

MECANISMOS BIOLÓGICOS DEL DESARROLLO

1. Introducción

Un biólogo que trabaja en Península Valdés (Argentina), encuentra que, de los lobos marinos nacidos en la última temporada, un 3% presenta malformaciones congénitas. Las mismas consisten en la falta de las aletas o miembros anteriores.

El pediatra de un hospital constata que el último nacimiento corresponde al de un niño con un aumento en el número de dedos en sus manos, malformación conocida como polidactilia. Un veterinario es llamado para atender un parto problemático causado por un ternero con dos cabezas.

En las tres situaciones anteriores, cuando especialistas de las ciencias biomédicas se encuentra con animales que muestran una o varias anomalías congénitas, deben resolver el inconveniente de descubrir cuál o cuáles fueron las causas que ocasionaron esas malformaciones. Uno de las estrategias o procedimientos a seguir es el estudio detallado de las malformaciones basándose en los conocimientos embriológicos existentes. La cuestión que queda pendiente, luego de la descripción de cada caso, es lograr determinar las razones que llevaron a la aparición de esas anomalías.

Por ejemplo, en el caso de los lobos marinos, durante el análisis de la malformación se recordará que las aletas anteriores se forman durante el desarrollo a partir de esbozos que en esos casos no se formaron. Pero ¿En verdad no se formaron, o se formaron y luego sufrieron un proceso de reabsorción y desaparecieron? ¿Qué mecanismos bioquímicos alterados determinaron la ausencia o la regresión de los esbozos? ¿La razón de su ausencia es de índole genética o por acción de un agente tóxico ambiental? La respuesta a estas preguntas excede el marco de un análisis morfológico. Tal análisis requiere ser completado con el estudio de los fenómenos biológicos que subyacen al desarrollo normal, para poder así comprender cómo sus alteraciones llevan al surgimiento de anomalías congénitas.

2. Haciendo historia

Entre los muchos aspectos que han llamado la atención del hombre desde épocas antiguas, la cuestión sobre cómo nos formamos, la pregunta "¿De dónde venimos?", despertó la curiosidad de muchos. Así, los más antiguos estudios sobre el desarrollo embrionario fueron realizados por Hipócrates (siglo V a.C.). Este investigador griego había analizado el desarrollo de las gallinas y propuesto el trabajo que muchos hoy realizan, el de observar huevos incubados en diferentes días.

Las referencias a las ideas de otro griego, Aristóteles (384-322), no pueden estar ausentes de cuanto tema biológico se aborde dada la inmensidad de sus estudios. Generalmente se lo asocia con ideas vigentes durante siglos y que han sido superadas por la ciencia contemporánea, pero, veamos un caso en el cual tuvo bastante razón y, sin embargo, fue desautorizado. Aristóteles, luego de observar el desarrollo de los pollos, creía en la **epigénesis**. Esta teoría sostenía que un nuevo organismo se podía desarrollar partiendo de una porción de material viviente amorfo, mediante un proceso de "diferenciación de sus partes". Esta idea predominó hasta el siglo XVI.

En el Renacimiento, Leonardo da Vinci realizó esquemas sobre disecciones de úteros grávidos y efectuó mediciones del crecimiento fetal. Harvey, en 1651 utilizó lentes de aumento para observar embriones de pollo. Dado que no pudo observar las etapas iniciales del desarrollo, sus trabajos lo llevaron a la conclusión de que los embriones deberían ser secretados por el útero. En 1672, de Graaf observó con microscopios rudimentarios el útero de conejas y encontró pequeñas cámaras (blastocistos), proponiendo que los mismos se habrían originado no en el útero sino en un par de órganos conectados con él, los ovarios, en los cuales observó estructuras semejantes a las que se denomina actualmente folículos de de Graaf. Los primeros en observar espermatozoides al microscopio fueron Ham y Leeuwenhoek en 1677. Sus observaciones los llevaron a concluir que contenían un homúnculo en su interior, es decir un ser humano en miniatura que se iría desarrollando durante la gestación. Estas ideas dieron lugar a la "**teoría de la preformación**" y el rechazo a la "vieja y errónea teoría de la epigénesis". Según los defensores de la preformación, en el interior de una de las células germinales se encontraba un ser minúsculo, un adulto en miniatura (el homúnculo), que se desarrollaba bajo ciertas condiciones favorables. La discusión entre los adherentes de la preformación era en cuál de las células germinales se encontraba el homúnculo. Para algunos, el semen (término derivado de semilla) era el portador de los niños y el útero un "suelo adecuado", por lo tanto el fenómeno que ocurría era la "fertilización del óvulo" por parte del espermatozoide. Para otros eran los óvulos los contenedores del pequeño ser.

La creencia en la preformación daba respuesta de dónde se encontraba el nuevo ser, pero abría un camino sin fin con respecto a sus potenciales descendientes, ya que unos deberían contener a los otros en una sucesión infinita hasta Adán y Eva, quienes habrían sido los primeros portadores. Tal situación no fue motivo de invalidación de la teoría de la preformación sino que, como suele ocurrir muchas veces en la ciencia, "la realidad debe ajustarse al modelo" y se originó un debate sobre cuántas personas preformadas contendría Eva. Algunos calcularon unos doscientos millones ... y el mundo llegaría a su fin cuando naciera el último de los preformados.

