

brero de 1964 en el lugar que indique el Comité Organizador.

Se fija en US\$ 10 la cuota de inscripción para los miembros de la AIRH y en US\$ 20 para los no miembros.

Se designó el Comité de la selección de traba-

jos para el Congreso de Porto Alegre, compuesto por los siguientes profesores: Francisco Javier Domínguez, José S. Gandolfo, José Leite de Souza y Oscar Maggiolo.

Estos se reunirán en Montevideo en la primera quincena de abril de 1964.

MECANISMOS DEL DESARROLLO DE LOS ANIMALES

DOCTOR CARLOS A. MARTÍNEZ

Ayudante 1º de la cátedra de Embriología de la Escuela de Medicina

II

Hemos dado una visión panorámica de los factores que dentro de la célula promueven su diferenciación: hemos visto la acción génica y las relaciones entre el núcleo y el citoplasma. Ahora veremos cómo también hay factores externos sin los cuales es imposible la diferenciación y morfogénesis normal: me referiré a la inducción embrionaria y a la acción hormonal.

La inducción la ilustraremos mostrando lo que ocurre en los vertebrados, especialmente en los anfibios, ya que en ellos es más fácil observar el fenómeno y fue en ellos donde se descubrió.

Normalmente en el desarrollo embrionario de un vertebrado distinguimos los estados de segmentación, de blástula, de gástrula, de neurula y, posteriormente, de larva o de feto.

En los anfibios, la blástula es un embrión esférico que tiene una cavidad interior o blastocele, la cual no se comunica con el exterior. La pared de la blástula está formada por una sola hoja embrionaria la cual tiene varias capas celulares y es mucho más gruesa en la parte inferior.

En la superficie de la blástula se han determinado los llamados territorios presuntivos (Vogt), áreas que en el desarrollo darán origen a determinadas estructuras.

Estos territorios son el neurectoblasto, que

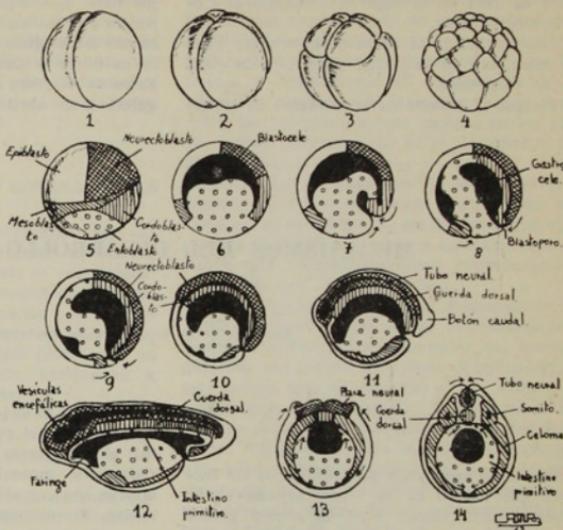
dará origen al sistema nervioso; el epiblasto, a la epidermis; el cordoblasto, a la cuerda dorsal; el mesoblasto, a los tejidos mesodérmicos (esqueleto, músculos, celoma, aparato circulatorio, etc.), y el entoblasto, al intestino primitivo. El cordoblasto y el mesoblasto forman en conjunto el cordomesoblasto.

En el estado embrionario siguiente —la gástrula— el embrión sigue siendo esférico, pero ahora tiene una nueva cavidad, el gastrocele o arquenteron, que se comunica con el exterior por medio del blastoporo. La antigua cavidad, el blastocele, se ha hecho virtual y aparece como una fisura. Las paredes de la gástrula ahora son dobles, están formadas por dos hojas embrionarias: el ectoderma por fuera y el entoderma primitivo por dentro. La gástrula resulta de una serie de movimientos morfogenéticos que realizan las células de la blástula, siendo uno de ellos el de invaginación o hundimiento en el blastocele, por parte de un conglomerado celular. Se invaginan todos los territorios presuntivos menos el epiblasto y el neurectoblasto que forman el ectoderma, mientras los demás forman el entoderma primitivo.

En la neurula, el embrión poco a poco va adquiriendo la forma más o menos cilíndrica y sufre una diferenciación en una zona anterior o cefálica y en una posterior o botón caudal que dará origen a la cola.

