

CUADERNILLO DE EMBRIOLOGÍA GENERAL

Trabajos Prácticos

Flavia A. Leveroni
María S. Esnarriaga
Ana S. Tatarin



Colección: Cuadernos de Cátedra



**Facultad de Ciencias Exactas,
Químicas y Naturales**

Cátedra de Embriología General – Lic. en Genética

Lic. Leveroni, Flavia Antonela.

Lic. Esnarriaga, María Sabina.

Lic. Tatarin, Ana Silvia.

Leveroni, Flavia Antonela

Cuadernillo de embriología general : trabajos prácticos / Flavia Antonela
Leveroni ; María Sabina Esnarriaga ; Ana Silvia Tatarin. - 1a edición para el
alumno - Posadas : Universidad Nacional de Misiones, 2024.
Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-950-766-239-3

1. Desarrollo Embrionario y Fetal. 2. Embriología. 3. Reproducción. I.
Esnarriaga, María Sabina II. Tatarin, Ana Silvia III. Título
CDD 571.86

ANATOMÍA DE LA REPRODUCCIÓN EN VERTEBRADOS

OBJETIVOS:

- ▲ Reconocer las estructuras anatómicas involucradas en la reproducción.
- ▲ Relacionar cada órgano con su función particular.
- ▲ Establecer las diferencias con las estructuras reproductivas de otros grupos de vertebrados.

MARCO TEÓRICO:

Anatomía de la reproducción de peces

Sistema Reproductor Femenino:

El ovario de los peces (teleósteos en particular) puede ser, un saco cerrado que se comunica con la cloaca por medio del conducto ovárico, o bien, puede ser un conjunto de folículos que se abren a la cavidad corporal. Es así que, los ovarios pueden ser órganos pares o impares. El ovario se conforma por tejido conectivo o túnica albugínea que se proyecta en forma radial hacia el centro del ovario en forma de láminas o lamelas que dejan un espacio central, llamado cavidad ovárica y cuyo tamaño depende del grado de desarrollo del ovario. Los ovocitos maduros son descargados dentro de la cavidad ovárica y desplazados hacia el conducto ovárico.

Los ovarios están localizados debajo de la vejiga natatoria y están suspendidos de la pared dorsal por una delgada membrana peritoneal llamada mesovario. Ambos lóbulos están unidos en la parte posterior y desembocan en un corto y amplio oviducto que se abre al poro genital, anterior al ducto urinario (Figura 1).

El desarrollo ovárico se caracteriza por la diferenciación de las células somáticas y de las CPG (células germinales primordiales) que forman folículos. Un folículo se compone de un ovocito rodeado de una capa interna de células llamada granulosa y una capa externa llamada teca. En la mayoría de las especies, el desarrollo gonadal femenino se identifica histológicamente por la proliferación de las células somáticas y las ovogonias, así como con la diferenciación temprana de los ovocitos primarios, y con la formación de la cavidad ovárica.

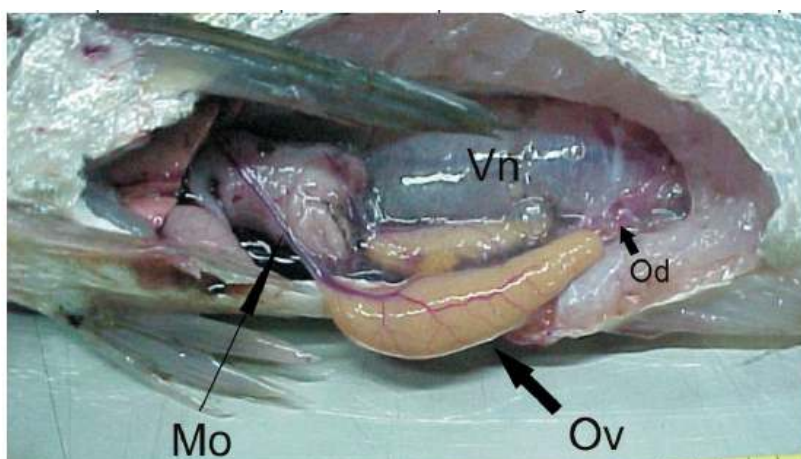


Fig.1: Ovarios de merluza en la cavidad abdominal. **Ov:** ovario, **Mo:** mesovario, **Vn:** vejiga natatoria, **Od:** oviducto (Macchi, Díaz & Goldemberg, 2013).

En la mayoría de los teleósteos, el ovario sufre cambios considerables de tamaño y apariencia a lo largo del ciclo, pudiéndose clasificar en tres tipos básicos según su patrón de desarrollo oocitario:

Ovario sincrónico total: todos los oocitos se encuentran exactamente en el mismo estadio y las hembras mueren después de la puesta. Es el caso de muchos salmónidos.

Ovario sincrónico por grupos: en el ovario se forman al menos dos poblaciones de oocitos en diferente estadio de desarrollo. Las especies con este tipo de ovario generalmente tienen varias puestas consecutivas por hembra a lo largo del periodo reproductivo. Algunos ejemplos son la dorada o la lubina.

Ovario asincrónico: durante el período reproductivo el ovario contiene la misma proporción de oocitos en todos los estadios de desarrollo, y por lo tanto, las hembras pueden reproducirse potencialmente en todo el año. Como ejemplo son algunas especies de caballitos de mar.

Sistema Reprodutor Masculino:

En los peces, desde el punto de vista estructural se han identificado dos tipos de testículos: los tubulares y los lobulares (Figura 2). En la mayoría de los peces, los testículos (Figura 3) son dos órganos alargados, unidos por el mesorquio a la pared dorsal de la cavidad corporal. Están rodeados por una cápsula de tejido conjuntivo fibroso llamada túnica albugínea, de la cual se proyectan trabéculas hacia el interior del testículo, proporcionándoles soporte. Entre las trabéculas se encuentran los túbulos seminíferos rodeados de tejido intersticial, que está constituido de tejido conjuntivo laxo con vasos sanguíneos y linfáticos, células de Leydig y fibras nerviosas. En el interior de los túbulos seminíferos, se forman los gametos masculinos.

En los peces, el conducto deferente es independiente del mesonefro y los conductos urinario y reproductivo, sólo se unen en el extremo posterior, en la región urogenital.

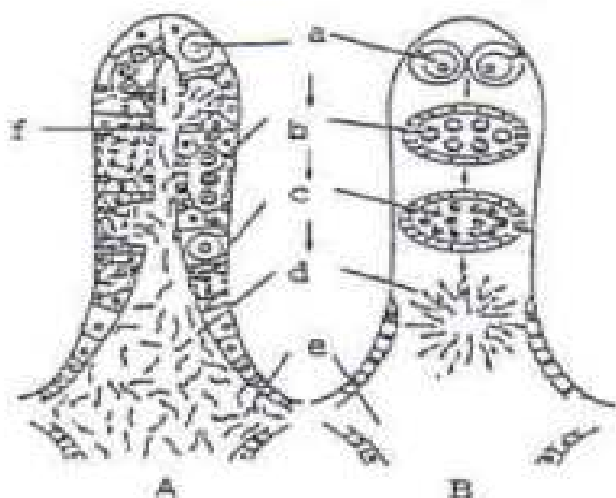


Fig.2: Estructura del testículo en teleósteos. **A:** tipo lobular; **B:** tipo tubular (Carrillo Ávila & López Pulido, 2001).

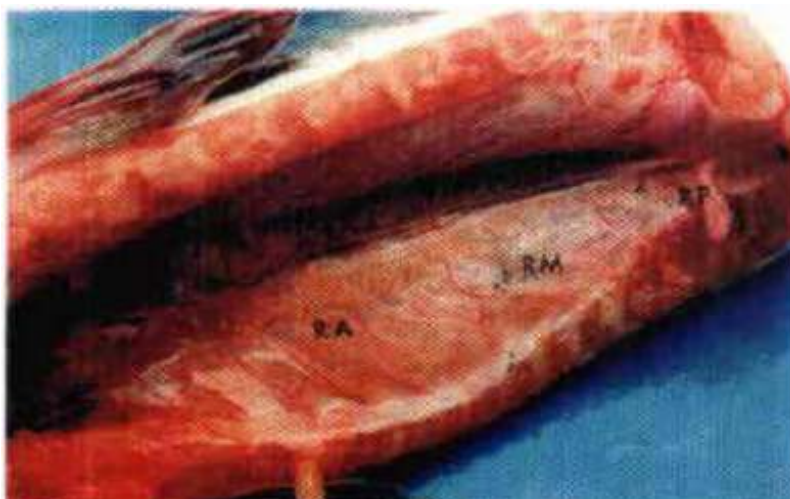


Fig.3: Anatomía macroscópica del testículo. RA: testículo cefálico; RM: región mediar; RP: región posterior (Carrillo Ávila & López Pulido, 2001).

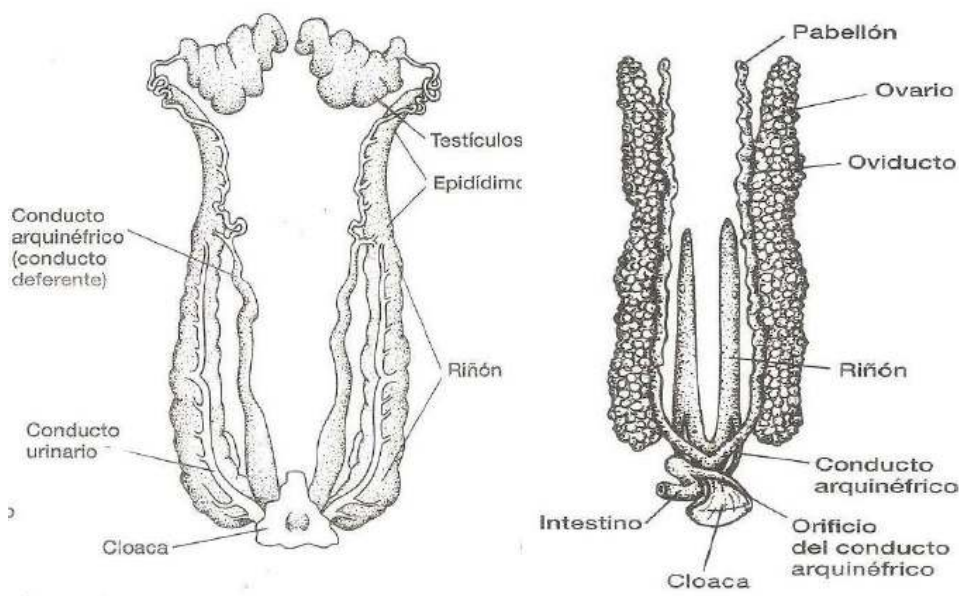


Fig. 4: comparación entre sistema reproductor masculino y femenino en peces.

BIBLIOGRAFÍA:

- Babin, P. J., Cerdà, J. & Lubzens, E. (Eds.). (2007). *The fish oocyte: from basic studies to biotechnological applications*. Springer Science & Business Media.
- Carrillo Avila, M. & Rodríguez Pulido, J. A. (2001). Bases fisiológicas de la reproducción de peces tropicales (No. Doc. 20684) CO-BAC, Bogotá.
- Macchi, G. J., Díaz, A. O. & Goldemberg, A. L. (2013). Aparato genital femenino en peces. *Histología y Embriología Humana y Comparada* (1st ed.). Inarbite, Buenos Aires, 250-256.
- Nagahama, Y. (1983). 6. La morfología funcional de las gónadas teleósteas. En: *Fisiología del pescado* (Vol. 9, pp. 223-275). Prensa Académica.

Anatomía de la reproducción de anfibios

Sistema Reprodutor Femenino:

Los ovarios (Figura 1) se encuentran unidos a la pared dorsal del celoma, cerca de los riñones, mediante un mesenterio (mesovario). Consisten en un par de sacos huecos formados por cuatro a siete lóbulos de paredes delgadas y dobles en los cuales se localizan los folículos. En cada uno de éstos se observan ovocitos pre-vitelogénicos y ovocitos vitelogénicos voluminosos (Figura 2a-c). El ovario se encuentra irrigado por arterias que aportan los nutrientes esenciales para la maduración de los ovocitos.

A cada lado de la línea media dorsal del celoma se sitúa un oviducto arrollado; su extremo anterior es un embudo ciliado abierto (ostium) y su extremo posterior desemboca dorsalmente en la cloaca. En su interior, se encuentra tapizado por crestas longitudinales cubiertas de cilios que transportan los ovocitos a lo largo del conducto. Entre las crestas hay células glandulares que secretan la sustancia albuminoidea que formará la cubierta gelatinosa que recubre los ovocitos y se hincha luego de que se produzca la puesta. Los ovocitos maduros pueden acumularse en la porción posterior ensanchada del oviducto (útero) antes de ser puestos.

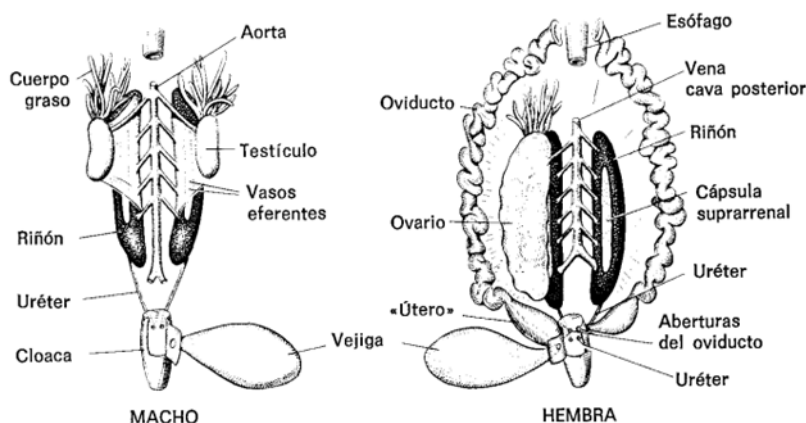


Fig.1: Órganos reproductores de la rana vistos ventralmente. En algunas especies, el extremo posterior del uréter está ensanchado formando una vesícula seminal. A fines de simplificar, en este esquema se ha omitido el ovario izquierdo (Storer *et al.*, 2003).

Sistema Reprodutor Masculino:

En el macho, los testículos se encuentran unidos mediante mesenterios (mesorquios) cerca de los riñones y consisten en una masa de conductillos seminíferos arrollados (Figuras 1 y 2d). Una vez maduros los espermatozoides, ingresan en los conductos eferentes que se comunican con los conductos uriníferos situados en la parte anterior del riñón. A través de estos conductos llegan al uréter (que es un conducto urogenital unido) y una vez allí, quedan almacenados en la parte posterior hasta el momento del apareamiento. En algunas especies, esta región se encuentra ensancha formando una vesícula seminal. Durante el apareamiento, los espermatozoides son descargados por la abertura cloacal.

Los cuerpos grasos (Figura 2e) son estructuras situadas sobre los testículos y almacenan sustancias nutritivas utilizadas por los machos durante la época de apareamientos.

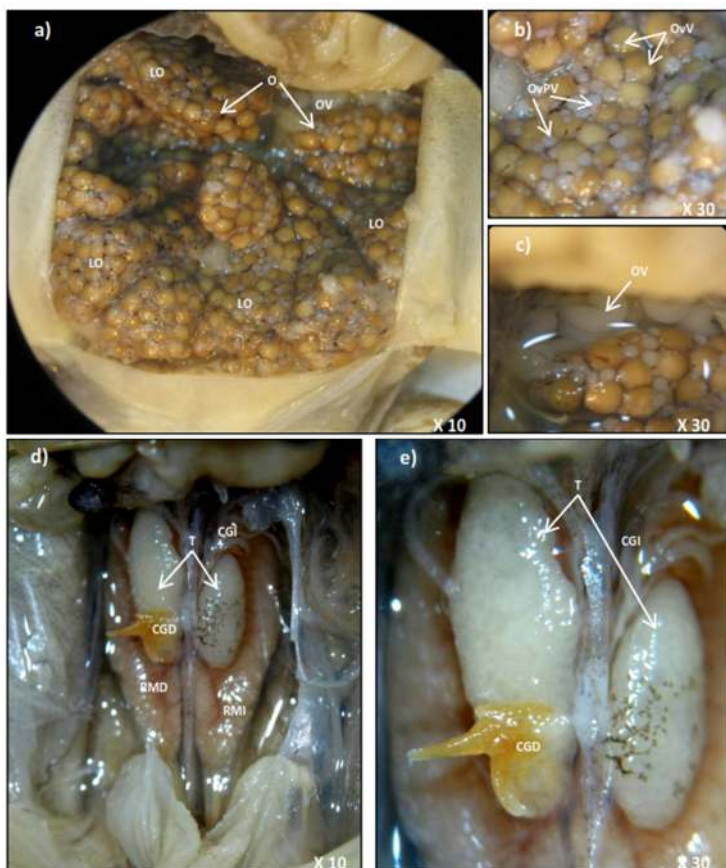


Fig.2: Sistema urogenital de *Physalaemus santafecinus* en individuos adultos (Sandoval y Gómez, 2010). **a)** Hembra; **b)** Detalle de un lóbulo ovárico; **c)** Detalle del oviducto; **d)** Macho; **e)** Detalle de los testículos y cuerpos grasos. CGD: Cuerpos grasos derechos, CGI: Cuerpos grasos izquierdos, LO: Lóbulos ováricos, O: Ovarios, OV: Oviducto, OvPV: Ovocitos pre-vitelogénicos, OvV: Ovocitos vitelogénicos, RMD: Riñón mesonéfrico derecho, RMI: Riñón mesonéfrico izquierdo, T: Testículos.

BIBLIOGRAFÍA:

- Sandoval, M. T. & Gómez, M. L. (2010). Desarrollo y morfología del sistema urogenital *Dephysalaemus santafecinus* Barrio 1965 (ANURA: LEIUPERIDAE). *FACENA*, 26, 29-41. <http://exa.unne.edu.ar/revisfacena/26/29-41.pdf>
- Storer, T. I., Usinger, R. L., Stebbins, R. C. & Nybakken, J. W. (2003). *Zoología general* (6° ed.). McGraw-Hill Book Company; Omega.

Anatomía de la reproducción de aves

Sistema Reproductor Femenino:

En las hembras se encuentran plenamente desarrollados el ovario y el oviducto izquierdo (Figura 1), mientras que el lado derecho degenera por completo.

En el ovario, los folículos cuaternarios contienen ovocitos en un estado de maduración completo rodeado de células foliculares.

El oviducto es un conducto muscular convoluto, cuya función es transportar el ovocito desde el ovario hasta la cloaca, aportando a su alrededor las membranas terciarias secretadas por la mucosa de las distintas regiones. También transporta en aves el líquido seminal hacia el infundíbulo, lugar en el que se produce la fecundación. El oviducto se divide en 5 regiones (Figura 2): el **infundíbulo**, el **magnum**, el **istmo**, el **útero** y la **vagina**.

El infundíbulo es el encargado de recibir al ovocito, tiene forma de embudo y rodea casi completamente al folículo. Allí ocurre la fecundación, ya que el espermatozoide no puede penetrar al ovocito una vez que este está recubierto de albúmina. Presenta una región angosta en donde se realiza la secreción de las chalazas.

Las glándulas del magnum secretan el albumen o clara de huevo. La albúmina es una reserva de proteínas y nutrientes para el crecimiento embrionario.

En el istmo se segregan 2 membranas queratinosas y fibrosas formando un saco que cubre y conserva el contenido del huevo: las membranas testáceas. Sirven como soporte donde se deposita la cáscara dura ya que en ésta se forman los núcleos mamilares de la cáscara, al tiempo que comienza el depósito de calcio.

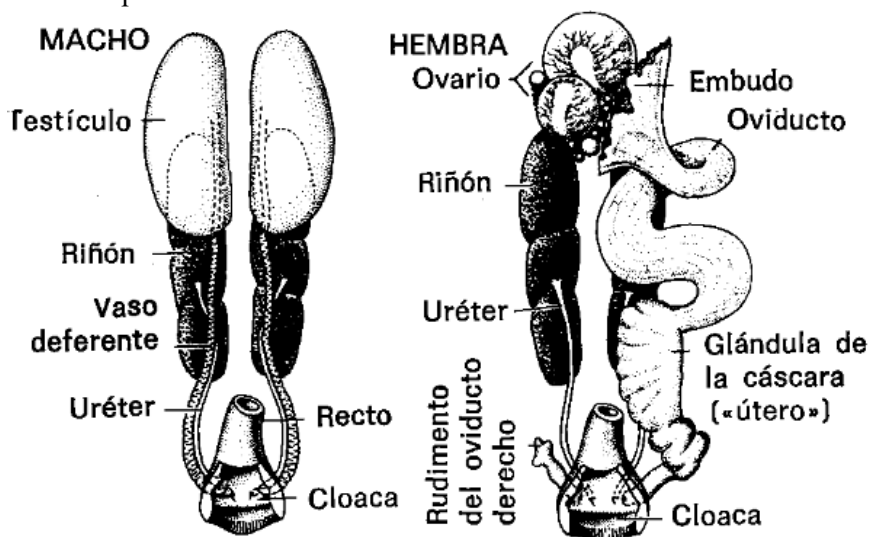


Fig.1: Vista ventral de los sistemas reproductores del pollo doméstico (Storer *et al.*, 2003).

El útero produce la mayor parte de la cáscara. En esta se agrega líquido al huevo (agrandamiento) y se secretan los pigmentos que le dan el color característico a la cáscara.

La vagina no aporta ningún elemento al huevo, siendo solo el nexo entre el oviducto y el *urodeum* cloacal.

La fecundación del ovocito se produce en el infundíbulo, pero el semen se puede almacenar durante mucho tiempo en unas glándulas que se encuentran en la zona de unión entre el útero y la vagina. En estas glándulas el espermatozoide puede sobrevivir hasta 21 días luego de la inseminación; por lo tanto, con una sola copulación se puede fecundar varios ovocitos de distintos ciclos.

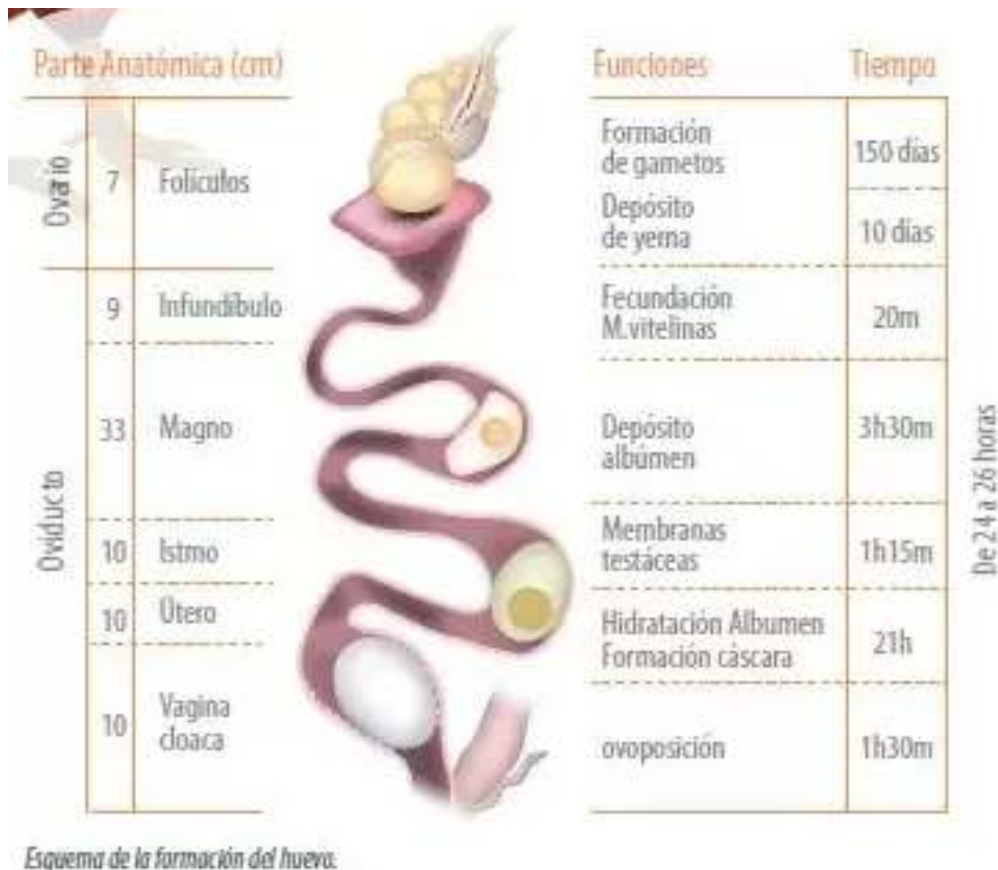


Fig.2: Esquema del sistema reproductor de la gallina que muestra el trayecto del ovocito por las distintas regiones del oviducto, así como sus respectivas funciones (imagen tomada del sitio web www.avinews.com).

Sistema Reproductor Masculino:

En el macho, el sistema genital es más simple que en los mamíferos. Consiste en un par de testículos intrabdominales, epidídimos muy cortos y conductos deferentes muy largos y convolutos que terminan en el *urodeum* cloacal por medio de los conductos eyaculadores. Cada conducto eyaculador protruye en el *urodeum* formando cuerpos cónicos eréctiles. El órgano de copulación está constituido por estos cuerpos cónicos más una serie de formaciones, cuerpos y pliegues eréctiles que se encuentran en el proctodeum, no existiendo un pene verdadero.

BIBLIOGRAFÍA:

- Sánchez, A. & Lawzewitsch, I. (1984). *Lecciones de Embriología Veterinaria* (3° ed.). Capítulo 2. Hemisferio Sur.
- Storer, T. I., Usinger, R. L., Stebbins, R. C. & Nybakken, J. W. (2003). *Zoología general* (6° ed.). McGraw-Hill Book Company; Omega.
- Zaviezo, D. (2024, 27 marzo). *Puntos críticos en la nutrición de gallinas ponedoras*. aviNews.com. <https://avinews.com/gallinas-ponedoras-actuales-puntos-criticos-nutricion/>

Anatomía de la reproducción de mamíferos

Por cuestiones didácticas, tomaremos como modelo al ser humano y luego se irán comparando las diferencias con los animales domésticos.

Sistema Reprodutor Femenino:

Los órganos genitales femeninos comprenden los ovarios, las trompas de Falopio, el útero, la vagina y los órganos genitales externos.