En 1759, Wolff rechazó la idea de la preformación sosteniendo que en los úteros se encontraban los "glóbulos" y habló de capas resultantes de la división de los óvulos y a partir de las cuales se desarrollaba o formaba el embrión. Sus ideas fueron la base para el resurgimiento de la teoría aristotélica de la epigénesis.

Las controversias sobre la epigénesis y la preformación finalizaron hacia 1775, cuando los experimentos de Spallanzani demostraron que eran imprescindibles tanto los óvulos como los espermatozoides para la formación de un individuo. La primera observación de un óvulo en el interior de los folículos ováricos fue realizada en 1827 por von Baer en el perro. Este investigador también observó cigotos en las trompas y blastocistos en el útero.

Cuando Schleiden y Schwann, en 1839, formularon la teoría celular, su aplicación al estudio del desarrollo llevó a la idea de que los embriones se desarrollaban a partir de una sola célula, el cigoto. En 1878, Fleming observó los cromosomas y sugirió su rol en la fecundación. Von Beneden infirió, en 1883, que el número de cromosomas en las gametas era reducido en comparación con las células somáticas y describió aspectos de la meiosis.

En los albores del siglo XX

Cuando en el siglo XIX avanzaron las investigaciones sobre la embriología se descartó la posibilidad de la preformación y renació la idea aristotélica de epigénesis. Junto con el retorno de la epigénesis se iniciaron también los estudios experimentales. Una parte de estos estudios sostenía un punto intermedio entre preformación y epigénesis, era la teoría del mosaico de Wilhelm Roux (1850-1924). Este investigador creía que en los óvulos fecundados (cigotos) existían regiones predeterminadas para formar algunas partes del organismo, a la manera de mosaicos en un piso. Sus experiencias le daban la razón. Trabajando con ranas, Roux procedió, luego de la primera división, a destruir una de las células. Su hipótesis era que si ésta contenía parte del cuerpo, la sobreviviente daría lugar a un organismo incompleto. Efectivamente, así ocurrió.

Los resultados de Roux llamaron la atención de Hans Driesch (1867-1941), quien trabajaba con huevos de erizo de mar. Driesch en vez de eliminar una de las células, separó ambas y dejó que se desarrollaran individualmente. Ambas dieron lugar a erizos completos. La contradicción entre los resultados de Roux y Driesch trató de ser dilucidada por otros investigadores pero los resultados de los experimentos seguían siendo contradictorios. En algunas especies se desarrollaba medio embrión y en otras, embriones completos.

Las teorías contemporáneas han aclarado la situación a partir de considerar los aportes de la biología celular y molecular. De hecho, en algunas especies, al momento de las divisiones iniciales del cigoto, hay una distribución desigual de componentes citoplasmáticos que ocasionan una predeterminación del destino celular en el desarrollo del embrión. Hay quienes dicen que la "preformación" radica en la información contenida en el código genético del cigoto.

La discusión entre Roux y Driesch fue más allá de cuestiones y resultados de laboratorio. Generó un debate que dio lugar a dos corrientes de pensamiento con argumentos muy opuestos: el vitalismo y el mecanicismo. Los resultados de Driesch le indicaba la existencia de una "fuerza mística" (o vital, que otorga vida) que seguía una huella o camino hacia la forma adulta.

En el siglo XIX Fritz Müller (1821-1897) y Ernst Haeckel (1834-1919) formulan la ley biogenética según la cual "la ontogenia recapitula la filogenia", o bien que el desarrollo de un individuo recorre un camino semejante al de su grupo biológico. Esta teoría, a pesar de que continua siendo mencionada en muchos libros de texto, ha sido muy discutida y criticada por los "errores" y falsedades reconocidas por el propio Haeckel.

A fines del Siglo XX... entramos en el siglo XXI

¿Cuáles son los mecanismos que determinan la diversidad celular en los embriones?. Experimentalmente se ha comprobado que en diferentes especies animales el primer factor que determina el surgimiento de la diversidad en los embriones es la distribución desigual de los componentes citoplasmáticos del cigoto.

Sabemos que durante la segmentación embrionaria, cada célula hija recibe una copia idéntica de ADN pero diferentes componentes citoplasmáticos. De esta forma, irán surgiendo gradualmente, diferentes tipos celulares. Entre ellos se establecerán interacciones e irán aumentando la complejidad del embrión.

3. Procesos de interacción celular: la inducción embrionaria

A las interacciones entre células o estructuras embrionarias se las denomina "fenómenos de inducción". La inducción embrionaria se considera parte de un complejo y continuo proceso entre estructuras que coinciden en el tiempo y el espacio. Durante los fenómenos de inducción, una de las estructuras o tejidos embrionarios se ve obligado a seguir una vía de diferenciación que, de no mediar la acción de otro, no hubiera seguido: se lo denomina tejido inducido. La estructura o tejido con capacidad para obligar a otro u otros a diferenciarse en un determinado sentido es denominado tejido u órgano inductor.