El cordoblasto se moldea y forma un cilindro macizo más o menos central que forma el eje

Fig 1 Desarrollo embrionario de un anfibio. 1, 2, 3 y 4, estados de segmentación del huevo. 5, blástula en cuya superficie se han dibujado los territorios presuntivos con diferentes achurados. 6, corte longitudinal de la misma blástula mostrando su cavidad interior. 7, 8, 9 y 10, gastrulación en la que vemos la formación del gastrocèle y la ubicación del neurectoblasto sobre el cordoblasto. 11 y 12, embriones más avanzados (néurulas) en los cuales el neurectoblasto se ha plegado formando el tubo neural con sus vesículas encefálicas. Bajo él yace el cordoblasto convertido en la cuerda dorsal. 13 y 14, cortes transversales de néurulas en las que se ve la formación del tubo neural, la cuerda dorsal, los somitos, el celoma y el intestino primitivo. Las flechas indican los principales movimientos morfo-genéticos



anteroposterior del embrión: es la cuerda dorsal o notocordio. Por encima del cordoblasto, el neurectoblasto primero se engruesa y forma una placa neural que luego se pliega longitudinalmente constituyendo un tubo anteroposterior que se cubre de epiblasto y que adelante desarrollará las vesículas encefálicas: es el esbozo del sistema nervioso central o neuroeje. Bajo la cuerda dorsal, el entoderma primitivo se disocia en el entoblasto, que se pliega formando el intestino primitivo, y en el mesoblasto que lo va a rodear y que se diferenciará arriba, en una serie metamérica de unidades huecas o somitos; y en la parte inferior en el celoma.

Este determinismo que hace evolucionar a los territorios presuntivos nos parece rígido y firmemente establecido; sin embargo, como veremos a continuación, no todos los territorios presuntivos tienen la capacidad de autodiferenciación.

Si cultivamos "un vitro" trozos de los diferentes territorios en forma aislada, comprobamos que sólo el cordomesoblasto es capaz

de autodiferenciarse, y aún más, es totipotente, ya que no sólo puede originar tejido cordal, muscular, nefrógeno o sanguíneo, sino también, tejido nervioso o entoblastico (Holtfreter). Los demás territorios sólo alcanzan a formar células epiteliales sin mayor especialización.

Ahora si tomamos un trozo de epiblasto de gástrula de la especie A de anfibio y la trasplantamos el neurectoblasto de una gástrula de la especie B, la cual se diferencia de la anterior por su coloración; y, a su vez, tomamos un trozo de neurectoblasto de B y lo colocamos en el epiblasto de A, comprobamos lo siguiente: en la especie A, el trozo de epiblasto colocado entre el neurectoblasto se diferencia como tejido nervioso y en B, el trozo de neurectoblasto colocado en el epiblasto, se desarrollará como epidermis. Vemos pues, cómo muchos territorios presuntivos pierden su capacidad normal de desarrollo, porque su destino no está fijamente determinado, y depende de factores externos (Spemann).

Si el experimento lo repetimos con embriones

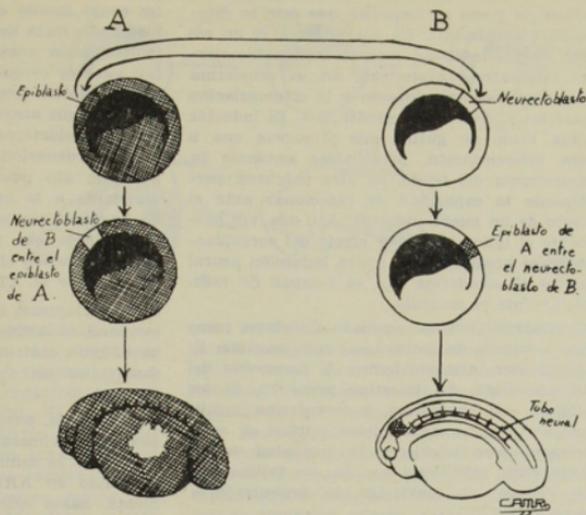


Fig 2 Trasplante de trocitos de territorios presuntivos entre blástulas de dos especies de anfibio las cuales se diferencian por su coloración (A y B). Tomamos un trozo de epiblasto de A y lo colocamos entre el neuroectoblasto de la especie B, y simultáneamente tomamos un trozo de neuroectoblasto de B para colocarlo entre el epiblasto de la especie A. En las néurulas comprobamos que el trocito de epiblasto transplantado en la especie B, se desarrolla como una parte de su sistema nervioso; y, en la néurula A, el neuroectoblasto transplantado se desarrolla como epidermis (Spemann)

más avanzados (gástrulas próximas a la neurulación), vemos que los territorios trasplantados siguen su desarrollo normal: el neuroectoblasto colocado en el epiblasto se desarrollará como tejido nervioso y el epiblasto colocado en el neuroectoblasto se transformará en epidermis.