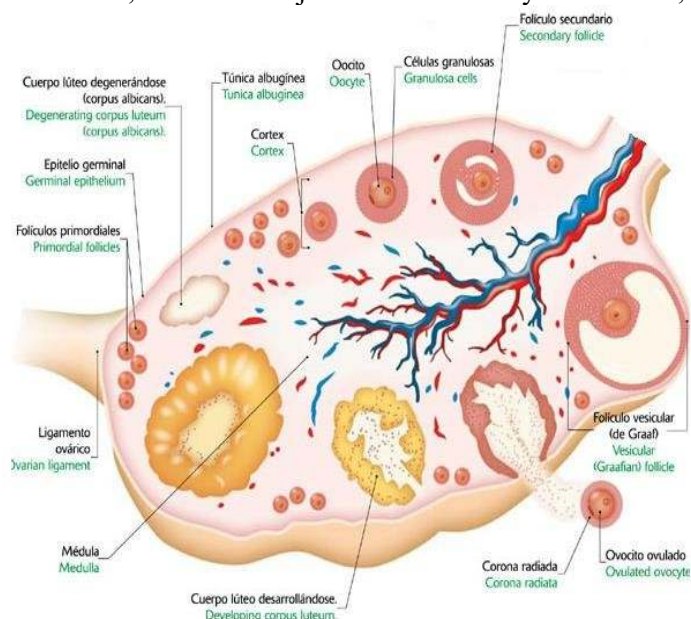
Ovarios

Son órganos pares de aproximadamente 2,5 a 4 cm de largo. Se sitúan en las paredes laterales de la cavidad pélvica, fijados al útero por medio del ligamento ancho y el ligamento útero-ovárico, mientras que el ligamento suspensorio los sujeta a la pelvis. Poseen dos funciones características, la producción de gametas femeninas (ovogénesis) y elaboración de dos hormonas:

- ▲ El **estrógeno** (hormona folicular) es secretado por el folículo ovárico; controla el desarrollo de las características sexuales secundarias, e inicia el crecimiento de la mucosa del útero durante el ciclo menstrual.
- ▲ La **progesterona** es secretada por el cuerpo lúteo. Es indispensable para la implantación del óvulo fecundado, es la hormona que evita el desprendimiento del endometrio para el desarrollo inicial del embrión.

Antes de la primera ovulación, el ovario es liso y rosado, pero más tarde se vuelve gris y rugoso por las cicatrices que aparecen después de la descarga de sus folículos. Su tamaño varía con la edad y con la etapa del ciclo ovárico.

El ovario está envuelto por un epitelio cúbico simple superficial. Aunque el epitelio es denominado “epitelio germinativo”, no tiene ninguna relación con las células germinales del ovario: es continuación del mesotelio que recubre el mesoovario. Hacia dentro de este estrato, se divide el tejido en una corteza y una médula, esta última muy vascularizada (Figura



1). Seguidamente, al epitelio se diferencian óvulos primordiales que emigran al interior de la corteza, zona periférica del ovario formada por el estroma cortical y folículos en desarrollo. Un folículo ovárico es una estructura formada por una célula germinal femenina (en la fase de ovocito primario) rodeada por una capa de células foliculares—las células de la granulosa—constituyéndose así un folículo primordial. Entre los 13 y 46 años, se desarrollan entre 400 a 500 folículos primordiales que expulsan su ovocito secundario, el resto degenera.

Fig.1: Esquema que muestra la estructura interna del Ovario y el proceso de formación de Folículos (Vantman & Vega, 2010).

Trompas de Falopio

Son dos conductos que se encargan de conducir a los “óvulos” desde los ovarios hasta la cavidad del útero. Es el lugar donde generalmente ocurre la fecundación del ovocito secundario por el espermatozoide.

Cada trompa de Falopio mide unos 10 cm de largo y se localiza en el borde superior libre y entre las dos capas del ligamento ancho. Consta de tres capas: una mucosa, una muscular y una serosa. Es posible subdividir la trompa en cuatro partes (desde el ovario hacia el útero):

1. El **pabellón o infundíbulo** se parece a un embudo, y es el lugar por donde entra el óvulo una vez que ha sido expulsado del ovario. Las fimbrias son prolongaciones irregulares delgadas que se proyectan desde los bordes del pabellón, cuya función es recoger el óvulo.
2. La **ampolla** es la parte más larga y más ancha de la trompa. Es ligeramente tortuosa y sus paredes son relativamente delgadas.
3. El **istmo** es más angosto y tiene paredes más gruesas.
4. La **porción intersticial o porción uterina** se encuentra en la pared del útero y termina en la cavidad del útero, con el orificio uterino.

Si el óvulo es o no fecundado, su movimiento a través de la trompa requiere 3 o 4 días y es influido tanto por la acción ciliar de las células epiteliales como por la acción peristáltica de la capa muscular.

Las trompas de Falopio son el sitio más común de embarazo ectópico.

Útero

El útero es el órgano de la gestación: donde el óvulo fecundado normalmente anida y en el cual el organismo en desarrollo crece y es nutrido hasta su nacimiento. Junto a la vagina, forman el canal del parto (Figura 2).

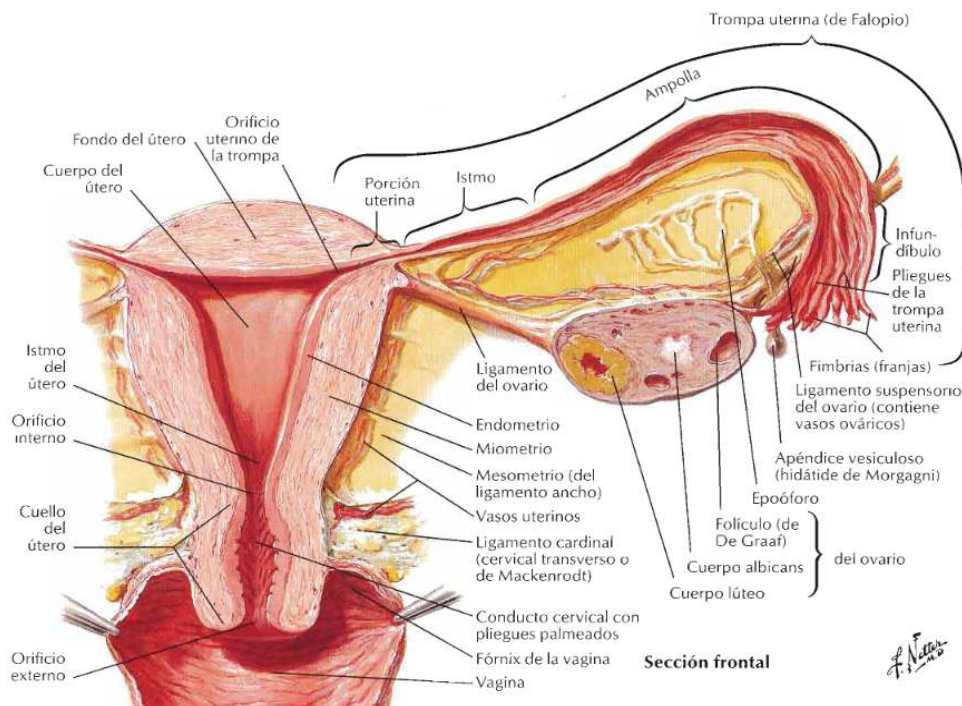


Fig.2: Esquema del sistema reproductor femenino (Netter,2007).

El útero tiene forma de pera invertida y se ubica en la pelvis. Su posición no es fija y cambia con el grado de llenado de la vejiga y con el grado de dilatación del recto. Está sujeto por pliegues y ligamentos, tales como el ligamento ancho (se extiende hacia las paredes laterales de la pelvis), el ligamento redondo (se extiende hacia los labios mayores) y los ligamentos úterosacros (unen el útero al sacro, uno a cada lado del recto). El útero mide aproximadamente 8 cm de largo, 4 cm de ancho en su parte superior y 2 cm de espesor. Consta de tres capas: una mucosa o endometrio, una muscular o miometrio y una serosa o perimetrio.

Es posible dividir el útero en cuatro partes:

1. El **fondo** es la parte redondeada del útero que se encuentra por arriba de los orificios uterinos.
2. El **cuerpo** es la parte principal (2/3 partes).
3. El **istmo** es la parte estrecha del útero y mide aproximadamente 1 cm o menos de longitud.
4. El **cuello** uterino se extiende desde el istmo hacia el orificio de la vagina. Es la parte menos móvil del útero.

Al tener en cuenta las hembras de otras especies animales, es posible definir cuatro tipos de úteros: simples (como el de la mujer), dobles, bicornios y bipartitos. Las características de estos últimos se verán más adelante.

Vagina

Es el órgano femenino de la cópula y el extremo inferior del canal de parto. También sirve como conducto excretorio del producto de la menstruación.

Se ubica detrás de la uretra y la vejiga, y su abertura externa se encuentra entre los labios menores, detrás del orificio uretral. En el vestíbulo se encuentra cerrada por una delgada membrana -el himen-. La vagina mide 6-7 cm en su parte anterior y 8-9 cm en su parte posterior. Consta de tres capas: una mucosa recubierta por epitelio escamoso estratificado, gruesa y con rugosidades transversales; una muscular y una fibrosa de tejido conectivo. Es un órgano poco sensible, excepto en su porción inferior, y muy dilatable.

Órganos genitales externos

Son conocidos en conjunto como vulva y comprenden: el monte de Venus, labios mayores, labios menores, vestíbulo vaginal, clitoris, bulbos vestibulares y glándulas vestibulares. Tienen como funciones amortiguar, lubricar y hacer placentero el acto sexual (Figura 3).

Monte de Venus

Es una elevación redondeada situada por delante de la sínfisis del pubis, constituida en su mayor parte por tejido graso. Después de la pubertad, la piel de esta región queda cubierta de vellos.

Labios mayores

Son pliegues alargados que forman los límites de la hendidura vulvar o pudenda. Su



Fig.3: Esquema de la Genitalia femenina externa (imagen tomada de: www.ginecologaviesca.es).

cara interna es lisa y húmeda, siendo la externa pigmentada, con vellos y con glándulas sebáceas. El tejido subcutáneo está constituido en su mayor parte por tejido graso

Labios menores

Son dos pliegues cutáneos localizados entre los labios mayores, a cada lado del orificio vaginal. Carecen de grasa, y la piel que los cubre es lisa, húmeda y rosada. Por delante, cada labio se divide en porciones externa e interna: la externa se une con el lado puesto y forman el prepucio del clitoris; las dos porciones internas se unen por debajo del clitoris formando el frenillo del mismo.

Vestíbulo vaginal

Es la hendidura que queda entre los labios menores. Presenta los orificios de la vagina, la uretra y los conductos de las glándulas vestibulares mayores y menores. El orificio externo de la uretra se ubica detrás del clitoris y delante del orificio vaginal.

Clitoris

Es el homólogo del pene, por lo que está formado por tejido eréctil. Es una pequeña prominencia en forma de “C” que puede aumentar de tamaño por ingurgitación venosa. Posee un cuerpo, un glande, prepucio y frenillo.

Bulbos vestibulares

Son dos masas alargadas de tejido eréctil que se encuentran a los lados del orificio vaginal.

Glándulas vestibulares mayores o de Bartholin

Son dos, localizadas detrás de los bulbos vestibulares, pequeñas y ovoideas. Son comprimidas durante el coito y secretan moco que lubrica la extremidad inferior de la vagina. Son homólogas a las glándulas bulbouretrales del varón.

Glándulas parauretrales o de Skene

Son más pequeñas que las anteriores; humedecen y lubrican las superficies.

EL SISTEMA REPRODUCTOR FEMENINO EN LOS ANIMALES

CERDA:

Los ovarios presentan apariencia irregular lobulada debido a los folículos y cuerpos lúteos. El útero es bipartito, con cuernos extremadamente largos, flexuosos y libremente móviles, de 1,2 a 1,5 m de largo. El cuello uterino se continúa directamente con la vagina, sin una proyección intravaginal, lo que permite el depósito intrauterino del semen (Figura 4). El clitoris es largo y flexuoso.

Las glándulas mamarias se encuentran en número de 10 a 16, dispuestas en dos filas; cada pezón tiene comúnmente dos conductos. Están ubicadas entre las axilas y la ingle.

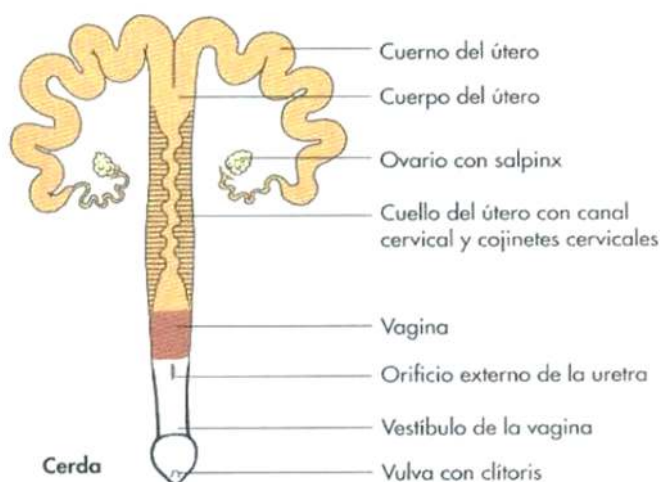


Fig.4: Esquema del Sistema Reproductor de la cerda (König & Liebich, 2011).

PERRA Y GATA:

Los ovarios son pequeños. Las trompas son cortas y ligeramente flexuosas. El útero es bipartito, corto con cuernos muy largos, casi rectos, que divergen en forma de "V" y no existen líneas de demarcación entre el útero y la vagina (Figura5). El clítoris no presenta estructuras eréctiles, y se halla infiltrado por grasa; sólo el glándula posee tejido erétil.

Las glándulas mamarias son generalmente 10, dispuestas en dos filas de 5, desde el tórax hasta la ingle (pueden ubicarse asimétricamente). Los pezones son cortos, con 6 a 12 orificios cada uno (conductos excretores).

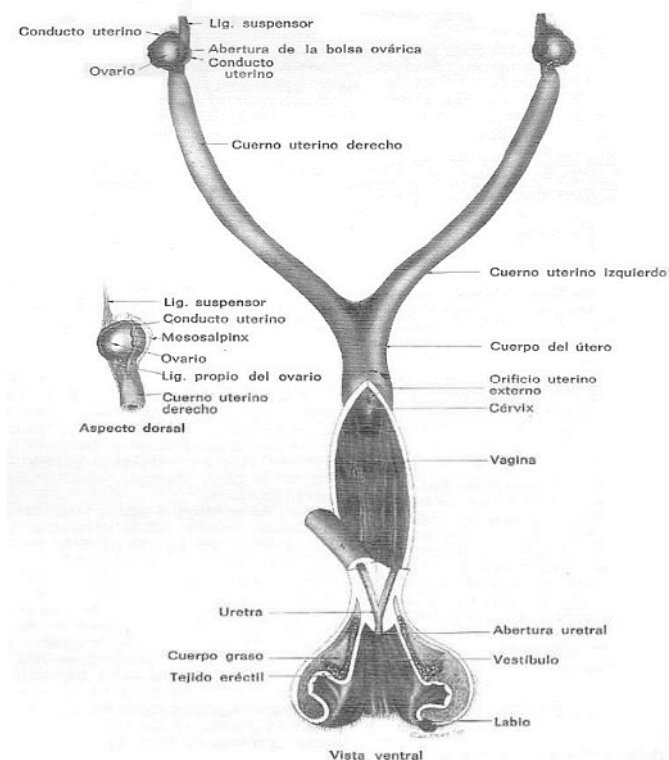


Fig.5: Esquema del sistema reproductor de la perra visto ventralmente y detalle de la vista dorsal del ovario (Sisson, Grossman & Getti, 2001).

YEGUA:

Los ovarios poseen forma de judía, de 8 a 10 cm de largo. Su estructura es peculiar y difiere de la de las otras hembras en el hecho de que la zona medular vascular rodea a la corteza o zona parenquimatosa. De esta manera, los folículos acceden al exterior de la gónada mediante una depresión estrecha en el borde libre (la **fosa de ovulación**) y por allí se produce la ovulación (Figura 6). Después de la ruptura de un folículo, su cavidad es ocupada parcialmente por un coágulo de sangre (**cuerpo hemorrágico** o **cuerpo rubrum**). Si no hay fecundación, el cuerpo lúteo es reemplazado por tejido cicatrizal (**cuerpo albicans**).

Las trompas de Falopio miden de 20 a 30 cm.

El útero es bicornio, formado por dos cuernos, un cuerpo y un cuello. Parte del cuello uterino se proyecta dentro de la vagina, formando el hocico o flor de tenca.

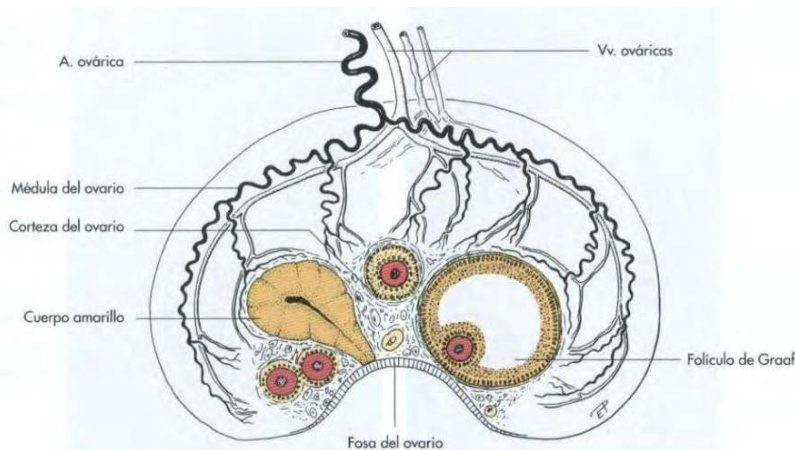


Fig.6: Representación esquemática de la estructura del ovario de la yegua (König & Liebich, 2011).

La vagina se extiende horizontalmente y tiene de 15 a 20 cm de largo. Presenta una capa muscular y una mucosa; sin glándulas. El vestíbulo vaginal es la parte terminal del tracto genital. Le sigue la vulva (genitales externos), formada por la hendidura vulvar, dos labios y el clítoris. Los labios presentan glándulas sebáceas y sudoríparas.

VACA:

Los ovarios tienen forma oval y son mucho más pequeños que los de la yegua. Son similares a los de la mujer; sin fosa de ovulación. Su tamaño depende del cuerpo lúteo, que se oculta casi en su totalidad dentro de la glándula. Las trompas son flexibles, de 20 a 25 cm de largo.

El útero es bicornio. El endometrio de los cuernos y el cuerpo presenta **carúnculas uterinas**, que son prominencias ovales (alrededor de cien) distribuidas irregularmente sobre la superficie o dispuestas en filas. Son sitios donde se une la placenta al útero (Figura 7). El cuello uterino presenta anillos

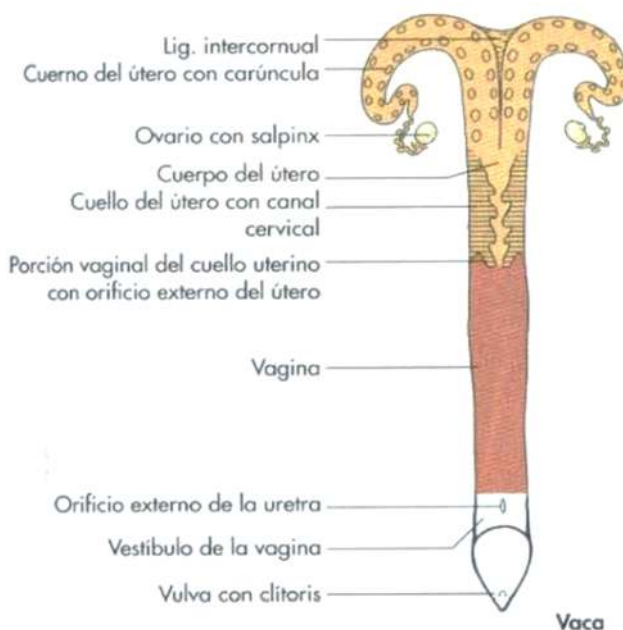


Fig.7: Esquema del sistema reproductor de la vaca. Nótese las carúnculas distribuidas por el cuerpo y cuernos uterinos (König & Liebich, 2011).

pseudocartilaginosos. El vestíbulo vaginal es corto. En la vulva puede apreciarse el divertículo suburetral, un saco de 3,5 cm de largo que puede dificultar la cateterización de la vejiga y la inseminación artificial.

Las glándulas mamarias son dos, divididas cada una en dos cuartos. Cada cuarto posee un pezón. Se unen a la pared abdominal por un aparato suspensor. Cada pezón tiene un conducto galactóforo simple, que se amplía en un seno galactóforo.

Los órganos genitales de los pequeños rumiantes (oveja) recuerdan a los de la vaca, difiriendo en los tamaños.

Sistema Reproductor Masculino:

El aparato reproductor masculino comprende los siguientes órganos: testículo, epidídimo, conductos deferentes, conducto eyaculador, glándulas anexas, uretra y pene.

Testículos:

Los testículos (Figura 8) son las gónadas masculinas. Miden 4cm x 2,5cm y se encuentran ubicados debajo del pene, por delante del periné. Sus funciones principales son la producción de gametas masculinas (espermatogénesis) y la secreción de hormonas andrógenas, entre las que se encuentra la testosterona. La testosterona es responsable de la diferenciación sexual masculina durante la vida embrionaria y en la pubertad provoca el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios.

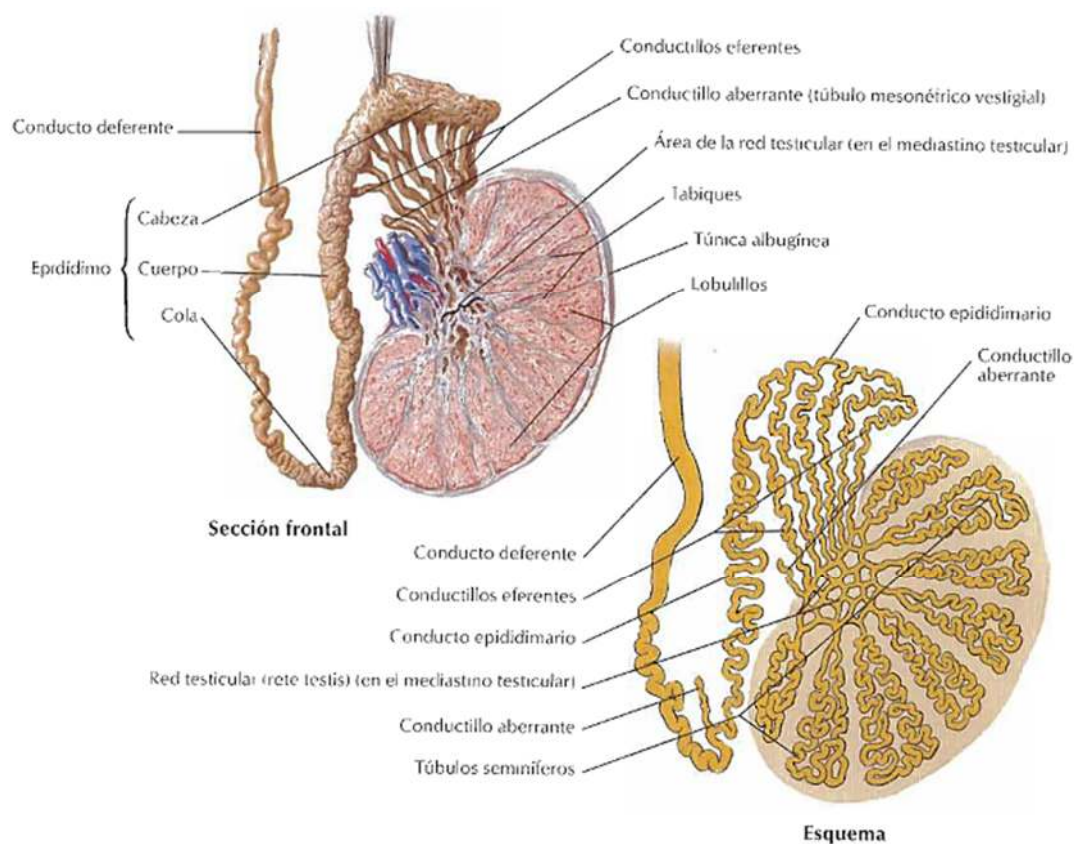


Fig.8: Esquemas de la estructura del testículo: Vista frontal y esquema de la rete testis y los túbulos seminíferos (Netter, 2007).

Las gónadas se sostienen al escroto a través de una cápsula de tejido conectivo denso y fibroso denominada túnica albugínea. Esta túnica forma una serie de septos que las dividen parcialmente en compartimientos y alojan a los túbulos seminíferos.

Los túbulos seminíferos (Figura 9) son largos conductos sinuosos. Sobre sus paredes encuentran las espermatogonias, células encargadas de producir las gametas masculinas y asociadas a ellas, las células de Sertoli cuya función es de soporte, sustentación y nutrición de los espermatozoides. Estas células secretan además la hormona antimülleriana,

Rodeando a los túbulos seminíferos, en el tejido conectivo laxo, se encuentran las células Leydig productoras de testosterona. Dentro de cada compartimiento, los túbulos seminíferos convergen en una serie de conductos rectos que finalmente se anastomosan para formar la rete testis. De la rete testis derivan los conductos eferentes, a través de los cuales los espermatozoides ingresan al epidídimo, sitio en el cual se almacenan.

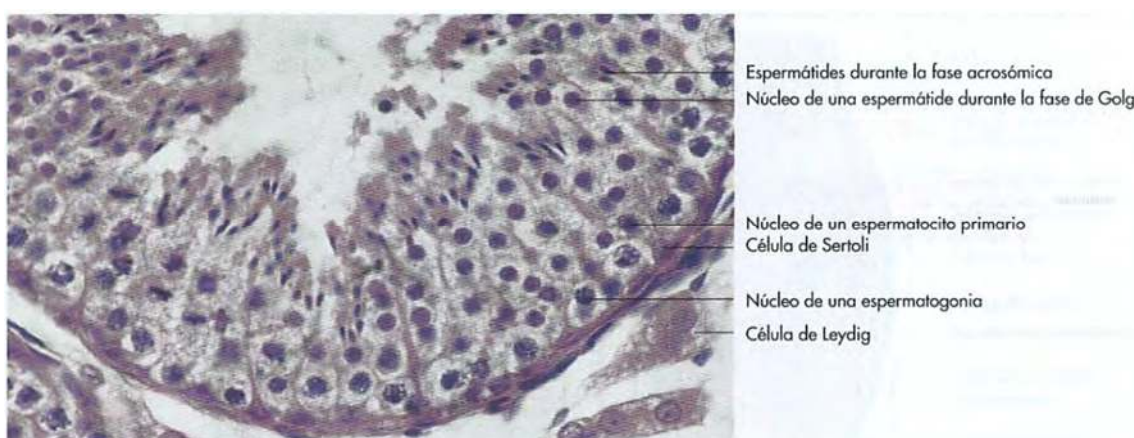


Fig.9: Corte histológico de la pared de un túbulo seminífero contorneado de un toro. Pueden observarse diferentes tipos celulares que lo conforman (König & Liebich, 2011).

Escroto

El escroto o saco escrotal es un conjunto de envolturas que cubren y alojan a los testículos fuera del abdomen en los mamíferos machos (Figura 10). Esta zona de la piel tiene forma de saco o bolsa y se sitúa detrás del pene, por debajo de la sínfisis pubiana.

