CIRO FERREIRA DA SILVA

**MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA NO ESTUDO
DO DESENVOLVIMENTO INICIAL DO TECTO ÓPTICO DO
EMBRIÃO DE *Gallus domesticus***

Tese apresentada ao
Departamento de Anatomia do
Instituto de Ciências Biomédicas
da Universidade de São Paulo,
para obtenção do título de
Doutor em Ciências.

**SÃO PAULO
1981**

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

Silva, Ciro Ferreira da.

Microscopia eletrônica de varredura no estudo do desenvolvimento inicial do tecto óptico do embrião de *Gallus domesticus* / Ciro Ferreira da Silva. — São Paulo, 1981.

Tese (doutorado) — Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. Departamento de Anatomia.

Área de concentração: Anatomia.

Orientador: Eros Abrantes Erhart.

Unitermos: 1. Microscopia eletrônica de varredura
2. Tecto óptico 3. Embrião 4. *Gallus domesticus*

USP/ICB-B-8/81

A meus pais e irmãos,

À minha esposa Adalzira,

À minha filha Carolina.

Ao Professor Dr. Eros A. Erhart,
orientador e amigo, pelo constante
incentivo à nossa formação científica

Ao Professor Dr. Claudio A. Ferraz
de Carvalho, pelo apoio durante a
realização deste trabalho.

AGRADECEMOS

a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, e mui especialmente:

ã Professora Dra. Helena Lopes de Souza Santos, do Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto de Física da USP, não só pela colaboração prestada no preparo e exame de nosso material ao microscópio eletrônico de varredura, mas principalmente pelo incentivo e desprendimento demonstrados durante toda a fase experimental de nosso trabalho,

ao Engenheiro Pedro Kunihiro Kiyohara e à Profa. Dra. Marina A.P.V. da Silveira Santos, do Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto de Física da USP, pelo auxílio e sugestões apresentados,

ao Professor Claudio Fava Chagas pela imprescindível colaboração no preparo das cópias dos negativos originais de microscopia de varredura e óptica,

ao Professor José Afonso Bruno pela colaboração no preparo do material examinado ao microscópio de varredura,

ã bióloga Maria Vilma de Araujo e às técnicas Cleusa Fumica Hirata Takakura, Jennifer Aparecida Biagioni e Catharina Mafra pelo processamento do material histológico,

ao Sr. José Octávio Nogueira pela revisão da
secção de abreviaturas,

às bibliotecárias da Biblioteca do Instituto
de Ciências Biomédicas da USP e às bibliotecárias Maria Regin
a de Castro Antunes e Virgínia Lobo Ferreira, da Biblioteca
da Faculdade de Medicina da USP, pela colaboração no levantam
ento bibliográfico,

às srtas. Anna Maria Coelho Dutra e Maria Apar
ecida Fernandes, pelo auxílio prestado,

aos colegas e funcionários do Departamento de
Anatomia, pelo interesse e consideração demonstrados.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
2. LITERATURA	2
3. MATERIAL E MÉTODOS	21
4. RESULTADOS	25
5. DISCUSSÃO	33
6. CONCLUSÕES	40
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
8. ILUSTRAÇÕES	57

I. INTRODUÇÃO

Diferentes técnicas e metodologias foram utilizadas no estudo do desenvolvimento do sistema nervoso, analisando como modelos experimentais, entre outros, o embrião do "Gallus domesticus" e embriões de diferentes anfíbios.

Com o advento do microscópio eletrônico de varredura (M.E.V.) pode-se, com certas limitações, efetuar uma análise tridimensional de estruturas biológicas. Portanto, utilizando o M.E.V., neste trabalho apresentamos nossas observações sobre o desenvolvimento inicial do tecto óptico do embrião de "Gallus domesticus".

II. LITERATURA

1. A UTILIZAÇÃO DO M.E.V. NO ESTUDO DO SISTEMA NERVOSO ADULTO E EMBRIONÁRIO

São numerosas as publicações sobre o revestimento ependimário ventricular estudado ao M.E.V. À título de exemplo citamos a revisão bibliográfica feita por MITCHELL (1980), que relaciona, no assunto, 244 trabalhos. Todavia, são poucas as pesquisas que, usando o M.E.V., analisam o S.N.C. em desenvolvimento e no adulto.

OHTSUKI (1972) investigou com o M.E.V. a estrutura da medula espinal de coelhos adultos; descreveu a morfologia de fibras mielínicas e corpos celulares de neurônios do corno ventral assim como o aspecto das células ependimárias do canal medular.

SEYMOUR e colaboradores (1972) estudaram as alterações morfológicas das células neuro-epiteliais da vesícula telencefálica de embriões de ratos com 12 e 13 dias de gestação, fazendo correlações com a microscopia eletrônica de transmissão.

JACOB e colaboradores (1974) analisaram a topografia de superfície da região epiblastica de embriões de galinha com 18 a 29 horas de incubação.

PORTCH & BARSON (1974), utilizando embriões de

galinha com 19 a 49 horas de incubação, descreveram as características de superfície das células da placa neural.

BANCROFT & BELLAIRS (1975) estudaram a diferenciação da placa e tubo neurais em embriões de galinha com 18 horas a 3 dias de incubação.

SEYMOUR & BERRY (1975) investigaram a morfologia das células neuro-epiteliais em vesículas cerebrais de embriões de ratos com 12 a 14 dias de gestação, procurando caracterizar a morfologia dessas células nas diversas fases do ciclo celular.

ENGLAND & COWPER (1976), visando o estudo dos mecanismos do fenômeno de indução primária, examinaram os locais de contato entre células meso e ectodérmicas em embriões de galinha com 19 a 22 horas de incubação.

REVEL & BROWN (1976) analisaram os locais de contato entre as células neuro-epiteliais de embriões de galinha, desde o estágio da placa neural até o fechamento do tubo neural.

WATERMAN (1976) investigou as variações topográficas do ectoderma durante a fase de neurulação em embriões de hamster e camundongos com 7 a 10 dias de gestação; descreveu a morfologia das pregas neurais desde seu aparecimento até a fase de fechamento do neuróporo caudal.

BANCROFT & BELLAIRS (1977), utilizando embriões

de galinha com 33 a 69 horas de incubação, estudaram a diferenciação dos placódios do cristalino, ótico e nasal.

SHAHAR e colaboradores (1977), fazendo uso de gânglios espinais obtidos de camundongos recém-nascidos e mantidos em meio de cultura, descreveram a morfologia dos neurônios pseudo-unipolares e suas relações com as células satélites.

WATERMAN & McCARTY (1977), examinaram a morfologia das células do tubo e cristas neurais em embriões do peixe teleosteo "Brachyrradio rerio".

CHAMBERLAIN (1978), estudou as características dos neuroblastos sub-ependimários em embriões de ratos com 14 a 21 dias de gestação, em condições normais e experimentais.

SCHOENWOLF (1978), descreveu a morfologia das células neuro-epiteliais durante a fase de formação de desenvolvimento da porção caudal do tubo neural, em embriões de galinha com 33 horas a 4 dias de incubação.

SILVER & KERNS (1978), investigaram os mecanismos de fusão das pregas neurais em embriões de galinha com 23 a 49 horas de incubação.

SOLURSH & REVEL (1978), estudaram a morfologia das células em fase de migração ao longo da região da linha primitiva em embriões de galinha com 26 horas de incubação e de ratos com 9 dias de gestação.

IKUTA e colaboradores (1979), analisaram as características das células gliais, durante o desenvolvimento normal e patológico, em embriões de galinha e em fetos humanos de diversas idades.

SIEW (1979), baseando-se nas propriedades osmiofílicas da mielina e argirofílicas dos neurônios e células da glia, investigou a morfologia das células nervosas da medula e dos gânglios espinais no homem.

CASTEJÓN & CARABALLO (1980), descreveram os diferentes tipos de neurônios presentes no córtex cerebelar do peixe teleosteo "Arius spixii".

O estudo da estrutura normal e do desenvolvimento da retina com o microscópio eletrônico de varredura tem merecido especial atenção por parte de vários investigadores nos últimos anos. Assim, MELLER & TETZLAFF (1976) estudaram a diferenciação da retina em embriões de galinha com 3 a 21 dias de incubação; descreveram o desenvolvimento das células ganglionares, bipolares, fotorreceptoras e de Müller; salientaram, principalmente, os contatos mantidos pelas diferentes células nas suas fases de migração e o arranjo espacial das células gliais de Müller, sugerindo um papel importante, dessas últimas, nos processos de migração e diferenciação dos demais elementos retinianos.

DAVIDORF & SHARPNACK (1977) analisaram os cones e bastonetes da retina humana.

OLSON (1977), utilizando embriões de galinha com 7 a 21 dias de incubação, investigou a morfogênese dos segmentos internos e externos das células fotorreceptoras.

GALBAVY & OLSON (1979) estudaram as alterações morfológicas de bastonetes em retinas de ratos albinos desde o 1º dia de vida até à idade de 21 dias.

OLSON (1979) descreveu a diferenciação dos fotorreceptores em retinas de embriões de galinha com 2 a 20 dias de incubação e estabeleceu correlações com os dados obtidos pela microscopia eletrônica de transmissão.

SUBURO e colaboradores (1979) investigaram o desenvolvimento das células ganglionares da retina de embriões de galinha com 3 a 9 dias de incubação; ressaltaram as relações mantidas entre os cones de crescimento dos prolongamentos axonais dessas células e o substrato por eles utilizado para alcançar a fissura coroídea.

2. O TECTO ÓPTICO DAS AVES

Está bem estabelecida a homologia entre o tecto óptico dos vertebrados inferiores e o colículo rostral (cranial) dos mamíferos (HUBER & CROSBY, 1933; NAUTA & KARTEN, 1970).

A partir do estudo inicial de STIEDA (1869) sobre o tecto óptico das aves, grande número de trabalhos têm sido publicados descrevendo as características dessa estrutura mesencefálica em termos morfológicos, embriológicos e fisiológicos.

Os estudos morfológicos, realizados em aves adultas, visam determinar:

1. O padrão citoarquitetônico do tecto óptico, isto é, definir critérios para a divisão do tecto em camadas e ao mesmo tempo fornecer uma descrição dos diferentes tipos celulares presentes em cada uma delas. Nesta linha temos os trabalhos de SCHULGIN (1881), BELLONCI (1888), CAJAL (1891), VAN GEHUCHTEN (1892), KOLLIKER (1896), RIS (1899), HUBER & CROSBY (1933), JUNGHERR (1945), COWAN e colaboradores (1961) e LAVAIL & COWAN (1971).

2. Os locais de terminação das fibras retinianas no interior do tecto óptico (principais fibras aferentes). São os estudos feitos por COWAN e colaboradores (1961), GRAY & HAMLYN (1962), MCGILL e colaboradores (1966), SCHONBACH & CUÉNOD (1971), STONE & FREEMAN (1971), HAYES & WEBSTER (1975) e REPÉRANT & ANGAUT (1977).