En la gástrula avanzada, los territorios presuntivos ya han recibido el estímulo que desencadena su diferenciación, y entonces, será imposible cambiar el rumbo de su especialización. La capacidad de autodiferenciación y totipotencia del cardomesoblasto, llevó a los embriólogos a analizar este material como posible agente que promueve la diferenciación de los demás esbozos.

Si de una gástrula incipiente extirpamos un trozo de cardomesoblasto y lo colocamos en el blastocle de otro embrión, cuando se produce la gastrulación de este último, el trocito queda cubierto de epiblasto en la región ventral y allí va a diferenciarse como tejido cordal y somítico y va a inducir a su alrededor, en el huésped, la formación de un tubo neural, de

somitos, de un intestino primitivo, de una región cefálica y una caudal.

Se ha producido un embrión secundario o quimera, ya que sus órganos en parte se originan del huésped (sistema nervioso, intestino, somitos, piel, etc.) y en parte del injerto (cuerda y somitos).

Así concluimos que el cardomesoblasto es el responsable de la diferenciación y organización de los territorios que le rodean. Es el organizador primario del cual depende el normal desarrollo de las demás estructuras (Spemann). Su influencia sobre los demás territorios celulares se ejerce por medio de la inducción embrionaria.

Este organizador primario presenta diferencias regionales que inducen la formación de una región cefálica y una caudal. Eso constituye la individuación. Si en el experimento anterior implantamos cardomesoblasto de la región cefálica o caudal, la quimera resultante tendrá una cabeza o una cola más desarrollada que el resto del cuerpo, respectivamente.

La inducción embrionaria es rápida e irreversible. Una vez que ha ocurrido podemos sepa-

rar al inductor del tejido que ha sufrido su influencia y eso no impedirá que éste se diferencie normalmente. La competencia es un estado de inestabilidad momentánea entre ciertas alternativas evolutivas; así, el ectoderma es competente con respecto a la diferenciación epidérmica, neural y mesodérmica. El inductor actúa como un gatillo que promueve una u otra diferenciación, perdiéndose entonces la competencia del tejido, en otras palabras, perdiéndose la capacidad de reaccionar ante el efecto de un nuevo inductor. Así, una vez producido el tubo neural por efecto del cordoblasto, no se producirá una nueva inducción neural porque el ectoderma allí es incapaz de reaccionar ante el estímulo.

El desarrollo normal puede interpretarse como una secuencia de inducciones embrionarias. El organizador primario induce la formación del tubo nervioso, del intestino primitivo, de los somitos, del entoderma y mesoderma cefálicos, etc. Pronto estos tejidos pierden su competencia, pero adquieren la propiedad de inducir ellos modificaciones en los tejidos que les rodean: se convierten en organizadores secundarios.

Así, por ejemplo, la región cefálica del tubo neural se acerca a la epidermis e induce allí la formación de áreas engrosadas o placodas que darán origen a órganos sensoriales: placodas olfatorias, cristalinianas, auditivas, de la línea lateral, etc.

El entoderma cefálico inducirá en la piel la formación de los arcos branquiales, etc.

A su vez, estas nuevas diferenciaciones se convierten en organizadores terciarios, y el cristalino, que deriva de la placoda cristaliniiana, puede inducir en la epidermis la formación de la córnea.

No sabemos cuál es el mecanismo exacto de la inducción embrionaria, aunque conocemos múltiples procesos citológicos y bioquímicos que ocurren mientras ella se realiza.

Por el método de la implantación blastocélica, que llevó a descubrir al organizador primario, se han hecho numerosos experimentos colocando los más variados tejidos embrionarios o adultos y sustancias químicas en el blastocelo. Así se ha comprobado que incluso los tejidos muertos o sustancias tan inertes como el talco, pueden producir inducciones (Okada, Yamada).

Pero estas inducciones son defectuosas y en

ellas no se producen diferenciaciones regionales como sucede cuando actúa el cordomesoblasto. Se trata de una evocación y no de una inducción como normalmente ocurre.