Está formada por siete capas que, desde la más interna hacia la más externa son: piel, Dartos (muscular), fascia de Cooper, cremáster, túnica fibrosa y túnica vaginal constituida por dos hojas (visceral y parietal). De estas, la piel se caracteriza por ser extremadamente flexible y poseer un gran número de glándulas sebáceas y sudoríparas. El Dartos y el cremáster están constituidos por una capa de músculo liso. El primero de estos brinda movimiento al saco escrotal permitiendo de esta manera acercar o alejar a los testículos del cuerpo para así mantenerlos a su temperatura ideal para la producción de espermatozoides. Por otro lado, la fascia está formada por una capa de tejido

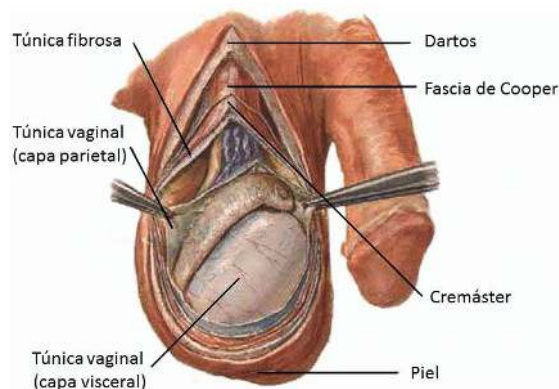


Fig.10: Estructura del escroto (Netter, 2007).

conectivo laxo. Las 7 capas anteriormente mencionadas, están precedidas por la túnica albugínea, no obstante, esta capa pertenece a la estructura del testículo propiamente dicha.

En conjunto, toda la estructura escrotal tiene por finalidad proteger a los testículos y además regular de manera indirecta la temperatura de los mismos para permitir un correcto desarrollo de los espermatozoides.

Epidídimo

El epidídimo es un tubo estrecho y alargado situado en el borde posterior del testículo. Posee un contorno bien marcado producto de una densa capa de tejido conectivo que lo recubre. A lo largo del conducto pueden diferenciarse tres regiones: cabeza, cuerpo y una cola que se continúa con el conducto deferente. Tiene aproximadamente 6 m de longitud.

Los conductos del epidídimo se encuentran revestidos por un epitelio cilíndrico pseudoestratificado y recubiertos por una capa de músculo liso. En él se almacenan los espermatozoides para que adquieran movilidad y su estructura definitiva; estos pueden permanecer en este sitio hasta cuatro semanas.

Conductos Deferentes

Son un par de tubos que se extienden desde el escroto hacia la cavidad pélvica. Miden 30 cm aproximadamente y conectan el epidídimo con los conductos eyaculatorios. Los conductos deferentes están conformados por tres capas: una membranosa mucosa, una capa muscular lisa y una adventicia.

En la porción de los conductos ubicada detrás de la vejiga, la vesícula seminal descarga sus secreciones para formar parte del semen.

Durante la eyaculación, la musculatura lisa se contrae enviando el semen a los conductos eyaculatorios y luego a la uretra, desde donde es expulsado al exterior.

Conducto Eyaculador

Es la continuación del conducto deferente luego de la desembocadura de la vesícula seminal. Consiste en un conducto corto y recto que atraviesa la próstata para terminar en la porción prostática de la uretra.

Glándulas anexas

Las secreciones producidas por estas glándulas se combinan con la de los testículos para formar el semen.

Vesículas seminales

Se ubican detrás de la vejiga urinaria, delante del recto e inmediatamente sobre la base de la próstata (Figura 11). Son glándulas de forma alargada que se mantienen adheridas a la cara posterior de la vejiga por una vaina densa de músculo liso y tejido fibroso que las recubre. Por dentro, las vesículas seminales se encuentran formadas por un túbulo lobulado que en su extremo inferior se estrecha y desemboca en los conductos eyaculadores.

Cada túbulo está revestido por una capa de epitelio secretor que produce un material mucoide que contiene:

- ▲ **Fructosa, ácido cítrico** y otras sustancias que nutrirán a los espermatozoides eyaculados hasta que uno de ellos fecunde el óvulo.
- ▲ **Prostaglandinas**, que ayudan a la fecundación de dos maneras: reaccionan con el moco cervical femenino para hacerlo más receptivo al movimiento de los

espermatozoides y provocan contracciones peristálticas invertidas del útero y de las trompas de Falopio para mover los espermatozoides hacia los ovarios.

- ▲ **Fibrinógeno**, que al estimularse por una proteína coagulante del líquido prostático forma un pequeño coágulo de fibrina, reteniendo el semen en regiones de la vagina cercanas al cuello uterino.

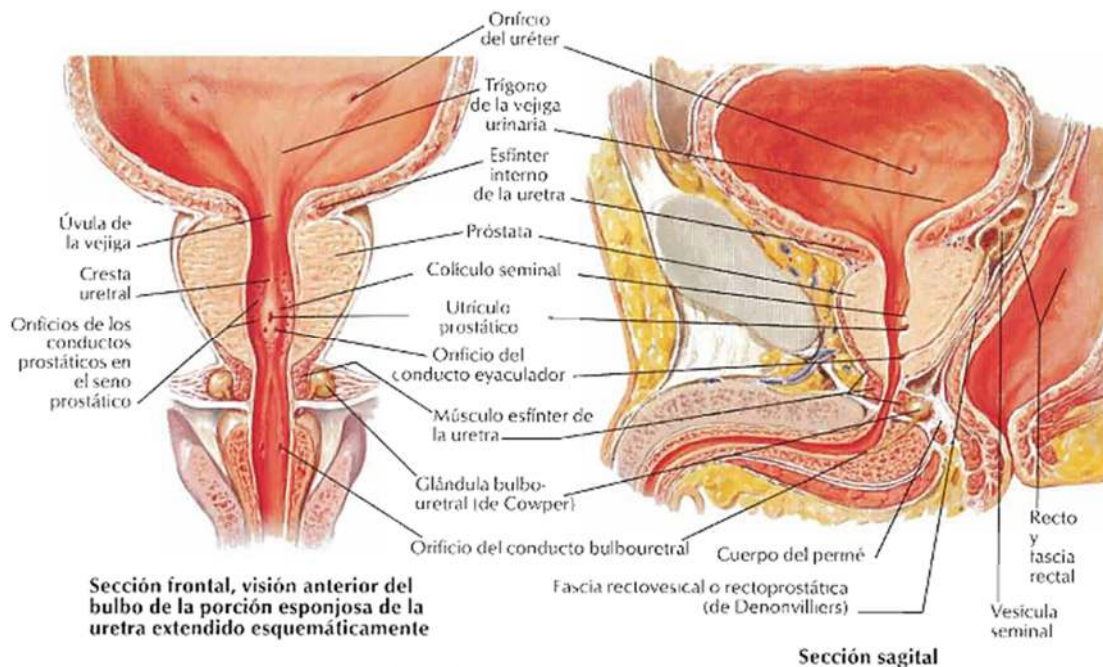


Fig.11: Esquemas de la disposición de las glándulas anexas del sistema reproductor masculino (Netter, 2007).

Próstata

Se localiza frente al recto, por debajo y a la salida de la vejiga urinaria, rodeando la primera parte de la uretra. La glándula se encuentra recubierta por una estructura en forma de cápsula, desde la cual numerosas bandas pasan hacia el interior de la próstata y la dividen en una gran cantidad de lobulillos.

Glándulas bulbo-uretrales

También denominadas glándulas de Cowper son dos estructuras pequeñas ubicadas por debajo de la próstata cuya función es secretar un líquido alcalino que lubrica y neutraliza la acidez de la uretra antes del paso del semen en la eyaculación, creando así un entorno más favorable para los espermatozoides. Este líquido, es además rico que mucina, lo cual ayuda a modificar el pH.

Sus secreciones, comúnmente denominadas fluido pre-eyaculatorio o de Cowper, son vertidas en la porción membranosa de la uretra.

Normalmente la vagina es ácida, por lo que el depósito de líquido pre-eyaculatorio contribuye a modificar el ambiente vaginal y de esta manera, promover la supervivencia de los espermatozoides. Además, el líquido pre-eyaculatorio actúa como un lubricante durante la actividad sexual y cumple un papel importante en la coagulación del semen.

Glándulas de Littre

Glándula de la pared propia de la uretra, secretora de moco. Junto a las secreciones de las glándulas de Cowper forman el líquido pre eyaculatorio.

Uretra

Es el conducto por el cual pasa la orina desde la vejiga urinaria hasta el exterior del cuerpo durante la micción. En el hombre, la uretra cumple una función reproductiva al permitir el paso del semen desde el conducto eyaculador (Figura 12)

La uretra masculina tiene una longitud de unos 20 centímetros y se abre al exterior en el meato urinario del glande. En este largo recorrido, pueden identificarse tres porciones a lo largo del conducto:

Uretra prostática:

Discurre a través de la glándula prostática.

Uretra membranosa:

Es la porción más estrecha de la uretra, de uno o dos centímetros de longitud. Pasa a través de la musculatura del suelo de la pelvis y contiene el esfínter uretral externo, un músculo esquelético que controla voluntariamente la micción.

Uretra peneana: Se llama así porque se encuentra en el interior del cuerpo esponjoso del pene y recorre toda su cara ventral. Llega al glande y se abre en el meato urinario.

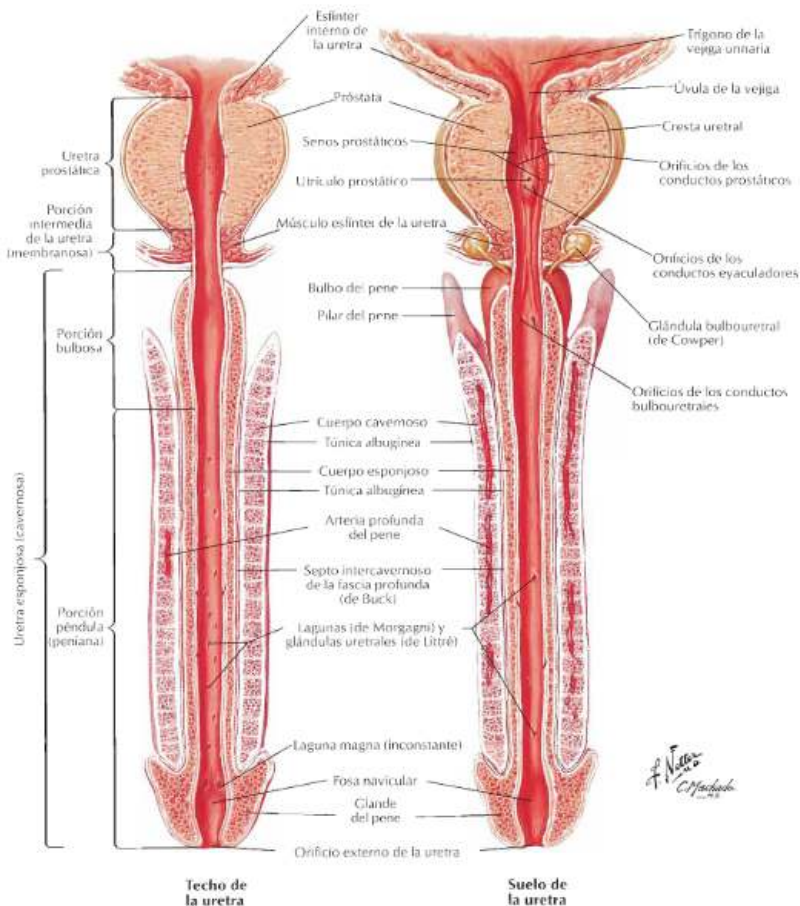


Fig.12: Esquema de la uretra masculina: estructura y órganos asociados (Netter, 2007).

Pene

Es el órgano copulador masculino mediante el cual es depositado el esperma en el tracto vaginal de la mujer. Además, interviene en el proceso de excreción urinaria.

El pene humano está conformado por tres columnas de tejido erétil: dos cuerpos cavernosos y un cuerpo esponjoso. Los primeros se encuentran uno al lado del otro en la parte superior del pene, mientras que el último se ubica en la parte inferior (Figura 12). El glande, una zona muy sensible, constituye el final del cuerpo esponjoso y la parte más ancha del mismo. Tiene forma de cono y está recubierto por un pliegue de piel suelta, el prepucio. El área de la parte inferior del pene de donde se sujeta el prepucio se llama frenillo.

Se conoce como erección al estado en el que el pene se vuelve rígido y aumenta de tamaño, debido a que su tejido interno (cuerpos cavernosos) se llena de sangre. El mecanismo primario que hace posible una erección es la dilatación de las arterias que suministran sangre

al pene, permitiendo de esta manera el paso de más sangre para llenar el tejido esponjoso eréctil de las tres cámaras internas, causando el aumento de tamaño del pene y su rigidez.

EL SISTEMA REPRODUCTOR MASCULINO EN LOS ANIMALES

CERDO (VERRACO):

El escroto se ubica a corta distancia del ano, bien atrás (Figura 13). Los testículos son grandes, y el epidídimo está íntimamente unido a ellos. El conducto deferente es flexuoso, se encuentra unido a la túnica vaginal y no existe una ampolla distintiva. Las vesículas seminales son muy grandes y se extienden dentro de la cavidad abdominal. La próstata es bilobulada. El pene es fino, de 45 a 50 cm de largo, presenta un cuerpo cavernoso y uno esponjoso; su parte craneal se retuerce en forma de espiral. El asa sigmoidea (flexura o S peneana) es preescrotal. El prepucio es simple y tiene un orificio estrecho alrededor del cual existen pelos. También presenta estructuras en forma de sacos denominadas criptas en las cuales se deposita orina descompuesta, epitelio macerado, secreciones, basura y otros elementos que despiden un olor característico.

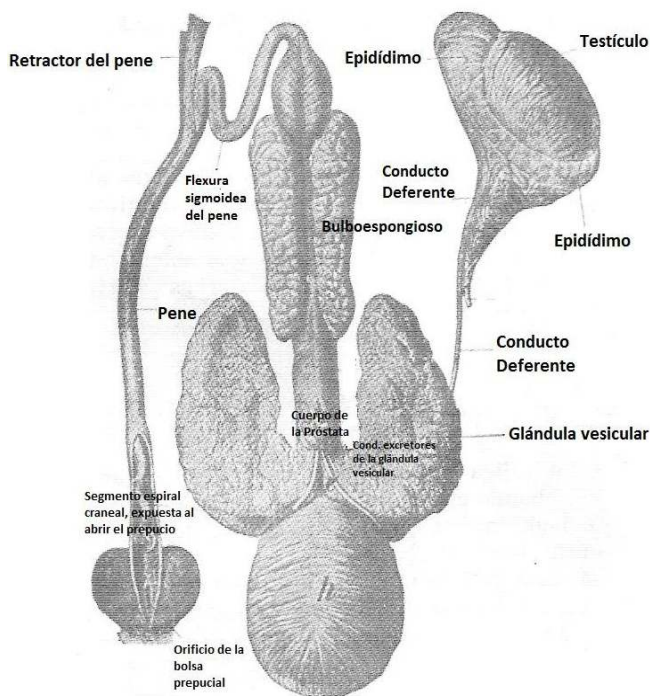


Fig.13: Sistema reproductor del verraco (Sisson, Grossman & Getti, 2001).

PERRO Y GATO:

Los testículos son relativamente pequeños (en el gato se ubican atrás) y el epidídimo es largo, extremadamente arrollado sobre sí mismo. Los conductos deferentes tienen una ampolla estrecha en el perro y ausente en el gato. Las vesículas seminales están ausentes en ambos.

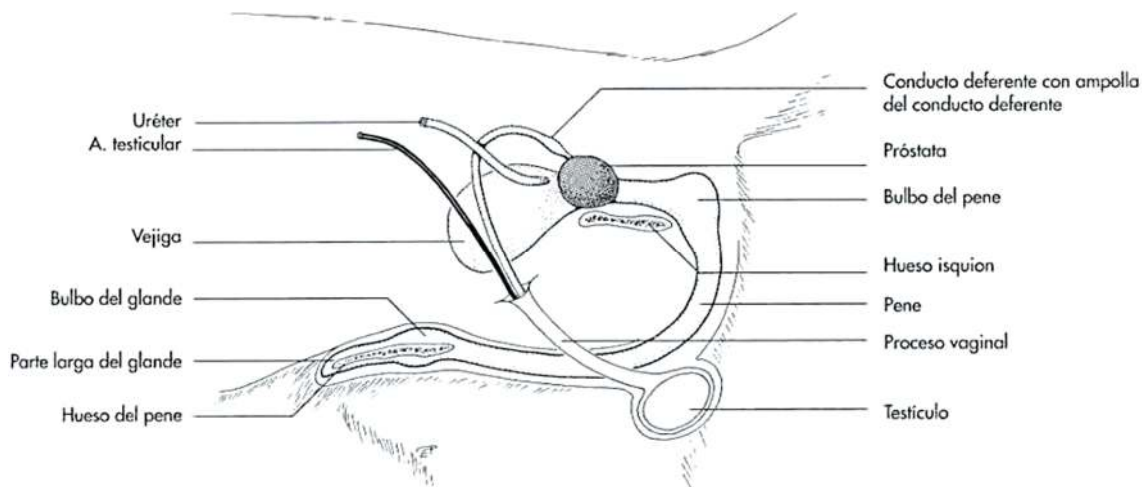


Fig.14: Esquema del sistema reproductor del perro (König & Liebich, 2011).

animales. La próstata es bilobulada. Las glándulas de Cowper no están presentes en el perro, pero sí en el gato. En la parte caudal del pene existen dos cuerpos cavernosos separados por un tabique medio; mientras que su parte craneal se encuentra osificada (hueso peneal), por lo que se considerará que el pene está formado por un solo cuerpo cavernoso más uno esponjoso (Figura 14). El glande en el gato contiene numerosas espinas pequeñas córneas, que favorecen la excitación de la hembra y con ello la ovulación (Figura 15). En el perro la base del pene presenta botones eréctiles que hacen que macho y hembra queden “enlazados” durante algunos minutos, favoreciendo el éxito de la fecundación. En el gato, el pene erecto se ubica hacia atrás y abajo.

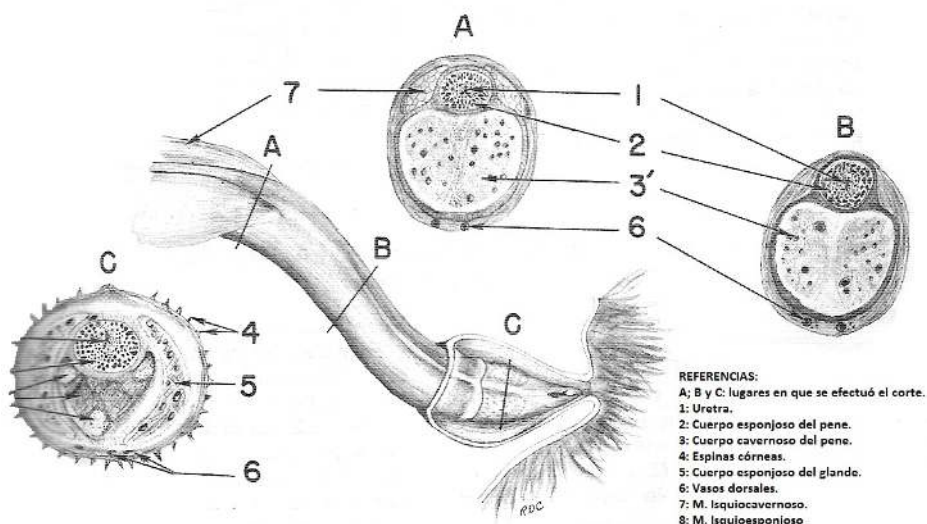


Fig.16: Vista dorsolateral de los órganos genitales externos del gato (Sisson, Grossman & Getti, 2001).

CABALLO:

Los testículos tienen forma ovoidea, de 10 a 12 cm de largo. No hay un mediastino testicular bien formado y con ello la *rete testis* está ausente. Los espacios imperfectamente marcados contienen un parénquima testis conformado por túbulos seminíferos sostenidos por tejido conectivo intralobular. Los conductos deferentes y el de la vesícula seminal se abren ambos en el mismo sitio o juntos, por lo que no hay conducto eyaculador. El conducto deferente presenta una ampolla seminal (aumento del grosor del conducto, no de la luz). La próstata es bilobulada. El pene mide 50 cm en estado de flaccidez, pudiendo aumentar un 50% con la erección. Presenta un cuerpo cavernoso y uno esponjoso (Figura 14). El prepucio es una invaginación doble de piel que contiene y cubre la porción libre del pene cuando no está eréctil, sosteniéndolo sobre el

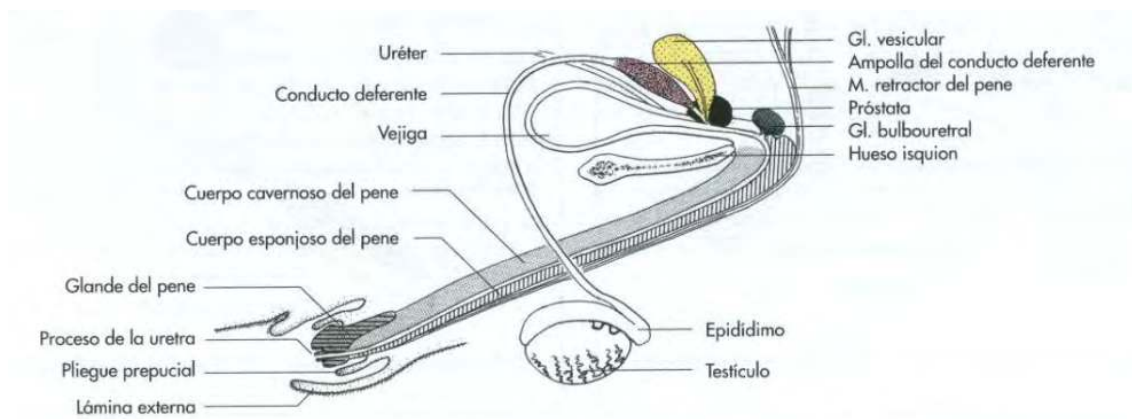


Fig.14: Esquema del sistema reproductor del caballo (König & Liebich, 2011).

abdomen. La secreción de las glándulas prepuciales, junto con las células descamadas, forman el esmegma prepucial, graso, de olor fuerte y desagradable, que a menudo se acumula en considerable cantidad.

TORO Y CARNERO:

El escroto es largo y penduloso. Los testículos son mayores que los del caballo. El pene es cilíndrico y grande, con la flexura sigmoidea postescrotal, que desaparece durante la erección. El glande (yelmo) es plano dorsoventralmente y su extremidad es puntiaguda y retorcida. El tejido eréctil es escaso en cantidad, ya que el órgano se alarga muy poco durante la erección, puesto que lo único que hace es entrar en rigidez. El pene presenta un cuerpo cavernoso poco manifiesto y un cuerpo esponjoso. El prepucio es muy largo y pendular (Figura 17).

En los pequeños rumiantes como el carnero, los órganos genitales recuerdan a los del toro. Cabe mencionar el carácter peculiar de la parte terminal del pene (Figura 18): la uretra asienta en un surco sobre la superficie ventral del cuerpo cavernoso, y su parte terminal se proyecta comúnmente a unos 3 o 4 cm por detrás del glande, formando una apófisis uretral (prolongación o proceso uretral).

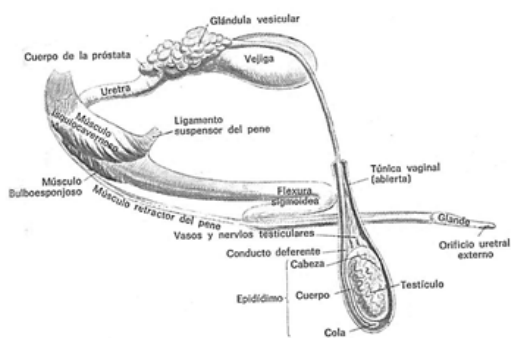


Fig. 17: Órganos genitales externos del toro (Sisson, Grossman & Getti, 2001).

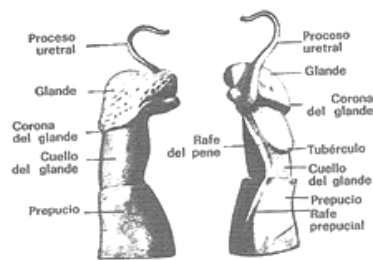


Fig.18: Parte craneal del pene del carnero (Sisson, Grossman & Getti, 2001).

BIBLIOGRAFÍA:

- Gardner, R. O. (1989). *Anatomía* (5° ed.). McGraw-Hill Book Company.
- Guyton, A. C. & Hall J. E. (2005). *Tratado de Fisiología Médica*. (10° ed.). Capítulo 80. McGraw-Hill Book Company; Interamericana de España.
- König, H. E. & Liebich, H. G. (2011). *Anatomía de los animales domésticos: texto y atlas en color* (2° ed.). Tomo II, Capítulos 10 y 11. Editorial Médica Panamericana.
- Netter, F. H. (2007). *Atlas de Anatomía Humana* (4° ed.). Sección 5. Elsevier, Masson.
- Sisson, S., Grossman, J. D. & Getty R. (2001). *Anatomía de los animales domésticos* (5 ed.). Tomo I, Capítulos Equinos y Rumiantes y Tomo II, Capítulos Porcinos y Carnívoros. Elsevier.
- Vantman, B. & Vega, B. (2010). Fisiología reproductiva y cambios evolutivos con la edad de la mujer. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 21 (3), 348 – 362.
- Viesca, E. (2024, 27 marzo). *Anatomía del aparato genital femenino*. Viesca Ginecología. <https://ginecologaviesca.es/fisiologia-femenina/>.

FISIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN EN VERTEBRADOS

OBJETIVOS:

- ▲ Comprender los mecanismos celulares implicados en la formación de gametas.
- ▲ Establecer diferencias entre la gametogénesis femenina y masculina, así como de sus productos resultantes.
- ▲ Reconocer histológicamente diferentes estadios de la espermatogénesis.

MARCO TEÓRICO:

Gametogénesis: Generalidades

La Gametogénesis es el proceso meiótico por el cual, a partir de células germinativas **primitivas diploides (2n)** ubicadas en las gónadas, se producen células sexuales o **gametos haploides (n)**, que participan en el proceso de reproducción.

En el hombre el proceso tiene como fin producir espermatozoides, se lo denomina **espermatogénesis** y se realiza en los testículos; mientras que, en la mujer, la producción de óvulos tiene lugar en los ovarios y se denomina **ovogénesis**. Ambos procesos constan de tres fases principales (Figura 1):

- ▲ **Fase Mitótica o Proliferativa:** durante el desarrollo embrionario, las células germinales primordiales provenientes del saco vitelino migran a las crestas genitales donde sufren sucesivas divisiones mitóticas, se multiplican. Algunas degenerarán y morirán, mientras que otras seguirán su desarrollo para dar lugar a las células germinativas: espermatogonias y ovogonias según el sexo.
- ▲ **Fase Meiótica o Reduccional:** las células germinativas se dividen por Meiosis. De esta forma, reducen su complemento cromosómico, convirtiéndose en células haploides.
- ▲ **Fase de Maduración y Diferenciación:** una vez reducida, cada célula germinal sufre grandes modificaciones fisiológicas y morfológicas que la preparan para convertirse en una gameta propiamente dicha, viable y lista para fecundar o ser fecundada, sin aportar más del componente genético determinado para cada especie.