3. As células do tecto óptico que dão origem às suas projeções eferentes e seus correspondentes locais de terminação em outros centros do sistema nervoso central. Resaltamos os trabalhos de KARTEN (1965), BENOWITZ & KARTEN (1976) e HUNT & KUNZLE (1976 a,b).

O estudo do desenvolvimento do tecto óptico de aves (principalmente do "Gallus domesticus") pode ser dividido em duas metas principais:

1. A primeira visa o estudo do desenvolvimento normal do tecto óptico, isto é, a formação, migração e diferenciação de suas células; o padrão de crescimento das fibras retinianas quando no interior do tecto e a formação progressiva de suas diferentes camadas. Nesta linha temos os trabalhos de VAN GEUCHTEN (1892), TELLO (1923), LEGHISSA (1957, 1958), FUJITA (1964), DELONG & COULOMBRE (1965, 1967), COWAN e colaboradores (1968), COWAN (1971), LAVAIL & COWAN (1971 a,b), CANTINO & SISTO-DANEO (1972, 1973), GOLDBERG (1974), CROSSLAND e colaboradores (1975), RAGER (1976 a,b), DOMESICK & MOREST (1977 a,b), PUELLES & BENDALLA (1978), RAGER & OEYENHAUSEN (1979) e RAGER (1980).

2. A segunda procura descrever a diferenciação do tecto óptico na ausência de aferências retinianas; utiliza embriões submetidos a ablações da vesícula óptica, no início do desenvolvimento. Merecem destaque os trabalhos de FILOGAMO (1950), LEGHISSA (1959), DELONG & COULOMBRE (1965), COWAN e colaboradores (1968), COWAN (1971), KELLI & COWAN (1972), GOLDBERG (1974) e WHITEHEAD (1979).

Paralelamente, vários estudos eletrofisiológicos foram feitos no tecto óptico de aves (galinhas e pombos), tanto em animais adultos como em embriões. Visavam determinar o padrão de representação da retina sobre o tecto, a descrição do padrão de respostas das células tectais à estimulação das células ganglionares retinianas e a caracterização da época de início de atividade funcional dos neurônios

do tecto. CRAGG e colaboradores (1954), HAMDI & WHITTERIDGE (1954), PETERS e colaboradores (1958), MCGILL e colaboradores (1966), HOLDEN (1968 a,b), JASSIK-GERSCHENFELD e colaboradores (1970, 1972), STONE & FREEMAN (1971) e RAGER (1976 a,b, 1980).

A. CONEXÕES AFERENTES E EFERENTES DO TECTO ÓPTICO DAS AVES

A Fig. 1, baseada nos trabalhos de HUBER & CROSBY (1933), NAUTA & KARTEN (1970), LAVAIL & COWAN (1971 a) e HUNT & KUNZLE (1976 a,b), representa um resumo do estado atual de conhecimento das conexões do tecto óptico das aves com outras áreas do sistema nervoso central.

É amplamente aceita a noção de que, nas aves, os impulsos visuais alcançam suas áreas de projeção telencefálica através de duas vias principais, incorporadas aos chamados sistemas "tectofugal" e "talamofugal" (BAGNOLI e colaboradores, 1980). O primeiro se projeta no ectostriatum através do tecto óptico (TeO) e do nucleus thalamicus rotundus (Rt), enquanto que o último se projeta para o "Wulst" visual através do nucleus opticus principalis thalami (OPT), (HODOS, 1976).

Experimentos de ablação e eletrofisiologia têm sugerido diferenças funcionais entre os dois sistemas (REVZIN, 1970; BRITTO e colaboradores, 1975; HODOS, 1976). Lesões do sistema "tectofugal" levam a uma severa diminuição da discriminação de brilho, cor e forma (HODOS & KARTEN, 1966, 1970,

1974; HODOS, 1969; JARVIS, 1974), enquanto que lesões da via "talamofugal" causam uma diminuição da sensibilidade e diferenças luminosas (HODOS e colaboradores, 1973; HODOS & BONBRIGHT, 1974; PASTERNAK, 1977; PASTERNAK & HODOS, 1977). Por outro lado, lesões combinadas do Rt e do OPT são seguidas por deficits na discriminação de brilho que são mais severos que os obtidos por lesões isoladas desses núcleos, sugerindo uma interação entre os dois sistemas. Esta interação tem sido demonstrada anatômica e fisiologicamente (KARTEN e colaboradores, 1973; BAGNOLI e colaboradores, 1977, 1979, 1980; BRITTO, 1978).

B. CITOARQUITETURA DO TECTO ÓPTICO DO "GALLUS DOMESTICUS"

A descrição abaixo, resumida na Fig. 1, está baseada no trabalho de LAVAIL & COWAN(1971), feito no "Gallus domesticus", e segue a terminologia introduzida por HUBER & CROSBY (1933) com subseqüentes modificações de JUNGHERR(1945) e de COWAN e colaboradores (1961). A descrição dos principais tipos celulares de cada camada está de acordo com os trabalhos de CAJAL (1889) e VAN GEHUCHTEN (1892).

No animal adulto consideram-se 6 extratos principais, denominados, da superfície pial para o revestimento ventricular, (1) stratum opticum(SO) contendo as fibras originadas do tracto óptico; (2) stratum griseum et fibrosum superficiale(SGFS), a principal zona fibro-celular do tecto e que por sua vez pode ser dividida em 10 lâminas distintas;

(3) stratum griseum centrale(SGC), onde se localizam os principais neurônios eferentes do tecto; (4) stratum album centrale (SAC), formado principalmente pelas fibras eferentes mielínicas do tecto; (5) stratum griseum periventriculare (SGP); (6) stratum fibrosum periventriculare(SFP). Nos locais onde o ventrículo tectal estiver presente pode-se reconhecer ainda uma camada endimária.

1. STRATUM OPTICUM (SO) - Formado pelos axônios do tracto óptico e por células gliais. As fibras penetram no tecto próximas ao seu polo rostro-ventral e se espalham por sua superfície em direção ao polo caudo-medial. Essas fibras são extremamente finas (segundo COWAN (1977), 95% delas estão entre 0,5 e 1 μ m de diâmetro) e, à medida que se aproximam de seu destino, mudam abruptamente de direção e penetram em ângulo reto no SGFS onde se arborizam de várias maneiras.

2. STRATUM GRISEUM ET FIBROSUM SUPERFICIALE (SGFS) - Pode ser subdividido em 10 lâminas, designadas pelas letras a-j da superfície para o interior:

LÂMINA a - estreita faixa de células com 10-15 μ m de espessura. As células mais superficiais têm um aspecto estrelado, com dendritos atingindo tanto o SO como a lâmina b e axônios indo em direção à lâmina c. As células mais profundas têm direção horizontal e seus dendritos e axônios se ramificam dentro da própria lâmina.

LÂMINA b - camada relativamente acelular, com $\pm 30 \mu\text{m}$ de espessura, formada principalmente por dendritos de células de outras camadas e por fibras retinianas que atravessam em direção às partes mais profundas do SGFS.

LÂMINA c - camada celular com cerca de $40\text{-}50 \mu\text{m}$ de espessura, onde os neurônios caracteristicamente se reúnem em pequenos grupos. A maioria das células são pequenas e fusiformes, com dendritos que atingem até a lâmina b e axônios que vão até as camadas mais profundas do SGFS. Um pequeno número de células de médio tamanho apresenta dendritos tanto horizontais como descendentes (atingindo as lâminas e, f). Numerosas fibras do SO terminam nesta lâmina, formando uma arborização com formato cilíndrico, com cerca de $50 \mu\text{m}$ de diâmetro.

LÂMINA d - predominantemente fibrosa, com $40\text{-}90 \mu\text{m}$ de espessura; é formada por axônios do SO e da lâmina c e por dendritos apicais das células piriformes das lâminas e, g, h e i. Apresenta também um pequeno número de células horizontais e, ocasionalmente, pequenos neurônios estrelados.

LÂMINA e - é a camada celular mais fina do tecto, sendo constituída por pequenos grupamentos de células piriformes.

LÂMINA f - é a camada plexiforme mais delgada do tecto; apresenta fibras do SO, que a este nível se bifurcam e se distribuem dentro da própria lâmina, e grande número de prolongamentos de células das camadas adjacentes.

LÂMINA g - primeira camada a não receber fibras do SO. Formada por células fusiformes, com dendritos ascendentes e axônios que se dirigem às camadas mais profundas do tecto, e por células estreladas cujos dendritos se ramificam amplamente nas lâminas vizinhas.

LÂMINA h - camada celular com 60-100 μm de espessura; contém vários tipos de neurônios, incluindo células piramidais, fusiformes e grandes neurônios com ampla ramificação dendrítica.

LÂMINA i - camada de maior diâmetro dentro do SGFS, atingindo até 300 μm de espessura. Formada por células de médio tamanho e disposição horizontal e por neurônios fusiformes com axônios que se originam de seus dendritos principais e adquirem trajeto recorrente, daí terem sido chamadas de "células em forma de cajado de pastor" (shepherd's crook cells).

LÂMINA j - camada de células esparsas e de aspecto semelhante aos neurônios da lâmina i. Sua característica mais importante está no aspecto estriado bem visível em preparações de prata reduzida.

3. STRATUM CRISTEUM CENTRALE (SGC) - Formada por um número considerável de grandes neurônios poligonais, com corpos celulares alcançando até 40 μm de diâmetro e dendritos que cruzam obliquamente o SGC, atingindo em alguns casos a lâmina c do SGFS; seus axônios penetram no SAC,

formando um dos principais componentes dessa camada. Apresenta, ainda, pequenas células estreladas e numerosas fibras de passagem.

4. STRATUM ALBUM CENTRALE (SAC) - Representa a principal camada eferente do tecto; é caracterizado por sua considerável espessura (até 200 μ m) e pelo arranjo de suas fibras em grossos feixes ou fascículos que, após atravessar todo o tecto, se reúnem e formam, próximas ao polo caudal, o maciço pedúnculo do tecto óptico, através do qual se distribuem para diferentes locais do diencéfalo e tronco encefálico.

5. STRATUM GRISEUM PERIVENTRICULARE (SGP) - Do mesmo modo que o SFP e a camada endimária este estrato está limitado às regiões que incluem o ventrículo tectal. Formado por neurônios estrelados de pequeno e médio tamanho, com dendritos que atingem o SAC e o SFP e axônios que se integram ao SAC. A presença de numerosos vasos dá a esta zona um aspecto perfurado.

6. STRATUM FIBROSUM PERIVENTRICULARE (SFP) - Estreita camada formada por células gliais esparsas e dendritos dos grandes neurônios do SGP.

CAMADA EPENDIMÁRIA - Constituída por células colunares que delimitam o ventrículo tectal. Muitas dessas células possuem longos processos basais que se estendem até a superfície pial do tecto.