Desde el punto de vista de la embriología experimental se han estudiado distintos fenómenos de inducción en embriones de vertebrados. Uno de ellos es el proceso mediante el cual la notocorda ejerce una acción definida que determina la transformación de parte del ectodermo en ectodermo neural (neuroectodermo). En el ejemplo dado, el ectodermo es el "tejido inducido", debe poseer una cierta "**competencia**" para reaccionar ante el estímulo del tejido inductor, con una respuesta específica. Poseer la competencia implica tener un cierto grado de diferenciación sin el cual el fenómeno de inducción no se llevaría a cabo.

El siguiente cuestionamiento fue si la competencia ante la inducción era permanente. Continuando con la utilización de la notocorda como estructura inductora, se hicieron combinaciones de la misma con ectodermo en diferentes tiempos de desarrollo. Se observó que en algunos casos había respuesta o competencia por parte del ectodermo para formar tejido neural y en otros no. Determinando los tiempos en que se verificaba respuesta o no, se concluyó que la competencia se adquiere en un momento preciso del desarrollo y se pierde luego.

Lo antedicho significa que existen límites de tiempo precisos para que el efecto inductor de una estructura ejerza su acción sobre otra y que dicho tiempo está determinado por la adquisición y mantenimiento de la competencia por parte de la estructura a ser inducida. Todo agente o fenómeno que afecte al componente inductor o al componente inducido en el momento en que deben interactuar, generará una alteración o anomalía del desarrollo.

¿Es necesaria la presencia continua de la estructura inductora? Experimentos llevados a cabo para responder este interrogante, demostraron que, una vez producida la inducción, puede desaparecer el agente inductor y el tejido competente continuará su diferenciación normal. Así, en el ejemplo del ectodermo y la notocorda, si se extirpa ésta luego de iniciada la diferenciación del neuroectodermo, éste continuará diferenciándose en sentido neural.

¿Cuál es el mecanismo por el cual un tejido ejerce su acción inductora sobre otro? Al parecer, en el caso de la notocorda y el ectodermo, el mecanismo consiste en el pasaje de proteínas desde las células notocordales a las ectodérmicas. En otros casos también se postula la existencia de difusión de sustancias de una célula a otra. Normalmente existen entre las células uniones que presentan permeabilidad a iones y moléculas. Así, las uniones intercelulares representarían una vía de comunicación para el pasaje de sustancias que ponen en marcha los procesos de diferenciación mediante la activación o represión de genes, mantienen ese estado diferenciando o determinan su cese.

¿Por qué cada uno de los órganos embrionarios aparece cuando y donde lo hace, y no en otro momento o en otro lugar? ¿Por qué, en el caso de los órganos compuestos por distintos tejidos o estructuras, cada uno se desarrolla en una secuencia espacio-temporal adecuada como para permitir su integración? Estas cuestiones se respondieron con el descubrimiento de la existencia de “cascadas” o cadenas de inducciones.

Las cascadas o cadenas de inducciones determinan la aparición adecuada de los esbozos y componentes de los diferentes órganos, tanto el lugar como en el tiempo adecuado. Analizando las cadenas de inducciones, se ha determinado la existencia de un proceso de inducción primaria y procesos de inducción secundaria. La inducción primaria sería el primer efecto inductor de un tejido sobre otro. Las inducciones secundarias serían las acciones consecutivas de diferentes tejidos inductores sobre el inducido, promoviendo cambios graduales.

¿Cómo puede ocurrir una falla en el proceso de inducción? En los casos estudiados experimentalmente, la estructura inductora elabora moléculas de naturaleza proteica que pasan al tejido inducido ocasionando cambios bioquímicos. Para poder sintetizar esas moléculas, la estructura inductora requiere de un metabolismo celular normal y un genoma sin alteraciones. Por consiguiente, toda variación en la información genética o en los procesos del funcionamiento celular podrá determinar una alteración en el fenómeno de inducción.

Cuando un tejido es inducido a diferenciarse en un determinado sentido, su "**significado evolutivo**" aumenta en tanto que su "**potencialidad evolutiva**" disminuye. ¿Qué significan las expresiones entrecomilladas?

La **potencialidad evolutiva** de una célula son las posibilidades de diferenciarse originando distintos tipos celulares. De esta manera, cuanto mayor sea el número de células diferentes que puede generar una célula embrionaria, mayor es su potencialidad. Así, el cigoto sería la célula con mayor potencialidad evolutiva. A medida que aparecen o se diferencian tipos celulares constituyentes de los tejidos embrionarios, la potencialidad disminuye. Tomando con ejemplo a los mamíferos, en las primeras segmentaciones las blastómeras tienen alta potencialidad, al diferenciarse en células del macizo celular interno (embrioblasto) y células del trofoblasto, disminuye la potencialidad. En el embrioblasto, luego de la gastrulación, las células endodérmicas tienen menor potencialidad que sus antecesoras y distinta potencialidad que las ectodérmicas o mesodérmicas.

Cuando una célula o grupo celular logra un estado de diferenciación que no puede ser trascendido, ya que alcanza el fenotipo de un tejido adulto, su potencialidad desaparece, habiendo alcanzado su **significado evolutivo final**. Cabe aclarar que

algunos tipos celulares no pierden nunca su capacidad de diferenciación (por ejemplo, las células precursoras de los componentes sanguíneos) y, como analizaremos más adelante, hay tipos celulares que pueden "desdiferenciarse", participando en procesos reparadores.

