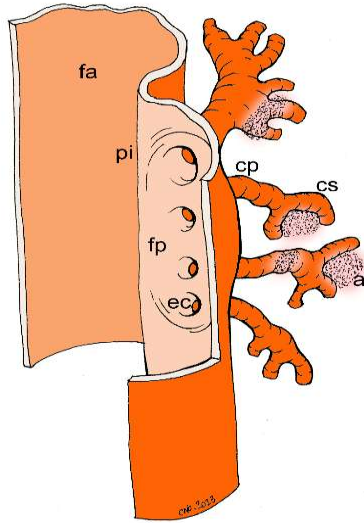


Figura 34. Dibujo que representa el sistema de criptas de la tonsila palatina. **al**, acúmulo linfoide; **cp**, cripta de primer orden; **cs**, cripta de segundo orden; **ec**, entrada a la cripta; **fa**, fosa tonsilar compartimento anterior; **fp**, fosa tonsilar compartimento posterior; **pi**, pliegue intratonsilar. Realizado por Dña. Cristina Navarro Collín.

Además, repartidos por el sistema vemos puntos donde el epitelio se condensa, indicando futuras ramificaciones (Figuras 35 y 36).

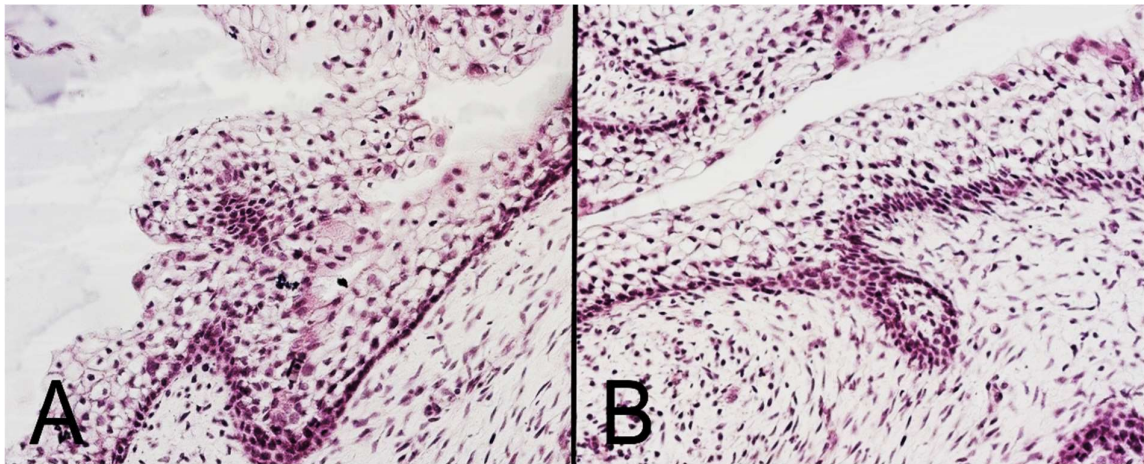


Figura 35. Cortes frontales de espécimen F-79 de 12 semanas gestación (79 mm de longitud cefalocaudal) en las que se visualiza el proceso de condensación epitelial hacia futuras ramificaciones.

Este es el punto donde se aprecia mayor complejidad del sistema de criptas. Si avanzamos hacia zonas más posteriores las criptas van retrayéndose hacia la cavidad oral hasta desaparecer. Sin embargo, en el lado derecho vemos que toda la secuencia descrita empieza a repetirse de nuevo, empezando por la aparición de dos pequeñas estructuras tubulares aisladas. De nuevo, estas estructuras van convergiendo en una única cavidad con pequeñas prolongaciones, que va abriéndose paso hasta desembocar en la cavidad oral y posteriormente acabar fundiéndose con ella.

Una visión más en detalle nos muestra que las criptas están delimitadas por un epitelio plano estratificado no queratinizado, con algunos puntos donde la capa basal se vuelve más densa indicando el lugar donde una invaginación del epitelio dará lugar a una nueva cripta de orden inferior (Figuras 35 y 36).

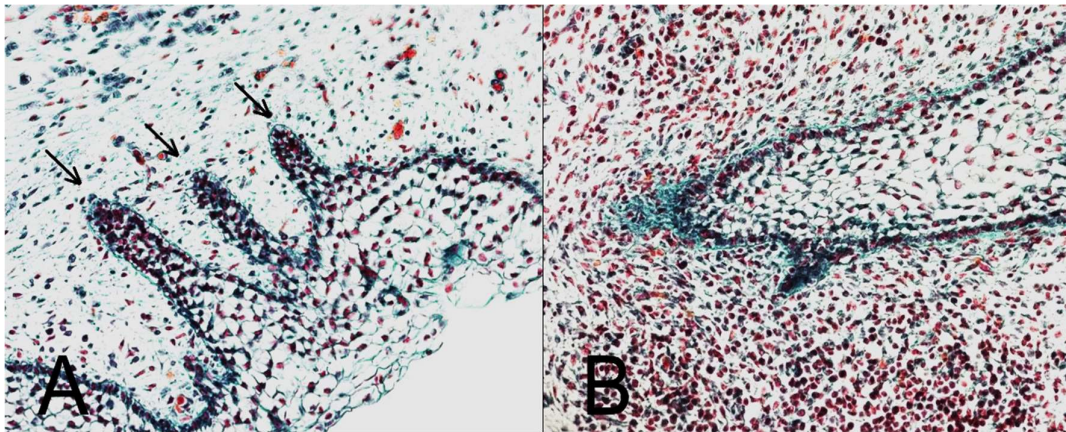


Figura 36. Cortes frontales del espécimen F-88 de la 12ª semana de gestación (79 mm) en los que se visualizan detalles de la estructura celular del sistema de criptas. **A.** Sistema de criptas, el epitelio plano estratificado no queratinizado se condensa para dar lugar a esbozos de las futuras criptas de orden inferior. **B.** Acúmulos linfoides pertenecientes a la tonsila.

Por lo tanto, se observa con claridad la estructura ramificada de la tonsila palatina a la 12ª semana de gestación, destacando que se forma a partir de dos criptas primarias claramente diferenciadas y separadas.

En resumen, en esta etapa del desarrollo vemos un sistema de criptas bien desarrollado, con criptas de primer y segundo orden bien diferenciadas, así como esbozos de criptas de tercer orden en forma de esbozos. Además, se intuye un origen bilobulado de la tonsila palatina, con dos criptas primarias situadas en diferentes planos del eje anteroposterior.

13 SEMANAS

El estudio del desarrollo de la tonsila palatina a las 13 semanas de gestación se realizó mediante la observación de 2 fetos de dicha edad (Tabla 2). En un plano sagital (espécimen F-98), para localizar la tonsila recomendamos usar como referencia para situarnos la lengua, la glándula submandibular y la mandíbula en proceso de osificación, aunque en ese punto no se observe nada relevante. Según avanzamos hacia una zona más medial empiezan a aparecer unas estructuras tubulares correspondientes a la parte distal de criptas de segundo y tercer orden.