C. DESENVOLVIMENTO CITOARQUITETÔNICO DO TECTO ÓPTICO

A descrição do desenvolvimento das diferentes camadas do tecto óptico do embrião de "Gallus domesticus" está baseada no trabalho de LAVAIL & COWAN (1971 a) e segue, em linhas gerais, os dados apresentados por FILOGAMO (1950) e LEGHISSA (1957, 1958). Está restrita ao desenvolvimento das porções rostro-ventro-laterais do tecto pelo fato delas se diferenciarem mais rapidamente que as regiões caudo-dorso-mediais (COWAN e colaboradores, 1968). A nomenclatura adotada convencionou designar por algarismos romanos as diferentes camadas fibrosas e celulares do tecto em desenvolvimento (Fig. 2).

4º DIA DE INCUBAÇÃO (Estágios 25 e 26 de H & H)

Nesta fase a espessura do tecto varia de 125 a 200 μm e 3 camadas são distintas: (1) epitélio neural, formado por células densamente grupadas que constituem um epitélio pseudo-estratificado; (2) camada I, abaixo do epitélio neural, com células arredondadas e fusiformes; (3) camada II, formada por uma rede de finas fibras de orientação radial.

6º DIA DE INCUBAÇÃO (Estágios 28-30 de H & H)

Há um leve aumento na espessura do tecto (200-220 μm). O epitélio neural não apresenta alterações. A camada I, além das células arredondadas, apresenta um número considerável de células fusiformes de médio tamanho, com orientação radial, e que são envolvidas pelas fibras que formam a camada II.

7º E 8º DIAS DE INCUBAÇÃO (Estágios 33 e 34 de H & H) - Há uma diminuição da espessura do epitélio neural (menos de 100 μ m) causada pela migração celular; a camada I apresenta grande número de células com disposição predominantemente horizontal; a camada II é compacta, com pequenas células de orientação radial; as camadas III e IV são de difícil distinção e suas fibras são derivadas de um plexo de fibras radiais da camada II.

10º DIA DE INCUBAÇÃO (Estágio 36 de H & H) - A espessura do tecto alcança 800 μ m e nada menos de 10 camadas podem ser individualizadas, algumas delas correspondentes a estratos presentes no animal adulto. Assim, a zona fibrosa denominada camada III e a lâmina celular contígua com grandes células multipolares (camada IV) correspondem, respectivamente, ao SAC e SGC. Do mesmo modo, adiante do estreito epitélio neural, há uma faixa de fibras radiais contendo um pequeno número de células fusiformes de médio tamanho (camada I) e que seria o futuro SFP. A lâmina adjacente, espessa zona celular (camada II), poderia ser identificada com o SGP. A correspondência entre as demais camadas e aquelas vistas no tecto adulto é incerta. A camada V é relativamente acelular; a camada VI é formada por uma densa população de células piriformes; a camada VII é plexiforme, constituída por prolongamentos de células de várias lâminas; a camada VIII apresenta pequeno número de células de médio tamanho e a camada IX contém poucas células, sem orientação preferencial, imersas em uma matrix de finas fibras radiais. A lâmina mais

superficial, camada X, corresponde ao SO em formação e é constituída por fibras retinianas em crescimento que, neste estágio, cobrem a maior parte da superfície ventro-lateral do tecto.

12º DIA DE INCUBAÇÃO (Estágio 38 de H & H) -

A espessura do tecto chega a 1mm. Podem ser identificadas 12 camadas. Não existe mais um epitélio neural, encontrando-se em seu lugar um epitélio colunar simples com as características de epêndima. A camada I (SFP) é formada por fibras radiais e oblíquas e por células piriformes. A camada II contém grande número de células horizontais de médio tamanho e a presença de numerosos vasos lhe dá um aspecto perfurado característico. A camada III (SAC) apresenta algumas células fusiformes interpostas a grossos feixes de fibras. A camada IV (SGC) é constituída por grandes células poligonais com dendritos ascendentes e por numerosas células de médio tamanho. A camada V é formada por células fusiformes de pequeno e médio tamanho. A camada VI apresenta densos grupamentos de células piriformes. A camada VII é predominantemente plexiforme, com prolongamentos de células das lâminas mais profundas e pequeno número de células arredondadas de médio tamanho. A camada VIII é constituída por 6 a 8 estratos de pequenas células com um típico arranjo colunar. A camada IX contém poucas células piriformes de pequeno tamanho e muitas fibras de orientação radial ou oblíqua, derivadas de células das lâminas adjacentes. A camada X é extremamente fina, com raras células de médio tamanho e fibras radiais originadas do SO.

A camada XI é formada por uma difusa população de células de pequeno e médio tamanho. A camada XII (SO) apresenta uma es pessa de 30 μ m nas porções ventro-laterais do tecto e se torna progressivamente mais fina em direção às regiões tectais caudo-mediais.

18º DIA DE INCUBAÇÃO (Estágio 44 de H & H) -

Nesta fase podem ser reconhecidas todas as camadas plexiformes e celulares encontradas no tecto do animal adulto. Embora a diferenciação citoarquitetônica esteja completa, os neurônios tectais prosseguirão sua maturação por algum tempo, com pletando a diferenciação de seus processos e estabelecendo as conexões sinápticas definitivas entre si.

D. ÉPOCA DE ORIGEM E PADRÃO DE MIGRAÇÃO DAS CÉLULAS DO TECTO ÓPTICO

A descrição do tempo de geração das células pertencentes às diferentes camadas do tecto óptico do embrião de "Gallus domesticus" está baseada nos estudos radioautográficos de LAVAIL & COWAN (1971b) e acompanha, em linhas gerais, as descrições feitas por FUJITA(1964), COWAN e colaboradores (1968) e COWAN (1971).

As primeiras células a se formarem no tecto óptico do embrião de "Gallus domesticus" são os grandes neurônios multipolares do SGC, que aparecem na porção rostro-ventral do tecto entre o 3º e 4º dias de incubação. No 9º dia

se originam as últimas células da região caudo-medial do tecto e formam, em estágios subsequentes, as lâminas mais profundas do SGFS. Vistas como um todo, as camadas do tecto são formadas como resultado de 3 fases de proliferação e migração celular, fases essas que são espacialmente distintas mas cronologicamente sobrepostas. A primeira delas ocorre entre o 4º e 6º dias de incubação e dá origem às células dos 4 estratos mais profundos (SGC, SAC, SGP e SFP). A segunda fase resulta na formação das lâminas mais externas do SGFS (a-f) e se estende do 4º ao 8º dia de incubação. Na fase final são formadas as lâminas mais profundas (g-j) do SGFS. As células de cada uma das 3 zonas de desenvolvimento se originam obedecendo uma sequência característica. Assim, nas zonas interna e intermediária as células mais superficiais são formadas antes que as profundas (elas seguem um gradiente "outside-in"); na zona externa essa sequência se inverte, com as células das lâminas mais profundas sendo originadas 1 a 2 dias mais cedo que aquelas das camadas superficiais (um gradiente "inside-out"). As células das 3 zonas de desenvolvimento migram com velocidades aparentes de 1,5-1,8 $\mu\text{m}/\text{h}$, 3,5-5 $\mu\text{m}/\text{h}$ e 3,5-4 $\mu\text{m}/\text{h}$ respectivamente.

E. DESENVOLVIMENTO DAS CONEXÕES RETINO-TECTAIS

O padrão de inervação do tecto óptico de embriões "Gallus domesticus" por axônios de células ganglionares retinianas foi estudado por vários autores utilizando diferentes

métodos (vide pág. 8). A descrição a seguir está baseada nas investigações ultra-estruturais de CANTINO & SISTO-DANEO (1973), radioautográficas de CROSSLAND e colaboradores (1975) e de RAGER (1979) com o método de Golgi.

No 6º dia de incubação as primeiras fibras retinianas começam a penetrar no tecto óptico; espalham-se por sua superfície a partir do extremo rostro-lateral e caminham em direção ao polo caudo-medial do tecto durante os 6 dias seguintes. As primeiras evidências de invasão do SGFS pelas fibras retinianas aparecem no 10º dia, quando algumas fibras podem ser acompanhadas nas camadas mais superficiais desse estrato, delimitando uma área oval próxima ao centro da face lateral do tecto. No curso dos próximos dois dias a região do SGFS ocupada pelas fibras do SO se expande de maneira concêntrica, até que no 14º dia de incubação todas as regiões do tecto se encontram inervadas. O número de sinapses entre os axônios retinianos e as células do SGFS é pequeno nessa época, mas vai aumentando progressivamente até o 18º dia. Paralelamente à invasão das fibras retinianas ocorre a diferenciação citoarquitetônica final das camadas superficiais do tecto e, por volta do 18º dia, as lâminas a-f do SGFS mostram um pa-drão de inervação semelhante ao encontrado no animal adulto.

III. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados, neste estudo, embriões de "Gallus domesticus" da raça Hybro, obtidos a partir de ovos incubados, de 3 a 16 dias, em estufa a 38°C e umidade adequada. O número de embriões usados e suas respectivas idades e estágios de desenvolvimento (segundo HAMBURGER & HAMILTON, 1951) constam do quadro abaixo.

<u>EMBRIÕES ESTUDADOS</u>	<u>DIAS DE INCUBAÇÃO</u>	<u>ESTÁGIO DE HAMBURGER & HAMILTON</u>
6	3	20
10	4-5	24-27
4	6	29
4	8	32
4	10	36
8	12	38
8	14	40
10	16	42

Total = 54

Os embriões eram expostos no interior dos ovos por técnica de rotina, estadiados e mortos por decapitação. Suas cabeças eram então prontamente transferidas para a solução fixadora de PANNESE e colaboradores, 1977: formaldeído a 2% obtido de paraformaldeído, glutaraldeído a 2%, tampão cacodilato, 0,1 M e CaCl₂ 25mg%, com pH de 7,2 e osmolaridade de 800 mOSm, na temperatura de 4°C.

As cabeças dos embriões eram imediatamente dissecadas sob lupa, para retirada do encéfalo que era transferido para nova solução fixadora. Após 5 minutos de permanência no fixador esses encéfalos eram dissecados e seus tectos ôpticos isolados e seccionados com lâmina de barbear, de modo a dividí-los em duas porções, correspondentes às metades rostral e caudal do tecto. Somente as porções rostrais foram utilizadas para estudo e permaneceram na solução fixadora, a 4°C, por tempos que variaram de 2 horas a 7 dias.

O processamento subsequente das peças foi:

- Lavagem na solução tampão.
- Refixação em solução de tetróxido de ôsmio a 1%, tamponado, por 1 hora.
- Lavagem na solução tampão.
- Imersão em solução de glicerol a 10 e 20%, durante 15 minutos e 2 horas, respectivamente.