Si tomamos en cuenta una cadena de inducciones hipotética, la acción de un agente tóxico en el comienzo de la cadena interfiriendo en la acción de A sobre B, determina no sólo la ausencia de B1, sino también de C1, D1, etc. Así, al observar a un animal recién nacido donde una sustancia tóxica provocó la ausencia de varios órganos, inferir que la misma no necesariamente actuó en varios períodos de la organogénesis sino sólo al principio, lesionando la cadena de inducciones. Al responder a la acción inductora, las células competentes adquieren mayor significado evolutivo y "pierden" potencialidad. Estos procesos tienen, para los embriones, una "ventaja general" y un "riesgo". La ventaja, es la dirección correcta del desarrollo. El riesgo radica en que, al perder potencialidad, pierden posibilidades de reparar daños.

Por ejemplo, consideremos un tejido A que, por su potencialidad, puede evolucionar a A1, A2 o A3. En condiciones normales, las células de A próximas al tejido inductor B resultan competentes y responden a la acción del mismo diferenciándose en A1. Si actúa un agente tóxico dañando las células de A antes de la inducción y tal daño es reparado por mitosis normales, al producirse la inducción habrá una respuesta competente y el daño se reparará. Si en cambio, el agente tóxico actúa luego de la inducción y de la respuesta competente, es muy probable que las células no dañadas de A ya no tengan posibilidad de responder a una nueva inducción y el daño sea irreversible. Se ha observado este hecho en pruebas con animales de laboratorio a los cuales se les administra una droga para comprobar sus efectos sobre el desarrollo. Por ejemplo, en ratas gestantes, en el día 14 de gestación se produce el cierre del tubo neural, un proceso esencial para la normal formación del encéfalo. Si una droga exógena actúa en ese momento, el cierre no se produce y los animales nacen con graves daños cerebrales. Si la droga actúa en el día 13 de gestación, las células no afectadas reparan el daño y los animales nacen normales.

4. Crecimiento embrionario

Durante el desarrollo temprano, las divisiones celulares son muy rápidas. Por ejemplo, un embrión de rata pasa del estadio de cigoto a un organismo con 50 millones de células en los primeros 12 días de gestación (la gestación total dura 21 días). El crecimiento es así el aumento del tamaño o del número de células en todo el organismo o una de sus partes. Por ejemplo, durante la segmentación, el embrión aumenta en número de células pero no de volumen, y luego de la protrusión del blastocisto, el desarrollo del trofoblasto y los procesos de gastrulación implican un

aumento en el número de células y tamaño. Al avanzar el desarrollo, las divisiones se hacen más lentas, pero esta disminución en la velocidad de las mitosis no es homogénea para todas las partes del embrión. Se observan así poblaciones celulares estáticas o sin nuevas divisiones, y otras poblaciones dinámicas o expansivas, entre las cuales pueden diferenciarse aquellas donde el ritmo de división continúa siendo acelerado y aquellas donde las divisiones son poco frecuentes pero el número de células aumenta gradualmente en el tiempo. Existe un cuarto tipo de poblaciones donde, si bien continúan las divisiones, el número total de células no se incrementa. Son las llamadas poblaciones en renovación, en las cuales las mitosis ocurren para reemplazar a otras células cuando mueren. A este fenómeno y sus implicancias en el crecimiento, se lo denomina "**crecimiento diferencial**". El crecimiento diferencial determina que no todas las regiones u órganos de un embrión crezcan al mismo tiempo y en iguales proporciones. Los procesos de crecimiento embrionarios pueden atribuirse tanto a la multiplicación celular como al aumento de tamaño de las células. Como se indicó, la multiplicación celular es resultante de las mitosis. Estas se encuentran reguladas en diferentes grupos celulares según su posición, destino y del tipo de estructuras de las que forman parte.

4.1. Citodiferenciación o diferenciación celular embrionaria

La citodiferenciación implica que una célula o una línea celular logra un fenotipo estable. Al menos hasta el estadio de 8 células, los blastómeros conservan su potencialidad para desarrollar un organismo completo. Esta es la base de la manipulación microquirúrgica de embriones mamíferos para lograr un mayor número de descendientes de animales seleccionados.

La multiplicación celular es un proceso concomitante con la diferenciación. Cuando las células logran su significado evolutivo final puede suceder que se frene su multiplicación por largos períodos o en forma temporaria, conservando la capacidad de reiniciar las mitosis (células musculares, hepatocitos); o mantengan siempre la capacidad mitótica en función (células de los epitelios de la piel, del intestino, las células precursoras de los componentes celulares de la sangre, etc.).

La diferenciación celular consiste, básicamente, en el conjunto de procesos por los cuales, en el desarrollo embrionario las células se van diversificando y diferenciando unas de otras, de manera tal que comienzan a ser reconocidas como distintas entre sí y de sus precursoras. Una célula "totalmente diferenciada" es aquella que reúne las características propias o específicas de los tipos celulares hallados en el organismo adulto, habiendo alcanzado su "significado evolutivo final".