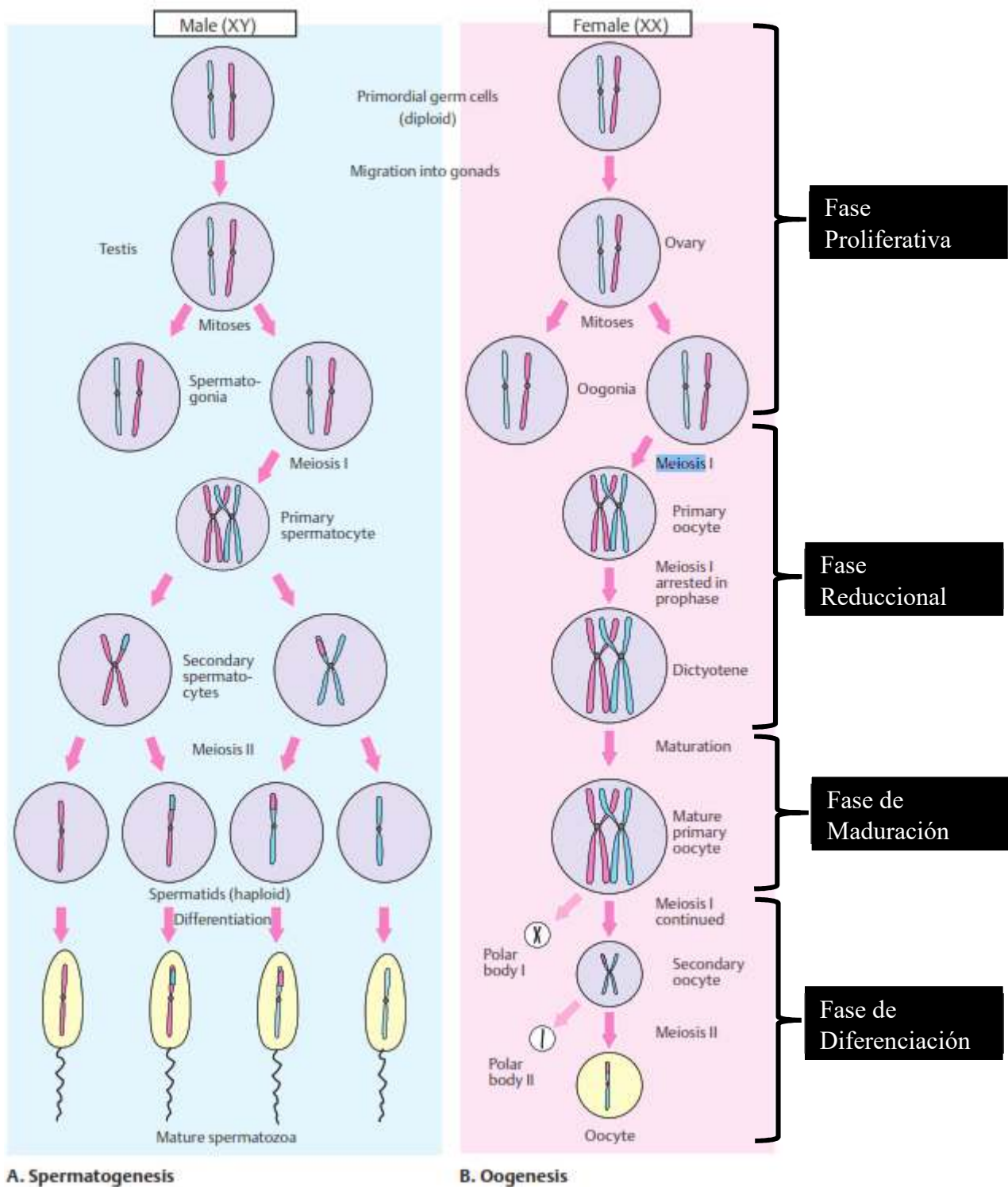


Fig. 1: Esquema de las fases del proceso de Gametogénesis. Se pueden apreciar las diferencias específicas en el desarrollo de los productos finales de la Ovogénesis y la Espermatogénesis (Passarge, 2007).

Ovogénesis

El proceso de formación y diferenciación de los gametos del sexo femenino u “óvulos” se conoce como **Ovogénesis u oogenénesis** (Figura 2).

Las células germinales primordiales diploides generadas en el endodermo del saco vitelino durante el desarrollo embrionario, migran hacia las crestas germinales y se dividen por mitosis para dar lugar a numerosas células llamadas **ovogonias u oogonias** ($2n$), se localizan en los folículos del ovario, crecen y sufren una diferenciación para transformarse en **ovocitos primarios** (u oocitos), donde se pone en marcha la primera división meiótica, dando origen a una célula voluminosa u **ovocito secundario** que contiene la mayor parte del citoplasma original y otra célula pequeña o primer cuerpo polar (primer **corpúsculo polar**) ambos **haploides**.

Estas dos células efectúan la segunda división meiótica; del ovocito secundario se forman otras dos células: una grande que contiene la mayor parte del citoplasma original, y otra pequeña o segundo cuerpo polar. Los cuerpos polares se desintegran rápidamente, mientras que la otra célula se desarrolla para convertirse posteriormente en un “**óvulo**” maduro, haploide.

En los seres humanos el feto femenino empieza a formar ovogonias, pero el proceso de meiosis se detiene en la etapa de ovocito primario, específicamente en un punto de la **profase I**, conocida como diploteno. Este período se mantiene suspendido hasta que, a partir de la pubertad y por efectos hormonales, se desprende un ovocito en cada ciclo menstrual, se concluye entonces la primera división meiótica y se inicia la segunda. Ésta a su vez se interrumpe (en la **metafase II**), y no se completa hasta que se produzca la fecundación. Recién cuando esto ocurre el ovocito secundario pasa a denominarse “**óvulo**” propiamente dicho.

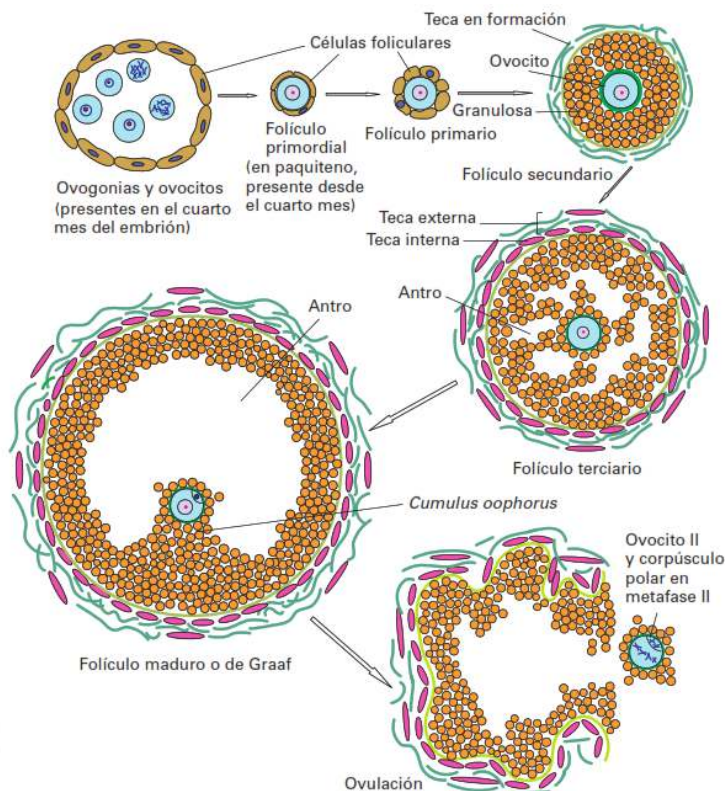


Fig. 2: Representación esquemática del proceso de Ovogénesis mostrando los cambios que sufre el folículo ovárico (Paniagua *et al.*, 2007).

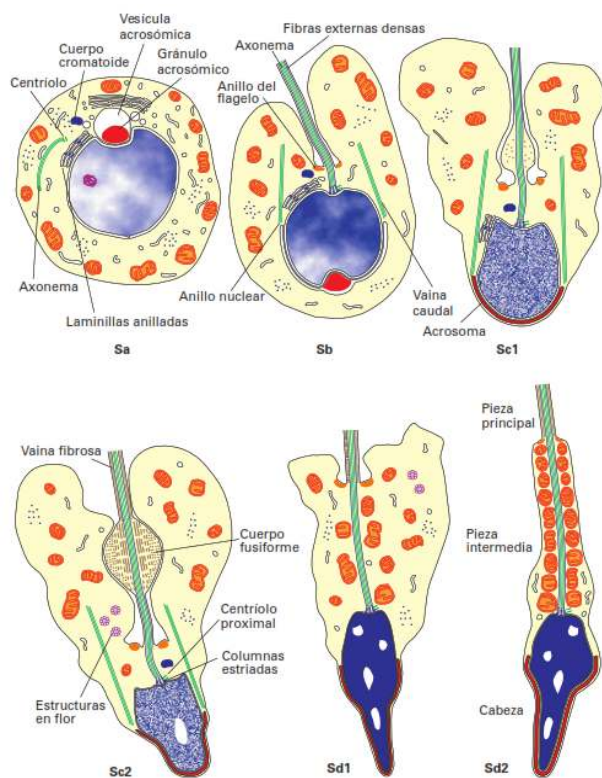
Espermatogénesis

El mecanismo encargado de la producción de las gametas del sexo masculino, los espermatozoides, es la **Espermatogénesis**.

La espermatogénesis consta de 2 etapas: **Espermatocitogénesis** y **Espermiogénesis** (espermiohistogénesis).

La espermatocitogénesis comienza cuando las células germinales primitivas se multiplican y migran hacia las gónadas masculinas durante el desarrollo embrionario. Estas células germinales dan lugar a las células madre de las **espermatogonias (2n)**. A partir de la pubertad y a lo largo de toda la vida, las espermatogonias que siguen dividiéndose por mitosis, algunos se diferencian dando lugar a sucesivas generaciones de espermatoцитos primarios (2n) que por meiosis generarán las células espermátidas (Figura 3).

En el epitelio de los túbulos seminíferos pueden distinguirse 2 tipos de espermatogonias: las **espermatogonias tipo A** y las **espermatogonias tipo B**. Las espermatogonias tipo A son células madres que sufren mitosis sucesivas y pueden dar lugar a más células madres o diferenciarse a Espermatogonias tipo B que son precursores de los espermatoцитos. Las espermatogonias de tipo B aumentan de tamaño y se transforman en **espermatoцитos I**, que siguen siendo **diploides**. En estas células se produce la meiosis I que dará lugar a dos **espermatoцитos II haploides**. La profase de la primera división meiótica es especialmente larga y se extiende hasta aproximadamente 22 días. Los espermatoцитos II son notablemente más pequeños y rápidamente pasan a la meiosis II que dará como resultado cuatro **espermátides**.



Durante la espermiogénesis las espermátides se convierten en espermatozoides. Las primeras modificaciones se observan en el aparato de Golgi cuyas vesículas se funden formando una vesícula acrosómica que se expande sobre el nucleolema y marca el polo anterior del espermatozoide formando el acrosoma. Al mismo tiempo los centríolos migran sobre la cara opuesta del acrosoma, crecen en dirección distal-proximal y forman el axonema (flagelo). Las mitocondrias se unen en espiral rodeando la primera porción de la cola formando la vaina mitocondrial de la pieza intermedia. Finalmente, el espermatozoide es liberado del exceso de citoplasma, el cual permanece en el túbulo denominándose corpúsculo residual de Regnaud.

Fig. 3: Representación esquemática del proceso de Espermatogénesis (Paniagua *et al.*, 2007).

Ciclo espermatogénico:

Tiene una duración aproximada de 2 meses. Las espermatogonias están en mitosis durante 16 días, dando lugar a los espermatoцитos primarios. Estos tardan 22 días en completar la primera meiosis y dar lugar a los espermatoцитos secundarios, los cuales tardarán horas en convertirse en espermátides. Las espermátides tienen que diferenciarse, tardando otros 24-26 días para ese proceso. Si sumamos todo, obtenemos unos ~64 días desde el paso de espermatogonias hasta espermatozoides.

OBTENCIÓN DE GAMETAS DE VERTEBRADOS:

Generalidades de la reproducción de los Teleósteos

En peces, al igual que en todos los vertebrados, la reproducción está regulada por una cascada de hormonas a lo largo del **eje cerebro-pituitaria-gónadas** (Figura 5). En este eje, la secreción de las **gonadotropinas (GtH)** por la pituitaria o hipófisis está controlada por el cerebro vía la acción estimuladora de la **hormona liberadora de gonadotropina (GnRH)** producida en el hipotálamo. Las dos GtH, la hormona **foliculo estimulante (FSH o GtHI)** y la hormona **luteinizante (LH o GtHII)**, son liberadas a la corriente sanguínea para actuar sobre la gónada, donde estimulan la síntesis de **esteroides sexuales (andrógenos, estrógenos y progestágenos)** que son los últimos responsables del desarrollo gonadal. En términos generales, la FSH controla principalmente los primeros estadios de la gametogénesis y la LH regula la maduración final del ovocito, la ovulación y espermiación. En algunas especies la dopamina (DA) ejerce una acción inhibidora de la producción y liberación de GtH por parte de la hipófisis. Las principales hormonas esteroideas que regulan la gametogénesis son el estrógeno (E2) en las hembras y el andrógeno 11-ketotestosterona (11-KT) en los machos. también el ovario de los peces sintetiza testosterona (T) al igual que los machos producen E2, pero en niveles muy inferiores.

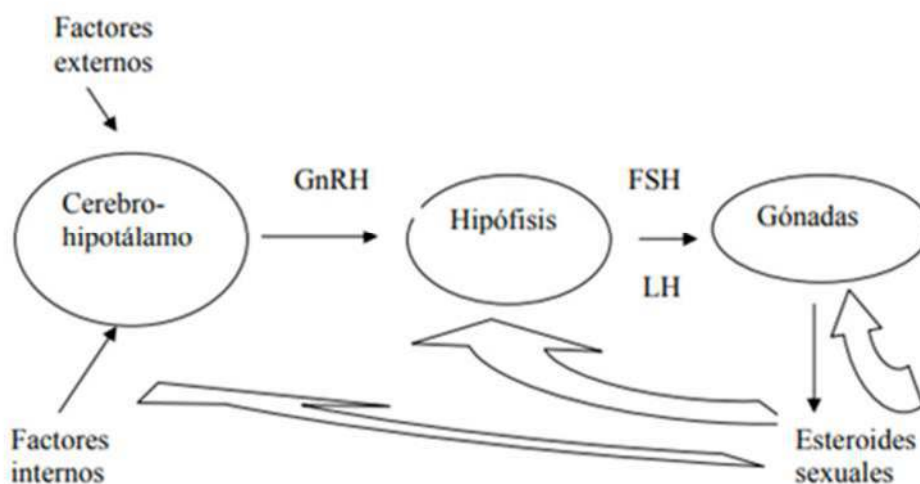


Fig. 5: Eje hipotálamo-hipófisis-gónadas. La producción y liberación de GnRH es estimulada por factores externos o internos, que actúan sobre la hipófisis o pituitaria para la secreción de las hormonas gonadotropinas FSH y LH. Al llegar a las gónadas vía sanguínea, las gonadotropinas estimulan la síntesis de esteroides sexuales (García – López, 2005).

El proceso de formación de gametogénesis ocurre en los órganos reproductivos o gónadas: testículos en los machos y ovarios en las hembras. En la mayoría de los Teleósteos, el testículo suele ser un órgano de color blanquecino cubierto por una fina capa de tejido conectivo. Se sitúa en la cavidad visceral y consta de dos lóbulos separados por un septo o independientes entre sí. En el proceso de espermatogénesis se diferencian tres fases fundamentales: **proliferación espermatogonial, meiosis y espermiogénesis**. En la fase de proliferación espermatogonial, las células madre se dividen por mitosis para dar las espermatogonias que, mediante meiosis, dan lugar a los espermatocitos primarios y secundarios, que son ya haploides. Estas células tienen una vida corta y entran rápidamente en la segunda división meiótica originando las espermatidas. Por último, las espermatidas sufren un proceso de diferenciación, llamado espermiogénesis que consiste en la reorganización del núcleo y del citoplasma, junto con el desarrollo total del flagelo,

que conduce a la formación de los espermatozoides maduros. Es característica de los espermatozoides de los teleósteos la **carencia de acrosoma** asociada a la presencia de un poro o micrópilo en el ovocito.

La ovogénesis, proceso mediante el cual las células germinales primordiales u ovogonias se transforman en ovocitos, se divide en cuatro fases: **transformación de las ovogonias en ovocitos, crecimiento de los ovocitos, maduración y ovulación**. Durante cada ciclo reproductivo, un número determinado de ovogonias presentes en el ovario se multiplican por división mitótica y se transforman en ovocitos primarios tras la primera división meiótica. Los ovocitos formados entran en una fase de crecimiento en la que van adquiriendo todas las reservas necesarias (lípidos y proteínas, principalmente vitelogenina) para el futuro desarrollo embrionario. El comienzo de la fase de crecimiento primario se denomina fase **previtelogénica**; conforme progresa en su crecimiento, el ovocito empieza a incorporar lípidos y vitelogenina a su citoplasma entrando en la fase de **vitelogénesis**. Una vez que el ovocito ha incorporado todas las reservas necesarias entra en maduración. Durante esta etapa, en el citoplasma suceden cambios importantes para la fecundación y posterior desarrollo embrionario, tales como la coalescencia lipídica y vitelina y la hidratación del ovocito. Por último, el ovocito es ovulado y expulsado al exterior durante la ovoposición o puesta, estando listo para la fecundación.

ACLARACIÓN: En esta guía usaremos el término huevo cuando nos refiramos al ovocito ya ovulado, aunque aún esté en la cavidad del ovario, siguiendo la definición del Glosario de Acuicultura de la FAO según la cual **“huevo es la célula germinal femenina madura”** (www.fao.org/fi/glossary/aquaculture).

Control de la maduración gonadal:

El desarrollo gonadal de las hembras puede ser clasificado según Anguis y Cañavate (2005) en 5 estados de desarrollo gonadal, en función del abultamiento del abdomen observado externamente:

- *E 0*: El ovario no se puede detectar externamente.
- *E I*: El ovario solo se puede detectar mediante palpación de la zona abdominal.
- *E II*: Nivel inicial de abultamiento del ovario, externamente visible en la zona abdominal.
- *E III*: Nivel intermedio de abultamiento del ovario.
- *E IV*: Máximo desarrollo ovárico, caracterizado por la aparición de ligera coloración naranja en el lado ciego.

Los machos son fluyentes la mayor parte del año, aunque en las épocas principales de puesta (primavera y otoño) es cuando producen mayor cantidad de espermatozoides. Para determinar el estado de madurez gonadal de los machos se realizaba una suave presión de los testículos con el ejemplar dentro del agua y de este modo se determinó fácilmente si el macho era fluyente o no.

Inducción hormonal:

Para la inducción hormonal a la ovulación se pueden utilizar análogos sintéticos de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRHa). El método general de administración de la hormona es la inyección intramuscular utilizando jeringuillas de insulina cargadas con 25 µg de GnRHa por kg de peso corporal, disuelta en suero salino (166,7 µg GnRHa ml⁻¹), ver Figura 6.

Obtención de los huevos por masaje abdominal:

Para obtener los huevos después de la inducción a la ovulación, se coloca a la hembra en una mesa sobre un trapo húmedo y se la tapan los ojos para reducir el estrés. Posteriormente, se realiza una suave presión en el abdomen, avanzando desde la parte posterior de la gónada a la anterior, levantando los dedos y volviendo a presionar en una posición más avanzada para evitar daños en la piel, como por ejemplo arrancar alguna escama (Figura 7).

Los huevos se recogen en un recipiente de plástico que debe estar limpio y seco, ya que la mayoría de los huevos se activan en contacto con el agua de mar haciendo imposible la posterior fecundación con el espermatozoide. También se ha de evitar la contaminación por heces u orina.



Fig. 6: Inducción a la ovulación de hembras de lenguado senegalés mediante inyección intramuscular de GnRHa (Pérez Rasines, 2005).



Fig. 7: Obtención de huevos de lenguado senegalés mediante presión abdominal (Pérez Rasines, 2005).

En cada puesta (lote de huevos que se puede extraer de una hembra mediante masaje abdominal), cuando nos refiramos a la liberación espontánea de huevos en el tanque de cultivo hablaremos de puesta en tanque o puesta espontánea. Para medir el volumen de huevos obtenido, los mismos se verterán en una probeta graduada de 1 L (Figura 8). El porcentaje de viabilidad aparente, definido como $\text{número de huevos transparentes, esféricos, sin espacio perivitelino y con las gotas de grasa repartidas por todo el huevo} \times 100 / \text{número huevos observados}$, se realizará mediante observación microscópica de aproximadamente 100 huevos de cada puesta. En la Figura 9 se muestran fotos de huevos considerados viables y de huevos no viables (Figura 9). Para determinar el número de huevos por mL se tomará una muestra de 0,5 mL de huevos con una micropipeta, se colocarán en una placa Boronov, se añadirá agua salina y se contará el número de huevos bajo la lupa.



Fig. 8: Determinación del volumen de huevos de lenguado senegalés (Pérez Rasines, 2005).

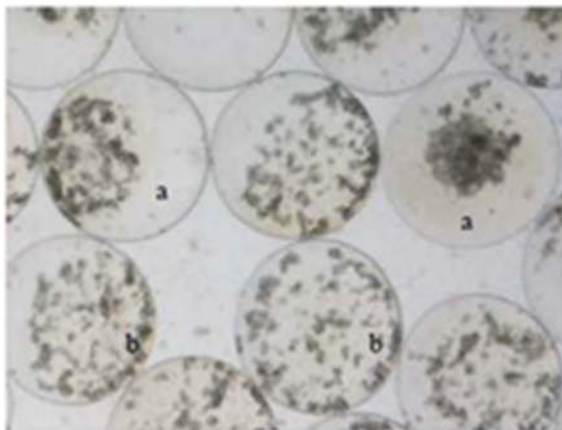


Fig. 9: Huevos no viables (a) y huevos aparentemente viables (b) de lenguado senegalés (Pérez Rasines, 2005).

Obtención y valoración de la calidad de esperma:

Para obtener el esperma se anestesia al ejemplar con aceite de clavo, la papila genital se lava con agua destilada y se seca con papel absorbente. Para localizar los testículos superior e inferior se palpa suavemente con los dedos índice (testículo inferior) y pulgar (testículo superior) y finalmente se realiza una suave presión abdominal para extraer el esperma con una jeringa de 1 mL que se mantendrá a 0 °C hasta su valoración y posterior uso (Figura 10).

Para valorar la movilidad del esperma se prepara una dilución 1:5 del esperma original en solución inmovilizante Ringer 200 mOsmol L-1. Para activar los espermatozoides posteriormente se realiza una segunda dilución 1: 20 con agua salina a 4 °C (1 µL esperma inmovilizado: 19 µL de agua salina). El movimiento se evalúa observando el esperma activado a 400x aumentos en un microscopio. La movilidad se cuantificará según la escala de Sánchez-Rodríguez (1975), que va de 0 a 5 niveles dependiendo del porcentaje de espermatozoides móviles:

- Nivel 0. Todos los espermatozoides son inmóviles.
- Nivel 1. Los espermatozoides presentan una ligera agitación y alguno se desplaza.
- Nivel 2. Del 20 al 40% de los espermatozoides se desplazan rápidamente, otros lentamente y la mayoría son inmóviles.
- Nivel 3. Del 40 al 60% de los espermatozoides se desplazan rápidamente, otros lentamente y algunos son inmóviles.
- Nivel 4. Del 60 al 80% de los espermatozoides se desplazan rápidamente, mientras que otros lo hacen con desplazamientos lentos.
- Nivel 5. El porcentaje de espermatozoides que se desplazan rápidamente es superior al 80%.

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN SALINA DE RINGER 200 mOsmol L-1

ClNa..... 74,0 mM

ClK..... 27,0 mM

CO₃ HNa..... 1,6 mM

Cl₂Ca..... 1,8 mM

pH = 8,06



Fig. 10: Extracción de esperma de languido senegalés y conservación del mismo en frío hasta su valoración. (Pérez Rasines, 2005).

Obtención de Gametas de Anfibios:

Obtención de gametas femeninas:

Para poder extraer las gametas femeninas, es necesario inducir la ovulación en las hembras. Uno de los procedimientos más utilizados tradicionalmente consiste en la inyección de una solución homoplástica de órgano hipofisiario en la cavidad corporal. Extracción de la glándula Hipófisis: Para poder remover la hipófisis es necesario sacrificar al animal mediante algún procedimiento eutanásico que asegure el menor sufrimiento posible. En anfibios, uno de los métodos más empleados es la inmovilización mediante el corte del haz medular:

Evitando tocar las glándulas parótidas, con la otra mano se realizan movimientos de flexión a la cabeza del animal con el objeto de encontrar la interlínea occipito-atloidea. Una vez ubicada, se introduce en la línea media dorsal la aguja penetrando unos pocos milímetros de forma perpendicular, hasta alcanzar el canal medular (se manifiesta porque el animal presenta movimientos convulsivos). Se impulsa la aguja en sentido caudal (si se introduce con facilidad, significa que la aguja está correctamente ubicada) y a continuación se efectúan movimientos en sentido posterior varias veces. Cuando la maniobra se realiza constantemente la aguja se desliza con facilidad. El signo más importante es que el animal queda completamente flácido y sin tono muscular; también puede haber evacuación de orina.

Una vez inmovilizado el animal, se coloca en una planchuela en posición cúbito-dorsal para proceder con la extracción de la hipófisis. Se fija la cabeza a la planchuela con alfileres y con la ayuda de unas tijeras, se abre la boca cortando las comisuras. Luego se procede a levantar las estructuras esqueléticas (musculares y óseas) del techo de la cavidad bucal a fines de que la glándula quede a la vista (Figura 11). Se diferencia del tejido circundante por su forma arrañonada definida y de color rosado por la intensa vascularización, características que pueden observarse con más detalle bajo la lupa.

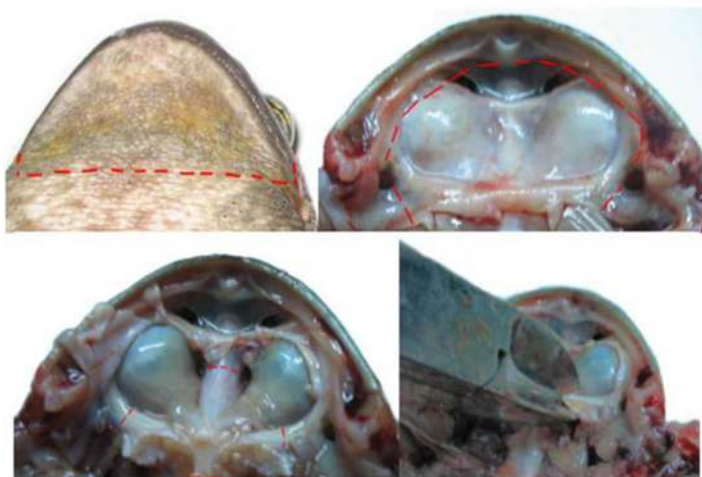


Fig. 11: Exposición del paladar y extracción de la Hipófisis (Teisaire *et al.*, 2010).