As peças eram então manuseadas delicadamente com o auxílio de pinças de relojoeiro e colocadas em Freon 22 líquido durante 1 minuto e transferidas para nitrogênio líquido. Após permanecerem 2 minutos no nitrogênio as amostras eram colocadas, em repouso, sobre a superfície de uma placa de parafina e, ao voltar à temperatura ambiente, passavam a exibir diversos locais de fratura em suas superfícies. Após cuidadosa orientação, procurou-se isolar, caso existissem, fragmentos fraturados que estivessem situados na região ventro-lateral das peças examinadas. Na ausência de um fragmento

que preenchesse essa condição de localização, toda a peça era desprezada.

O rigor na escolha de amostras para estudo está baseado na existência de um gradiente de diferenciação no interior do tecto óptico, com as regiões rostro-ventro-laterais se desenvolvendo mais rapidamente que as porções caudo-dorso-mediais, chegando a haver uma defasagem de dois dias entre as duas (LAVAIL & COWAN, 1971a,b; CROSSLAND e colaboradores, 1974). Cuidado especial também foi observado na identificação da região rostral do tecto óptico, visto que este, no embrião de "Gallus domesticus", sofre uma rotação de aproximadamente 90° do 7º ao 13º dia de incubação (ROGERS, 1960).

Os fragmentos selecionados eram em seguida desidratados em série crescente de álcoois, secos em aparelho de ponto crítico, montados com orientação adequada em suportes de alumínio e recobertos com uma fina camada de ouro por intermédio de um "sputtering".

Todas as amostras eram examinadas ao microscópio eletrônico de varredura CAMBRIDGE STEREOSCAN 180* com voltagem de operação de 10KV.

Em cada uma das amostras, determinadas áreas da superfície de fratura eram selecionadas e, na maioria,

* Laboratório de Microscopia Eletrônica - Departamento de Física Experimental - Instituto de Física da Universidade de São Paulo.

fotografadas sequencialmente para posterior montagem. No total foram obtidas 420 fotomicrografias.

Com exceção das amostras provenientes de embriões com 3 dias de incubação, os fragmentos examinados pela microscopia de varredura foram posteriormente submetidos ao seguinte processamento (HUMPHREYS e colaboradores, 1975):

- Passagem dupla, de 15 minutos cada, pelo óxido de propileno.
- Infiltração na mistura de óxido de propileno e resina Araldite na proporção de 1:1, sob agitação contínua, à temperatura ambiente, durante 1 hora.
- Resina pura, a 37°C, durante 1 hora.
- Inclusão em Araldite, com orientação adequada dos fragmentos, e permanência em estufa a 60°C por 72 horas.

Os blocos resultantes eram seccionados no ultramicrotomo LKB* e os cortes finos obtidos eram corados pelo Azur II e fotografados no fotomicroscópio Zeiss**, para que pudéssemos estabelecer uma correlação entre os dados obtidos através da microscopia de varredura e aqueles descritos na LITERATURA à microscopia óptica.

* Doado pela FAPESP (Proc. nº 70.1445).

** Doado pela Fundação Humboldt.

IV. RESULTADOS

A descrição do desenvolvimento inicial do tecto óptico do embrião de "Gallus domesticus" está ilustrada pelas figuras 4 a 11, que representam montagens feitas a partir de fotomicrografias sequenciais obtidas com o emprego do M.E.V. no exame de superfícies de fratura de tectos ópticos de embriões com 3, 4 1/2, 6, 8, 10, 12, 14 e 16 dias de incubação.

A montagem fotográfica escolhida é considerada como a mais típica e representativa para cada um dos estágios estudados.

Por convenção, o epitélio neural ou a camada endimária foram sempre colocados na parte superior das montagens, e a descrição das camadas é feita do revestimento ventricular para a superfície pial do tecto.

EMBRIÕES COM 3 DIAS DE INCUBAÇÃO (ESTÁGIO 20 DE H & H) - (Figura 4) - A parede do tecto aparece formada por um conjunto de células que lembram o aspecto de um epitélio pseudo-estratificado. Essas células neuro-epiteliais são bipolares, têm corpo fusiforme e dois processos em direcções opostas. Em algumas amostras estudadas esses prolongamentos puderam ser acompanhados, respectivamente, até as paredes ventricular e pial do tecto. Ocasionalmente, algumas células, com formato arredondado, puderam ser vistas próximas à parede ventricular: o seu número, no entanto, foi mínimo no material estudado.

EMBRIÕES COM 41/2 DIAS DE INCUBAÇÃO (ESTÁGIO

25 DE H & H) - (Figura 5) - Podemos distinguir nitidamente duas regiões neste estágio. A primeira delas é formada pelo epitélio pseudo-estratificado, com células de formato variável, desde arredondadas até fusiformes, apresentando processos longos e sinuosos de diversos diâmetros, com finas expansões laterais e que podem ser acompanhados por distâncias variáveis. Embora as camadas inferiores desse epitélio contenham células pós-mitóticas no seu interior, não foi possível distinguí-las das demais. A segunda região, situada no terço inferior da montagem, apresenta grande quantidade de fibras que assumem uma direção predominantemente radial e tendem a se agrupar, formando verdadeiros feixes que se estendem até a superfície do tecto. Parte dessas fibras foi seccionada durante a preparação do material e aparece interposta entre as fibras radiadas, assumindo uma direção aparentemente transversal em relação a estas últimas. Nos espaços entre os feixes pode-se notar a presença de algumas células com formato alongado, com características típicas de células em fase de migração. Vale a pena ressaltar a morfologia assumida por uma delas (indicada pela seta), com corpo alongado e retorcido, em íntimo contato com um conjunto de fibras radiadas. Os cortes finos desse mesmo material, vistos à microscopia óptica, mostram um aspecto compatível com o observado à M.E.V., demonstrando a presença de grande quantidade de células da zona fibrosa, formando verdadeiros cordões oblíquos.

EMBRIÕES COM 6 DIAS DE INCUBAÇÃO (ESTÁGIO 29 DE H & H) - (Figura 6) - O extremo superior da montagem apresenta um epitélio neural com características semelhantes ao estágio anterior. Logo abaixo nota-se uma camada densamente celular, onde seus elementos apresentam formato sinuoso e alongado, típico de células migratórias. Notam-se, também, vasos no interior dessa camada (um deles aparece na foto, seccionado transversalmente e indicado pela seta). Os 2/3 inferiores da superfície de fratura continuam a exibir grande quantidade de fibras, com células extremamente alongadas (assinaladas pelas setas), interpostas entre os feixes radiais. No extremo inferior da montagem pode-se observar a presença de um aglomerado de células migratórias e que poderia corresponder a um local semelhante àqueles apontados no corte fino deste mesmo material. É evidente a perfeita correlação entre as zonas celular e fibrosa, vistas à microscopia de varredura e as camadas citoarquitetônicas embrionárias I e II de LAVAIL & COWAN (1971b).

EMBRIÕES COM 8 DIAS DE INCUBAÇÃO (ESTÁGIO 34 DE H & H) - (Figura 7) - O epitélio neural apresenta nítida diminuição de espessura, consequência evidente do intenso processo de migração celular ocorrido nos últimos dois dias. Os prolongamentos das células neuro-epiteliais formam uma trama logo abaixo do epitélio neural.

A camada subjacente mostra denso aglomerado de células arredondadas, piriformes e fusiformes com poucas

fibras interpostas, exceção feita aos seus próprios prolongamentos; o corte fino correspondente mostra o mesmo aspecto visto à M.E.V. A região imediatamente abaixo tem características plexiformes, com numerosas células e fibras que assumem orientação predominantemente oblíqua; é grande a quantidade de vasos nesta camada. Sua correlação com a região intermediária do corte examinado à microscopia óptica (MO) é evidente. No terço inferior da superfície de fratura nota-se nítido predomínio de fibras, orientadas ao acaso, com algumas células arredondadas de pequeno tamanho que, ao M.O., dão aspecto característico a esta zona. Ressalte-se a presença, no extremo inferior da montagem, de grande número de fibras seccionadas perpendicularmente ao plano de fratura e que corresponderiam às fibras retinianas do SO em desenvolvimento.

EMBRIÕES COM 10 DIAS DE INCUBAÇÃO (ESTÁGIO 36 DE H & H) - (Figura 8)

A parede ventricular encontra-se revestida por células que tendem a assumir, em conjunto, aspecto colunar. Nesta fase torna-se difícil distinguir o epitélio neural pseudo-estratificado do revestimento endimário colunar simples. Logo abaixo na ilustração encontra-se uma região com algumas células arredondadas e fusiformes, cercadas por um conjunto de finas fibras dispostas de maneira predominantemente radiada, e que corresponderiam às camadas citoarquitetônicas I e II. A seguir são evidentes uma zona fibrosa, com grande quantidade de prolongamentos perpendiculares ao plano de fratura e raras células no seu interior (camada III). Adjacente a essa região vê-se uma zona fibro-

-celular com algumas células arredondadas e fibras de disposição radiada (camada IV). Abaixo nota-se uma lâmina bem caracterizada, formada por grande quantidade de células fusiformes, densamente grupadas, radialmente orientadas e que lembram células em fase de migração; pequena quantidade de fibras, com exceção de seus próprios prolongamentos interpõe-se entre elas. Subjacente, vê-se uma nova zona fibrosa (camada VII), com fibras de direção radial e algumas células que podem ser notadas na montagem pelos espaços deixados por elas quando da preparação da superfície de fratura. Mais abaixo observa-se uma nova camada de células fusiformes, com orientação radial, justapostas e, que também podem ser correlacionadas com células migratórias (camada VIII). As duas camadas finais podem ser distinguidas uma da outra pela presença, na penúltima delas (camada IX), de fibras de orientação radial e algumas células arredondadas interpostas, enquanto que na camada mais próxima ao revestimento pial encontram-se fibras extremamente finas e dispostas perpendicularmente ao plano de fratura, correspondendo às fibras retinianas do SO (camada X).

A partir do 12º dia de incubação, quando praticamente todas as camadas descritas no animal adulto se encontram presentes e não há células em fase de migração no interior do tecto, os resultados obtidos com o M.E.V. se mostraram surpreendentemente uniformes e independentes da idade dos embriões estudados. O fato parece ter sua explicação nas

características de formação da face de fratura para análise, visto que o plano de clivagem em todas as amostras estudadas seguiu preferencialmente o plano das fibras e vasos tectais, evidenciando uma escassez de células nas fotomicrografias.

EMBRIÕES COM 12 DIAS DE INCUBAÇÃO (ESTÁGIO 38

DE H & H) - (Figura 9) - O revestimento ventricular assume as características definitivas de um epitélio ependimário, com células cilíndricas apresentando grande quantidade de microvilos voltados para a luz ventricular e prolongamentos basais que, com o uso do método de Golgi, são vistos atravessando toda a extensão do tecto e se fixando à superfície sub-pial. O restante da superfície de fratura apresenta características semelhantes em toda a sua extensão, com a presença de uma rede fibrosa, com nítida orientação radial, e algumas células interpostas, geralmente arredondadas e de pequeno tamanho. Não se distinguem mais, nesta fase, as camadas formadas por aglomerados de células fusiformes, indicação segura de ausência de migração neuronal. No extremo pial da montagem pode-se observar grande quantidade de fibras de pequeno diâmetro, seccionadas perpendicularmente, e que representam as fibras retinianas do SO, aqui bem desenvolvido.