Considerando el desarrollo embrionario en su conjunto, se puede afirmar que la diferenciación celular es un proceso gradual y, por consiguiente, la diferenciación total de un tipo celular conlleva la existencia previa de tipos intermedios o células "parcialmente diferenciadas". Por ejemplo, una célula mesenquimática es, comparada con un mioblasto, una célula parcialmente diferenciada. Y el mioblasto tiene también una diferenciación parcial al referirnos a un miocito. Por lo tanto, la calificación de totalmente diferenciada o parcialmente diferenciada, es relativa siempre a los tipos celulares que se comparan. Especialización y diferenciación celulares: en términos generales se sostiene que cuanto más diferenciada está una célula, mayor especialización presenta. Esta frase debe ser también considerada en términos relativos. De esta manera, el cigoto, es una célula "indiferenciada" en comparación con cualquier tipo de tejido adulto, pero altamente especializada.

4.2. Criterios de diferenciación celular: para determinar el grado de diferenciación de una célula se utilizan diferentes criterios, cada uno de los cuales implica una metodología de análisis distinta en su complejidad. Existe un criterio **morfológico**, basado en las observaciones de las características macroscópicas y/o microscópicas de una célula o tejido para determinar su grado de diferenciación. Con el empleo de la microscopía electrónica puede mejorarse el análisis de las células identificando estructuras subcelulares, con lo cual se hace más detallado el estudio. Otro criterio es el **bioquímico**, analizando la presencia de proteínas específicas de un determinado grupo celular. Un tercer criterio es el **fisiológico**, aplicado con aquellos tipos celulares que presentan, en estado adulto, funciones bien definidas, identificables en forma cuantitativa. El cuarto criterio utilizado es el **evolutivo**. Este criterio se aplica en sentido prospectivo (a futuro) y se basa en los conocimientos existentes sobre el desarrollo embrionario de los distintos grupos celulares. Por ejemplo, ya comentamos que las células ectodérmicas ubicadas en proximidad de la notocorda, darán origen al neuroectodermo y que éste se diferenciará en tejido nervioso. La determinación del neuroectodermo a transformarse en células del sistema nervioso permite considerarlo como un grupo celular parcialmente diferenciado en una etapa temprana del desarrollo y totalmente diferenciado al nacimiento.

Ejemplo: las células mesodérmicas se transforman en mesenquimáticas, adquiriendo la capacidad de desplazarse para localizarse en otras regiones del cuerpo. Las destinadas a ser tejido muscular, por ejemplo, se localizan en la pared corporal. Adquieren forma ahusada, con núcleos ovoidales, denominándose mioblastos uni o mononucleados. Éstos dejan de tener capacidad mitótica y se fusionan formando sincitios o células multinucleadas denominadas miotubos. En los miotubos se produce la síntesis de actina y miosina. El aspecto ahusado y

multinucleado es un signo de diferenciación morfológica del músculo esquelético y la detección de proteínas contráctiles, un signo bioquímico.

La diferenciación celular es un proceso gradual y continuo. Por razones de la limitación de los métodos de estudio y la necesidad de establecer parámetros, se habla de estadios de desarrollo en la formación de las estructuras embrionarias. Tales estadios son construcciones mentales, ya que en la realidad, no hay límites en el proceso de diferenciación lo suficientemente claros como para establecer "fronteras" entre los momentos por los que atraviesa un tipo celular para dar origen a otro.

¿La diferenciación celular lograda es una característica permanente? Se conocen ejemplos de organismos en los cuales se produce una "desdiferenciación" de células totalmente diferenciadas y luego una "rediferenciación" de las mismas. Por ejemplo, en el proceso de regeneración de los miembros de algunos anfibios, se observa una desdiferenciación de las células musculares y cartilaginosas. Estas células adquieren propiedades mitóticas y dan lugar a los nuevos tejidos muscular y cartilaginoso del miembro en regeneración.

4.3. Citodiferenciación y genes: a pesar de la progresiva diferenciación que presentan las células a medida que el desarrollo avanza, todas las células presentan, desde el punto de vista genético, la misma información. Dado que los genes actúan determinando la síntesis de proteínas, es lógico suponer que muchos de ellos se inactivan (pero no desaparecen) a medida que la diferenciación progresa.

5. Migración celular

Cuando se observan al microscopio distintos tipos de tejidos, se comprueba que las células que los componen presentan una distribución en el espacio específica. Así, en el hígado, los hepatocitos se disponen en cordones, en el riñón forman túbulos, en la corteza cerebral se constituyen en capas, etc. La histoarquitectura de cada órgano no es resultado del azar, sino un reflejo de propiedades celulares que se manifiestan durante la histogénesis y la organogénesis embrionarias. En numerosas ocasiones, la distribución y organización normal de los tejidos y órganos depende del desplazamiento o la migración celular, tanto en forma aislada como en grupos. En el proceso de migración cumplen importantes funciones los cambios en las propiedades fisicoquímicas de la periferia celular y de los componentes citoplasmáticos. Experimentalmente se ha comprobado que las células pueden reconocerse y adherirse entre sí siguiendo un plan predeterminado.