Removida la glándula, se la coloca en una solución salina (solución de Holtfreter) si es utilizada en el momento, o bien, puede conservarse en vaselina líquida o glicerina a 4° C (en heladera).

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE HOLTFFRETER:

ClNa5,5 g

ClK0,05 g

Cl2Ca0.1 g

H2O bidestilada1000 ml

Al momento de usar se diluye 1: 9 con agua bidestilada. Hacer hervir dos veces y luego agregar en frío 0,2 g de NaHCO₃ por litro (esta sustancia deberá ser esterilizada con estufa a seco).

Inducción de la Ovulación: Una vez obtenidos los órganos hipofisarios necesarios (1 hip. femenina o 2 masculinas por hembra), se procede a la inyección de 1 ml de la suspensión (obtenida por el macerado de la hipófisis en la solución salina y agua bidestilada) en la cavidad pleuroperitoneal de la hembra, las cuales son mantenidas en estufa (18-21°C) en recipientes con un poco de agua. Previo al tratamiento, las hembras deben estar correctamente aclimatadas por aproximadamente 12-24 h; durante este período, el animal debe mantenerse bajo condiciones controladas de temperatura (aproximadamente 21°C en estufa). El momento de la ovulación puede producirse entre las 9 y 15 h luego de la estimulación. Una vez que las hembras muestren signos de puesta de ovocitos, son sacrificadas a fines de extraer los ovocitos y macerarlos en solución de Holtfreter (Figura 12).

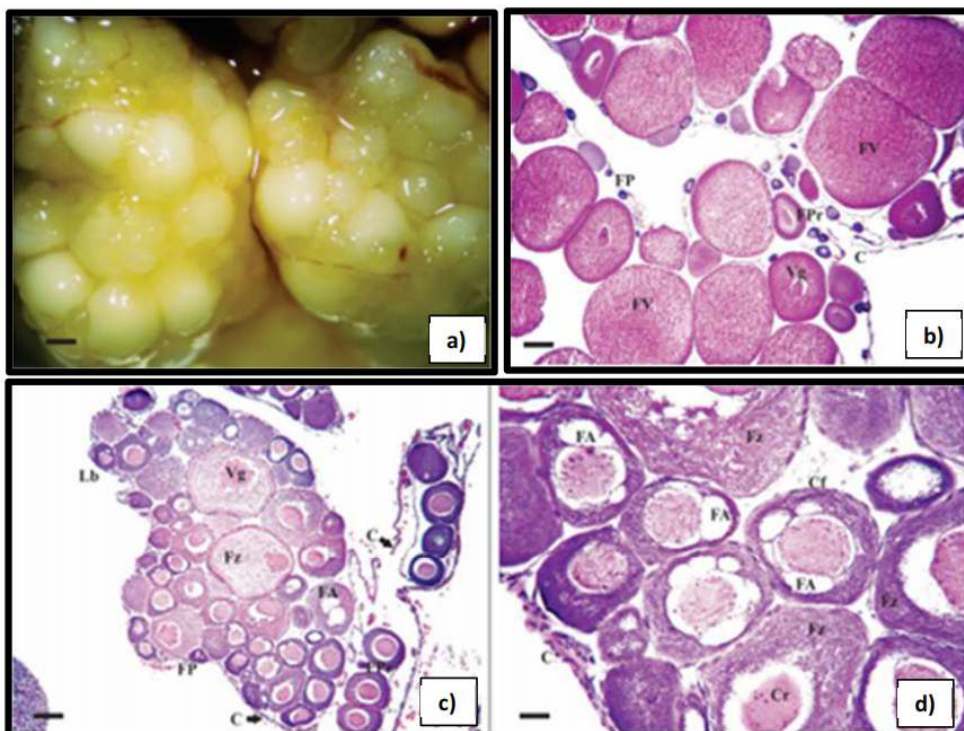


Fig. 12: Selección de imágenes: Anatomía e histología del ovario de *Leptodactylus latinasus* (Pucci Alcaide *et al.*, 2012). **a)** Ovario, vista anatómica, escala 1 cm = 0,045 mm; **b)** Corte histológico de ovario: Hematoxilina-Eosina (H-E). FV: Folículo Vitelogénico; C: Conectivo; FPr: Folículo Primario; FP: Folículo Primordial; Vg: vesícula germinativa. Escala 1 cm = 44 μm; **c)** Corte histológico de ovario: Hematoxilina-Eosina (H-E). C: Conectivo; FA: Folículo Atrésico; FP: Folículo Primordial; FPr: Folículo Primario; Fz: Fibrilización; Lb: Lóbulo ovárico; Vg: Vesícula germinativa. Escala 1 cm = 95 μm; **d)** Corte Histológico de ovario: Hematoxilina-Eosina (H-E). C: Conectivo; Cf: Células foliculares; Cr: Cromosomas; FA: Folículo Atrésico; Fz: Fibrilización; Escala 1 cm = 23 μm.

Obtención de gametas masculinas:

En este caso, no es necesario inducir la producción de gametas. Una vez sacrificado el macho, realizar un corte de piel longitudinal en el abdomen que abarque su totalidad. Luego, en cada uno de los extremos del corte anterior, realizar un corte transversal del flanco a flanco.

Separar los órganos de la cavidad abdominal, en el fondo, se localizarán los testículos, de forma alargada y color amarillento (Figura 13). Una vez localizados, se procede a la extracción y maceración en solución de Holtfreter (Figura 14).

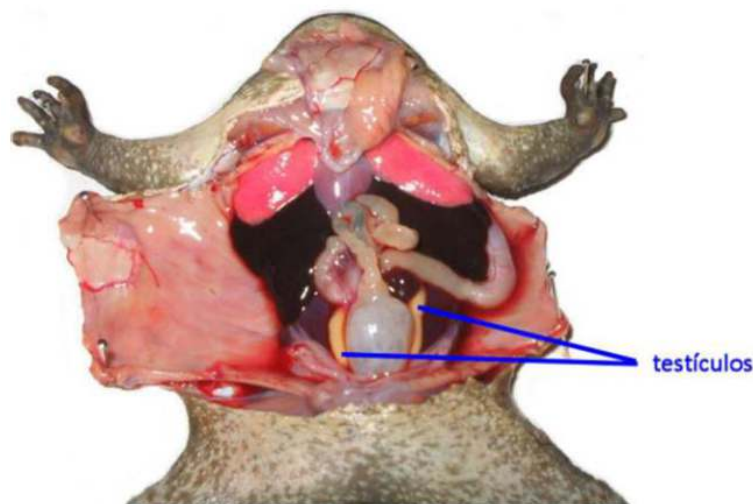


Fig. 13: Disección de un macho de *Rinella arenarum* (Teisaire et al., 2010).

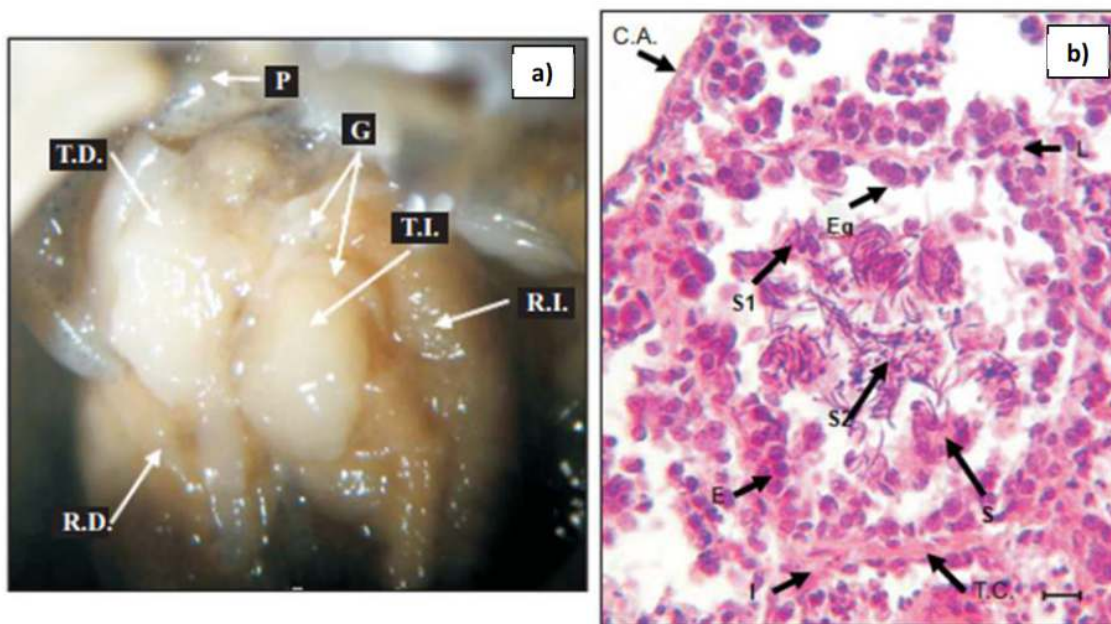


Fig. 14: Anatomía e histología del testículo de *Allobates femoralis* (Asenjo et al., 2011). **a)** Testículo, vista anatómica: 60 X. *P*= Pulmón, *G*=Cuerpos grasos, *T.I*=Testículo izquierdo, *T.D*= Testículo derecho, *R.I*= Riñón mesonéfrico izquierdo, *R.D*= Riñón mesonéfrico derecho; **b)** Corte histológico de un túbulo seminífero: *C.A* = Capa albugínea; *I* = Intersticio interlocular; *T.C*= Tejido conectivo que rodea el túbulo seminífero. *L*= Célula de Leydig; *Eg*= Espermatogonia; *E*= Espermatocito; *S*= Célula de Sertoli; *S1*= Espermátides; *S2*= Haz de espermatozoides en lumen. Barra: 10 micrones.

Obtención de gametas en mamíferos:

Obtención de gametas masculinas:

Anestesiar al animal con el éter o cloroformo. Realizar un corte ventral siguiendo las líneas punteadas y observar la anatomía interna del animal, (Figura 15).

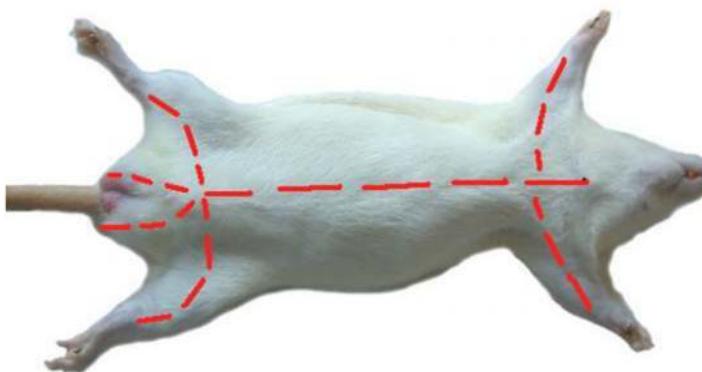


Fig. 15: Esquema de líneas de disección de rata (Teisaire et al., 2010).

Luego cortar con tijeras finas y separar la piel que cubre el escroto, situado en posición abdominal posterior. Proceder de la misma forma con la membrana transparente que rodea a cada testículo que se encuentra acompañado por el epidídimo (Figura 16).

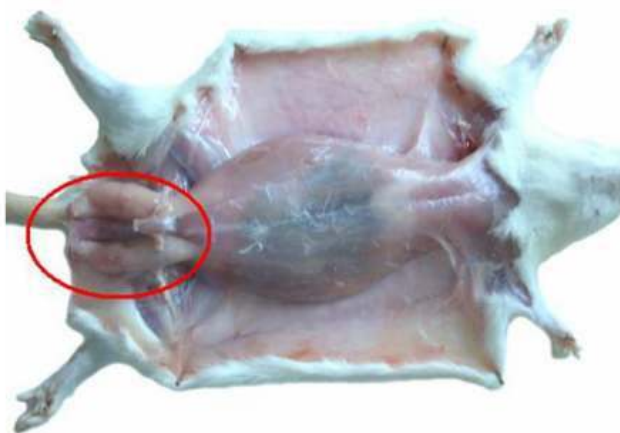


Fig. 16: Segundo paso de la disección: Vista anatómica de los testículos (Teisaire et al., 2010).

Ligar los extremos del conducto del epidídimo con hilo de algodón y luego extraerlo para colocarlo en una caja de Petri conteniendo solución fisiológica de Tyrode (Figura 17).

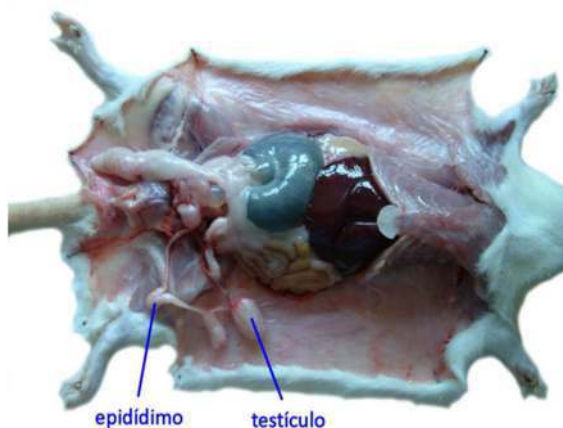


Fig 17: Tercer paso de la disección: Vista anatómica de las estructuras reproductivas masculinas (Teisaire et al., 2010).

Reconocer las tres regiones del epidídimo (cabeza, cuerpo y cola) y separarlas por medio de ligaduras con hilos de algodón.

Aislar cada región en cajas de Petri. En cada una realizar cortes con tijera a fin de liberar los espermatozoides de los túbulos seminíferos. Extraerlos con pipetas Pasteur, jeringas o agujas de tuberculina. El material extraído se emplea para la observación en portaobjetos con una gota del colorante Eosina (Eosina amarillenta al 0.5%).

Si se analiza la viabilidad espermática en cada una de las regiones del epidídimo, se recomienda no mezclar el material biológico ni el instrumental cuando se manipule cada región.

Observación del material en microscopio óptico: se prepara una solución de Eosina al 0.5% en la solución fisiológica para mamíferos. Se coloca y mezcla en un portaobjeto una gota de material a observar y una gota de la solución de Eosina. Dejar de 2 a 3 minutos y observar (esta coloración permite observaciones de hasta 3-4 horas).

Obtención de gametas femeninas:

Inducción de la superovulación y recolección de los ovocitos: Las hembras se inyectan intraperitonealmente con diferentes dosis de PMSG (gonadotrofina sérica equina, Folligon, Intervet) y hCG (gonadotrofina coriónica humana, Intervet).

Los animales se sacrifican por dislocación cervical entre las 14 y 15 hs post-hCG y los cúmulos se recuperan por ruptura de ampulla en medio M2-BSA y se dispersan con hialuronidasa (50 UI/ml) a temperatura ambiente.

Los ovocitos se lavan tres veces en M2-BSA fresco y se examinan en microscopio invertido por contraste de fase para testear la cantidad y calidad en función de la edad de las hembras. Para establecer el timing de la ovulación, las hembras se sacrifican en diferentes horarios post-hCG.

Se disecan los ovarios y se evalúa el número de folículos sin romper y el número y el tipo de los ovocitos recuperados por la punción de los mismos que se compararon con aquellos obtenidos por ruptura del ampulla (Figura 18).

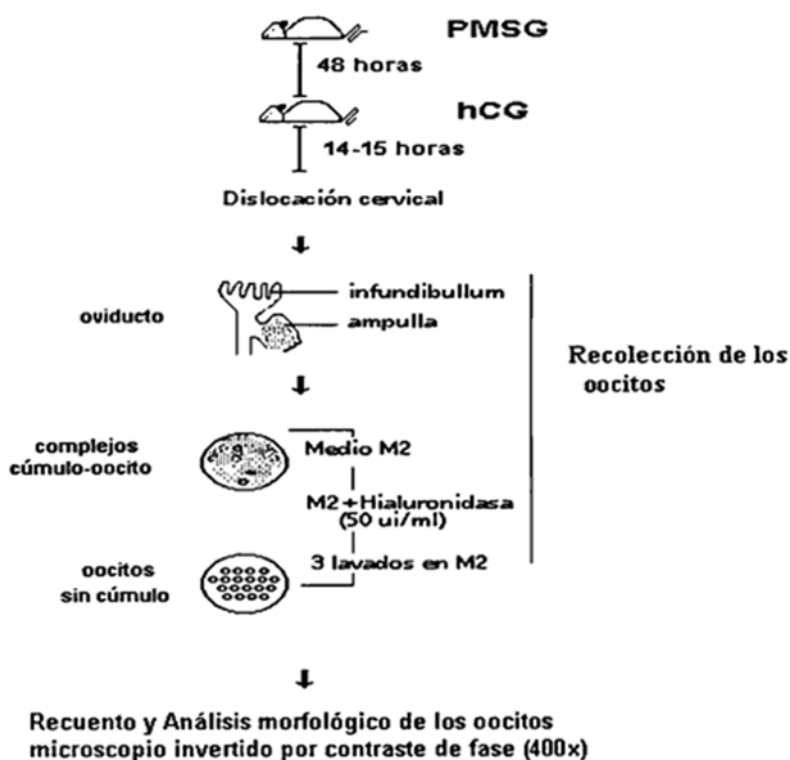


Fig 18: Esquema del protocolo de recolección y análisis morfológico de los ovocitos (Lasserre, 1997).

BIBLIOGRAFÍA:

- Guyton, A. C. & Hall J. E. (2005). *Tratado de Fisiología Médica*. (10° ed.). Capítulo 80. McGraw-Hill Book Company; Interamericana de España.
- Paniagua, R., Nistal, M., Sesma, P., Álvarez-Uría, M., Fraile, B., Anadón, R. & Sáez, F. J. (2007). *Citología e Histología Vegetal y Animal, Volumen II* (4° ed.). Capítulo 9. McGraw-Hill Book Company; Interamericana de España.
- Teisaire, E. S., Nieto, O. L., Roldán A. I., Kreisel, Z. U., Aragón, M. L. & García Moreno, A. (2010). Guía de trabajos prácticos de Embriología. I Gametogénesis. *Reduca (Biología)*, Serie Embriología, 3 (1), 1-13.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA: PECES

- Anguís, V., Cañavate, J. P. (2005). Spawning of captive Senegal sole (*Solea senegalensis*) under a naturally fluctuating temperature regime. *Aquaculture* 243, 133-145.
- Cabrita, E., Soares, F., Dinis, M. T. (2006). Characterization of Senegalese sole, *Solea senegalensis*, male broodstock in terms of sperm production and quality. *Aquaculture* 261, 967-975.
- García-López, A., 2005. Efectos del fotoperiodo y del termoperiodo sobre el ciclo reproductor en cautividad del lenguado senegalés *Solea senegalensis* (Kaup, 1858). Tesis Doctoral. Universidad de Cádiz Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales.
- García-López, A., Fernández-Pasquier, V., Couto, E., Canario, A. V. M., Sarasquete, C., Martínez- Rodríguez, G., 2006 b. Testicular development and plasma sex steroid levels in

cultured male Senegalese sole *Solea senegalensis* Kaup. *General and Comparative Endocrinology* 147, 343-351.

Pérez Rasines, I. (2005). Reproducción en cautividad del lenguado senegalés (*Solea senegalensis*): inducción hormonal a la ovulación y obtención de huevos para la fecundación artificial. Tesis Doctoral. Universidad de Oviedo. Departamento de Biología de Organismos y Sistemas.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA: ANFIBIOS

Asenjo, A., Siu Ting, K. & Pino, J. (2011). Morfometría de testículos y células germinales de *Allobates femoralis* (Boulenger 1883) (Dendrobatidae: Anura: Amphibia). *The Biologist (Lima)*, 9 (2), 167-175.

https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/biologist/v09_n2/pdf/a03v9n2.pdf

Cátedra de Embriología general y Humana, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. Guía de trabajos Prácticos.

Houssay, B. A. (1947). Ovulación del sapo *Bufo arenarum* Hensel. *Revista de la Sociedad Argentina de Biología*, 23 (2), 176-185.

Pucci Alcaide, A., Ponssa, M. L., Pucci Alcaide, F. J. & Alcaide, M. F. (2012). Histología de ovario en hembras vitelogénicas de *Leptodactylus latinasus* (Anura, Leptodactylidae), *Acta zoológica lilloana*, 56 (1-2), 44-53.

http://www.lillo.org.ar/revis/zoo/2012/v56n1_2/v56n1_2a06.pdf

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA: MAMÍFEROS

Lasserre, A. (1997). Gametas femenina y masculina de *Calomys laucha* y *Calomys musculinus*: características, comportamiento y sus interacciones. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2986_Lasserre.pdf

Ciclos Estrales

OBJETIVOS:

- ✦ Integrar los conocimientos anatómicos del sistema genital femenino a su fisiología.
- ✦ Comprender los procesos fisiológicos que regulan el ciclo estral en la mujer.
- ✦ Observar y reconocer preparados histológicos de tejido ovárico.

MARCO TEÓRICO:

Alrededor de los 12 años, las mujeres comienzan a experimentar una serie de cambios fisiológicos y anatómicos que la preparan para entrar en la fase reproductora de su vida. Las hormonas sexuales estimulan a los órganos del tracto reproductor para hacerse funcionales y producir un óvulo maduro cada mes. El primer flujo menstrual, resultado del primer ciclo reproductor, se denomina **menarca**. La función continúa cíclicamente sin interrumpirse hasta la **menopausia**, excepto que ocurra embarazo. De este modo, se define como **ciclo estral** al conjunto de acontecimientos fisiológicos que se producen en el ovario y el útero, a intervalos de tiempo cíclicos, como consecuencia de las variaciones en los niveles hormonales. Se trata de modificaciones orgánicas y funcionales que se repiten cada 28 días aproximadamente preparan al Sistema Reprodutor Femenino para un eventual embarazo.

Pueden ser agrupadas en dos ciclos, estrechamente relacionados: **el ciclo ovárico y el endometrial** (Figura 1).

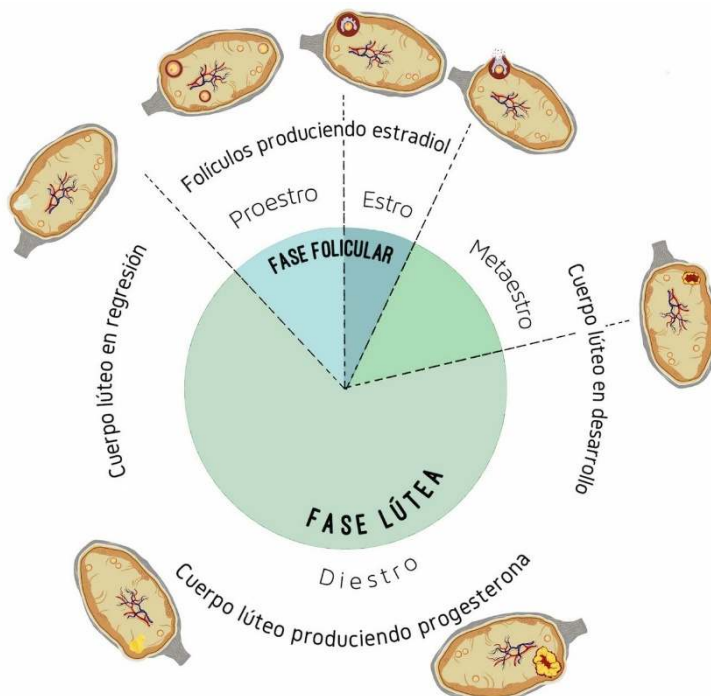


Fig. 1: Representación esquemática del Ciclo Estral y sus fases en mamíferos (Góngora & Velázquez, 2021).

Ciclo Ovárico:

Las alteraciones de los ovarios durante el ciclo sexual dependen por completo de las **hormonas gonadotropas (o gonadotropinas)**: la **Hormona Foliculoestimulante (FSH)** y la **Hormona Luteinizante (LH)**, secretadas por la adenohipófisis. La secreción cíclica de éstas es regulada por la hormona liberadora de gonadotropinas, elaborada por el hipotálamo. Los ovarios no estimulados permanecen inactivos, como ocurre durante la niñez. A la edad de 9 a 12 años, la hipófisis comienza a secretar cada vez más FSH y LH, lo que culmina con la iniciación de los ciclos sexuales mensuales entre los 11 y 15 años. Este período de cambio se denomina pubertad.

Durante todos los años de vida reproductora de la mujer, entre los 13 y 46 años aproximadamente, 400 a 500 folículos primordiales se desarrollarán lo suficiente como para expulsar sus óvulos; el resto degenerará (se volverán atrésicos).

Es posible dividir el ciclo ovárico en dos fases (Figura 2): **Fase Folicular o Estrogénica** y la **Fase Lútea o Porgestacional**.

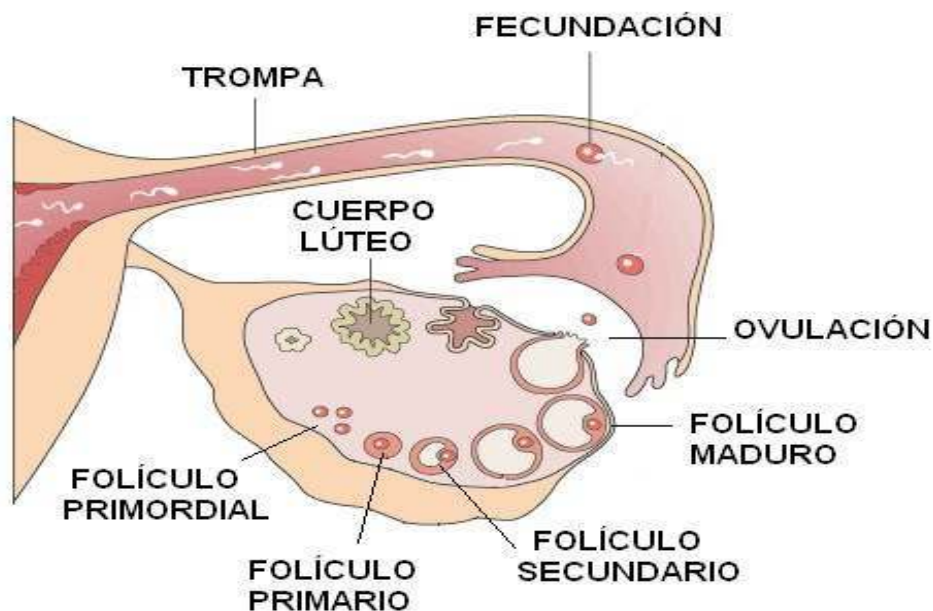


Fig.2: Esquema de los cambios que ocurren en los folículos ováricos durante el ciclo ovárico en la mujer (imagen ilustrativa de uso libre, autor desconocido).