Más adelante el número de estas estructuras aumenta considerablemente, llegando a contar hasta 16 divididas en 3 grupos claramente diferenciados que indican las criptas primarias de las que tienen origen (Figura 37).

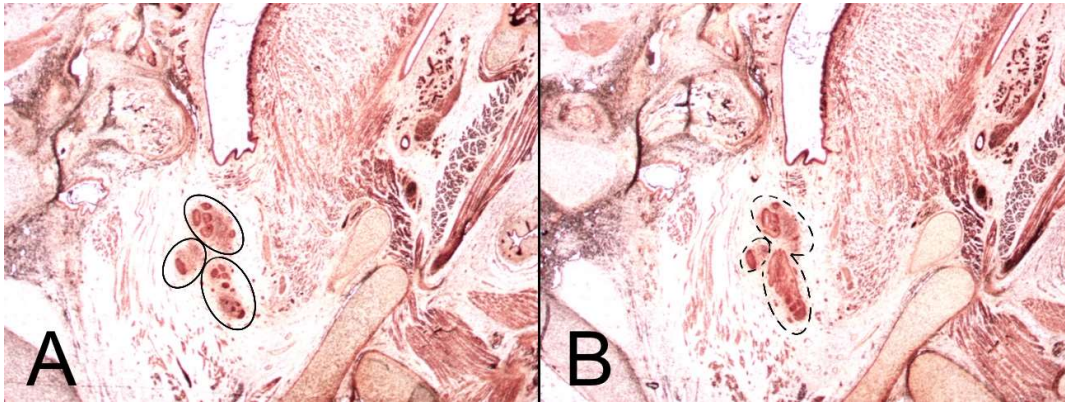


Figura 37. Cortes sagitales del espécimen F-98 de la 13^a semana de gestación (98 mm de longitud C.R.) en los que se visualizan detalles del sistema de criptas en esta semana de gestación. En ambas imágenes (A y B) se aprecian 3 grupos claramente diferenciados que corresponden a las criptas primarias de las que tienen origen.

Tal es la concentración de dichas estructuras que simplemente desplazándonos un poco hacia sagital vemos cómo se unen en estructuras mayores, dándonos una idea del alto grado de ramificación de las criptas en esta etapa (Figura 38). Si seguimos avanzando el proceso continúa de la misma manera, con las ramificaciones ya presentes convergiendo en una única cavidad mientras otras grandes ramificaciones aparecen, invisibles hasta ahora por estar orientadas en un plano paralelo al de corte. El proceso finaliza cuando esta única gran cavidad se fusiona con la cavidad oral.

En este espécimen no pudimos observar acúmulos linfoides por debajo del epitelio plano estratificado. Sin embargo, viendo las muestras a mayor aumento obtuvimos imágenes muy clarificadoras de condensaciones con forma circular en la capa intermedia del epitelio, posiblemente el origen de nuevas ramificaciones.

En un plano transversal (especimen F-101), el proceso es muy similar al anterior, ya que al avanzar en los cortes aparecen unas pequeñas estructuras tubulares cuya luz se va juntando hasta formar una estructura mayor que acaba

desembocando en la cavidad oral. Al mismo tiempo vemos surgir invaginaciones epiteliales correspondientes a la formación de criptas de orden inferior. (Figura 38).

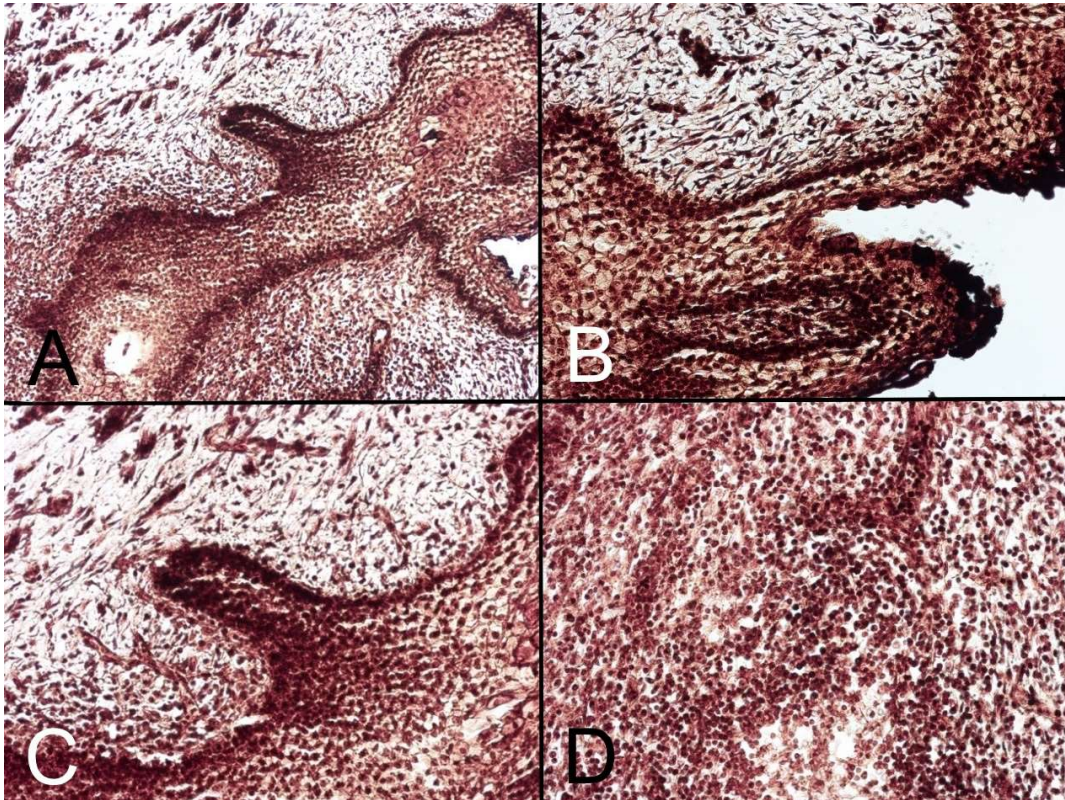


Figura 38. Cortes sagitales del espécimen F- 101 de la 13^a semana de gestación (101 mm) en los que se visualizan detalles del sistema de criptas en esta semana de gestación. **A.** Visión general del sistema de criptas. **B.** Detalle de la estructura de las invaginaciones que da lugar a las criptas de orden inferior (x20). **C.** Detalle de epitelio plano estratificado no queratinizado (x20). **D.** Detalles de los acúmulos linfoides (x20)

A diferencia del espécimen F-98, en el F.101 sí se observa claramente en toda la secuencia de cortes un acúmulo denso de células linfoides, rodeando la parte más distal del sistema de criptas. Analizando uno de los cortes a mayor aumento podemos apreciar la gran densidad de estos acúmulos y cómo una gran cantidad de células se ha filtrado a la luz de las criptas. Además, apreciamos

muy bien algunos detalles ya conocidos como el epitelio plano estratificado no queratinizado o la estructura de las invaginaciones que dan lugar a criptas de orden inferior.