EMBRIÕES COM 14 DIAS DE INCUBAÇÃO (ESTÁGIO 40

DE H & H) - (Figura 10) - O revestimento ependimário mostra células com as características descritas no estágio anterior. A camada plexiforme subjacente mostra uma rede fibrosa, sem orientação preferencial, com pequena quantidade de células

e alguns vasos fraturados transversalmente. Nos terços médio e inferior da montagem é nítida a orientação radiada das fibras, com um aumento considerável do número de células de diferentes tamanhos. Algumas apresentam evidente prolongamento que, pelas suas características, parecem constituir um axônio; processos dendríticos não puderam ser observados. Destaca-se, aqui, a grande quantidade de vasos expostos, alguns podendo ser seguidos por longos trajetos, sugerindo preferência da linha de fratura em seguir o trajeto dos mesmos. Na metade inferior da figura podendo-se observar a presença de longo "canal", possivelmente formado pelo arrancamento de um vaso de considerável dimensão e que deixou exposta, no seu fundo, grande quantidade de células arredondadas de pequeno tamanho, indicando riqueza celular nessa região, mascarada pela quantidade de fibras presentes.

EMBRIÕES COM 16 DIAS DE INCUBAÇÃO (ESTÁGIO 42 DE H & H) - (Figura 11) - Ainda é nítido o predomínio de material fibroso visto nas preparações anteriores. O revestimento endimário, com suas células formando um epitélio colunar simples, mostra grande quantidade de microvilos voltados para o ventrículo tectal. Na preparação usada como ilustração desta fase observa-se um grupo de células endimárias que foram destacadas de sua posição normal e que mostram evidentemente a presença de finos prolongamentos em seus polos basais. Logo abaixo na ilustração distingue-se uma zona formada por grossas fibras compactamente dispostas e orientadas paralelamente ao plano da fotomicrografia. Sem dúvida

alguma, essas fibras constituem o SAC, principal camada de fibras eferentes do tecto óptico. Em seguida vê-se uma camada plexiforme, com fibras orientadas em várias direções e células de vários tamanhos, destacando-se entre elas uma grande célula fraturada ao meio e que corresponderia a um dos neurônios do SGC. Na transição entre o terço médio e inferior da amostra pode-se observar grande quantidade de células piriformes, densamente grupadas, algumas delas mostrando numerosos prolongamentos; destes, destaca-se o prolongamento axônio, caracterizado pelo seu comprimento e origem na extremidade afilada da célula. Essa camada poderia corresponder, pelas suas características, à lâmina f do SGFS, nitidamente distinguível nos cortes examinados à microscopia óptica. O restante da preparação volta a apresentar aspecto fibroso, com uma rede não preferencial de finos prolongamentos e algumas células arredondadas, de pequeno tamanho, interpostas. Ressalte-se a presença de numerosas fibras na extremidade inferior da montagem e que, sem dúvida alguma, correspondem ao SO, completamente desenvolvido e apresentando sua espessura máxima nesta idade.

V. DISCUSSÃO

As observações e descrições feitas neste trabalho parecem ser inéditas, visto que não encontramos na literatura compulsada nenhuma referência de qualquer autor que tenha feito o estudo da diferenciação do tecto óptico, em qualquer espécie, com o microscópio eletrônico de varredura.

Nossos achados no tecto óptico do embrião de "Gallus domesticus", em sua fase inicial de desenvolvimento, estão de acordo com observações descritas por outros autores em diferentes regiões do sistema nervoso central embrionário.

Nossas observações ao M.E.V. dos fragmentos de vesículas mesencefálicas (futuros tectos ópticos) de embriões de "Gallus domesticus" com 3 dias de incubação são semelhantes às aquelas documentadas pelas fotomicrografias de varredura de: SEYMOUR e colaboradores (1972, 1975) na vesícula telencefálica de embriões de ratos com 12 a 13 dias de gestação; MELLER & TETZLAFF (1976) no primórdio da retina de embriões de galinha com 3-4 dias de incubação; REVEL & BROWN (1976) nas paredes do canal e tubo neurais de embriões de galinha com 20-33 horas de incubação; WATERMAN & McCARTY (1977) na vesícula telencefálica de embriões do peixe teleósteo "Brachirradia rerio"; SOLURSH & REVEL (1978) nas paredes do canal neural de embriões de galinha com 26-29 horas de incubação e de rato com 9 dias de gestação; IKUTA e colaboradores (1979) no

tubo neural de embriões de galinha com 3 dias de incubação; SUBURO e colaboradores (1979) na retina de embriões de galinha com 52 horas a 3¹/₂ dias de incubação.

É conhecido desde os trabalhos pioneiros de SAUER (1935) a microscopia óptica e de FUJITA & FUJITA (1963) a microscopia eletrônica de transmissão, que o aspecto pseudo-estratificado do epitélio neural corresponde à presença de células em diferentes fases do ciclo celular. Assim, durante a fase S do ciclo, os núcleos dessas células estariam mais próximos à superfície pial, adquirindo a célula formato piriforme e possuindo um prolongamento que se estenderia até a superfície ventricular; na fase G2 a célula assumiria um formato bipolar, com seu núcleo ocupando posições intermediárias entre os dois extremos do epitélio, e apresentando dois prolongamentos que se prenderiam, respectivamente, às superfícies pial e ventricular. A medida que o núcleo se aproximasse da superfície ventricular haveria uma retração gradual do processo externo e a célula tomaria um formato arredondado e entraria na fase M do ciclo celular dando origem a duas células filhas que manteriam seus contactos com a superfície ventricular. Uma vez na fase G1 as células refariam seus prolongamentos externos, readquirindo o formato bipolar e seus núcleos migrariam, então, em direção à superfície pial. Este movimento nuclear alternado foi denominado de "movimento nuclear intercinético" (ver as revisões de LANGMAN, 1968; JACOBSON, 1978 e LUND, 1978). Todas essas fases do ciclo celular foram demonstradas ao microscópio eletrônico de varredura por SEYMOUR & BARRY (1975) na vesícula telencefálica do rato.

Em embriões com 4¹/₂ dias de incubação pudemos observar a presença de uma zona fibrilar abaixo do epitélio neural contendo alguns corpos celulares. A presença dessas células, seguramente pós-mitóticas, está de acordo com os achados radioautográficos de LAVAIL & COWAN (1971b) que descrevem a presença de células não marcadas nesta fase. O aspecto alongado e sinuoso de algumas dessas células e a íntima associação das mesmas com as fibras radiadas poderia sugerir um mecanismo de suporte para suas migrações, talvez semelhante às interações neurônio-glia descritas no desenvolvimento dos cortex cerebral e cerebelar (RAKIČ, 1971, 1972) e da retina (MELLER & TETZLAFF, 1976). No entanto, a resolução alcançada pela microscopia eletrônica de varredura não permite análise segura da hipótese.

O pronunciado desenvolvimento apresentado pelo tecto óptico entre o 6º e 8º dias de incubação, assim como a evidente diminuição do epitélio neural, estão de acordo com os dados de LAVAIL & COWAN (1971b) que apontam atividade migratória máxima nesse período.

O exame das superfícies de fratura obtidas de tectos ópticos de embriões com 10 dias de incubação mostrou a presença de algumas zonas que podem, com alguma segurança, corresponder a determinadas camadas citoarquitetônicas do tecto adulto. Assim o conjunto de células e fibras presentes logo abaixo da camada endimária corresponderiam ao SFP e SGP embora uma separação entre os dois estratos não possa

ser feita. A região com fibras de direção perpendicular ao plano de fratura formaria o SAC e a camada ceular subjacente seria o futuro SCG. O restante da superfície corresponderia ao SGFS, não sendo possível distinguir as suas diferentes lâminas ao M.E.V. O denso aglomerado de células fusiformes e radiadas presente nesta última região poderia representar grupos de células em fase migratória, o que está de acordo com os dados de LAVAIL & COWAN (1971b) que indicam formação tardia de algumas lâminas do SGFS.

Exceto por algumas camadas (camada ependimária, SAC, SGC e SO) a divisão citoarquitetônica do tecto óptico se mostrou praticamente impossível em embriões com idade superior a 10 dias de incubação. Apesar do grande número de amostras estudadas, sempre foi observado que a superfície de fratura caminhava seguindo o trajeto de grupamento de fibras ou de vasos, levando a um obscurecimento das células que, por ventura, estivessem presentes em determinadas camadas. Sem dúvida, o modo de obtenção das superfícies para estudo do M.E.V. é de grande importância e diversos métodos têm sido propostos: HAGGIS (1970) sugere o congelamento do material, após fixação, com Freon 22 e fratura imediata através de golpe de uma lâmina de metal mantida à temperatura de -170°C (com N_2 líquido). O emprego desse método, embora fornecesse resultados comparáveis aos obtidos em nosso estudo, apresentou o inconveniente de não permitir a identificação dos locais de origem dos fragmentos resultantes.

LEWIS (1971) propõe métodos de dissecação mecânica e química para obtenção de superfície interna de tecido nervoso para estudo ao M.E.V. O emprego de tais métodos em nosso material levou a resultados precários, com o aparecimento de grande número de artefatos.

ESTABLE-PUIG & ESTABLE-PUIG (1975) sugerem o método de formação de cistos cerebrais para o estudo da arquitetura do sistema nervoso ao M.E.V. Consiste na produção de lesões criogênicas focais no cérebro de ratos através de aplicações focais, extracranianas, de placas metálicas a baixa temperatura; após um tempo de espera ($\pm$ 1 mês), os animais são sacrificados e a superfície das paredes do cisto são examinadas. Obviamente, tal método é impraticável em nossa atual investigação.

FLOOD (1975) propõe o uso de pedaços de fita adesiva que, quando colocadas em contato com a superfície lisa de um material previamente processado pelo ponto crítico, levariam ao arrancamento de algumas células com exposição do material subjacente. As pequenas dimensões dos fragmentos de tecto óptico utilizados impossibilitaram o uso desse método em nosso estudo.

CARRI & SUBURO (1979) descrevem um método baseado na obtenção de cortes de congelação e posterior fixação dos mesmos em telas de cobre cobertas com uma camada de gelatina. Ressaltam a vantagem da técnica para obtenção de

superfícies orientadas. Em nosso material a técnica proposta se mostrou viável, embora extremamente trabalhoso, quando usado em embriões com idade não superior a 8 dias de incubação.