Fase Folicular o Estrogénica:

En la niña, al momento del nacimiento, hay aproximadamente 400.000 ovocitos, cada uno rodeado de una única capa de células de la granulosa (**Folículo Primordial**). Durante la niñez, este ovocito estará detenido en la **profase** de la primera división meiótica. Tras la pubertad, tanto los ovarios como algunos folículos comenzarán a crecer debido al aumento de las capas de la granulosa, formándose así **Folículos Primarios**.

Al comienzo de cada ciclo menstrual las concentraciones de FSH y LH aumentan moderadamente. La FSH induce el crecimiento acelerado de 6 a 12 Folículos Primarios cada mes, con proliferación rápida de las células de la granulosa y formación de las tecas interna y externa en cada folículo. Tras la fase temprana proliferativa de crecimiento, la masa de células de la granulosa secreta líquido folicular, que contiene una gran concentración de **Estrógeno**. La acumulación de este líquido hace que aparezca un antro en el interior de la masa de células de la granulosa. Cada ovocito aumenta 3 a 4 veces su tamaño. Transcurrida una semana, uno de los folículos comienza a crecer más que los demás; los 5 a 11 restantes involucionan y se vuelven atrésicos.

La **ovulación** en un ciclo de 28 días se produce **14 días** después del inicio de la menstruación. Poco tiempo antes de la ovulación, la pared externa del folículo maduro (**Folículo Terciario o de Graaf**) se hincha y aparece una protuberancia, el estigma. Éste se rompe y libera al ovocito, que abandona el ovario cubierto por la membrana pelúcida (gruesa cubierta

glicoproteica) y por la corona radiata (células de la granulosa). En esta instancia, el ovocito ha reanudado la meiosis y se encuentra detenido en **meiosis II** con el huso ensamblado. Si el ovocito es fecundado, la meiosis II finaliza; caso contrario, degenera luego de 24 horas. La hormona LH es necesaria para el crecimiento folicular final y para la ovulación, presentando un pico máximo 16 horas antes de esta última. La LH convierte las células de la granulosa y de la teca en productoras de **Progesterona**, con lo que disminuye la secreción de Estrógeno.

Fase Luteínica o Progestacional:

Durante las primeras horas tras la expulsión del ovocito, las células de la granulosa y de la teca se convierten en células luteínicas, llenándose de inclusiones lipídicas y conformando el **Cuerpo Lúteo** (Figura 3). Desarrollan un extenso retículo endoplasmático liso para la secreción de Progesterona (principalmente) y Estrógeno; ambas hormonas llevan a la FSH y LH a sus niveles mínimos. El cuerpo lúteo crece hasta 1,5 cm, durante los 7-8 días después de la ovulación. De no haber ocurrido fecundación, involuciona y comienza a perder su función secretora, convirtiéndose en el **Corpus Albicans**. En las siguientes semanas es sustituido por tejido conjuntivo y al cabo de unos meses es reabsorbido. Aproximadamente al día 26 del ciclo, se elimina la inhibición de la adenohipófisis y los niveles de FSH y LH comienzan a aumentar. Antes de que nuevos folículos inicien la maduración, la escasez de Progesterona y Estrógeno causa la menstruación. En caso de haber ocurrido fecundación, la placenta (placa coriónica) secreta la hormona **Gonadotropina Coriónica**, que prolonga la vida del Cuerpo Lúteo manteniéndolo por lo menos durante los primeros 2 a 4 meses de gestación.

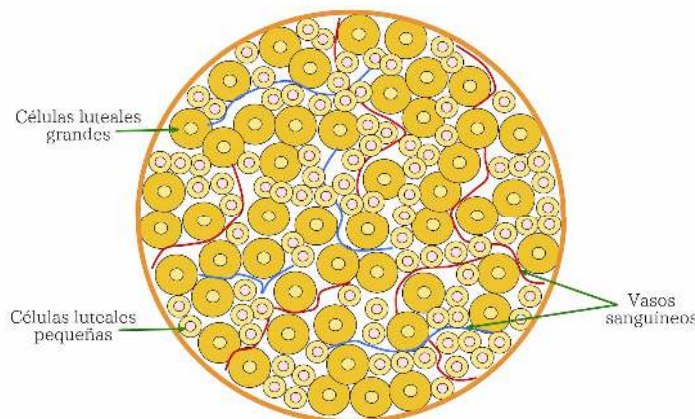


Fig. 3: Representación esquemática de la estructura interna de un Cuerpo Lúteo (Góngora & Velázquez, 2021).

Ciclo Uterino:

El útero es el órgano en el cual el óvulo fecundado anida y donde el organismo en desarrollo crece y es nutrido hasta el nacimiento. Posee tres capas: una mucosa, una muscular y una serosa. La **mucosa o Endometrio** difiere en su estructura según la etapa del ciclo sexual y el embarazo. Se pueden distinguir 2 capas en el Endometrio, una **Basal** y una **Funcional**. Los cambios que estas capas sufren a lo largo de cada ciclo pueden agruparse en 4 fases (Figura 4): **Menstruación, Fase Proliferativa, Fase Secretoria y Fase Isquémica**.

Menstruación: El primer día de la menstruación coincide con el primer día del ciclo endometrial. Mientras que la capa vecina al miometrio (capa basal) se mantiene, la capa funcional se desprende y provoca una hemorragia que dura entre 3 y 5 días.

Fase proliferativa: Esta fase es mantenida por los Estrógenos ováricos. Se inicia al concluir la menstruación y finaliza el día 14 del ciclo, con la ovulación. En su transcurso se repara la capa funcional del endometrio.

Fase secretoria: Esta fase es sustentada por la Progesterona ovárica y se extiende desde la ovulación hasta la próxima menstruación. La capa funcional se engruesa debido a que sus glándulas producen abundantes secreciones y se produce la edematización del tejido intersticial. Además, si el óvulo es fecundado, el embrión comienza a implantarse en esta fase del ciclo. Precisamente, las secreciones y el edema son adaptaciones del endometrio para acoger y nutrir al embrión durante los primeros días de desarrollo.

Fase isquémica: Si el óvulo no es fecundado, el cuerpo lúteo deja de secretar Progesterona y la capa funcional se contrae y empalidece. Al día siguiente se desprende, de modo que comienza una nueva menstruación y con ella otro ciclo. En cambio, si el óvulo es fecundado, la secreción de progesterona continúa y el endometrio se mantiene hasta la fecha del parto.

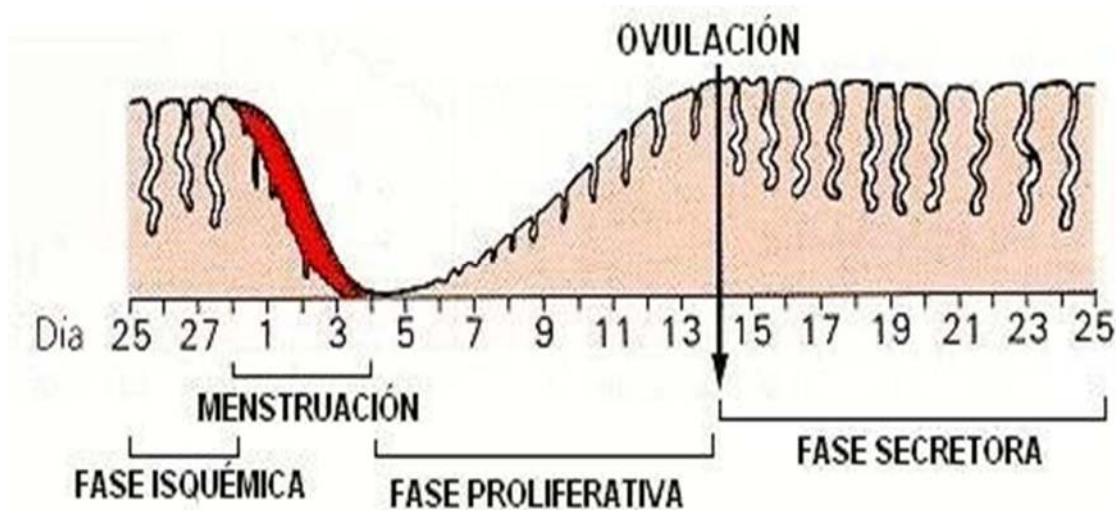


Fig.4: Esquema de los cambios que sufre el endometrio durante el ciclo uterino en la mujer (imagen ilustrativa de uso libre, autor desconocido).

Diferencias entre el ciclo estral de la mujer y el de los animales domésticos:

El ciclo estral de la mujer y del resto de los primates difiere del de los animales domésticos en algunas características fundamentales: la fase del celo no tiene manifestaciones visibles y, por otra parte, la regresión del endometrio una vez completada la fase de secreción, en aquellos casos en que no ha habido fecundación, arrastra procesos de intensa destrucción que conducen a la eliminación de la superficie de la mucosa (menstruación), lo que no ocurre en las hembras de ninguna otra especie.

Los ciclos que han sido explicados hasta aquí, con sus correspondientes fases, pueden resumirse gráficamente en la siguiente figura que proporciona una integración de la fisiología del sistema reproductor femenino (Figura 5):

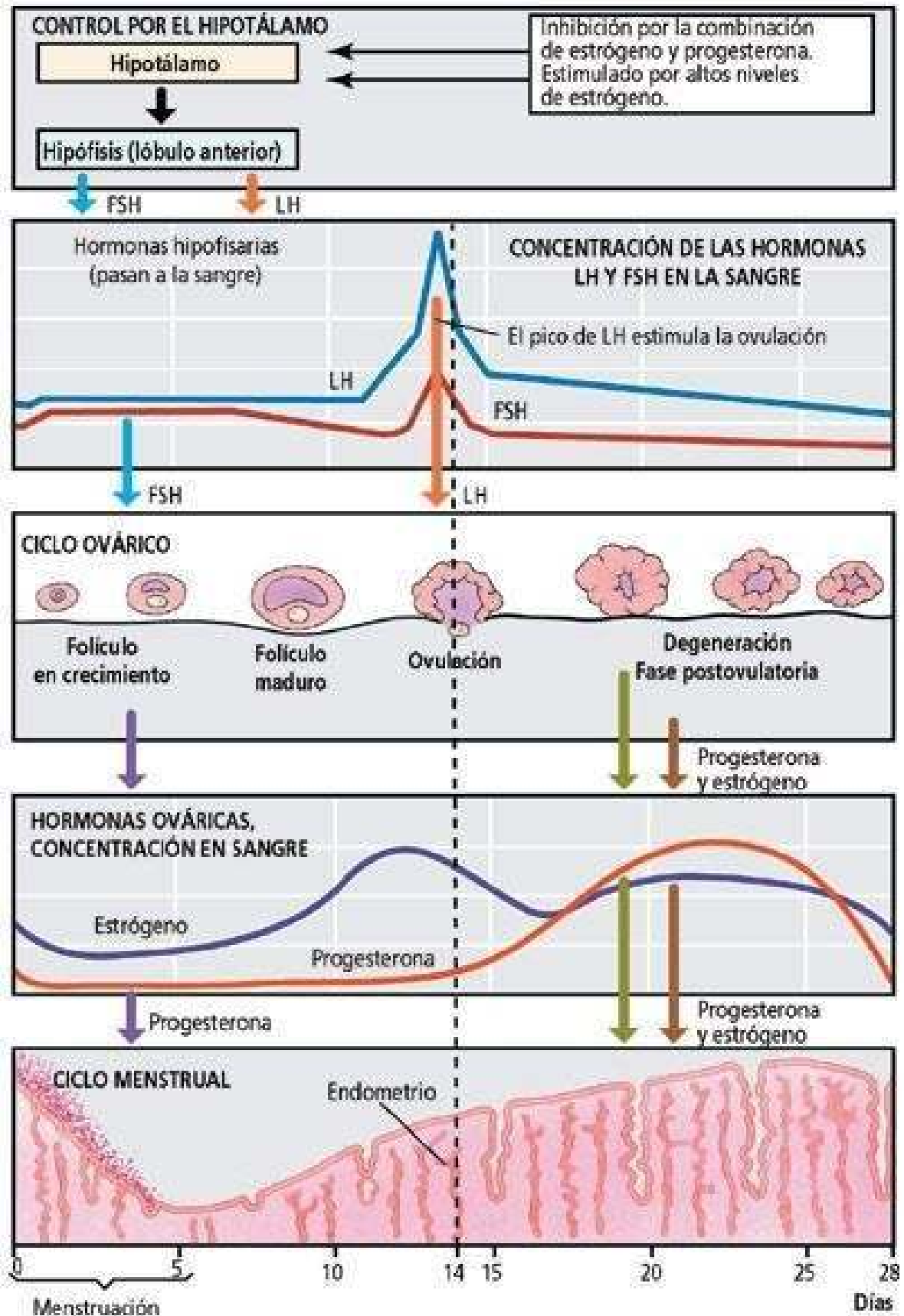


Fig.5: Esquema integrador de los cambios fisiológicos del sistema reproductor femenino durante el ciclo ovárico y el ciclo uterino (Hib, 2006).

EL CICLO ESTRAL EN ANIMALES DOMÉSTICOS Y OTROS MAMÍFEROS

Dependiendo de la especie que se trate, tanto la duración como la repetición del ciclo es variable (Tabla 1). De esta manera, podemos diferenciar especies:

Monoéstricas: Especies que ciclan una vez al año (Carnívoros salvajes).

Diéstricas: Especies que ciclan dos veces al año (Perra y Gata).

Poliéstricas: Especies que ciclan todo el año (Vaca, Yegua, Primates).

Teniendo en cuenta las manifestaciones de comportamiento, el Ciclo Estral puede dividirse en: **Proestro**, **Estro**, **Metaestro** y **Diestro** (Tabla 2). En el caso de animales Monoéstricos y Diéstricos se adiciona una etapa más al ciclo denominada **Anestro**, en la cual no hay comportamiento sexual.

Tabla 1: Características del Ciclo Estral y su duración en los animales domésticos.

<i>Animal</i>	<i>Frecuencia del celo</i>	<i>Duración del ciclo</i>	<i>Duración del celo</i>	<i>Día de ovulación</i>	<i>Nº de folículos maduros</i>
Yegua	Poliéstricos	21 días	5-7 días	Día 4 del celo	1 a 3
Vaca	Poliéstricos	21 días	1 día	10 hs después de desaparecer los síntomas del celo.	1 ó 2
Cerda	Poliéstricos	21 días	2 días	24 a 36 hs después de iniciado el celo.	8 a 30
Oveja	Poliéstricos	17 días	1-2 días	Hacia el final de celo	1 a 7
Cabra	Poliéstricos	21 días	1-2 días	Hacia el final del celo	1 a 7
Perra	Diéstricos	6 meses	7 días	Al final del celo	1 a 20
Gata	Diéstricos	21 días	3 días	Durante el coito	

Tabla2: Características comportamentales según etapas del Ciclo Estral y su relación con el Ciclo Ovárico.

<i>Etapas</i>	<i>Comportamiento</i>	<i>Desde/Hasta</i>	<i>Fase ciclo Ovárico</i>
Proestro	Señales de búsqueda activa de los machos (proceptividad)	Comienzo de la luteolisis comienzo de la receptividad	Fase Folicular
Estro	Celo (receptividad)	Periodo de receptividad	
Metaestro	Cesa la receptividad	Final de receptividad-cuerpo lúteo formado/funcional	Fase Luteínica
Diestro	No receptiva, rechaza a los machos	Cuerpo lúteo funcional	

Factores que afectan los patrones de comportamiento reproductivo:

Existe diversos factores que pueden alterar el comportamiento reproductivo de los animales. Algunos de estos pueden ser:

Estrés: El estrés afecta la función del eje Hipotálamo – Hipófisis – Gónadas en sus tres niveles: en el cerebro inhibe la secreción de GnRH, en la hipófisis interfiere con la liberación de LH y a nivel gonadal afecta la producción de esteroides en respuesta a las gonadotropinas. Uno de los eventos de estrés en animales domésticos más conocidos es el estrés por calor que altera el ciclo estral, el celo, la implantación y la gestación. Otros potenciales eventos de estrés pueden ser el estrés inducido por transporte o en la manga de manejo (en bovinos).

Temperatura: En los días de temperaturas muy elevadas hay una disminución en la manifestación del celo. En especies que no se encuentren bien adaptadas a ciertas condiciones climáticas, las altas temperaturas pueden comprometer la viabilidad de los embriones. Por otra parte, el frío incide en el metabolismo ocasionando una disminución de la actividad reproductiva.

Fotoperiodo: En especies estacionales, como los equinos y pequeños rumiantes, el fotoperiodo (cantidad de horas luz) influye en la actividad del eje Hipotálamo – Hipófisis – Gónadas a través de la **melatonina**, una hormona producida por la glándula pineal durante la noche. Esta hormona regula la secreción de GnRH, provocando una disminución o un aumento de los niveles de FSH y LH dependiendo de la especie que se trate (Figura 6): en especies estacionales de días largos (ej., equinos), la menor exposición a horas luz durante el invierno provoca que haya un aumento de melatonina, la cual disminuye la liberación de GnRH ocasionando una menor secreción de FSH y LH (Figura 6.a). De manera inversa, en especies con su etapa reproductiva en invierno (ej. caprinos), el aumento en la melatonina resulta en una mayor producción de GnRH y por tanto, de FSH y LH (Figura 6.b).

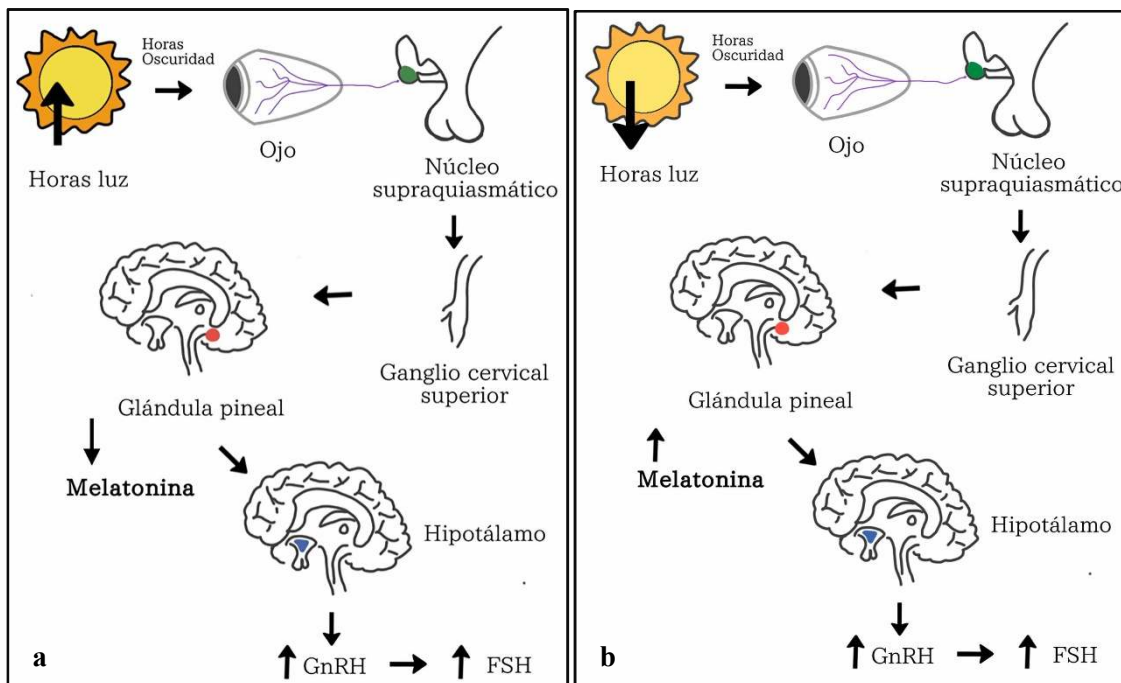


Fig. 6: Regulación del Ciclo Estral por medio de la melatonina (Góngora & Velázquez, 2021). **a)** Regulación en especies estacionales de días largos: a mayor cantidad de horas luz disminuye la melatonina, promoviendo la secreción de GnRH, FSH y LH; **b)** Regulación en especies estacionales de días cortos: a menor cantidad de horas luz aumenta la melatonina, promoviendo la secreción de GnRH, FSH y LH.

Nutrición: El estado nutricional puede influir en la actividad reproductiva. En bovinos, se ha observado que la disminución de más del 20% del peso corporal induce a las hembras a entrar en un estado de Anestro prolongado. Asimismo, si la restricción nutricional es crónica, puede comprometerse totalmente la actividad ovárica, al verse afectado el crecimiento y persistencia de los folículos.

Factores sociales: En algunas especies de ganado doméstico, el aumento o disminución de animales en el grupo puede influir en el comportamiento reproductivo. Por ejemplo, en bovinos, cuando se aumenta el rebaño, las vacas dominantes pueden atacar a las más jóvenes que presentan ciclos estrales más cortos.

Efecto hembra – hembra y efecto macho: El efecto hembra – hembra fue muy estudiado en pequeños rumiantes. La introducción de hembras ciclando a un grupo en Anestro estacional provoca que la estación reproductiva se adelante, induciendo y sincronizando la ovulación. Por otra parte, se conoce como efecto macho a la estimulación de la actividad reproductiva mediante la exposición del macho o sus secreciones (orina) a las hembras. Suele utilizarse en algunas especies como cerdos, ovinos y caprinos. También se ha visto que en vaquillas Hollstein la exposición al macho acelera el inicio de la pubertad.

BIBLIOGRAFÍA:

Guyton, A. C. & Hall J. E. (2005). *Tratado de Fisiología Médica*. (10° ed.). Capítulo 81. McGraw-Hill Book Company; Interamericana de España.

Hib, J. (2006). *Embriología Médica*. (8° ed). Capítulo 1. Clareo.

Ungerfeld, R. (2020). *Reproducción de los animales domésticos* (1° ed). Capítulo 4. Edra.

Góngora, A. & Velázquez, H. (2021). Capítulo 6: Ciclo Estral. En: Galina, C. (Compilador). *Reproducción de los Animales Domésticos*. Recuperado de: <https://reproduccionanimalesdomesticos.fmvz.unam.mx/>

IMPLANTACIÓN

OBJETIVOS:

- ▲ Comprender el proceso de Implantación embrionaria en Mamíferos y sus características.
- ▲ Reconocer las estructuras maternas y embrionarias implicadas en el proceso.
- ▲ Establecer las diferencias con otros grupos de vertebrados.

MARCO TEÓRICO:

La independencia total del medio acuático fue un punto crucial en la historia evolutiva de los vertebrados. Una de las adaptaciones más importantes que permitió que eso sucediera fue el desarrollo de envolturas que protegieran al embrión preservando el ambiente húmedo que lo rodea. Los primeros organismos en adoptar esta estrategia reproductiva fueron los reptiles primitivos. Sus huevos se encontraban cubiertos externamente por un cascarón, mientras que una serie de membranas envolvía el cuerpo del embrión, conteniéndolo en un medio acuático similar al de sus antepasados. Las mismas eran generadas por el propio embrión y cumplían una serie de funciones vitales tales como nutrición, intercambio gaseoso y la eliminación o almacenamiento de materiales residuales. Todos los embriones de los vertebrados superiores comparten cuatro tipos de anexos extraembrionarios:

- ▲ **Amnios:** envuelve al embrión y lo contiene en un medio acuoso.
- ▲ **Saco Vitelino:** su función principal es nutrir al embrión.
- ▲ **Alantoides:** media el intercambio de gases y excreción.
- ▲ **Corion (o “serosa” en aves):** sitio de intercambio entre el embrión y el medio que lo rodea. El corion resulta de la unión del trofoblasto con el mesénquima procedente de la hoja parietal del mesodermo lateral.

La placenta en los mamíferos surge como una adaptación de estas mismas membranas extraembrionarias. El corion se adhiere a la pared uterina (endometrio), posibilitando que el embrión complete su desarrollo dentro del cuerpo de la madre, sin necesidad del cascarón.

Implantación

Se denomina implantación al proceso de unión del trofoblasto con la pared uterina. En humanos, comienza en el día 7 y si bien puede ocurrir en cualquier parte del endometrio, es frecuente que se produzca en el tercio superior de la pared dorsal del útero. Asimismo, el tejido endometrial se vuelve receptivo para la adhesión del embrión durante un breve período de tiempo que se conoce como **ventana de implantación**. Esto ocurre durante la fase secretoria del ciclo uterino y puede durar entre 12 horas y 2 días.

El proceso de implantación ocurre en tres etapas:

Aposición: La adhesión inicial por parte de las células del trofoblasto que cubren en el macizo celular interno se conoce como **aposición** (Figura 1.a). Al ser una unión débil depende mucho de la interacción entre las microvellosidades de la membrana plasmática de las células del trofoblasto y unas protrusiones llamadas **pinopodios** que aparecen en la superficie del endometrio. Durante toda esta etapa, el endometrio libera diversas citocinas (quimiocinas e interleucinas) que actúan como sustancias quimioatrayentes y exosomas (pequeñas vesículas que contienen sustancias diversas) que favorecen la capacidad adhesiva para iniciar una implantación

exitosa. Por otro lado, el blastocisto libera desde el trofoblasto diversos mediadores (tales como el Factor de crecimiento derivado de plaquetas AA) que generan cambios en el endometrio a fines de asegurar y mantener la gestación.

Adhesión: Esta primera unión se va afianzando a medida que aumenta la glicocálix sobre las células endometriales y las uniones entre éstas con las células trofoblásticas mediante **desmosomas** (Figura 1.b). Durante esta etapa, la interacción blastocisto-endometrio tiene lugar mediante moléculas de adhesión tales como troponina, cadherinas e integrinas, asociadas a varios ligandos que contienen fibronectina, vitronectina, trombospondina y osteopontina. Al igual que en la Aposición, los exosomas intervienen en el proceso de adhesión en el endometrio, aunque también inducen cambios en el blastocisto. Inclusive, son capaces de regular parcialmente la adherencia de células a través de la señalización de adhesión FAK (focal quinasa activa). Una glicoproteína que forma parte del contenido de los exosomas y que se presume que cumple un rol crucial en la implantación es la Fibulina 1, que se asocia con la remodelación de la matriz extracelular, adhesión celular y la interacción de la membrana basal.

Migración-Invasión: Es la etapa final del proceso. Las células trofoblásticas proliferan rápidamente e invaden el endometrio (Figura 1.c). Este punto coincide con la **diferenciación entre citotrofoblasto y sinciotrofoblasto**, siendo el primero el tejido con actividad proliferativa, mientras que el segundo invade el endometrio mediante fagocitosis. Este proceso es fomentado por el endometrio materno, cuyas células iniciaron la **reacción decidual**. Durante la invasión trofoblástica, uno de los mecanismos para la destrucción de las células epiteliales es la apoptosis y una de las proteínas que regula este proceso es la **Sdc-1 (Syndecan-1)**, influyendo en la profundidad de la invasión. Para el día 11, este proceso de fagocitosis continúa y dentro del sinciotrofoblasto comienzan a aparecer pequeñas cavidades con secreciones y sangre materna provenientes de las glándulas endometriales y los vasos sanguíneos maternos fagocitados. Con el tiempo, estas cavidades se interconectan y forman la **red lacunar** (Figura 1.d), y con ella, la **circulación sanguínea uteroplacentaria primitiva**.