En resumen, en esta etapa la estructura de la tonsila palatina está muy desarrollada, con un número elevado de ramificaciones secundarias y terciarias procedentes de las 3 criptas primarias, rodeadas en su parte distal por un acúmulo denso de células linfoides.

14 SEMANAS

Para el estudio del desarrollo de la tonsila palatina a las 14 semanas de gestación solamente contamos con el espécimen FP-110 presentado en cortes frontales (Tabla 2).

En esta semana de gestación, se aprecia que la situación ha cambiado completamente. Todo el complejo sistema de criptas que veíamos antes ha desaparecido. En su lugar tenemos una serie de criptas largas y estrechas que profundizan en el tejido conectivo y se dirigen hacia varios conjuntos de vesículas. Estas vesículas corresponden a los extremos distales de las numerosas criptas de orden inferior que veíamos en etapas anteriores, cuyo cuello se ha atrofiado dejando dichos extremos aislados (Figura 39).

Según avanzamos en los cortes la imagen no cambia especialmente, ya que continuamos viendo grandes grupos de vesículas con criptas primarias que se dirigen hacia ellas. En algunos cortes se ven ramificaciones secundarias y terciarias de estas criptas, largas, estrechas y poco numerosas, tal como sería en una tonsila completamente desarrollada (Figura 39).

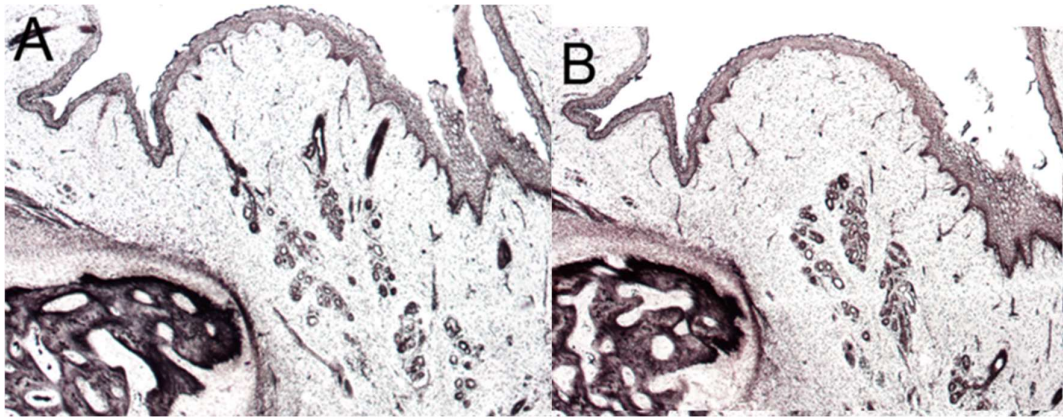


Figura 39. Cortes frontales del espécimen F-110 de la 14ª semana de gestación (79 mm) en los que se visualizan detalles del sistema de criptas en esta semana de gestación. **A.** Vesículas correspondientes con los extremos distales de criptas de orden inferior. **B.** Tonsila casi completamente desarrollada, cortes con ramificaciones secundarias y terciarias de las criptas largas y estrechas.

Resumiendo, a partir de esta etapa las imágenes estudiadas difieren mucho de todo lo visto con anterioridad. El número de ramificaciones se reduce drásticamente. Los cuellos de las criptas de 2º y 3º orden se han atrofiado hasta desaparecer, dejando sus extremos distales aislados en forma de pequeñas y numerosas vesículas muy agrupadas. Hacia ellas se dirigen desde la superficie las criptas primarias, que según van profundizando se ramifican, pero de forma muy limitada en comparación del complejo sistema de criptas visto en las semanas anteriores.

17 y 18 SEMANAS

Para el estudio del desarrollo de la tonsila palatina a las 17 y 18 semanas de gestación contamos con los especímenes AN-155 y JF respectivamente (Tabla 2). Uno es un anencéfalo (AN-155) y el otro una holoprosencefalia (JF) por lo que ninguno de los dos atiende a los estándares de longitud y madurez propuestos. Son fetos mayores en edad, pero que no podemos determinar.

En la semana 17^a, se puede observar un cambio drástico en la tonsila. Las vesículas presentes en la etapa anterior han desaparecido completamente, y las criptas que no sufrieron el proceso de atrofia destacan con claridad. Por debajo del epitelio plano estratificado no queratinizado que tapiza estas criptas se observan acúmulos muy densos de linfocitos que ocupan ya casi la totalidad de la amígdala, delimitada por una capa de tejido conectivo en formación (futura pseudocápsula) (Figura 40).

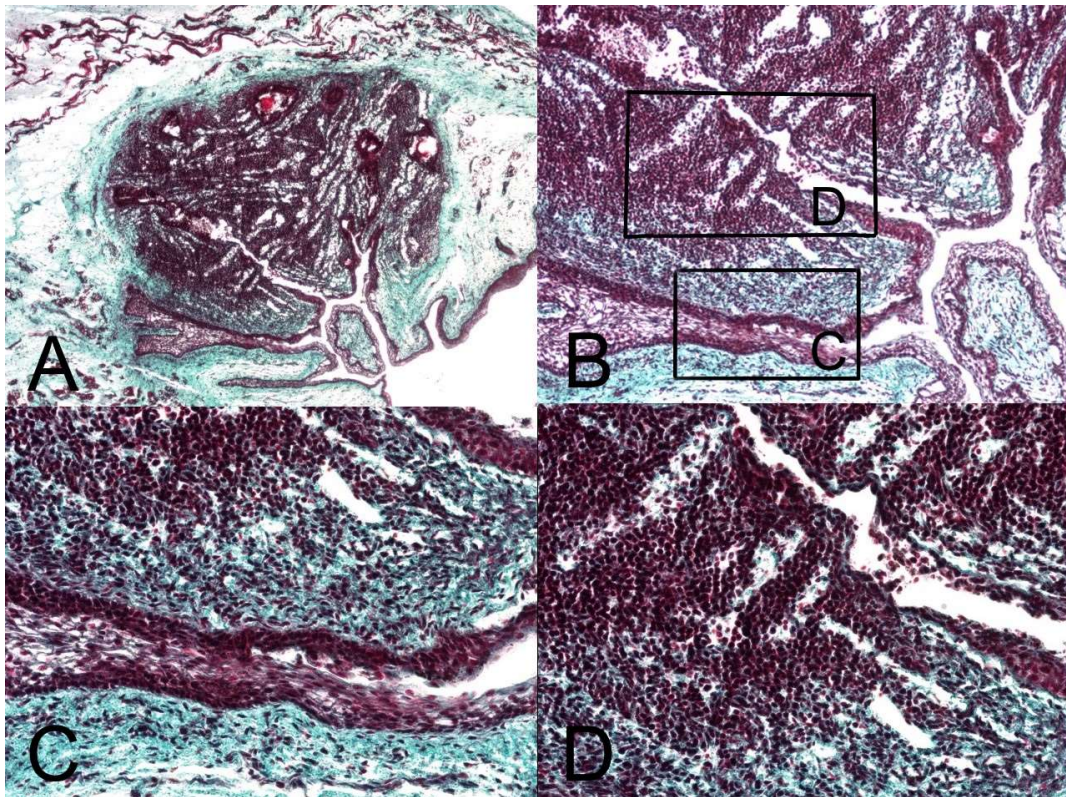


Figura 40. Cortes transversales del espécimen AN-155 de la 17^a semana de gestación (155 mm de longitud C.R.) observando amplias y profundas criptas. En las imágenes **C** y **D**: Detalles del epitelio plano estratificado no queratinizado y acúmulos linfoides muy densos ocupando casi la totalidad de la amígdala, delimitada por una capa de tejido conectivo en formación (x20)

En la semana 18^a no pudimos obtener mucha más información debido a la tinción utilizada en el espécimen JF. Sin embargo, sorprende la presencia de

lo que parece ser un folículo linfoide secundario, donde se identifican claramente el centro germinal y el manto (Figura 41).