Embora CARRI & SUBURO afirmem que os estudos de varredura em espécimes biológicos apenas requerem o preparo de superfícies com ótima preservação da morfologia das células e tecidos, LEWIS faz uma análise mais crítica do problema. Salienta que, com exceção de certos neurônios receptores e algumas células receptoras não neuronais, a maioria das células existentes no sistema nervoso se encontra no interior de uma estrutura tridimensional e densa, constituída por neurônios, células de suporte e uma matriz intersticial, envolvidos por uma matriz de tecido conjuntivo. Geralmente, para se poder observar a arquitetura ou a organização topográfica de neurônios, deve-se remover esse recobrimento, a glia e a matrix intersticial e assim expor a superfície própria dos neurônios. Este constitui, segundo LEWIS, o maior e aparentemente o mais simples problema da microscopia de varredura do sistema nervoso.

Finalmente, WATERMAN (1979) preconiza que a maneira ideal de se conseguir superfícies para exame à microscopia de varredura seria a possibilidade de dissecação dos espécimes dentro da coluna de vácuo do M.E.V. por intermédio de micromanipuladores.

Compreende-se, portanto, o fato de a análise do sistema nervoso embrionário pela microscopia de varredura ainda ter que se restringir à investigação de sistemas relativamente simples, como os encontrados nas fases iniciais do desenvolvimento.

VI. CONCLUSÕES

O estudo do desenvolvimento do tecto óptico de embriões de "*Gallus domesticus*", do 3º ao 16º dias de incubação, através do M.E.V., permite as seguintes conclusões:

1. O primórdio do tecto óptico em embriões de "*Gallus domesticus*", com 3 dias de incubação, apresenta um epitélio neural pseudo-estratificado com características semelhantes às descritas, através do M.E.V., em outros locais do sistema nervoso em desenvolvimento.

2. Até o 10º dia de incubação é possível correlacionar, em embriões de "*Gallus domesticus*", os dados fornecidos pela microscopia eletrônica de varredura com aqueles obtidos pela microscopia óptica comum.

3. O estudo da diferenciação citoarquitetônica do tecto óptico, com o emprego da M.E.V. é factível em embriões de "*Gallus domesticus*" com idade não superior a 10 dias de incubação, desde que utilizadas técnicas adequadas de preparação de superfícies.

4. Com a metodologia adotada no presente trabalho observou-se que o aumento de complexidade na organização do tecto óptico conduzia à obtenção de superfícies de fratura com predomínio de material fibroso e ou vascular.

5. A análise da organização das células e fibras das diferentes camadas do tecto óptico de embriões de "Gallus domesticus" com mais de 10 dias de incubação requer o desenvolvimento de novas técnicas, adequadas para a obtenção de convenientes superfícies de estudo.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAGNOLI, P. et al. - Visual Wulst influences on the optic tectum of the pigeon. Brain, Behav.Evol., 14:217-237, 1977.
2. BAGNOLI, P. et al. - Interaction of optic tract and visual Wulst impulses on single units of the pigeon's optic tectum. Brain, Behav. Evol., 16:19-37, 1979.
3. BAGNOLI, P. et al. - A direct connection between visual Wulst and tectum opticum in the pigeon (*Columba livia*) demonstrated by HRP. Arch.Ital.Biol., 118:72-88, 1980.
4. BANCROFT, M. & BELLAIRS, R. - Differentiation of the neural plate and neural tube in the young chick embryo. Anat. Embryol., 147:309-335, 1975.
5. BANCROFT, M. & BELLAIRS, R. - Placodes of the chick embryo studied by SEM. Anat. Embryol., 151:97-108, 1977.
6. BELLONCI, J. - Über die centrale Endigung des Nervus opticus bei den Vertebraten. Z. wiss. Zool., 47:1-46, 1888.
7. BENOWITZ, L.I. & KARTEN, H.J. - Organization of the tectofugal visual pathway in the pigeon. A retrograde transport study. J. comp. Neurol., 167:503-520, 1976.
8. BRITTO, L.R.G. - Hyperstriatal projections to primary visual relays in pigeons: eletrophysiological studies. Brain Res., 153:382-386, 1978.

9. BRITTO, L.R.G. et al. - Visual response pattern of thalamic neurons in the pigeon. Brain Res., 97:337-343, 1975 .
10. CAJAL, S. RAMÓN y - Sur la fine structure du lobe optique des oiseaux et sur l'origine réelle des nerfs optiques. Int. Mschr. Anat. Physiol., 8:337-386, 1891.
11. CANTINO, D. & SISTO-DANEO , L. - Cell death in the developing chick optic tectum. Brain Res., 38:13-25, 1972.
12. CANTINO, D. & SISTO-DANEO, L. - Synaptic junctions in the developing chick optic tectum. Experientia, 29:85-86, 1973.
13. CARRI, N. & SUBURO, A. - Scanning electron microscopy of frozen sections: a method for studying selected planes in small specimens. Anat. Rec., 193:857-862, 1979.
14. CASTEJÓN, O.J. & CARABALLO, A.J. - Light and scanning electron microscopic study of cerebellar cortex of teleost fishes. Cell Tiss. Res., 207:211-226, 1980.
15. CHAMBERLAIN, J.G. - Scanning electron microscopy of subependymal neuroblasts as seen in fracture faces of normal and abnormal fetal rat brains. In: SCANNING ELECTRON MICROSCOPY/1978/II, AMF O'Hare(Ed.), Illinois, p.235-240.
16. COWAN, W.M. - Studies on the development of the avian visual system. In:CELLULAR ASPECTS OF NEURAL GROWTH & DIFFERENTIATION, UCLA Forum in Medical Sciences, D.C. Pease (Ed.), Univ.California Press, Berkeley, 1971, p.177-222

17. COWAN, W.M. et al. - An experimental study of the avian visual system. J. Anat. (Lond.), 95:545-562, 1961.
18. COWAN, W.M. et al. - Mitotic patterns in the optic tectum of the chick during normal development and after early removal of the optic vesicle. J.exp.Zool.,169:71-92,1968.
19. CRAGG, B.G. et al. - The optic tectum of Gallus domesticus: A correlation of the eletrical responses with the histological structure. J.Anat.(Lond.), 88:292-306, 1954.
20. CROSSLAND, W.J. et al. - Studies on the development of the chick optic tectum. IV. An autoradiographic study of the development of retino-tectal connections. Brain Res., 91:1-23, 1975.
21. DAVIDORF, F.H. & SHARPNACK,D.D. - Surface ultrastructure of the human retina. In: SCANNING ELECTRON MICROSCOPY/ 1977/II, AMF O'Hare (Ed.), Illinois, p.459-466.
22. DELONG, G.R. & COULOMBRE, A.J. - Development of the retinotectal topographic projection in the chick embryo. Exp. Neurol., 13:351-363, 1965.
23. DELONG, G.R. & COULOMBRE, A.J. - The specificity of retinotectal connections studied by retinal grafts onto the optic tectum in chick embryos. Develop. Biol., 16:513-531, 1967.
24. DOMESICK, V.B. & MOREST, D.K. - Migration and differentiation of ganglion cells in the optic tectum of the chick embryo. Neuroscience, 2:459-475, 1977a.

25. DOMESICK, V.B. & MOREST, D.K. - Migration and differentiation of shepherd's crook cells in the optic tectum of the chick embryo. Neuroscience, 2:477-491, 1977b.
26. ENGLAND, M. & COWPER, S.V. - A transmission and scanning electron microscope study of primary neural induction. Experientia, 32:1578-1580, 1976.
27. ESTABLE-PUIG, R.F. & ESTABLE-PUIG, J.F. - Brain cyst formation: a technique for SEM study of the central nervous system. In: SCANNING ELECTRON MICROSCOPY/1975, AMF O'Hare (Ed.), Illinois, p.281-286.
28. FILOGAMO, G. - Conseguenze della demolizione dell'abbozzo dell'occhio sullo sviluppo del lobo ottico nell'embrione di pollo. Riv. Biol., 42:73-79, 1950.
29. FLOOD, P.R. - Dry-fracturing techniques for the study of soft internal biological tissues in the scanning electron microscope. In: SCANNING ELECTRON MICROSCOPY/1975, AMF O'Hare (Ed.), Illinois, p.287-294.
30. FUJITA, S. - Analysis of neuron differentiation in the central nervous system by tritiated thymidine autoradiography. J. comp. Neurol., 122:311-328, 1964.
31. FUJITA, H. & FUJITA, S. - Electron microscopic studies on neuroblast differentiation in the central nervous system of domestic fowl. Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat. 60:463-478, 1963.

32. GALBAVY, E.S.J. & OLSON, M.D. - Morphogenesis of rod cells in the retina of the albino rat: a scanning electron microscopic study. Anat. Rec., 195:707-718, 1979.
33. GOLDBERG, S. - Studies on the mechanics of development of the visual pathways in the chick embryo. Develop. Biol., 36:24-43, 1974.
34. GRAY, E.G. & HAMLYN, L.H. - Electron microscopy of experimental degeneration in the avian optic tectum. J. Anat. (Lond.), 96:309-316, 1962.
35. HAGGIS, G.H. - Cryofracture of biological material. In: SCANNING ELECTRON MICROSCOPY/1970, AMF O'Hare (Ed.), Illinois, p.97-104.
36. HAMBURGER, V. & HAMILTON, H.L. - A series of normal stages in the development of the chick embryo. J. Morph., 88:49-92, 1951.
37. HAMDI, F.A. & WHITTERIDGE, D. - The representation of the retina on the optic tectum of the pigeon. Q. J. exp. Physiol., 39:111-119, 1954.
38. HAYES, B.P. & WEBSTER, K.E. - An electron microscopic study of the retinoreceptive layers of the pigeon optic tectum. J. comp. Neurol., 162:447-466, 1979.
39. HODOS, W. - Color discrimination deficits after lesions of the nucleus rotundus in the pigeon. Brain, Behav. Evol., 2:185-200, 1969.

40. HODOS, W. - Vision and the visual system. A bird's eye view.
Progress Psychobiol. and Physiol. Psychol., 6:29-62, 1976.
41. HODOS, W. & BONBRICHT, J.C.Jr. - Intensity difference thresholds in pigeon after lesions of the tectofugal and thalamofugal visual pathways. J. comp. physiol. Psychol., 87:1013-1031, 1974.
42. HODOS, W. & KARTEN, H.J. - Brightness and pattern discrimination deficits in the pigeon after lesion of nucleus rotundus. Exp. Brain Res., 2:151-167, 1966.
43. HODOS, W. & KARTEN, H.J. - Visual intensity and pattern discrimination deficits after lesions of ectostriatum in pigeons. J. comp. Neurol., 140:53-68, 1970.
44. HODOS, W. & KARTEN, H.J. - Visual intensity and pattern discrimination deficits after lesion of the lobe optic in pigeons. Brain, Behav. Evol., 9:165-194, 1974.
45. HODOS, W. et al. - Visual intensity and pattern discrimination after lesions of the thalamofugal visual pathway in pigeons. J. comp. Neurol., 148:447-468, 1973.
46. HOLDEN, A.L. - The field potential profile during activation of the avian optic tectum. J. Physiol., (Lond.), 194:75-90, 1968a.
47. HOLDEN, A.L. - Types of unitary response and correlation with the field potential during activation of the avian optic tectum. J. Physiol. (Lond.), 194:91-104, 1968b.