Los agentes evocadores actuarían alterando la permeabilidad celular, o aún, produciendo citolisis, lo que acarrearía la liberación de sustancias inductoras, las cuales pasarían sin mayor ordenación a los tejidos vecinos produciendo allí una diferenciación tisular sólo semejante a la que se produce normalmente. Se ha visto que las sustancias químicas más importantes que intervienen en la inducción embrionaria son el ARN, las proteínas con grupos —SH y el ATP.

Si centrifugamos una blástula vemos que gran cantidad de ARN unido a proteínas se desplaza al polo centrifugo y en esa zona se va a desarrollar un embrión secundario (Pasteels, Brachet).

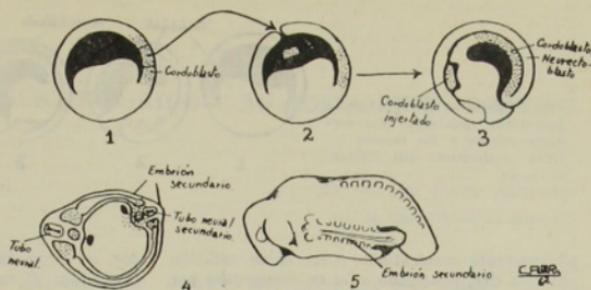
No hay duda, pues, de que el ARN es un compuesto de primera importancia en la morfogénesis. Por lo demás, se ha comprobado que el contenido en ARN de cualquier esbozo, aumenta hasta que empieza su diferenciación celular.

En la célula-huevo madura distinguimos un polo animal y uno vegetativo que están colocados en los puntos en que pasa el eje del huevo. El ARN del citoplasma forma un gradiente cuya mayor intensidad se manifiesta en el polo animal y desde allí decrece (gradiente animal-vegetativo). Las plaquetas vitelinas, estructuras pequeñas más o menos ovoides, que contienen lipoproteínas, ARN, etc. y que en general se consideran material de reserva, también se distribuyen en un gradiente dentro del huevo, pero la zona de mayor concentración corresponde al polo vegetativo. Durante la segmentación del huevo no hay síntesis proteica ni de ARN, pero éstas se inician con la gastrulación, cuando simultáneamente hay disminución de las plaquetas vitelinas.

Como resultado de esta síntesis y de los movimientos morfogenéticos, en la gástrula podemos distinguir otro gradiente de ARN: el dorso-ventral que es perpendicular al anterior y que corresponde su área de mayor intensidad, al cordomesoblasto.

Las proteínas con grupos —SH ocupan los mismos gradientes ya señalados, lo mismo que

Fig 3 Injertando un trozo de cordoblasto (1) en la cavidad blastocélica de otro embrión (2), al producirse la gastrulación, este pedacito injertado queda en contacto con el epiblasto y en esa zona se forma un embrión secundario con tubo neural, somitos, intestino, región cefálica y caudal (5). En 4 vemos un corte transversal de la néurula con su embrión secundario. (Spemann)

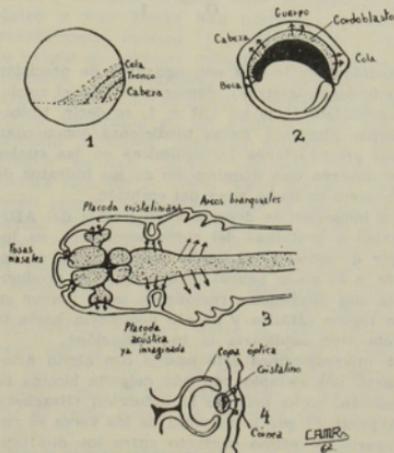


las mitocondrias, las cuales aumentan en número. Las mitocondrias son organoides citoplasmáticos en donde se produce la oxidación o combustión de los materiales orgánicos, consumiéndose O_2 y liberándose CO_2 , H_2O y energía que es almacenada en ciertos enlaces químicos del ATP. Son pues, los organoides que proporcionan la energía a las células.

En la neurula incipiente también vemos una distribución del ARN. Este está altamente concentrado en el cordomesoblasto y más tarde de allí desaparece para irse a ubicar en la placa neural. Este fenómeno se detecta por la basofilia del citoplasma. El ARN se acumula,

pues, en los puntos en que el tejido inductor (cordomesoblasto) y el reaccionante (placa neural) están en íntimo contacto (Brachet). Estudios bioquímicos muestran que durante la gastrulación hay intensa síntesis de nucleótidos. Esa síntesis está íntimamente relacionada con el metabolismo de los hidratos de carbono. Es necesaria, pues, la hidrólisis y combustión de los hidratos de carbono para que se sinteticen nuevos nucleótidos, es decir, mayor cantidad de ARN. Cuando se realiza la combustión (catabolismo) dentro del protoplasma, se consume O_2 y se liberan CO_2 y H_2O .