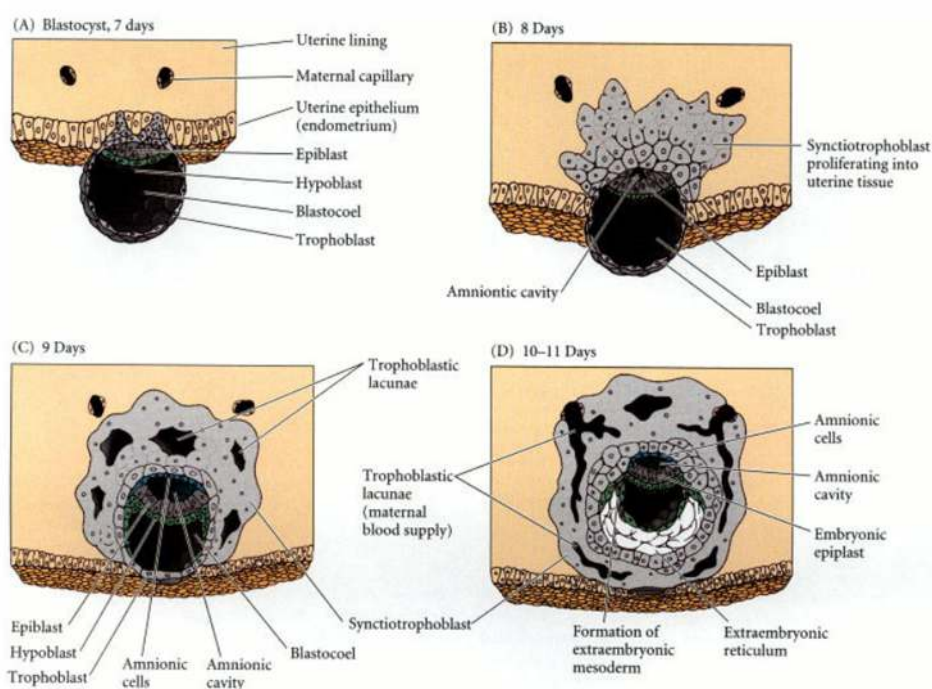


Fig. 1: Esquema del proceso de Implantación (Gilbert, 2000). **a)** Aposición; **b)** Adhesión; **c)** Migración – Invasión (etapa inicial); **d)** Proceso de Migración – Invasión avanzado y formación de la Red Lacunar.

El éxito de la implantación y la placentación del embrión dependen de la invasión adecuada del trofoblasto en el estroma endometrial materno. En este sentido, la Gonadotropina Coriónica humana (hCG) es una hormona que cumpliría un rol crucial, debido a que modularía la interacción del embrión con el endometrio mediante la regulación del sistema inmune. Se ha descrito que la hCG, junto con la IL-1, modulan de las funciones angiogénicas, inmunitarias y de remodelación tisular de las células del estroma endometrial para favorecer la invasión del trofoblasto. A su vez, modula la receptividad de células endometriales a IL-1 y regula el aumento de C3 (proteína central del complemento) en zonas específicas del endometrio, así como en otras zonas impide su sobre acción. Por otro lado, interviene en la producción de mediadores pro/antiinflamatorios que promueven un equilibrio general, favoreciendo la tolerancia hacia los antígenos de trofoblasto.

Tipos de implantación en los mamíferos:

IMPLANTACIÓN CENTRAL: la vesícula embrionaria se dispone en el centro de la luz uterina. Generalmente, la unión de tejidos que se establece es poco invasiva y los tejidos fetales pueden separarse fácilmente del epitelio uterino. Este tipo de implantación es frecuente en los mamíferos domésticos.

IMPLANTACIÓN EXCÉNTRICA: la vesícula embrionaria se incluye en un surco profundo de la mucosa uterina que la aísla parcialmente de la luz del útero. Se presenta en los roedores.

IMPLANTACIÓN INTERSTICIAL: el trofoblasto invade y destruye parcialmente las paredes del útero materno, de manera que la vesícula se hunde en las paredes de la mucosa uterina y se desarrolla en su interior. Se presenta en los primates, incluyendo el hombre.

BIBLIOGRAFÍA

- García Minterde, J. & Gil Cano, F. (2013). Placentación: Fundamentos y tipos de placentas en los animales veterinarios. *Embriología veterinaria: un enfoque dinámico del desarrollo animal* (1a ed). Inter-Médica, Buenos Aires, 63-70.
- Gilbert, S. F. (2000). Chapter 11: The early development of vertebrates: Fish, birds, and mammals. *Developmental Biology* (6th ed). Sinauer Associates, Sunderland (MA), 313-328.
- Hib, J. (2006). Capítulo 4. *Embriología Médica* (8° ed). Clareo, Buenos Aires, 19-26.
- Prieto Gómez, R., Vidal Seguel, N. E., Lizama Pérez, R. A., Miranda Krause, R. E., Millán, N. E. N., Ortega Silva, M. E., Ottone, N. E. & Deppe, M. (2019). Interacción Endometrio Trofoblasto en la Implantación Humana: Revisión de la Literatura. *Int J. Morphol*, 37, 397-405.

PLACENTA

OBJETIVOS:

- ▲ Caracterizar el desarrollo y funciones de la placenta y de los órganos agrupados bajo el nombre de membranas extraembrionarias.
- ▲ Identificar las patologías que afectan a la placenta y membranas extraembrionarias y sus consecuencias sobre el desarrollo del embrión.
- ▲ Analizar los mecanismos que desencadenan el parto y alumbramiento y reconocer las patologías que pueden producirse durante el mismo.

MARCO TEÓRICO:

La placenta (del griego *plakous*: torta) es un órgano transitorio formado entre la madre y el feto (Figura 1). Está compuesto por tejidos fetales y maternos, resultando de la asociación del **corion frondoso** y la **decidua basal**. Posee diversas funciones, siendo las más importantes: **respiratoria, digestiva, urinaria, protectora, metabólica y endócrina**.

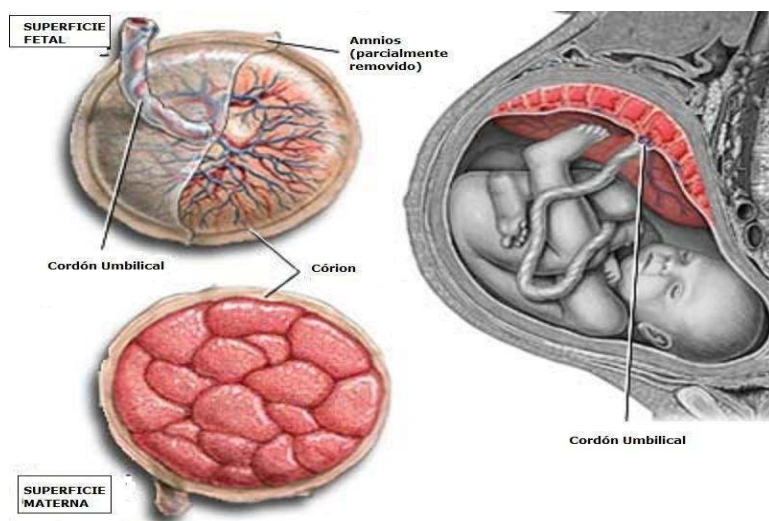


Fig.1: Composición materno-fetal de la placenta (imagen tomada de: [www. medlineplus.gov](http://www.medlineplus.gov)).

Para comprender un poco más tanto la estructura placentaria como sus funciones, se debe tener en cuenta lo siguiente:

- ▲ A pesar de ser un órgano de doble origen (materno y fetal), con tejidos genéticamente diferentes, no resulta rechazada por el cuerpo materno.
- ▲ Permite intercambios entre las circulaciones materna y fetal, y también produce hormonas, ya sea de manera independiente (gonadotrofina coriónica humana y lactógeno placentario) o en asociación con el feto (estrógenos).
- ▲ Es característica su localización extra corporal.
- ▲ La estructura placentaria es sumamente variable de una especie a otra, así como también las distintas fases de su desarrollo.
- ▲ En la vida intrauterina el feto se nutre, respira y elimina desechos a través de la placenta.
- ▲ Ejerce una función protectora permitiendo el pasaje de anticuerpos, los cuales le confieren al feto inmunidad.
- ▲ El sincitiotrofoblasto modifica moléculas presentes tanto en la sangre materna como en la fetal.

Estructura Placentaria:

La placenta constituye una tercera parte del tamaño total del habitáculo que ocupa el embrión en el cuerpo materno. Dicho habitáculo se compone de cuatro capas:

- ▲ **Amnios:** es la capa más interna que delimita la cavidad amniótica, la cual contiene el líquido en el que está inmerso el feto.
- ▲ **Corion:** resulta de la asociación del mesodermo extraembrionario, el citotrofoblasto y el sinciotrofoblasto. Presenta dos regiones bien definidas:
 - *Corion leve:* cuya cara externa no tiene vellosidades y se encuentra fusionada con la decidua parietal.
 - *Corion frondoso:* cuya cara externa sí posee vellosidades y se fusiona con la decidua basal.
- ▲ **Decidua:** que corresponde al endometrio modificado por la presencia del embrión y se identifican dos partes: basal y parietal.
- ▲ **Miometrio:** capa muscular intermedia (formada por músculo liso).

De esta manera, la placenta resulta de una asociación que se produce entre el corion frondoso y la decidua basal, formando dos placas discoideas soldadas en sus bordes: **la placa decidual** y **la placa coriónica** (Figura 2). Entre ambas placas, el espacio resultante se denomina **laguna sanguínea**. La misma está dividida incompletamente por las vellosidades y se recubre totalmente por el sinciotrofoblasto.

Placa decidual:

Es el componente materno de la placenta. Se encuentra formado por:

- ▲ La **decidua basal** (cuyos bordes se continúan con la parietal) que se apoya en el miometrio. En ellas están las arterias y venas.
- ▲ El **citotrofoblasto** que forma una coraza, se separa por la membrana de Nitabuch de la decidua basal.
- ▲ El **sinciotrofoblasto**, que es la capa que se relaciona con la sangre materna. Esta placa presenta perforaciones correspondientes a las arterias y venas del endometrio, por ella se produce la circulación placentaria materna. De la misma, sobresalen los tabiques que dividen la laguna sanguínea en compartimientos conocidos como cotiledones.

Placa coriónica:

Resulta de la asociación del corion con el amnios, con la diferencia de que el primero posee vellosidades en abundancia, cuya finalidad es aumentar el área de contacto para el intercambio entre la sangre fetal y la sangre materna (Figura 2). La mayoría de las vellosidades se mueven libremente por las lagunas sanguíneas y sólo unas pocas forman las llamadas vellosidades de anclaje.

Por la placa coriónica corren los vasos responsables de la circulación fetal.

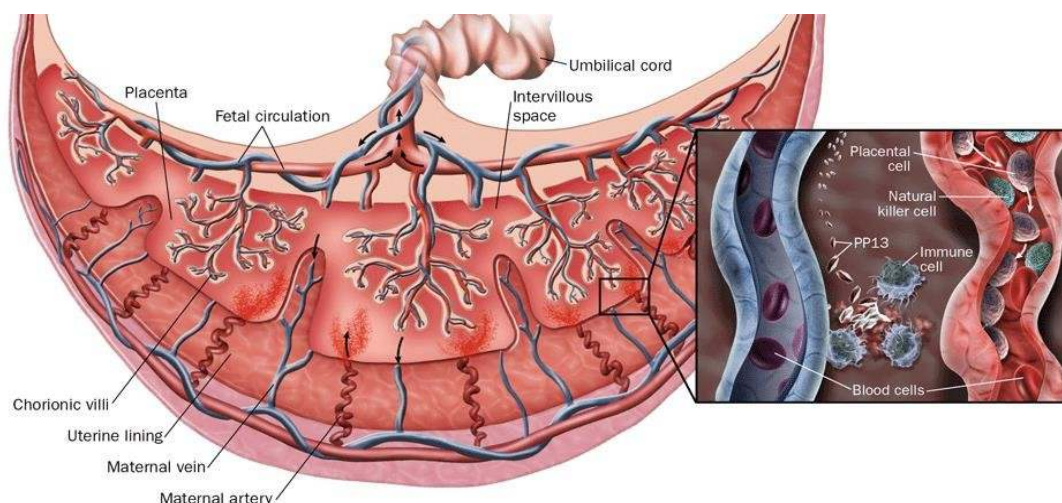


Fig.2: Detalle de la asociación materno-fetal de la placenta (imagen ilustrativa de uso libre, autor desconocido).

Examen de la placenta

Examen macroscópico de la placenta:

Este tipo de examen es de gran interés, ya que da una oportunidad para verificar la integridad de la placenta (evitando así complicaciones maternas) y es un importante suplemento del examen físico del recién nacido, debido a que puede dar indicios de un proceso patológico o presentar signos de una anomalía fetal, riesgo intrauterino o neonatal.

El examen debe hacerse en estado fresco, seguidamente al alumbramiento (Figura 3). Esto permite detectar claramente alguna anomalía que pueda resultar de relevante para la salud del niño. Sólo bajo condiciones excepcionales este examen puede retrasarse, en cuyo caso la placenta deberá mantenerse a 4°C hasta 24 horas. La congelación, inutiliza a la misma para cualquier estudio histológico posterior.

La forma plana de la placenta puede expresarse midiendo ambos ejes, luego de haber eliminado los coágulos de sangre vinculados al desprendimiento.

El peso dará información útil sólo si se procede bajo un estricto protocolo, ya que el peso in útero es la suma de varios constituyentes que pueden variar entre el comienzo del parto y la expulsión de la placenta: sangre materna, sangre fetal, membranas, cordón umbilical, vellosidades placentarias y placa coriónica.

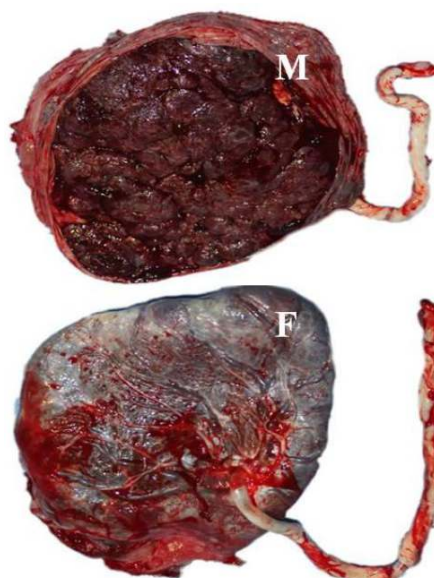


Fig.3: Vista macroscópica de la cara materna (M) y la cara fetal (F) de la placenta humana (Auad *et al.*, 2019)

El peso placentario varía con la edad gestacional, siendo al término de 600 ± 100 gr. Dichos valores, están estadísticamente correlacionados con los pesos de los recién nacidos, dato que es muy importante para detectar patologías, particularmente en casos de **retardo de crecimiento intrauterino (RCUI)**.

Examen microscópico de la placenta:

La indicación clínica para un examen histológico (Figura 4) incluye:

- ▲ Confirmación de observaciones macroscópicas.
- ▲ Estimación de la edad gestacional por examen de las células amnióticas.
- ▲ Investigación de la causa del sufrimiento fetal o neonatal, muerte fetal intraútero y RCIU.

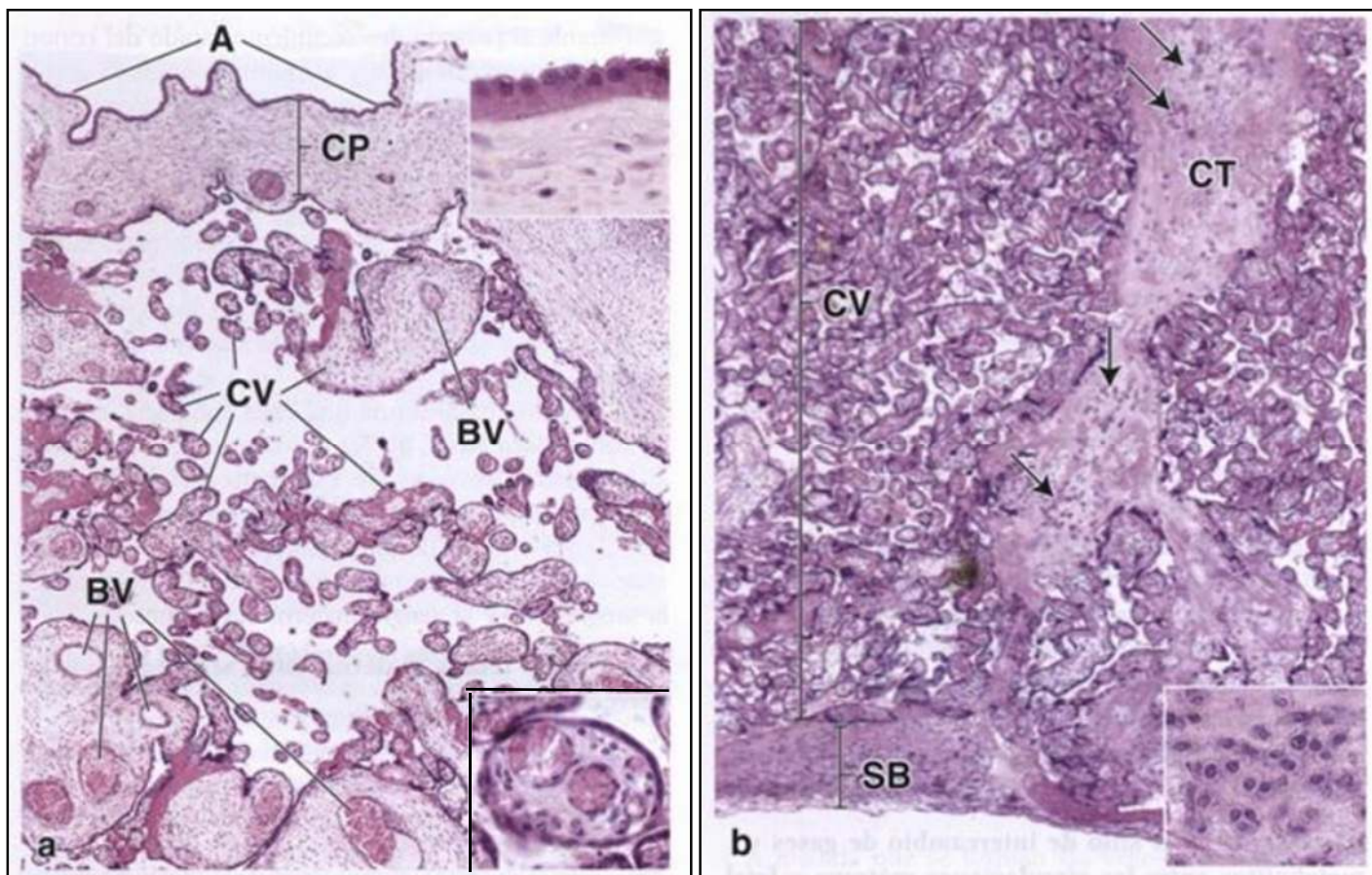


Fig. 4- Microfotografías de una placenta humana (Ross y Pawlina, 2007). **a)** Lado fetal de la placenta: En este corte aparecen la superficie amniótica (A), la placa coriónica (CP) y por debajo de ellas, las vellosidades coriónicas (CV). En las vellosidades más grandes se pueden ver vasos sanguíneos (BV). En el detalle de la imagen inferior se observa el corte transversal de una vellosidad con sus vasos sanguíneos y una capa de sincitiotrofoblasto; **b)** Lado materno de la placenta: capa basal del endometrio (SB) a la cual se encuentran ancladas algunas vellosidades (CV). También puede verse el estroma de tejido conectivo (CT). Entre SB y CT se ven cúmulos de células deciduales (flechas) derivadas de las células coniuvtivas. Coloración H-E.

Examen del cordón umbilical:

Insertión: la inserción puede ser central, paracentral, marginal, o velamentosa. Estas dos últimas se asocian principalmente con anomalías placentarias, como placentas dobles o múltiples, hechos que generalmente coinciden con malformaciones fetales.

El cordón puede sufrir compresiones anatómicas, como circulares alrededor del cuello fetal u otra parte del cuerpo, nudos verdaderos, torsiones sobre el eje con espiralamiento excesivo, cordones largos o muy cortos y hematomas de cordón.

Finalmente, puede tener lesiones más excepcionales, como roturas, megacordón (diámetro mayor a 4 cm) o quistes.

Examen de las membranas: la coloración verdosa de las membranas refleja la contaminación del líquido amniótico con meconio, la impregnación de las membranas al examen microscópico refleja sufrimiento fetal.

Una apariencia perlada o turbia de las membranas representa el depósito de partículas en su superficie a menudo asociada con post-madurez. Las arterias coriónicas son más superficiales y delgadas que las venas. Examinando la placa del lado materno inmediatamente luego del parto y sin otra manipulación, se ven formaciones alargadas blancas, de algunos centímetros de largo, correspondientes a las arterias útero-placentarias.

Biopsia de vellosidades coriónicas:

Entre los días 13 y 21 se organizan las vellosidades corionicas, las cuales están constituidas por los tres tejidos del corion (citotrofoblasto, sinciotrofoblasto y mesodermo extraembrionario). Las células citotrofoblásticas situadas en los extremos de dichas vellosidades, atraviesan el sinciotrofoblasto y se expanden entre este y el endometrio para generar láminas epiteliales que formarán finalmente, la coraza citotrofoblástica. Entre los días 21 y 40 es posible distinguir en el corion una región lisa y otra frondosa, que constituye el componente fetal de la placenta (Figura 5).

Tipos de Placentación:

En la gran mayoría de los mamíferos, la placenta se forma a partir de la unión del corion con el alantoides, este tipo de placentación recibe el nombre de **Placenta corioalantoidea**. Otro tipo de placentación es la **Placenta coriovitelina**, la cual tiene su origen a partir del contacto entre el corion y el saco vitelino. Esta última es típica en la mayoría de los mamíferos metaterios (marsupiales) y puede aparecer de manera transitoria en algunos grupos de mamíferos euterios (carnívoros y equinos).

Según criterios macroscópicos (Figura 6), en función de cómo se distribuyen las vellosidades coriales, las placentas corioalantoideas pueden clasificarse en:

- ▲ **Placenta difusa:** cuando las vellosidades coriales están distribuidas de manera uniforme sobre la superficie externa del corion (suino, equino).
- ▲ **Placenta cotiledonaria:** en la cual las vellosidades aparecen reunidas en múltiples áreas de forma redondeadas, los cotiledones. Cada uno se corresponde con una zona específica del útero denominada carúncula. El conjunto se denomina placentoma.
- ▲ **Placenta zonal:** donde las vellosidades se reúnen en una banda acintada que rodea al huevo a la manera de un anillo o faja en la parte media (carnívoros).
- ▲ **Placenta discoide:** cuando las vellosidades se reúnen para formar un disco. La unión entre la placenta y el útero se produce en un solo punto.

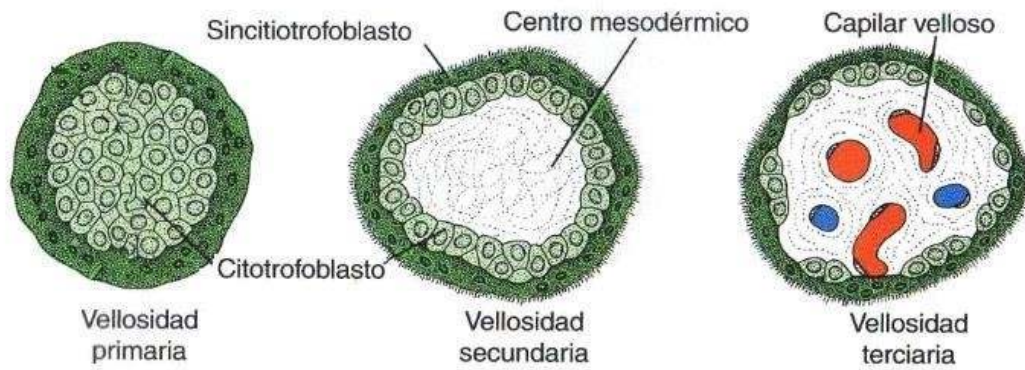


Fig. 5: Representación esquemática de un corte transversal de los distintos tipos de vellosidades coriónicas (Paniagua *et al.*, 2007).

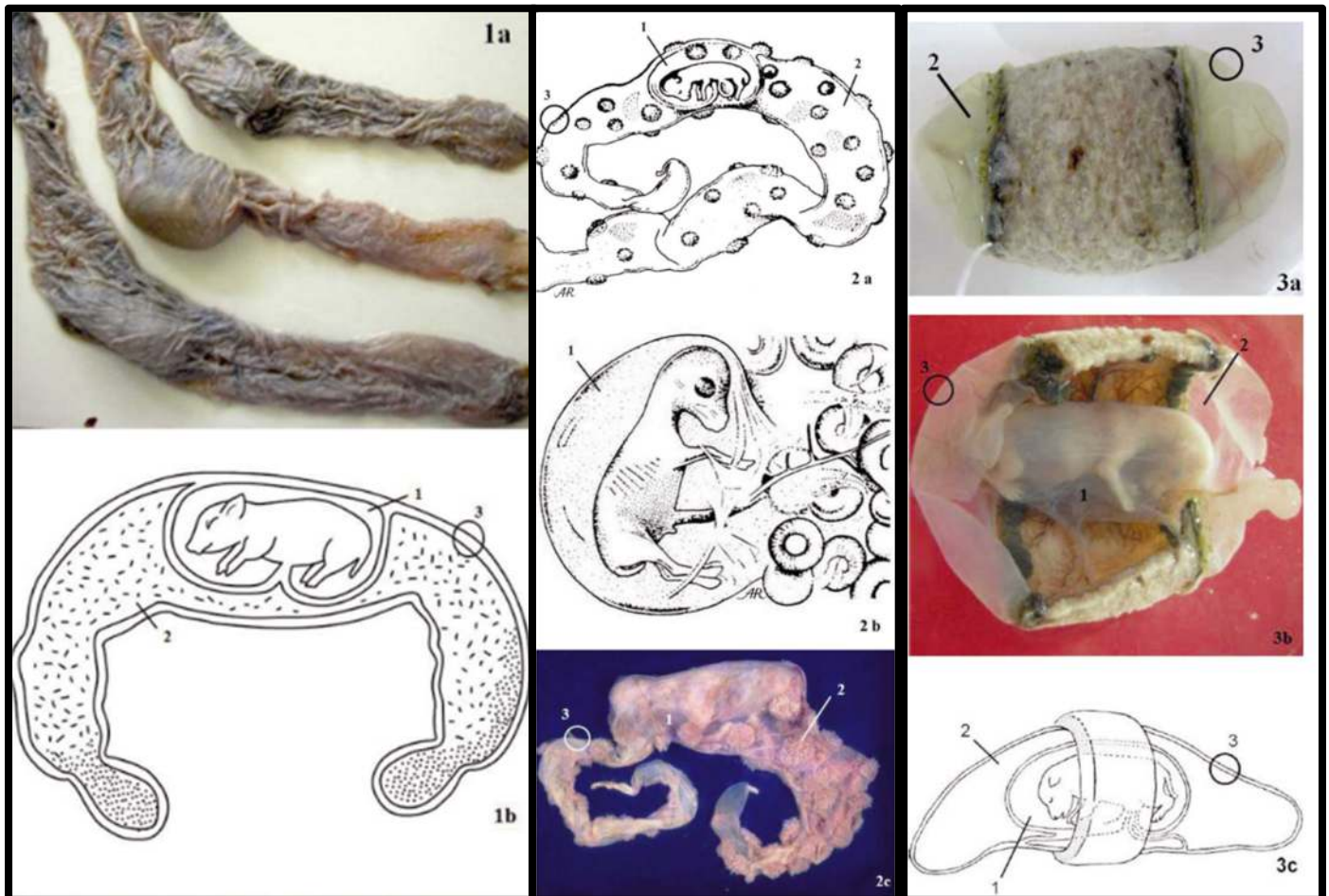


Fig. 6- Tipos de placentas según criterios macroscópicos (Roa *et al.*, 2012). **1. Placentas Difusas:** **1a-** Placentas de porcino, **1b-** Esquema de una placenta de porcino; **2. Placentas Cotiledonarias:** **2a-** Esquema de una placenta de bovino, **2b-** Esquema de una placenta de ovino, vista embrionaria; **2c-** Placenta de ovino; **3. Placentas zonales:** **3a, b-** Placenta de perro, detalle del cinturón de vellosidades coriónicas, **3c-** Esquema de placenta de perro. En todas las imágenes, los números muestran cavidad amniótica (1), cavidad alantoidea (2) y Alantocorion (3).