48. HUBER, G.C. & CROSBY, E.C. - A phylogenetic consideration of the optic tectum. Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.), 19:15-22, 1933.
49. HUMPHREYS, W.J. et al. - Transmission electron microscopy by ethanol-cryofracturing. Stain Technol., 50:119-125, 1975.
50. HUNT, S.P. & KUNZLE, H. - Observations on the projections and intrinsic organization of the pigeon optic tectum. An autoradiographic study based on anterograde and retrograde, axonal and dendritic flow. J.comp.Neurol., 170:153-172, 1976a.
51. HUNT, S.P. & KUNZLE, H. - Selective uptake and transport of label within three identified neuronal systems after injection of H³-GABA into the pigeon optic tectum: an autoradiographic and Golgi study. J. comp. Neurol., 170:173-190, 1976b.
52. IKUTA, F. et al. - Morphology of migrating glial cells in normal development, neoplasia and other disorders. In: PROGRESS IN NEUROPATHOLOGY, vol.4, H.M.Zimmerman (Ed.), Raven Press, New York, 1979, p.377-405.
53. JACOB, H.J. et al. - Scanning electron microscope (SEM) studies on the epiblast of young chick embryos. Z. Anat. Entwickl.-Gesch., 143:205-214, 1974.
54. JACOBSON, M. - DEVELOPMENTAL NEUROBIOLOGY, Plenum Press, New York, 1978.

55. JARVIS, C.B. - Visual discrimination and spatial localization deficits after lesions of the tectofugal visual pathway in pigeons. Brain, Behav. Evol., 9:197-232, 1974.
56. JASSIK-GERSCHENFELD, D. et al. - Receptive field properties of directionally selective units in the pigeon's optic tectum. Brain Res., 24:407-421, 1970.
57. JASSIK-GERSCHENFELD, D. & GUICHARD, J. - Visual receptive fields of single cells in the pigeon's optic tectum. Brain Res., 40:303-317, 1972.
58. JUNGHERR, E. - Certain nuclear groups of the avian mesencephalon. J. comp. Neurol., 82:55-75, 1945.
59. KARTEN, H.J. - Projections of the optic tectum in the pigeon (*Columba livia*). Anat. Rec., 151:369, 1965.
60. KARTEN, H.J. et al. - Neural connections of the "visual Wulst" of the avian telencephalon. Experimental studies in the pigeon (*Columba livia*) and owl (*Speoty cunicularia*). J. comp. Neurol., 150:253-278, 1973.
61. KELLY, J.P. & COWAN, W.M. - Studies on the development of the chick optic tectum. III. Effects of early eye removal. Brain Res., 42:263, 288, 1972.
62. KÖLLIKER, A. von - HANDBUCH DER GEWEBELEHRE DES MENSCHEN, v.II, Engelmann, Leipzig, 1896, p.413-422.

63. LANGMAN, J. - Histogenesis of the central nervous system.
In: THE STRUCTURE AND FUNCTION OF NERVOUS TISSUE, v.1,
G.H.Bourne (Ed.), Academic Press, New York, 1968, p.33-66.
64. LAVAIL, J.H. & COWAN, W.M. - The development of the chick
optic tectum. I. Normal morphology and cytoarchitec-
tonic development. Brain Res., 28:391-419, 1971a.
65. LAVAIL, J.H. & COWAN, W.M. - The development of the chick
optic tectum. II. Autoradiographic studies. Brain Res.,
28:421-441, 1971b.
66. LEGHISSA, S. - Il differenziamento ontogenetico ed istoge-
netico del tetto ottico nell'embrione de pollo. Arch.
Sci. Biol. (Bologna), 12:601-628, 1957.
67. LEGHISSA, S. - Sviluppo e struttura del tetto ottico nel
pollo. Z. Anat. Entwickl.-Gesch., 120:247-273, 1958.
68. LEGHISSA, S. - Studio sperimentale sul differenziamento
dei neuroni del tetto ottico di Gallus. I. Esperienze
di asportazione della vesicola ottica. Atti Accad. Sci.
(Bologna), 6:57-75, 1959.
69. LEWIS, E.R. - Studying neuronal architecture and organi-
zation with SEM. In: SCANNING ELECTRON MICROSCOPY/
1971, AMF O'Hare (Ed.), Illinois, p.281-290.
70. LUND, R.D. - DEVELOPMENT AND PLASTICITY OF THE BRAIN.
Oxford University Press, New York, 1978.
71. MCGILL, J.I. et al. - The retinal representation upon the
optic tectum and isthmo-optic nucleus in the pigeon.
J. Anat. (Lond.), 100:5-33, 1966.

72. MELLER, K. & TETZLAFF - Scanning electron microscopic studies on the development of the chick retina. Cell Tiss. Res., 170:145-159, 1976.
73. MITCHELL, J.A. - Scanning electron microscopy of brain ventricular surfaces: a bibliography. In: SCANNING ELECTRON MICROSCOPY/1980/III, AMF O'Hare (Ed.), Illinois, p.474-484.
74. NAUTA, W.J.H. & KARTEN, H.J. - A general profile of the vertebrate brain with sidelights on the ancestry of cerebral cortex. In: THE NEUROSCIENCE, 2ND STUDY PROGRAM, F.O.Schmitt (Ed.), Rockefeller Univ.Press, New York, 1970, p.7-26.
75. OHTSUKI, K. - Scanning electron microscopic studies on rabbit's spinal cord by resin cracking method. Arch. histol. Jap., 34:405-415, 1972.
76. OLSON, M.D. - The development of photoreceptor inner and outer segments in the retina of the chick as observed by scanning electron microscopy. In: SCANNING ELECTRON MICROSCOPY/1977/II, AMF O'Hare (Ed.), Illinois, p.453-458.
77. OLSON, M.D. - Scanning electron microscopy of developing photoreceptors in the chick retina. Anat. Rec., 193: 423-438, 1979.
78. PANNESE, E. et al. - Intercellular junctions and other membrane specializations in developing spinal ganglia: a freeze-fracture study. J. Ultrast. Res., 60:169-180, 1977.

79. PASTERNAK, T. - Delayed matching performance after visual Wulst lesions in pigeons. J. comp. physiol. Psychol., 91:472-484, 1977.
80. PASTERNAK, T. & HODOS, W. - Intensity difference threshold after lesions of the visual Wulst in pigeons. J. comp. physiol. Psychol., 91:485-497, 1977.
81. PETERS, J.J. et al. - Electrical studies of functional development of the eye and optic lobes in the chick embryo. J. exp. Zool., 139:459-468, 1958.
82. PORTCH, P.A. & BARSON, A.J. - Scanning electron microscopy of neurulation in the chick. J. Anat., 117:341-350, 1974.
83. PUELLES, L. & BENDALA, M.C. - Differentiation of neuroblasts in the chick optic tectum up to eight days of incubation: A Golgi study. Neuroscience, 3:307-325, 1978.
84. RAGER, G. - Morphogenesis and physiogenesis of the retino-tectal connection in the chicken. I. The retinal ganglion cells and their axons. Proc. R. Soc. Lond. B, 192:331-352, 1976a.
85. RAGER, G. - Morphogenesis and physiogenesis of the retino-tectal connection in the chicken. II. The retino-tectal synapses. Proc. R. Soc. Lond. B, 192:353-370, 1976b.
86. RAGER, G. - Development of the retinotectal projection in the chicken. Adv. Anat. Embryol. Cell Biol, 63:1-92, 1980.

87. RAGER, G. & OEYNHAUSEN, B. von - Ingrowth and ramification of retinal fibers in the developing optic tectum of the chick embryo. Exp. Brain Res., 35:213-227, 1979.
88. RAKIČ, P. - Neuron-glia relationship during granule cell migration in developing cerebellar cortex. A Golgi and electron micrographic study in *Macacus rhesus*. J.comp. Neurol, 141:283-312, 1971.
89. RAKIČ, P. - Mode of cell migration to the superficial layers of fetal monkey neocortex. J. comp. Neurol., 145:61-84, 1972.
90. REPÉRANT, J. & ANGAUT, P. - The retinotectal projections in the pigeon. An experimental optical and electron microscope study. Neuroscience, 2:119-140, 1977.
91. REVEL, J.P. & BROWN, S.S. - Cell junctions in the development, with particular reference to the neural tube. Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol, 15:443-455, 1976.
92. REVZIN, A.M. - Some characteristics of wide field units in the brain of the pigeon. Brain, Behav. Evol., 3: 195-204, 1970.
93. RIS, F. - Sulla fina struttura del lobulo optico degli ucelli. Arch. Mikr. Anat., 53:106-130, 1899.
94. ROGERS, K.T. - Studies on chick brains of biochemical differentiation related to morphological differentiation and onset of function. I. Morphological development. J. exp. Zool, 144:77-87, 1960.

95. SAUER, F.C. - The cellular structure of the neural tube.
J. comp. Neurol., 63:13-23, 1935.
96. SCHOENWOLF, G.C. - An SEM study of posterior spinal cord development in the chick embryo. In: SCANNING ELECTRON MICROSCOPY/1978/II, AMF O'Hare(Ed.), Illinois, p.739-746.
97. SHONBACH, J. & CUENOD, M. - Axoplasmic migration of protein: a light microscopic autoradiographic study in the avian retinotectal pathway. Exp. Brain Res., 12: 275-282, 1971.
98. SCHULGIN, M.A. - Lobi optici der Vögel. Zool. Anz., 10: 303-308, 1881.
99. SEYMOUR, R.M. & BERRY, M. - Scanning and transmission electron microscope studies of interkinetic nuclear migration in the cerebral vesicle of the rat. J. comp. Neurol, 160:105-126, 1975.
100. SEYMOUR, R.M. et al. - Scanning and transmission electron microscope studies on the neuroectoderm of the telencephalic vesicle. J. Anat., 111:508, 1972.
101. SHAHAR, A. et al. - Scanning electron microscopy of cultured neurons from dissociated dorsal root ganglia (DRG). In: SCANNING ELECTRON MICROSCOPY/1977/II, AMF O'Hare (Ed.), Illinois, p.395-400.
102. SIEW, S. - Scanning electron microscopy of the human spinal cord and dorsal root ganglia. In: SCANNING ELECTRON MICROSCOPY/1979/III, AMF O'Hare(Ed.), Illinois, p.421-430.