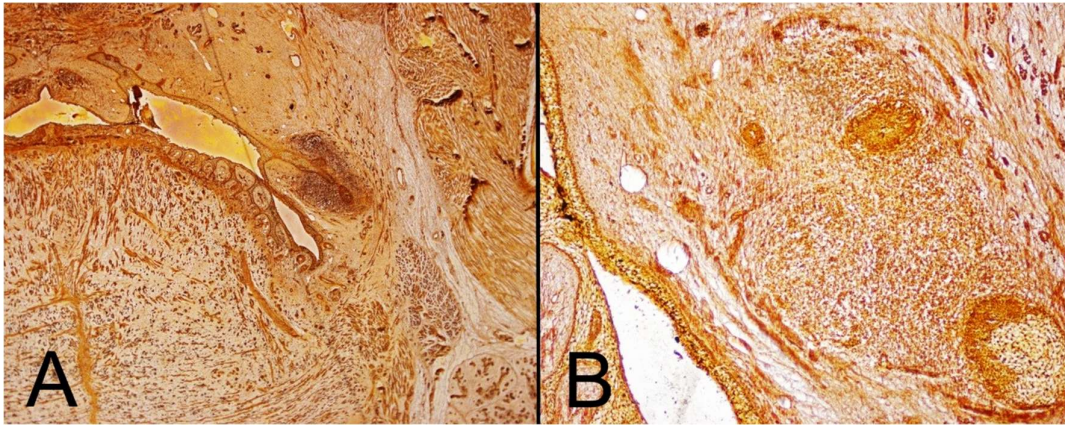


Figura 41. Cortes transversales del espécimen JF de la 18^a semana de gestación (longitud C.R. desconocida) observando un folículo linfoide secundario, donde se identifican claramente el centro germinal y el manto.

En resumen, entre las semanas 17 y 18 de gestación la tonsila palatina ya ha alcanzado su estructura casi definitiva, es decir, un amplio sistema de criptas bajo cuyo epitelio se encuentran acúmulos linfoides densos y posibles folículos linfoides secundarios. Sin embargo, todavía no están presentes la pseudocápsula y las trabéculas que parten de ella hacia el interior.

7. DISCUSIÓN

Como hemos mencionado anteriormente en la introducción, las tonsilas palatinas han sido escasamente estudiadas, y en general en especies animales. En la bibliografía consultada hemos encontrado muy pocos trabajos dedicados al estudio de su embriología, en series de embriones y fetos humanos (His, 1885 y 1891; Hammar, 1903; Minear y cols., 1937). Estos trabajos son los pilares sobre los que se basan los trabajos posteriores hasta la actualidad (Tabla 3).

Autor	Especie	Especímenes	Tamaño	Estudio
His (1885)	Humano	47 embriones	2mm-30mm	Embriología y morfogénesis
His (1891)	Humano	78 embriones 85 fetos	4mm-50mm	Embriología y morfogénesis
Hammar (1903)	Humano	5 embriones 6 fetos	Estadios 15,16,19,20,22 Fetos semanas: 11,14,17,21,24 y 28	Embriología y morfogénesis
Kingsbury (1915)	Humano	15 embriones	3 mm-18.mm	Embriología de la faringe
Kingsbury y Rogers (1927)	Ternero	50	5 mm-50 mm	Embriología y morfogénesis
Levin (1930)	Cerdo	45	60mm-275mm	Embriología e histogénesis
Ramsay (1935)	Gato	7	7,5 mm-70 mm	Embriología e histogénesis
Minear y cols. (1937)	Humano	5 fetos y adultos	Semanas: 12, 18, 24, 26, 40, Años: 1, 3,5,6,8,10,13,21,65	Evolución del sistema de criptas desde la vida prenatal hasta la vejez
v Gaudecker y Muller-Hermelink (1982)	Humano	50 fetos	8-28 semanas	Histogénesis
Perry (1994)	Humano	25 fetos	Niños entre 2 y 14 años Tonsilectomías	Histogénesis
Yamamoto (2017)	Humano	10	Fetos de 7 a 12 semanas	Histogénesis

Tabla 3. Estudios basados en la presencia de tejido linfoide en distintas especies y estadios embriológico-fetales o etapas de infancia.

Hay que destacar que los trabajos más recientes se centran fundamentalmente en aspectos relacionados con la histogénesis de la tonsila palatina (von Gaudecker y Muller-Hermelink, 1982; Perry, 1994; Yamamoto, 2017) (Tabla 3).

Antes de proseguir con aquellos aspectos relacionados con la morfogénesis de dicha estructura, creemos oportuno hacer una serie de consideraciones previas de orden metodológico respecto a dos de los objetivos de esta tesis.

“4. Realizar reconstrucciones en tres dimensiones de la morfología de la tonsila palatina a partir de imágenes digitales en dos dimensiones de material fetal humano.”

Sin embargo, por razones técnicas no hemos podido realizar este objetivo (Figura 26).

El conjunto de imágenes disponibles carecía de la suficiente precisión y nitidez para detectar correctamente los bordes de la región de la tonsila. Además, la ausencia de referencia de un centro común a todas las imágenes ha dificultado la superposición de las mismas, dificultando una posible reconstrucción. Sería necesario el desarrollo de algoritmos que discernieran entre la presencia de células en la imagen y tinturas accidentales.

La degradación natural de las imágenes no ha permitido aplicar algoritmos novedosos de procesamiento de imágenes digitales. Tradicionalmente se han utilizado técnicas manuales por artistas profesionales retocando o repintando manualmente las imágenes originales, pero es un campo emergente que está siendo explorado por la inteligencia artificial. El repintado manual no ha sido una opción viable debido al alto número de imágenes disponibles.

Como trabajo futuro, se podría explorar el uso de algoritmos de restauración de imágenes digitales de forma automática o semiautomática. Estos algoritmos están inspirados en la capacidad de la percepción humana, que es capaz de inferir la forma de objetos a pesar de la desoclusión (objetos ocultos parcialmente por la superposición de otros). Los algoritmos propuestos por Bertalmio y cols. (2000) basados en el gradiente parecen una opción prometedora para preprocesar la imagen antes de su análisis. No obstante, estos algoritmos han resultado poco útiles en la definición de grandes regiones dentro de la imagen, con el resultado de ser poco precisos, dando lugar a áreas borrosas. Propuestas más recientes basadas en la propagación de estructuras lineales hacia la región objetivo (Criminisi y cols., 2004; Wu y Ruan 2006), rellenado de regiones faltantes (Guo y cols., 2008), algoritmos basados en el parcheado de vecindarios (Xu y Sun 2010; Dang y cols., 2012) y análisis semántico latente probabilístico (Ghorai y Chanda, 2015) son direcciones prometedoras a explorar para mejorar la precisión de las imágenes disponibles. Esta fase previa permitiría el uso eficiente del procesamiento de la imagen posterior, aumentando la calidad de una posible restauración en 3 dimensiones a partir de las imágenes digitales.