Movimiento: para poder desplazarse desde su lugar de origen, una célula debe romper el contacto y la adhesión con sus vecinas. Este desplazamiento implica la

existencia de un aparato locomotor intracelular, de un camino a seguir y de la posibilidad de determinar cuándo detenerse. El avance celular se debe a que, al nivel de la membrana celular aparecen, en el área que inicia su desplazamiento, proyecciones citoplasmáticas semejantes a pseudópodos. Estos se extienden y fijan al sustrato, luego el cuerpo celular se desplaza hacia ese punto de anclaje, y la operación se repite. Al microscopio electrónico se ha podido determinar la presencia de fibrillas contráctiles, del tipo de la actina, en el interior de las células en movimiento. El camino a seguir por las células en movimiento podría estar determinado por fenómenos de quimiotactismo. En éstos, en el lugar al que deben acceder las células que se desplazan, se elaborarían sustancias que atraerían a las mismas. Otro mecanismo teórico es el de la orientación por contacto, mediante el cual las células se moverían siguiendo la disposición espacial del sustrato sobre el que lo hacen. En este mecanismo resultaría importante la afinidad química entre las células y el sustrato. Los sustratos pueden ser membranas basales o fibras conectivas. Otra hipótesis sobre el desplazamiento celular sostiene que muchos tipos celulares se desplazan al azar, hasta que, por un fenómeno de fijación selectiva, encuentran estructuras o superficies que provocan su detención.

Llegadas a su posición definitiva, las células deben poder reconocer a otras células de ese lugar y establecer contacto y adhesión estable con ellas. Los fundamentos físicos y químicos de la adhesión celular se explican a partir de la existencia de especializaciones de la membrana plasmática (uniones estrechas, uniones intermedias y desmosomas).

Las células que se desplazan pueden establecer asociación con otras células y constituir láminas epiteliales. Esta asociación reduce la capacidad motriz de las células individuales pero se desarrolla la propiedad de movimiento en conjunto. Transcurrido cierto tiempo de contacto y asociación, se desarrollan entre las células medios de unión, como los desmosomas, que hacen de la asociación un estado permanente.

¿Cuándo se detiene el desplazamiento de células? El establecimiento de contactos intercelulares es el mecanismo más conocido de control de los movimientos. El movimiento se detiene por el fenómeno denominado inhibición por contacto. Este consiste en el establecimiento de coaptaciones entre superficies celulares vecinas. La inhibición por contacto, además de controlar el movimiento celular, controla la orientación o dirección del desplazamiento debido a que se ha observado que cuando una célula inhibe su movimiento por contactar con otra en un lado, el sector libre de su superficie adquiere o se transforma en un borde de avance activo.

6. Muerte celular

Hasta ahora hemos hecho referencia a mecanismos o procesos que promueven la diferenciación y el crecimiento de células y tejidos en el embrión. Sin embargo, un mecanismo muy importante en el desarrollo es la muerte celular. En los embriones de mamíferos con fórmula cromosómica XX o XY (hembras y machos respectivamente), se presentan, durante las primeras etapas del desarrollo, los componentes necesarios para formar ambos sistemas reproductores. Para que ocurra una diferenciación sexual normal, en los embriones machos deben desaparecer estructuras propias de las hembras y viceversa. La desaparición implica la muerte de aquellas células pertenecientes a los esbozos del sexo opuesto al que el embrión debe desarrollar según su fórmula cromosómica.

Durante la formación de los miembros, se van desarrollando esbozos que presentan áreas temporarias. Por ejemplo, en las extremidades, los dedos se diferencian en un principio totalmente unidos entre sí, mediante las llamadas membranas interdigitales. Las células que constituyen esas membranas deben morir para que los dedos queden libres.

El mecanismo de muerte celular está regulado por factores intrínsecos (genético) y extrínsecos (hormonales, morfogénos) a la célula. Se conocen variedades de ratones de laboratorio que padecen ceguera como consecuencia de poseer una mutación genética que produce la muerte de células de la retina. Entre los factores extrínsecos, se destaca la acción de sustancias hormonales y la influencia de células vecinas en el proceso de muerte. Un ejemplo de acción hormonal se encuentra en la diferenciación sexual donde, en los embriones XY, se liberan sustancias que actúan sobre las estructuras con función femenina y determinan su muerte. Entre las causas por vecindad, se ha comprobado experimentalmente que son las células vecinas a la zona afectada de muerte las que inducen dicho fenómeno.

La muerte celular programada se denomina **apoptosis**. Desde el punto de vista biológico la apoptosis es un mecanismo que permite a los metazoos controlar el número de células en los tejidos y eliminar células individuales que comprometen la supervivencia del animal. Se ha descubierto que las células poseen en su membrana plasmática un tipo particular de receptores, denominados receptores de la muerte. Estos receptores detectan la presencia, en el medio extracelular, de “señales de muerte” y en respuesta, inician inmediatamente la puesta en marcha de la maquinaria apoptótica intrínseca (sistema enzimático con promotores e inhibidores específicos).