103. SILVER, M.H. & KERNS, J.M. - Ultrastructure of neural fold fusion in chick embryos. In: SCANNING ELECTRON MICROSCOPY/1978/II, AMF O'Hare (Ed.), Illinois, p.209-216.
104. SOLURSH, M. & REVEL, J.P. - A scanning electron microscope study of cell shape and cell appendages in the primitive streak region of rat and chick embryo. Differentiation, 11:185-190, 1978.
105. STIEDA, L. - Studien über das Zentrale Nervensystem der Vögel und Säugetiere. Z. wiss. Zool., 19:1-94, 1869.
106. STONE, J. & FREEMAN, J.A. - Synaptic organization of the pigeon's optic tectum: a Golgi and current source-density analysis. Brain Res., 27:203-221, 1971.
107. SUBURO, A. et al. - The environment of axonal migration in the developing chick retina: a scanning electron microscopic (SEM) study. J. comp. Neurol., 184: 519-536, 1979.
108. TELLO, F. - Les différenciations neuronales dans l'embryon du poulet, pendant les premiers jours de l'incubation. Trav. Lab. Invest. Biol. Univ. Madrid, 21:1-93, 1923.
109. VAN GEHUCHTEN, A. - La structure des lobes optiques chez l'embryon de poulet. La Cellule, 8:1-46, 1892.
110. WATERMAN, R.E. - Topographical changes along the neural fold associated with neurulation in the hamster and mouse. Am. J. Anat., 146:151-172, 1976.

111. WATERMAN, R.E. - Scanning electron microscope studies of central nervous system development. In: BIRTH DEFECTS: ORIGINAL ARTICLE SERIES, v.XV, n°3. The National Foundation, 1979, p.55-77.
112. WATERMAN, R.E. & McCARTY, T.A. - SEM observations of the developing teleost central nervous system. In: SCANNING ELECTRON MICROSCOPY/1977/II, AMF O'Hare (Ed.), Illinois, p.387-394.
113. WHITEHEAD, M.C. - Growth of dendrites in the optic tectum of the chick embryo following destruction of the eye primordium. Neuroscience, 4:379-390, 1979.

VIII. ILUSTRAÇÕES

Obs.- As ilustrações deste trabalho foram feitas a partir de ampliações dos negativos originais. Para sua execução foram empregados um ampliador Leitz FOCOMAT IIC e uma secadeira rotativa LAT, ambos doados pelo CNPq (processo nº 2222.1649/78).

ABREVIATURAS

BCC	- Brachium colliculi cranialis	PTe	- Praetectum
CT	- Commissura tectalis	PV	- N.posteroventralis thalami
CTz	- Corpus trapezoideum	R	- Retina
DLL	- N.dorso lateralis anterior thalami, pars lateralis	RPO	- N.reticularis pontis oralis
DLP	- N.dorso lateralis posterior thalami	RE	- N.rotundus
DP	- Area praetectalis, pars dorsalis	SAC	- Stratum album centrale
DSV	- Decussatio supraoptica ventralis	SCE	- Stratum cellulare externum
EP	- Ependima	SFP	- Stratum fibrosum perimentriculare
FP	- Fasciculus praedorsalis	SGC	- Stratum griseum centrale
FRL	- Formatio reticularis lateralis mesencephali	SGFS	- Stratum griseum et fibrosum superficiale
FRM	- Formatio reticularis medialis mesencephali	SGP	- Stratum griseum periventriculare
GCT	- Substantia grisea centralis	SLu	- N.semilunaris
GLdp	- N. geniculatus, pars dorsalis principalis	SO	- Stratum opticum
GLv	- N. geniculatus, pars ventralis	SP	- N.subpraetectalis
GT	- Griseum tectale	SPL	- N.spiriformis lateralis
ICO	- N. intercollicularis	SRT	- N.subrotundus
Imc	- N. isthmi, pars magnocellularis	STe	- Subtectum
ION	- N. isthmo-opticus	T	- N. triangularis
Ipc	- N. isthmi, pars parvocellularis	TDO	- Tectum opticum
IPS	- N. interstitio-praetecto-subpraetectalis	TI	- Tractus tecto-isthmici
LMmc	- N. lentiformis mesencephali, pars magnocellularis	TPT	- Tractus tecto-pontinus
LMpc	- N. lentiformis mesencephali, pars parvocellularis	TR	- Tractus tecto-reticularis
LP	- Area praetectalis, pars lateralis	TRd	- Tractus tecto-reticularis pars dorsalis
MD	- Mesencephalon dorsale	TRU	- Tractus tecto-reticularis pars ventralis
MLd	- N. mesencephali lateralis, pars dorsalis	TT	- Tractus tecto-thalamicus
MS	- Medulla spinalis	VLT	- N.ventrolateralis thalami
NT	- Nuclei trigeminales	W	- Wulst
Pam	- N. paramedianus		
PAP	- N. papillioformis		
PL	- N. pontis lateralis		
PM	- N. pontis medialis		
PT	- N. praetectalis

FIGURA 1 -

DIVISÃO CITOARQUITETÔNICA E CONEXÕES (AFERENTES E EFERENTES) DO TECTO ÓPTICO DAS AVES. Baseado em Huber & Crosby (1933), Nauta & Karten (1970), Lavail & Cowan (1971a) e Hunt & Kunzle (1976a,b).

REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DO NÚMERO E ESPESSURA DAS CAMADAS IDENTIFICÁVEIS NO TECTO ÓPTICO DO EMBRIÃO DE "GALLUS DOMESTICUS" ENTRE O 4º E O 18º DIAS DE INCUBAÇÃO. As camadas celulares aparecem em branco, enquanto as camadas plexiformes são indicadas pelo tracejado. O padrão laminar do tecto de um animal com 6 dias de vida é mostrado à direita. Segundo Lavail & Cowan (1971a).

FIGURA 3 -

EXEMPLO DE SUPERFÍCIE DE FRATURA OBTIDA COM A TÉCNICA EMPREGADA NO TRABALHO (vide material e métodos). TECTO ÓPTICO - EMBRIÃO DE "GALLUS DOMESTICUS" - 3 DIAS DE INCUBAÇÃO - M.E.V.(X450).

FIGURA 4 -

EPITÉLIO NEURAL DO TECTO ÓPTICO DO EMBRIÃO DE "GALLUS DOMESTICUS" COM 3 DIAS DE INCUBAÇÃO (est. 20 de H & H). V e P=superfícies ventricular e pial, respectivamente. M.E.V. (X 1700).

EN

I

II

FIGURA 5A

FIGURA 5A -

CORTE FINO CORRESPONDENTE À FIGURA 5B. Note que as células da camada II estão dispostas em fileiras oblíquas. EN = epitélio neural; I e II = camadas citoarquitetônicas (X 1600).

FIGURA 5B -

MONTAGEM (MEV) - TECTO ÓPTICO - EMBRIÃO COM 4 1/2 DIAS DE INCUBAÇÃO (est. 25 de H & H). A porção inferior da metade direita da montagem apresenta grande número de fibras radiais. A seta indica uma célula migratória com morfologia característica e em íntimo contato com um grupo de fibras (X 6600). Abreviaturas como na Fig. 5A.

FIGURA 5B

FIGURA 6A

FIGURA 6A -
CORTE FINO CORRESPONDENTE À FIGURA 6B. As setas indicam aglomerados de células migratórias que atingem a superfície pial. Abreviaturas como na Fig. 5A (X 1400).

FIGURA 6B -
MONTAGEM (MEV) - TECTO ÓPTICO - EMBRIÃO COM 6 DIAS DE INCUBAÇÃO (est. 29 de H & H). A metade esquerda da montagem mostra um vaso seccionado transversalmente. A metade direita apresenta grande número de células fusiformes no seu extremo inferior (X 6600).

FIGURA 6B

FIGURA 7A

FIGURA 7A -

CORTE FINO CORRESPONDENTE À FIGURA 7B. Na camada III as setas apontam vasos cortados transversalmente. EN = epitélio neural; I-II = camadas citoarquitetônicas (X 1200).

FIGURA 7B -

MONTAGEM (MEV) - TECTO ÓPTICO - EMBRIÃO COM 8 DIAS DE INCUBAÇÃO (est. 34 de H & H). A metade esquerda da montagem apresenta um grande vaso paralelo à superfície de fratura (seta) (X 3700).

FIGURA 7B

FIGURA 8A

FIGURA 8A -

CORTE FINO CORRESPONDENTE À FIGURA 8 B.

RE = revestimento endodimário.

I-II = camadas citoarquitetônicas. Note na camada III feixes de fibras cortadas transversalmente e nas camadas VI e VIII a presença de células migratórias.
(X 1000).

FIGURA 8B -

MONTAGEM (MEV) - TECTO ÓPTICO - EMBRIÃO COM 10 DIAS DE INCUBAÇÃO (est. 36 de H & H). Note a clara correspondência entre as imagens vistas ao MEV e ao MO (X 3000).

FIGURA 8B

FIGURA 9A

FIGURA 9A -

CORTE FINO CORRESPONDENTE À FIGURA 9B.

EP = epêndima; I-XII = camadas citoarquitetônicas (X 800).

FIGURA 9B -

MONTAGEM (MEV) - TECTO ÓPTICO - EMBRIÃO
COM 12 DIAS DE INCUBAÇÃO(est.38 de H&H).

Note o aspecto relativamente homogêneo
da superfície de fratura, com nítido
predomínio de fibras (X 3000).

FIGURA 9B

FIGURA 10A

FIGURA 10A -

CORTE FINO CORRESPONDENTE À FIGURA 10B. EP = epêndima; I-XII camadas citoarquitetônicas. A seta aponta um gran de vaso cortado transversalmente nas camadas I-II(X 800).

FIGURA 10B -

MONTAGEM (MEV) - TECTO ÔPTICO - EMBRIÃO COM 14 DIAS DE INCUBAÇÃO (est. 40 de H & H). Note, na metade esquerda da montagem, um vaso seccionado transversalmente (seta) e uma célula com prolongamento característico (ponta de seta). Na metade direita um "canal" com grande número de células no seu interior (seta) e um vaso longo e paralelo à superfície de fratura (ponta de seta)(X 3000).

FIGURA 10B

FIGURA 11A

FIGURA 11A -

CORTE FINO CORRESPONDENTE À FIGURA 11 A. EP = epêndima;
I-XV = camadas citoarquitetônicas (X 600).

FIGURA 11B -

MONTAGEM (MEV) - TECTO ÓPTICO - EMBRIÃO COM 16 DIAS DE INCUBAÇÃO (est. 40 de H & H). EP, SAC, SGC = camadas citoarquitetônicas; f = lâmina do SGFS. Note, na metade esquerda da montagem, um bloco de células endimárias deslocadas, evidenciando os seus processos basais (seta), a presença de grossos feixes de fibras no SAC e um grande neurônio fraturado (ponta de seta) no SGC. Observe na metade direita da montagem a presença de células piriformes na lâmina f (a seta aponta o prolongamento principal de uma delas) (X 1800).

FIGURA 11B