La microscopía actual permite utilizar algoritmos de reconstrucción en 3D con mucho mejor detalle y calidad que el propuesto en este trabajo, pero requiere del espécimen completo.

Sin embargo, la aplicación del método de reconstrucción 3D tras el procesamiento de la imagen lamentablemente nos dio una reconstrucción que no tenía la suficiente calidad para el reconocimiento de formas y estudiar correctamente la evolución del patrón de la ramificación de la tonsila palatina

durante el desarrollo fetal (Ver los resultados en fetos de 9 semanas). Las reconstrucciones de Minear y cols. (1937), los únicos autores en realizar reconstrucciones en 3D, usaron el método de Born del siglo XIX. Ese método consiste en proyectar las imágenes, sobre una plancha de cera y posteriormente recortar los contornos de las estructuras a estudio. Una vez hecho, los cortes se apilan de caudal a craneal y se pegan con xilol, puliendo las superficies.

La segunda de las consideraciones a realizar es la que hace referencia al objetivo quinto y último, **establecer mediante técnicas inmunohistoquímicas la colonización de la tonsila palatina por linfocitos T.**

El estudio preliminar de detección del marcador de linfocitos T, OKT3+, mediante inmunofluorescencia, conseguido tras una ardua puesta a punto de la técnica, proporciona información valiosa sobre la presencia de dichos linfocitos en la tonsila palatina en el estadio fetal de 10 semanas, lo que contribuye a la comprensión general de la embriología y la inmunología asociada con este órgano. La inversión de tiempo y recursos en esta singular técnica de inmunofluorescencia se sustenta en la visión a largo plazo del profesor Javier Puerta. Aunque dentro de nuestros objetivos estaba caracterizar dicha colonización en un curso de tiempo de distintos estadios embrionarios, desafortunadamente, de los experimentos realizados en otras fases embrionarias no se pudieron obtener tinciones buenas.

Cabe mencionar algunas de las limitaciones y dificultades que se han encontrado a lo largo de este estudio:

- 1) Los cortes son de parafinas antiguas por lo que, de partida, cualquier técnica de inmunodetección es un reto. Por tanto, la puesta a punto ha conllevado más gasto del esperado en anticuerpos y reactivos.

2) Las muestras se encuentran en porta objetos de tamaño más grande al estándar debido al tamaño de las muestras, que se encuentran en cortes seriados (de 6 a 12 cortes por porta). Esto hace que la técnica no se pueda automatizar, o que no se puedan usar las cubetas tradicionales para desparafinar, hidratar, lavar, etc.

3) Ambos puntos anteriores confluyen en un punto común, que ha sido la falta de recursos económicos para poder seguir perfeccionando la técnica. Los costes asociados con la adquisición de distintos anticuerpos, cuya disponibilidad es fundamental en la inmunofluorescencia, resultaron restrictivos para seguir realizando experimentos.

4) Finalmente, el alto valor de estos limitados embriones parafinados fue determinante para abandonar la técnica, con la esperanza de que más adelante se pueda encontrar la forma de llevarlo a cabo.

En resumen, la identificación de poblaciones de linfocitos T en las imágenes de inmunofluorescencia brinda una comprensión temprana y esencial de la colonización de la tonsila palatina por estas células. A pesar de las limitaciones técnicas y financieras, este experimento único proporciona una base valiosa para futuras investigaciones y abre la puerta a un mayor entendimiento de la embriología de la tonsila palatina y su relación con el sistema inmunológico.

Para realizar una discusión ordenada hemos considerado apropiado dividirla en cuatro apartados:

- 1) Aparición del esbozo de la tonsila palatina
- 2) Morfogénesis. Seno tonsilar, recesos y pliegues
- 3) Morfogénesis. Sistema de criptas. Patrón glandular
- 4) Aparición de los acúmulos linfoides

- 5) Acinos y conductos glandulares
- 6) relaciones musculares, cápsula y trabéculas.

7.1 Aparición del esbozo de la tonsila palatina

His (1891) describió su origen entre el segundo y tercer arco faríngeo, lo que viene en denominarse segunda bolsa faríngea. Este origen desde que se propuso en el siglo XIX figura como tal en todos los libros de embriología y no se acepta ninguna duda sobre el mismo (Gosser, 1912; Kingsbury, 1915; Arey, 1965; Morris-Key, 2016). Esa descripción se ve apuntalada por el magno trabajo de Hammar (1903) que es el trabajo referencia en humanos sobre el desarrollo de la tonsila palatina (Hammar, 1903). Sin embargo algunos autores, basándose en el estudio de material vacuno, consideran que esa bolsa no es su verdadero origen sino que su aparición en la faringe se produce por un complejo mecanismo debido a los desplazamientos que crean la aparición de la lengua, la fusión de los pliegues palatinos y el desarrollo del segundo arco faríngeo, cartílago de Reichert (Kingsbury y Rogers, 1927). Y consideran que la aparición coincide con el lugar donde primitivamente se situaba la segunda bolsa faríngea antes de su desaparición (Kingsbury y Rogers, 1927)

El principal trabajo realizado con el objeto de determinar el origen de la tonsila palatina basado en el estudio de embriones humanos, ha sido un trabajo que se ha convertido en todo un clásico, no solo citado por la mayoría de autores, sino que es la única referencia que existe (Hammar, 1903).

Hammar (1903) observa la segunda bolsa en el estadio 12 (3 mm) la cual en los embriones del estadio 17 (11.7 mm) se asocia al conducto braquial de Rabl o seno cervical con el cual no llega a fusionarse, esto también lo describen

en material bovino (Kingsbury y Rogers, 1927). Sin embargo, esos dos autores consideran que material ectodérmico del seno cervical se incorpora a la segunda bolsa. Este detalle hizo pensar a posteriores investigadores que el epitelio de la tonsila podía tener un origen ectodérmico (Testut, Latarjet, 1931). Hammar (1903) considera que la bolsa solo se atrofia en su parte anterior, pero persiste en su prolongación posterior que es la que dará origen a la tonsila palatina.

Sin embargo, nuestros resultados muestran la presencia de la segunda bolsa desde el estadio 13 al 17, y también su conexión con el seno cervical formando un complejo único, que se fusiona, y que paulatinamente se transforma en una agrupación celular que en los especímenes del estadio 18 desaparece. Es decir, que en ningún caso ha podido dar origen a la tonsila palatina como lo considera (Hammar, 1903) y todos aquellos autores que dan por buena sus descripciones.