La apoptosis se presenta como un mecanismo esencial en el desarrollo embrionario, pero lo es también en toda la vida de un organismo ya que se observa, por ejemplo, durante el recambio celular y la fase final de la respuesta inmune. La alteración de la apoptosis puede conducir a anomalías del desarrollo en los embriones o a

desórdenes tales como las enfermedades de Parkinson o la de Alzheimer (apoptosis no programada) o el cáncer (falta de apoptosis de células anómalas).

7. Procesos morfogénéticos o topogénesis embrionaria

La morfogénesis es el cambio en la forma y/o la localización, tanto de una célula como de un tejido o estructura embrionarios. En los embriones se producen cambios de posición y forma que en conjunto se denominan **procesos morfogénéticos**.

Durante la gastrulación se verifica el desplazamiento de grupos celulares que, una vez llegados a su destino, inician interacciones con las células vecinas que activan o reprimen genes. De esta manera se delimitan áreas o territorios en el cuerpo embrionario donde se diferencian distintos tipos celulares y se conforman los órganos. Al conjunto de desplazamientos se lo denomina movimientos morfogénéticos o topogénesis, y al conjunto de procesos de interacción: inducción embrionaria.

Los procesos morfogénéticos se pueden clasificar en:

- Expansión de una capa

Un ejemplo de este proceso de crecimiento en láminas o capas lo constituye la expansión del endodermo para constituir el saco vitelino en las aves. La capa celular, a medida que ocurren las mitosis, se desplaza como un conjunto sobre un sustrato que le sirve de base. Las células más activas en la expansión se localizan en los bordes y el mecanismo implicado es la motilidad celular. La expansión se detiene al contactar las células del borde con otras células (inhibición por contacto).

- Engrosamiento local de capas

El engrosamiento localizado es un proceso que participa en la conformación de órganos. Se lo asocia más con el alargamiento celular que con la multiplicación del número de células. Por ejemplo, la formación inicial del neuroectodermo, se caracteriza por un alargamiento de las células inducidas (pasan de cúbicas a columnares). Engrosamientos múltiples ocurren en el desarrollo de los folículos pilosos o las plumas.

- Invaginación

Generalmente, al engrosamiento localizado descrito en el punto anterior, le sigue un desplazamiento de las células modificadas hacia el interior del cuerpo embrionario, proceso denominado invaginación. Este proceso se asocia con un fenómeno de inducción y cambios en las propiedades bioquímicas de las células inducidas. Se ha

observado, en el caso del neuroectodermo que, luego de su engrosamiento, en el interior de sus células aparecen fibrillas contráctiles de actina.

Los procesos de invaginación del ectodermo o del endodermo en la formación de glándulas están relacionados con procesos inductivos de las células mesenquimáticas periféricas.

- Invaginación de capas

En la formación de algunos órganos, como por ejemplo el ojo o el oído interno, participan estructuras vesiculares, parte de las cuales se invaginan hacia la cavidad interna del cuerpo.

- División de capas.

En algunas hojas epiteliales durante el desarrollo se forman grupos celulares en disposición laminar que terminan separándose de la capa originaria.

- Formación de células libres

Este proceso morfogenético aporta componentes celulares para diversos órganos. El mismo consiste en la división de grupos celulares con la consecuente migración de un grupo, la mayoría o todas sus células. A las células modificadas y con capacidad motriz se las denomina mesenquimáticas o mesénquima.

- Concentración de células asociadas a láminas o estructuras

Las células mesenquimáticas migrantes o periféricas a un tejido, pueden agruparse y rodear a una estructura embrionaria conformándole una cápsula, o bien constituir la periferia de blastemas precursores de diferentes órganos.

- Agregación de células independientes de otras estructuras

Las células mesenquimáticas se agrupan para dar origen a órganos o estructuras como las cartilagosas, musculares u óseas.

- Regresión de órganos

La regresión de algunos órganos embrionarios se asocia al mecanismo de muerte celular programada.

8. Plan morfológico de los embriones: crecimiento y diferenciación

Formación de patrones

La formación de patrones o modelos básicos de desarrollo, es la organización de grupos o subgrupos celulares en el espacio, adquiriendo una disposición especial entre sus componentes y con tejidos o estructuras vecinas. Los ejemplos de este ordenamiento en la distribución de grupos celulares lo constituye el desarrollo del plumaje en las aves, el pelaje en los mamíferos, los dientes en la boca o los músculos en las extremidades. En general, el primer signo visible en esos casos es la aparición de agrupamientos celulares de tipo mesenquimático en proximidad de una lámina epitelial o en el interior de un esbozo. La disposición de esos agrupamientos responde a un patrón o modelo de índole genética.

Fundamentos genéticos del desarrollo

Desde el cigoto se van constituyendo, en forma gradual, todos los componentes necesarios para que un nuevo organismo adquiera piel, un sistema nervioso, estructuras de sostén y mantenimiento, etc. Mucho antes de que se produzca la especialización celular, se presenta un esquema que define las principales regiones del cuerpo: la cabeza, el tronco, la cola y las extremidades. Este esquema determina que tejidos casi idénticos se combinen de forma tal que den lugar a estructuras anatómicas muy diferentes, tales como las extremidades o la cabeza. La embriología molecular ha tratado de explicar dichos fenómenos y ha llegado al aislamiento y la caracterización de genes específicos que participan en el establecimiento del esquema corporal de los embriones. Tales genes se agrupan en una familia génica denominada "**genes homeobox**" o "**genes con caja homeótica**". La acción de estos genes conduce a la división del embrión en campos celulares determinados a originar tejidos y órganos específicos.