Fig 4 En 1 vemos una blástula con la distribución del organizador primario para la cabeza, el tronco y la cola. En 2, en una néurula vemos en acción a este organizador primario. En 3, un corte frontal de larva en la que el sistema nervioso, que ha resultado por efecto de la acción del cordoblasto sobre el neurec, toblasto, actúa como organizador secundario que modifica a la piel en determinadas zonas en que se forman principalmente órganos sensoriales. En 4 vemos un corte del ojo en formación (copa óptica) con el cristalino. Este último proviene de la placoda cristaliniina y actúa como organizador terciario que induce en la piel que le cubre, la formación de la córnea.



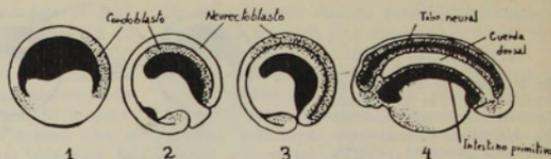
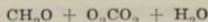


Fig 5 Pasaje de las sustancias inductoras (punteado) del cordomesoblasto a los tejidos vecinos produciendo allí diferenciaciones

El cociente respiratorio (CR) es la relación entre el CO_2 producido y el O_2 consumido por un organismo.

$$\text{CR} = \frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$$

Cuando hay metabolismo de hidratos de carbono o glúcidos, cuya fórmula general es CH_2O , el CR es igual a 1, porque se produce una molécula de CO_2 por cada molécula de O_2 consumida durante la completa combustión de una molécula de hidrato de carbono.



$$\text{CR} = \frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = \frac{1}{1} = 1$$

Medidas efectuadas con aparatos de precisión (microespirómetros), demuestran que el cordomesoblasto tiene un $\text{CR} = 1$, es decir, típicamente glucídico. Estas mediciones concuerdan con preparaciones histoquímicas en las cuales se observa una disminución de los hidratos de carbono en dicha zona del embrión.

La inducción se debería a un pasaje del ARN unido a proteínas del cordomesoblasto, su lugar de síntesis, al tejido reaccionante, es decir, a la placa neural. Este pasaje se produciría con diferencias regionales, sería mayor en la región cefálica y de allí decrecería hacia la cola (eso explicaría la individuación).

Si interrumpimos este pasaje con algún artefacto, por ejemplo, con una delgada lámina de celofán, no se produce la inducción (Brachet). A pesar de que la mayoría de las veces es necesario el íntimo contacto entre los dos teji-

dos, en otras, la inducción se produciría a distancia por difusión, por vía humoral, o a través de la matriz que separa las células. (Grobstein).

De todas maneras, la salida de las sustancias inductoras y la captación de éstas por parte del tejido reaccionante, están reguladas por fenómenos de permeabilidad celular. Los agentes evocadores (talco, tejidos muertos, irritantes, etc.) alteran la permeabilidad celular aumentándola, de manera que los gránulos ribonucleoproteicos pasan del inductor a los tejidos vecinos en forma anárquica.

En el tejido reaccionante, los gránulos de ribonucleoproteínas que pasaron del inductor, se comportan de manera semejante a los virus, y es probable que allí intervengan en la síntesis de proteínas con grupos $-\text{SH}$, las cuales son capaces de contraerse al oxidarse los grupos $-\text{SH}$ a $-\text{S}-\text{S}-$. En esta contracción molecular intervendría el ATP proporcionando la energía necesaria al desdoblarse.

Las células de la placa neural, al poseer tales proteínas que les dan propiedades elásticas, se mueven y se estiran produciendo el plegamiento que remata en la formación y diferenciación del tubo neural.

Es probable que estas proteínas $-\text{SH}$ intervengan también en otros movimientos morfológicos (gastrulación por ej.) que requieren movilidad y plasticidad celular.

Este fenómeno de diferenciación celular por inducción y la existencia de un organizador, que hemos analizado brevemente en los anfibios, se presenta en todos los vertebrados, desde los peces hasta el hombre. En todos ellos es posible encontrar el cordomesoblasto produciendo diferenciaciones celulares en los tejidos que le rodean.

(Continuará)