Aunque en nuestros resultados se pierde el rastro de la segunda bolsa en los especímenes del estadio 19 tampoco observamos, como él describe, un pequeño relieve al que denominó tubérculo tonsilar en el fondo de los recesos faríngeos durante los estadios 19, 20 y 21. Lo que nosotros observamos a partir del estadio 19 es la existencia en el fondo de los recesos laterales de la faringe, por debajo de los pliegues palatinos, lateralmente a la lengua y medialmente al vértice del cartílago de Reichert, una superficie cóncava limitada por dos relieves, uno anterior y otro posterior que en los estadios 22 y 23 se perfila como el seno tonsilar limitado por sus dos pilares y un pliegue intratonsilar.

Por tanto, en base a nuestros resultados, podríamos decir que la aparición del primordio de la fosa tonsilar se realiza en la superficie de la faringe como una depresión limitada por dos pilares (anterior y posterior) y un pliegue intratonsilar

de donde se producirá el posterior desarrollo de los pliegues y criptas. Podríamos coincidir con que su aparición es un fenómeno mecánico ligado al desarrollo de la lengua, hioides y pliegues palatinos tal y como describen en los especímenes bovinos Kingsbury y Rogers (1927).

En resumen, lo que es evidente es que no proviene de la segunda bolsa, cuyo rastro se pierde en el estadio 18, y que su origen es en el periodo embrionario (47-48 días) y no en el cuarto mes como lo sitúan la mayoría de autores.

7.2 Morfogénesis. Seno tonsilar, recesos y pliegues

Bickel (1883), otro de los autores citados por Hammar (1903), considera que la tonsila gradualmente se eleva en desde el fondo de la fosa y aparece como una protrusión que crece y forma un anillo alrededor de la tonsila palatina en los últimos 3 meses del periodo fetal y que, durante el primer año de vida, solo se observa una invaginación mucosa con la amígdala faríngea. Al igual que Hammar (1903) nuestros resultados muestran ese desarrollo en las primeras semanas del desarrollo fetal (semanas 10 a 14).

El seno tonsilar situado en la faringe medialmente a la fusión de los segundos arcos faríngeos (Kingsbury y Rogers, 1927), y por debajo del paladar y extendido hasta la raíz de la lengua (Hammar, 1903), presenta una morfología característica en los dos últimos estadios del periodo embrionario (estadios 22 y 23) y en la primera semana del periodo fetal (9 semana). De forma que su morfología, al igual que la descrita por His (1885) y Hammar (1903), presenta las siguientes características: 1) una fosa supratonsilar; 2) un arco palatino anterior que forma el denominado pliegue triangular que se extiende desde el velo del

paladar a la base lateral de la lengua; 3) un arco palatino posterior o borde posterior que cubrirá parcialmente a la tonsila y 4) dos recesos, uno inferior (fosa triangular) y otro posterior (fosa retrotonsilar) con un importante 5) pliegue intratonsilar. Y será desde este espacio donde se produzca la morfogénesis de la tonsila palatina (His, 1885; Hammar, 1903; Kingsbury y Rogers, 1927).

La fosa supratonsilar se ha descrito como muy prominente en el periodo prenatal tardío y primer mes postnatal (Minear y cols., 1937), y en nuestros resultados también se puede considerar de esa forma.

En nuestros resultados, al igual que en los descritos por Hammar (1903), consideramos que el pliegue intratonsilar se extiende en toda la extensión de la fosa, por lo que se forman dos recesos amigdalares: uno anterior y otro posterior. Ambos senos, como se ha descrito, parecen no tener una separación craneal (Hammar, 1903; Kingsbury y Rogers, 1927), aspecto que se ha descrito en el 3,5 mes y 4,2 mes (Minear y cols., 1937)

Hammar (1903) describe a partir de cada seno una tonsila, por tanto considera que se desarrollan dos tonsilas palatinas, sin embargo en nuestros resultados no observamos más que una agrupación glandular.

7.3 Morfogénesis. Sistema de criptas. Patrón glandular

El pleno desarrollo del sistema de criptas, que tiene lugar en el periodo prenatal por la interrelación entre el tejido linfoide y el epitelio, se ha descrito a comienzos del 3er mes (Minear y cols., 1937). Nuestros resultados lo muestran a partir de la décima semana.

Este proceso en nuestros resultados, al igual que en las descripciones existentes, se realiza por el desarrollo masivo del tejido linfoide bajo la mucosa

faríngea, probablemente por la interacción de los dos componentes; el epitelio endodérmico, factor dominante y fundamental en etapas tempranas, y el tejido linfoide mesodérmico, factor modificante (Kingsbury y Rogers, 1927; Testut, Latarjet, 1931; Minear y cols., 1937). En esa infiltración predominan los linfocitos y leucocitos libres y una retícula de tejido conectivo que se observan en el desarrollo a partir de la semana 13. Y al igual que como describe Hammar (1903) también se observan pequeños capilares.

Para unos autores el desarrollo de las criptas se inicia en el tercer mes (Minear y cols., 1937) o en el cuarto (145 mm) (Hammar, 1903). En nuestros resultados este proceso se inicia en la semana 10.

El proceso es como sigue. El epitelio de los senos prolifera y la morfología de las bocas de las invaginaciones se forma por descamación de las células centrales, que son más grandes y pálidas, sin compactarse como un tapón epitelial. Algunas de las criptas así formadas se reabsorben (Minear y cols., 1937).

Se llegan a formar hasta tres categorías de criptas, de primer, segundo y tercer orden. Dada la limitación en el número de nuestro material fetal nosotros solo hemos podido observar hasta la segunda generación.

El epitelio sigue engrosándose a partir de las 18 semanas asociándose con un incremento en el número de las invaginaciones (4 meses y medio) hasta llegar a los fetos a término (Hammar, 1903; Minear y cols., 1937) donde el sistema de criptas de primer, segundo y tercer orden es evidente en forma de placas (criptas características de la infancia y de la vida adulta). De las criptas de tercer orden se formarán en la vida posnatal las de cuarto y quinto orden en forma de vesículas (Minear y cols., 1937). Si se trata de contabilizar el número y

generaciones de criptas, este trabajo lo hicieron Minear y cols., 1937. Partiendo de los iniciales simples brotes con sus aperturas en los senos en número variable de 3 a 8 invaginaciones cilíndricas, cortas o largas, (Hammar, 1903), localizadas en las regiones superior (fosa supratonsilar), media e inferior (Minear y cols., 1937). De forma secuencial podríamos resumirlo diciendo que a las 18 semanas observan 17 invaginaciones de primer orden, 11 de las cuales tienen ramas de segundo orden. La mayoría de las criptas de trayectos paralelos están unidas por cuellos estrechos, destinados a la atrofia y posterior desaparición. En la semana 26 se duplica el número de criptas primarias y la mayoría de las de segundo y tercer orden ya son permeables (Minear y cols., 1937).