Los estudios sobre la acción de genes homeobox se han llevado a cabo en invertebrados y en algunos vertebrados como ranas y roedores de laboratorio. La especie más utilizada actualmente es la rana *Xenopus laevis*, dado el elevado número de huevos que produce y su fácil manejo en laboratorio. Como todos los vertebrados se desarrollan en forma similar en sus etapas tempranas, la mayoría de los mecanismos biológicos responsables de dicho desarrollo en las ranas son comunes a peces, aves, reptiles y mamíferos.

La determinación del eje antero-posterior (céfalo-caudal) del embrión es la piedra angular del desarrollo, debido a que proporciona la línea central a lo largo de la cual se desarrollarán las demás estructuras. Los genes homeobox controlan el desarrollo en animales tan distintos como la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) y el ratón. Estos genes dividen al embrión, a lo largo del eje cabeza-cola, en bandas con diferentes potenciales de desarrollo. Todos los genes homeobox parecen tener un origen evolutivo común.

Los experimentos de Edward Lewis desde 1948 con genes mutantes, los de 1980 de David Hogness y Welcome Bender, y los de 1983 de Walter Gehring y Williams McGinnis, han llevado a la conclusión la existencia de "genes rectores" que dirigen la actividad de muchos "genes subordinados" durante el desarrollo de un órgano o región corporal. Analizando la estructura o secuencia de ADN de varios genes rectores se descubrió que todos ellos poseían una región idéntica (o "secuencia conservada"). Al comparar la secuencia conservada de ranas, con ciempiés, gusanos de tierra e insectos, se descubrió, en 1983, que era la misma. A tal secuencia se la denomina "**homeobox**". El homeobox codifica una serie de 60 aminoácidos que, integrados en una proteína reguladora, se unen a secuencias específicas de ADN en los genes subordinados. Al concretarse esta unión, las proteínas pueden inhibir o activar genes específicos que controlan la diferenciación celular.

¿Cómo dirigen los genes con homeobox la diferenciación celular durante el desarrollo? Para lograr responder a esta pregunta se analiza la localización en el cuerpo del embrión de las proteínas sintetizadas por los genes homeobox en distintos momentos del desarrollo. Con este tipo de análisis se estableció que determinadas proteínas están más concentradas en una región que en otra, distribuyéndose en un gradiente de concentración. Según la "cantidad de proteína" presente en una región será el o los órganos que se desarrollen en ella.

Cada gen con homeobox tiene actividad en distinta región del cuerpo. De esta manera, podemos imaginar a los embriones divididos en campos celulares desde la región cefálica a la caudal, que presentan distinta potencialidad evolutiva. Esta división en campos es previa a la organogénesis.

Tanto en vertebrados como en invertebrados, los genes homeobox se agrupan en complejos en un cromosoma. En otras palabras: en la molécula lineal de ADN que constituye cada cromosoma, los genes homeobox están dispuestos en orden. Analizando embriones de ratón se observó que el orden de tales genes en un cromosoma se corresponde con el lugar en que se expresan. Así, los genes con homeobox situados cerca del extremo izquierdo de un cromosoma se expresan en las regiones posteriores del cuerpo y los genes de la derecha se expresan más cerca de la cabeza.

8. Bibliografía

- Aoki, Ch. y Siekevitz, P. 1989. Plasticidad en el desarrollo cerebral. Investigación y Ciencia, 149, 22-31.
- Baker, J.J.W. y Allen, G.E. 1980. Biología e investigación científica. Fondo Educativo

Interamericano,

EEUU.

Balinsky, B.I. 1978. Introducción a la embriología. Ed. Omega. España.

Bodemer, Ch.W. 1972. Embriología moderna. Ed. Interamericana, Bs. Aires.

De Robertis, E.; Oliver, G. y Wright, Ch.V.E. 1990. Genes con homeobox y el plan corporal de los vertebrados. Investigación y Ciencia, 169, 14-21.

Genis Galvez, J.M. 1970. Biología del desarrollo. Ed. Expaxs, Barcelona, España.

Hib, J.2000. Embriología Médica. Ed. El Ateneo. Bs. Aires.

Hughes, S. 2001. Muscle development: reversal of the differentiated state. Current Biology, 11, 237-239.

Jungbluth, S.; Larsen, C.; Wizenmann, A. Y Lumsden, A. 2001. Cell mixing between the embryonic midbrain and hindbrain. Curr. Biol., 11 (3), 204-207.

Martín Blanco, E. Y Knust, E. 2001. Epithelial morphogenesis: filopodia at work. Curr. Biol., 11 (1), 28-31.

Narbaitz, R. 1975. Embriología. Ed. Médica Panamericana, Bs. Aires.

Noden, D.M. y Lahunta, A. 1990. Embriología de los animales domésticos. Mecanismos de desarrollo y malformaciones. Ed. Acribia, España.

OPS/OMS. 2000. Manual de Indización. Capítulo de calificadores. Ed. Bireme, San Pablo, Brasil.