Las criptas de primer orden se definen como cualquier invaginación epitelial no glandular, hueca y con fondo ciego que sale de la fosa palatina. las criptas de segundo orden se definen como cualquier invaginación hueca que surge de las criptas de primer orden y así sucesivamente, reservándose el nombre de vesículas a los brotes sólidos que se desprende del sistema, al inicio o al final del mismo (Minear y cols., 1937). Es curioso destacar como se describe que el ahuecamiento de las criptas se produce en sentido de distal a proximal, pudiéndose observar algunos tapones que, teniendo una zona permeable en el interior de la cripta, le dan la apariencia de quistes (Minear y cols., 1937). Esto coincide en parte con nuestras observaciones de la semana 11, con la presencia de invaginaciones epiteliales sólidas poco profundas cuyo extremo distal está más densamente teñido.

A medida que se produce la vesiculación de las criptas se sucede una interrupción de la continuidad epitelial y se produce la invasión linfocitaria. La pared finalmente se rompe y el espacio se rellena, primero de linfocitos y otro

tipo de células libres para luego cubrirse de tejido conectivo, vasos sanguíneos y linfáticos. Este proceso se completa en los primeros meses del desarrollo postnatal (Minear y cols., 1937).

7.4 Aparición de acúmulos linfoides

Con respecto a la presencia del tejido linfoide, siguiendo el trabajo de Minear y cols. (1937), podríamos decir que los linfocitos ya se observan en el tercer mes (Hammar, 1903), en el cuarto mes el tejido linfoide se muestra de forma difusa y en el sexto mes se observan los nódulos primarios sin centro germinal, para en el primer mes del periodo postnatal siguen sin verse nódulos secundarios que no aparecen hasta los tres años como grandes y abundantes (Minear y cols., 1937). Nosotros pudimos observar poblaciones de linfocitos T en la semana 10, una etapa del desarrollo anterior al tercer mes,

7.5. Acinos y conductos glandulares

Un aspecto que no se debe olvidar en la tonsila palatina es la presencia de las glándulas mucosas y sus conductos. Esos ductos raramente drenan en las criptas (Minear y cols., 1937). Las masas glandulares aún poco desarrolladas se comienzan a identificar en la semana 14 formada por 13 conductos. En los meses sucesivos y hasta los fetos a término con 8 que solapan con los polos superior e inferior de la tonsila, posteriormente, no aumentaran su número pero drenaran en la fosa palatina rodeando a al tonsila (Minear y cols., 1937).

7.6 Relaciones musculares, cápsula y trabéculas

Se ha descrito en el primer mes de la vida postnatal (Minear y cols., 1937) la existencia de cartílago hialino en un 20% de tonsilas palatinas, lo cual no debe ser considerado como patológico (Minear y cols., 1937). Nosotros no lo hemos observado

En su evolución la apertura de estos recesos presenta masas de epitelio queratinizado, con el mesénquima abundantemente infiltrado por leucocitos sin estar claramente delimitadas por tejido conectivo (Hammar, 1903).

Sim embargo en los especímenes embrionarios a partir del estadio 19 ya se observa la inserción de fibras del constrictor en la región dorsal de la capsula de la tonsila.

La capsula se observa ya en los fetos de XX semanas así como una robusta capsula de la que parte una retícula de tejido conectivo.

8. CONCLUSIONES

1. La tonsila palatina no se origina de la segunda bolsa faríngea. Se forma de forma independiente en la pared de la faringe en el estadio 20.
2. Su morfología aparecen en el estadio 21, como una superficie plana limitada por: un pilar anterior, otro posterior y un tercero inferior. En su área se sitúa un pliegue intratonsilar.
3. Se distinguen dos senos en su origen por la presencia del pliegue intratonsilar, pero no dos glándulas.
3. El comienzo del proceso de formación de las criptas puede observarse ya en la 10ª semana del desarrollo
4. La tonsila palatina recibe inserciones del músculo constrictor de la faringe a partir del estadio 19.

9. BIBLIOGRAFÍA

Arey, L.B. (1965) Developmental Anatomy 7th Ed. pp: 232-244. W.B. Saunders: Philadelphia and London.

Abbey, K., Kawabata, I. (1988). Computerized three-dimensional reconstruction of the crypt system of the palatine tonsil. *Acta Oto-Laryngologica. Supplementum*, 454, 39–42.

Bertalmio, M., Sapiro, G., Caselles, V., Ballester, C. (2000). Image Inpainting. Proceedings of SIGGRAPH 2000, 417-424.

Bickel, G. (1884) Ueber die Ausdehnung den Zusammenhang des Lymphatischen Gewebes in der Rachenregion. *Vicchow's Bd.* 97. Citado por Hammar, 1903.

Brandtzaeg, P. (1996). The B-cell development in tonsillar lymphoid follicles. *Acta Oto-Laryngologica. Supplementum*, 523, 55–59.

Brandtzaeg, P. (2011). Potential of nasopharynx-associated lymphoid tissue for vaccine responses in the airways. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 183(12), 1595-1604.

Canny, J., (1986), *A Computational Approach To Edge Detection, IEEE Trans. Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 8(6):679–698, 1986

Criminisi, A., Pérez, P., & Toyama, K. (2004). Region filling and object removal by exemplar-based inpainting. *IEEE Transactions in Image Processing*, 13(9), 1200-1212.

Curran, R. C., Jones, E. L. (1977). Immunoglobulin-containing cells in human tonsils as demonstrated by immunohistochemistry. *Clinical and Experimental Immunology*, 28(1), 103–115.

- Dang, T. T., Larabi, M., & Beghdadi, A.** (2012). Multi-resolution patch and window-based priority for digital image inpainting problem. 3rd International Conference on Image Processing Theory, Tools and Applications, 280-284.
- Ernst, L. M., Ruchelli, E. D., Katte Carreon, C., Huff, D. S. (Eds.).** (2019). *Color atlas of human fetal and neonatal histology* (2a ed.). Springer Nature.
- Fox, R. H.** (1886). Functions of the tonsils. *Journal of Anatomy and Physiology*, 20(Pt 4), 559–564.
- Ghorai, M., & Chanda, B.** (2015). An image inpainting method using pLSA-based search space estimation. *Machine Vision and Applications*, 26(1), 69-87.
- Gniazdowski, R., Trybuś, L.** (1974). Case of double palatal tonsil. *Otolaryngologia polska. The Polish otolaryngology*, 28(2), 243–244.
- Gosser, O.** (1912) The pharynx and its derivatives. In *Manual of Human Embryology* Ed by Keibel F. and Mall F.P. pp: 446-473. Philadelphia& London: J.B. Lippincott Co.
- Grewal, D. S., Hiranandani, N. L., Kalgutkar, J. S.** (1985). Congenital absence of the palatine tonsil associated with congenital malformation of the external ear: A congenital anomaly. *The Journal of Laryngology and Otology*, 99(3), 285–288.
- Guo, H., Ono, N., & Sagayama, S.** (2008). A structure-synthesis image inpainting algorithm based on morphological erosion operation. *CISP'08. Congress on Image and Signal Processing*, 3, 530-535.
- Hammar, J. A.** (1903). Zur Histologie und Involution der Thymus. *Anat. Anz.*, Bd, 27, 1907.
- Hett, G. S., Butterfield, H. G.** (1909). The anatomy of the palatine tonsils. *Journal of Anatomy and Physiology*, 44(Pt 1), 35–55.

His, W. (1885). Anatomie menschlicher Embryonen. I: Die Entwicklung des menschlichen Embryo. Leipzig: Verlag von Vogel. Pp: 1-204.

His, W. (1891). Anatomie menschlicher Embryonen. III: Zur Geschichte der Organe. Leipzig: Verlag von Vogel. Pp: 1-313).

Howie, A. J. (1980). Scanning and transmission electron microscopy on the epithelium of human palatine tonsils. *The Journal of Pathology*, 130(2), 91–98.

Indrasingh, I., Chandi, G., Vettivel, S. (2002). Route of lymphocyte migration through the high endothelial venule (HEV) in human palatine tonsil. *Anatomischer Anzeiger [Annals of Anatomy]*, 184(1), 77–84.

Kingsbury, B. F. (1915). The development of the human pharynx. I. The pharyngeal derivatives. *The American Journal of Anatomy*, 18(3), 329–397.
<https://doi.org/10.1002/aja.1000180302>

Kingsbury, B. F., Rogers, W. M. (1927). The development of the palatine tonsil: calf (*Bos taurus*). *American Journal of Anatomy*, 39(3), 379-435.

Kingsbury, B. F. (1932) The developmental significance of the mammalian pharyngeal tonsil: cat. *Am J Anat* 50;201-231.

Köelliker (1861-1879) *Entwicklungsgeschichte des Menschen und der höheren Tiere* 2. Aufl. Leipzig (1. Aufl. 1861). Citado por Hammar, 1903.

Langman, J. (1969) *Embriología Médica* 2^a ed. pp:3-117. Editorial Interamericana: México.

Levin, P. M. (1930). The development of the tonsil of the domestic pig. *The Anatomical Record*, 45(2), 189-201.

Lozano Soto, F. (2012). Introducción al sistema inmunológico, sus principales elementos y la respuesta inmunitaria. In Farreras; Rozman, eds. *Medicina Interna* (17 edición). Barcelona, España: Elsevier España. pp. 2453-248.

McHanwell, S. (2016) Pharynx. In Gray's Anatomy Ed. 41, Ed Standring S.; Chapter 34, pp:571-585. Elsevier: India.

Miner, W. L., Arey, L. B., & Milton, J. T. (1937). Prenatal and postnatal development and form of crypts of human palatine tonsil. Archives of Otolaryngology, 25(5), 487-519.

Morris-Key, G. M. (2016) In Gray's Anatomy Ed. 41, Ed Standring S.; Development of the head and neck, Chapter 36, pp:605-623. Elsevier: India.

Nobuyuki, O. (1979). A threshold selection method from gray-level histograms. *IEEE transactions on systems, man, and cybernetics*, 9(1), 62–66.

O`Rahilly, R., Müller, F. (1987) Developmental Stages in Human Embryos, Including a Revision of Streeter's 'Horizons' and a Survey of the Carnegie Collection. Washington, Carnegie Institution of Washington. 637:1-305.

Olah, I. (1978) Structure of the tonsils. In Tonsils, Structure, Immunology and Biochemistry, sect. I (ed. Antoni E, Staub M),pp. 5–51. Budapest: Akademiai Kiado.

Patnaik, S., Yang, Y. M. (2012). *Soft Computing Techniques in Vision Science* 395. Springer.

Patten, B. M. (1973) Edad, crecimiento y cambios en la forma exterior del cuerpo. En: Embriología Humana, 5ª ed. Buenos Aires: Ateneo, pp.149-167.

Perry, M. E. (1994). The specialised structure of crypt epithelium in the human palatine tonsil and its functional significance. *Journal of Anatomy*, 185 (Pt 1), 111–127.

Perry, M. E., Jones, M. M., Mustafa, Y. (1988). Structure of the crypt epithelium in human palatine tonsils. *Acta Oto-Laryngologica. Supplementum*, 454, 53–59.

- Ramsay, A. J.** (1935). The development of the palatine tonsil (cat). *American Journal of Anatomy*, 57(1), 171-203.
- Regueiro, J. R., López Larrea, C., González Rodríguez, S., Martínez Naves, E.** (2003). *Inmunología, Biología y Patología del Sistema Inmune*. Editorial Medica Panamericana.
- Rouvière, H.** (1932) *Anatoie Humainen 3rd Ed.Vol I, Tête, cou et tronc* pp 408-427. Paris: Masson.
- Rouvière, H., Delmás, A.** (2005) *Anatomía humana: descriptiva, topográfica y funcional*. 11th ed. Barcelona, Masson, 2005
- Sahov, V., & Vu Huu Hieu** (1959). A case of unusual anomaly of the palatine tonsil: left ectopic tonsil. *Les Annales d'oto-laryngologie*, 76, 958–959.
- Schmidt, F. Th.** (1863). *Das folliculäre Drüsengewebe der Schleimhaut der Mundhöhle und des Schlundes bei den Menschen und den Säugetieren*. *Zeischr. f. wiss. Zool*. Bd. 13. Citado por Hammar, 1903.
- Stöhr, P.** (1891) Ueber die Mandeln und deren Entwickkelung. Die Entwicklung des Adenoiden Gewebes der Zungenbälge und der Mandeln des Menschen *Anat Anz* 6(S): 545-548. (Citado por Kingsbury y Rogers, 1927).
- Sinha, S. N., Singh, A. K.** (1978). Ipsilateral absence of tonsil and microtia with ectopic salivary gland: A case report. *The Journal of Laryngology and Otology*, 92(12), 1147–1149. <https://doi.org/10.1017/s002221510008662x>
- Streeter, G. L.** (1951) *Developmental Horizons in Human Embryos. Age Groups XI to XXIII*. Washington, Carnegie Institution of Washington.
- Testut, L., Latarjet, A.** (1931) *Traité d'Anatomie Humanine. Vol IV, appareil de la digestion* pp:98-110. Paris: Gaston Doin.

- Tubbs, R. Sh., Loukas, M.** (2016) Tonsils. In Chapter 74, pp: 919-120. In Bergman's Encyclopedia of Human Anatomic Variation, Edited by Tubbs R.Sh.; Shoja M.M.; Loukas M. Willey Blackwell:Herboken-New Yersey.
- von Gaudecker, B.** (1988). Development and functional anatomy of the human tonsilla palatina. *Acta Oto-Laryngologica. Supplementum*, 454, 28–32.
- von Gaudecker, B., Müller-Hermelink, H. K.** (1982). The development of the human tonsilla palatina. *Cell and Tissue Research*, 224(3), 579–600.
- Wu, J., Ruan, Q.** (2006). Object Removal By Cross Isophotes Exemplar-based Inpainting. 18th International Conference on Pattern Recognition, 3, 810-813.
- Xu, Z., & Sun, J.** (2010). Image Inpainting by Patch Propagation Using Patch Sparsity. *IEEE Transactions on Image Processing*, 19(5), 1153-1165.
- Yamamoto, M.** (2017). Histological and developmental observations of the human palatine tonsil. *Anatomical Science International*, 92(1), 1-10.