Según criterios Histológicos, existen cuatro tipos de placentas en función de la penetración del corion dentro de la mucosa del útero (Figuras 7 y 8):

- ▲ **Epiteliocorial:** el corion toca ligeramente el endometrio, pero no lo penetra (suínos, équinos y camélidos sudamericanos).
- ▲ **Sindesmocorial:** el corion entra en algunos lugares del endometrio, quedando en contacto con el tejido conectivo, pero sin llegar a tocar los vasos sanguíneos de la madre (rumiantes).
- ▲ **Endoteliocorial:** el corion penetra en el endometrio llegando a tocar los vasos sanguíneos de la madre (perros y gatos).
- ▲ **Hemocorial:** el corion penetra en el endometrio y los vasos sanguíneos, quedando en contacto directo con la sangre materna (primates y roedores).

La mayor o menor penetración de las vellosidades del corion en el endometrio condiciona el paso de las inmunoglobulinas maternas. Por esta razón, en todos los animales domésticos es necesaria la administración del calostro.

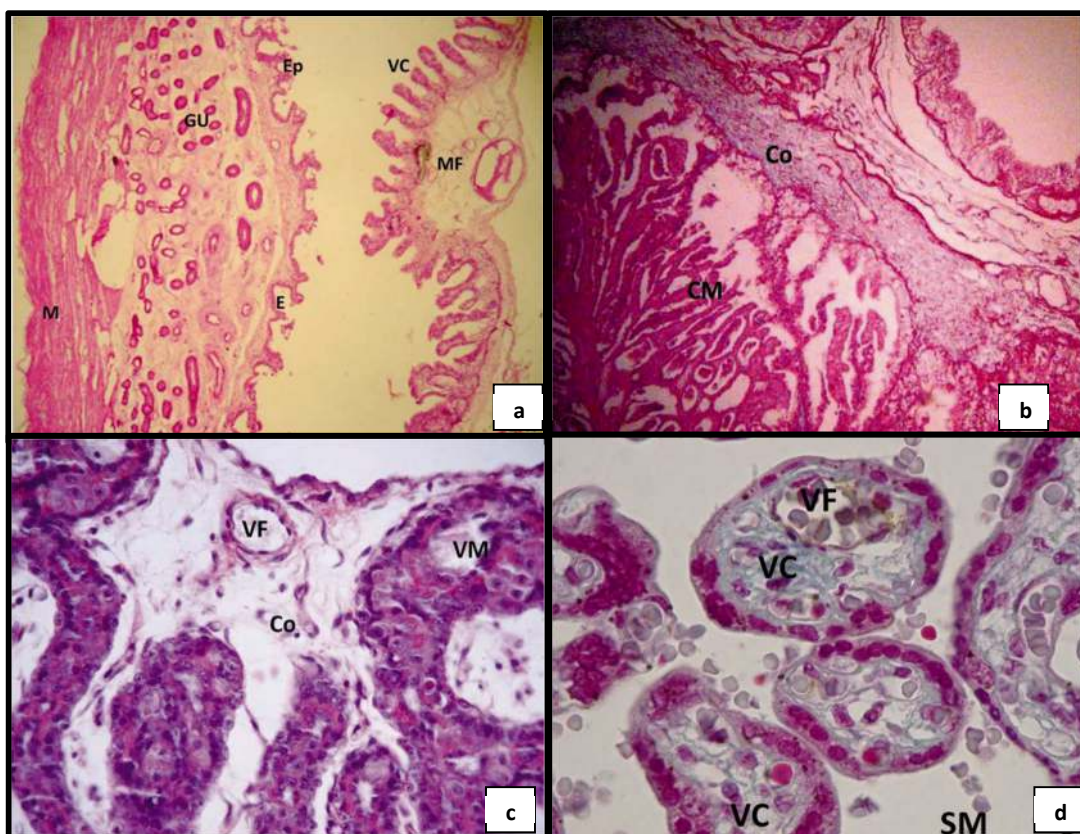


Fig. 7- Tipos de placentas según la penetración del corion dentro de la mucosa uterina (Roa *et al.*, 2012). **a. Placenta Epiteliocorial de porcino:** Se observan Vellosidades coriónicas (VC), Epitelio (Ep), Endometrio (E), Mesénquima fetal (MF), Glándulas uterinas (GU) y Miometrio (M). 5x; **b. Placenta Mesocorial (Sindesmocorial) de bovino:** Se observa el corion (Co) y el Tejido conectivo materno (CM). 10x; **c. Placenta Endoteliocorial de gata:** Se observa el corion (Co) y los vasos sanguíneos maternos (VM) y fetales (VF). 10x; **d. Placenta Hemocorial humana:** Vellosidades coriónicas (VC) con vasos fetales (VF) en la cámara hemática de sangre materna (SM). 50x. En todos los casos, la coloración utilizada es H-E.

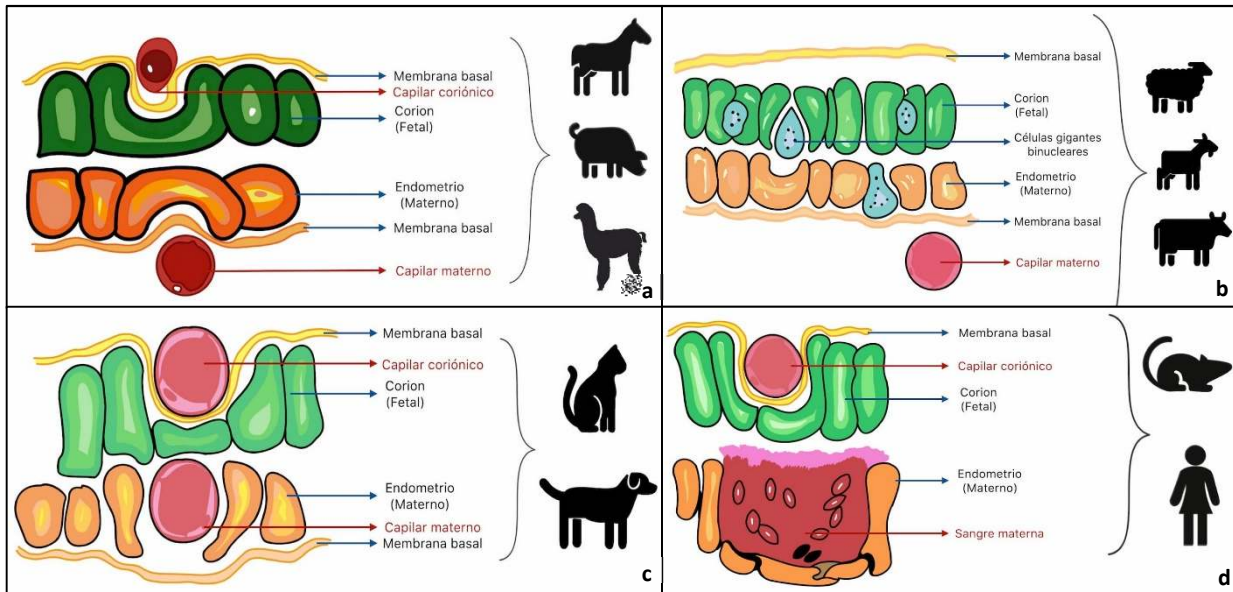


Fig. 8- Esquema de la disposición de los componentes maternos y fetales en los distintos tipos de placentas en función a la penetración del corion dentro de la mucosa uterina. **a. Placenta Epiteliocorial; b. Placenta Sindesmocorial; c. Placenta Endoteliocorial; d. Placenta Hemocorial** (Díaz, 2021).

Anomalías de la placenta:

Durante el desarrollo de la placenta y a lo largo de la gestación humana pueden darse situaciones que afecten a la conformación normal de la misma. Estas anomalías pueden ser tanto de posición como de forma y tamaño.

Dentro de las anomalías de posición se encuentran aquellas relacionadas a la incorrecta implantación del embrión (embarazos ectópicos). En el caso de las irregularidades en forma y tamaño se pueden distinguir las siguientes:

- **Placenta bilobulada o bipartita:** posee dos lóbulos, los cuales pueden hallarse parcialmente unidos o totalmente separados. Cuando la separación es total, el cordón umbilical se bifurca.
- **Placenta succenturiada:** posee uno o más lóbulos accesorios. Los vasos sanguíneos pasan de la placenta a los lóbulos a través de la membrana amniocoriónica que las separa.
- **Placenta membranacea:** debido a que las vellosidades del corion frondoso se desarrollan de forma incompleta y a que persisten las vellosidades del corion calvo, la placenta es delgada y muy extensa, ya que abarca casi toda la superficie del endometrio.
- **Placenta fenestrada:** las vellosidades coriónicas no se desarrollan en un sector del corion frondoso, de modo que aparece una isla de corion calvo y amnios (membrana amniocoriónica) rodeada por tejido placentario normal.
- **Placenta en raqueta:** el cordón umbilical no surge de la región central sino del borde.
- **Placenta velamentosa:** el cordón se inserta fuera de la placenta en plena membrana amniocoriónica.
- **Placenta accreta:** la coraza citotrofoblástica está adherida directamente al miometrio porque falta la decidua basal. Esta anomalía puede ser parcial o total y se debe a la invasión excesiva del endometrio por parte del sinciotrofoblasto.

BIBLIOGRAFÍA:

- Díaz, R. (2021). Capítulo 8: Gestación. En: Galina, C. (Compilador). *Reproducción de los Animales Domésticos*. Recuperado de: <https://reproduccionanimalesdomesticos.fmvz.unam.mx/>
- García Monterde, J. & Gil Cano, F. (2013). *Embriología Veterinaria: Un enfoque dinámico del desarrollo animal*. (1°ed.). Capítulo 10: Placentación. Fundamento y tipos de placentas en los animales de interés veterinario. Editorial Inter- Médica S. A. I. C. I.
- Hib, J. (2005). *Embriología Médica*. (8°ed.). Capítulos 5 y 9. Clareo.
- Paniagua, R., Nistal, M., Sesma, P., Álvarez-Uría, M., Fraile, B., Anadón, R. & Sáez, F. J. (2007). *Citología e Histología Vegetal y Animal, Volumen II* (4° ed.). Capítulo 9. McGraw-Hill Book Company; Interamericana de España.
- Roa, I., Smok S., C. & Prieto G., R. (2012). Placenta: Anatomía e Histología comparada. *Int J. Morphol*, 30,4, 1490-1496.
- Ross, H.M., Pawlina, W. (2007). *Histología texto y atlas color*. (5°ed.). Capítulo 23. Editorial Médica Panamericana.

DESARROLLO EMBRIONARIO EN PECES

OBJETIVOS

- ▲ Comprender el proceso de desarrollo embrionario de peces en función a un modelo particular muy estudiado.
- ▲ Conocer los mecanismos y las variables a tener en cuenta para llevar a cabo la producción de huevos embrionados de peces y la mantención de alevines.
- ▲ Reconocer los diferentes estadios del desarrollo embrionario.
- ▲ Establecer similitudes y diferencias con el desarrollo embrionario de anfibios.

MARCO TEÓRICO:

El pez tropical de agua dulce *Danio rerio* o pez cebra es uno de los peces modelo más estudiados y forma parte de la familia Cyprinidae. El pez cebra es un pez pequeño de agua dulce y es originario de ríos de la India; no obstante, es común hallarlo en acuarios de todo el mundo pues se ha popularizado como mascota. Esto implica que su adquisición es relativamente fácil y debido a que tiene una alta capacidad de reproducción, el riesgo de extinción es bajo, por lo tanto, no es una especie protegida. Además de ser uno de los peces más estudiados, entre las ventajas del pez cebra están su potencial reproductivo de entre 100 y 200 huevos por hembra (500-600 de diámetro por huevo), su fecundación y desarrollo externos que en 2 días da lugar a un nuevo pez, sus embriones transparentes, su pequeño tamaño (4-5 cm) que permite mantener 25 peces en unos 45 l de agua y su corto tiempo de madurez sexual (unos 5-6 meses). Además, es uno de los peces que se encuentran más cercanos a la completa secuenciación de su genoma.

Sin embargo, es trabajoso conseguir niveles reproducibles de producción de huevos cuando se utilizan pequeñas poblaciones (~ 20 peces cebra) de reproductores comparado con instalaciones de miles de peces. Ello es debido al nivel de estrés que les suponen a los peces los métodos más utilizados para su reproducción a pequeña escala: mantener machos y hembras separados, capturarlos cada vez, mantenerlos por las noches en pequeñas parideras (un macho y 2-3 hembras), volver a separarlos y volver a comenzar el ciclo. La cantidad de contaminación (heces, partículas, etc.) que se acumula tanto en las parideras como en los acuarios en los que estas se colocan hacen difícil la descontaminación de los embriones, lo que provoca altas mortalidades mayormente debidas a hongos. Por otra parte, una vez desinfectados, la manipulación de los embriones y el seguimiento de su evolución, es difícil de cuantificar cuando estos se mantienen juntos. Para paliar estos problemas y simplificar al máximo el método para obtener huevos embrionados de pez cebra, se propone un procedimiento sencillo basado en la utilización de 2 acuarios, uno para la alimentación diaria y otro para la puesta y recogida de huevos embrionados.

Producción de huevos embrionados de *Danio rerio* o pez cebra:

Mantenimiento de peces cebra adultos: Se utilizarán 2 acuarios de vidrio (Figura 1). Uno para la alimentación diaria (acuario 2) y otro para la puesta-recogida de huevos embrionados (acuario 1), en el que se colocarán en el fondo 4 contenedores de vidrio para recoger los huevos. El nivel del agua del acuario 1 se mantendrá unos 10 cm por encima de los contenedores de vidrio para disminuir la predación de los huevos por los adultos durante la puesta y mientras caen al fondo de los contenedores. El nivel del agua de los acuarios se dejará a unos 10 cm del borde del acuario para evitar que los peces salten fuera y mantener un acceso sencillo a los acuarios sin

necesidad de taparlos. Los acuarios de vidrio se llenarán con agua de grifo (decolorada con tiosulfato sódico) con $\sim 100\text{--}200\ \mu\text{S}$ de conductividad, pH 7,4–7,6 y a una temperatura de 28°C (mantenida con termostatos). Un cuarto del agua del acuario se cambiará por agua del grifo semanalmente, añadiendo 50 l de 250 g/l de tiosulfato sódico para eliminar el cloro. Un difusor conectado al compresor comercial para acuarios se utilizará para aireación suplementaria.

Se obtendrán lotes de 20 adultos de 3–4 cm. Los adultos se mantendrán en acuarios de metacrilato con fondo de malla de plástico de 4x4 mm introducidos en los acuarios de vidrio y separados del fondo por los contenedores de vidrio. Se les alimentará 3 veces al día excepto 2 días a la semana, mañana y tarde con comida seca de escamas para peces de acuario y al mediodía con larvas de mosquito rojo (*Chironomido*) congeladas. También se utilizará *Artemia salina* adulta congelada. Los desechos de comida se retirarán diariamente y los cristales de los acuarios se limpiarán todos los días.

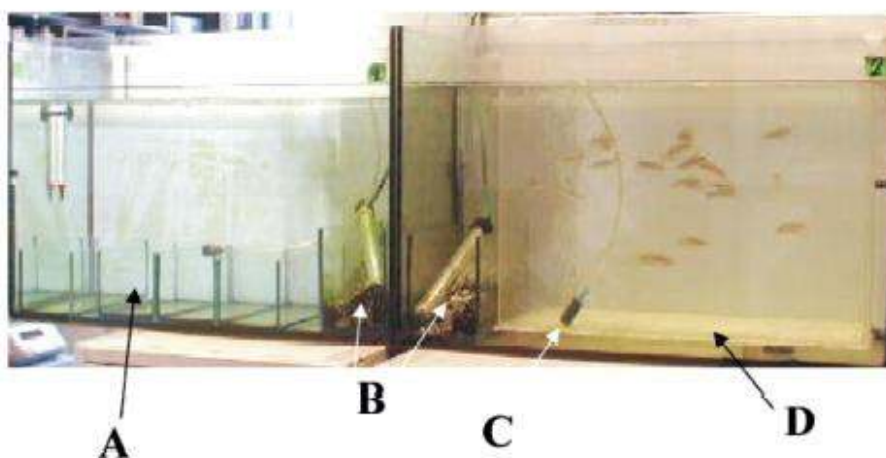


Fig. 1: Fotografías de los dos acuarios (Rocha & Coll, 2002). El acuario número 1 (izquierda) se emplea para la puesta y el acuario número 2 (derecha) para la alimentación. A: contenedores de vidrio para recoger los huevos. B: filtros con termostatos. C: difusores para aire comprimido. D: malla de 4x4 mm para separar los huevos.

Puesta y desinfección de los huevos embrionados: Para inducir la puesta, la iluminación se mantendrá por encima de los acuarios con ciclos de 14 h de iluminación, 10 horas de oscuridad con 2 lámparas. Las lámparas se situarán a 35,8 cm del fondo de los acuarios de alimentación. El comienzo de la iluminación se mantendrá simultáneo con el amanecer natural. Al amanecer, el acuario de metacrilato con los peces adultos (Figura 2) se pasará a los acuarios de alimentación 2 y los contenedores se sacarán del acuario para lavarlos y desinfectar los huevos (Figura 3). Para los experimentos con parideras se utilizarán parideras flotantes para ovíparos. Los huevos se recogerán con una pipeta de vidrio cortada de un diámetro de $\sim 2\text{ mm}$. Se desinfectarán por lavado 3 veces en MBS (88 mM ClNa, 1 mM ClK, 1 mM MgSO_4 , 2,5 mM CO_3HNA , 7 mM Cl_2Ca , 5 mM HEPES, 50 $\mu\text{g/ml}$ gentamicina y 2 $\mu\text{g/ml}$ fungizona, pH 7,4) con 0,2 g/100 ml de azul de metileno por decantación en tubos de vidrio de 10 ml y después 2 veces con MBS. Una vez desinfectados, se repartirán en placas que contendrán pocillos, 1 embrión por pocillo en 200 l de MBS, luego se sellarán con papel transparente y se incubarán a 28°C durante los primeros 5–6 días (Figura 4).

Alimentación/mantenimiento de los alevines: Se realizará en acuarios con filtros internos en los que se colocarán algas acuáticas. Para ello se mantendrán varios acuarios provistos con

filtro interno en los que se crecerán algas pluricelulares (*Cladophora sp*, *Microsorium sp*) y caracoles acuáticos (*Lymnaea sp*, *Helisoma sp*).

Una vez por semana se añadirá 100 mg de comida seca de acuario. Una vez al mes se añadirá 1 ml de yema de huevo batida como fuente de vitaminas. A los 2-3 meses en estos acuarios se desarrollarán abundantes protozoos y rotíferos que pueden observarse tomando muestras al microscopio y que servirán después de alimento a los alevines. Después de depositar los embriones de más de 5 días en el acuario, durante el primer mes y 2 veces al día se añadirán unos 50 mg de micro alimento seco especial para pez cebra, suplementado con migas secas para primeros alevines.



Fig. 2: Fotografías de ejemplares de *D. rerio* de ambos sexos (Mora, Sánchez & Garduño, 2016).



Fig. 3: Huevos viables de *D. rerio* (Prieto García *et al.*, 2006).



Fig. 4: Embrión de pez cebra (*D. rerio*) de dos días (Rocha & Coll, 2002).

Desarrollo embrionario de pez cebra (*D. rerio*):

Los huevos de pez cebra miden alrededor de 0,7 mm de diámetro y están rodeados por un **corion transparente**. Los parentales arrojan los óvulos y los espermatozoides al agua y la fecundación es externa. Como en *Xenopus*, el hemisferio animal es rico en citoplasma y el hemisferio vegetal la esfera es rica en vitelo. El curso del desarrollo se muestra en la Figura 5. La segmentación es **meroblástica** ya que involucra solo la región del polo animal. Las tres primeras segmentaciones son todas verticales, generando una etapa de ocho células compuesta por dos filas de cuatro blastómeros. Las partes externas de los contactos celulares están enriquecidas en las proteínas **vasa** y **nanos** (homólogas a las proteínas de *Drosophila*) que pueden ser determinantes para la formación de células germinales. Durante esta fase inicial, los blastómeros permanecen conectados a la masa vitelina principal mediante puentes citoplásmicos. Esta masa de vitelo se conoce como la **célula vitelina**. Las divisiones sucesivas ocurren aproximadamente cada 15 minutos. Después de 10 divisiones aproximadamente (aproximadamente 3 horas) se produce la transición a **blástula media o midblástula (TMB)**. Esto es similar a *Xenopus* en que la sincronía de las divisiones se rompe, aumenta la duración promedio del ciclo celular, las células se vuelven más móviles y comienza la transcripción del genoma del cigoto.

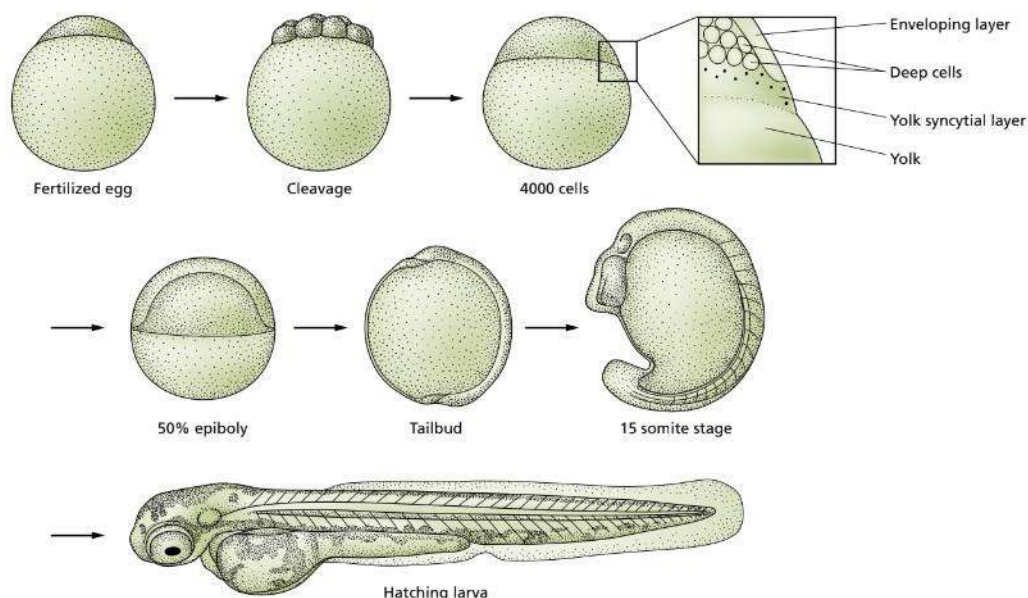


Fig. 5: Representación esquemática del desarrollo embrionario de *D. rerio* (Slack, 2021).

En esta etapa, el embrión consta de cuatro regiones. La mayoría de las células forman una masa en la región del polo animal y se denominan **células profundas**, las cuales están cubiertas por una fina capa epitelial envolvente. La parte vegetal del embrión está ocupada por la célula vitelina; la región cercana al blastodermo contiene varios núcleos y se denomina **capa sincitial de vitelo**. Estos núcleos surgen de las células del borde del blastodermo después de TMB, las cuales se fusionan con la célula vitelina adyacente para formar el sincitio. Poco después de TMB, el blastodermo comienza una expansión activa llamada **Epibolia**, de modo que el margen descende progresivamente para cubrir la célula vitelina. Las etapas del desarrollo del pez cebra son identificadas como porcentaje de epibolia, dependiendo de la cantidad de la célula vitelina que fue rodeada. Este movimiento es impulsado por la capa sincitial del vitelo y depende de la

actividad de los microtúbulos dentro de la célula vitelina. Al 50% de epibolia (aproximadamente 5,5 horas) el margen del blastodermo comienza a involucionar.

En el pez cebra, el término gastrulación normalmente se reserva específicamente para el movimiento de involución del mesodermo a diferencia del proceso de propagación epibólica. La involución tiene lugar alrededor del margen del blastodermo, pero, como en *Xenopus*, la involución dorsal es mucho más pronunciada que la ventral. Esto significa que el blastodermo es más grueso alrededor del margen que en cualquier otra parte y este engrosamiento se denomina **anillo germinal**. El movimiento de involución lo realizan únicamente las células profundas. Las células de la capa exterior envolvente no participan y pasan a convertirse en la capa externa de la epidermis larval o también denominada **peridermis**. En simultáneo con la involución, la región dorsal comienza a alargarse en sentido anteroposterior por extensión convergente, atrayendo células de regiones más laterales. Este proceso hace que la zona marginal dorsal se espese en relación con el resto de la circunferencia y luego se conoce como el **escudo embrionario** (Figura 6). La epibolia se completa alrededor de las 9,5 horas cuando la célula vitelina está completamente cubierta por el blastodermo. La capa exterior del escudo se convierte en la placa neural. Este se hunde en el interior como una masa sólida de células y se forma un lumen por cavitación para crear un **tubo neural**. La capa mesodérmica forma una notocorda en la línea media y somitas paraxiales, segmentándose de anterior a posterior. Las estructuras básicas del plan corporal se vuelven visibles a las 14 horas y el eje se endereza a las 24 horas. La eclosión ocurre después de aproximadamente 48 horas y la alimentación comienza aproximadamente 5 días después de la fertilización (Figura 7).

Debido a que la embriogénesis del pez cebra ocurre externamente, además de que los embriones son transparentes, se puede observar al microscopio todos los estadios de su desarrollo, y seguir con detalle las primeras divisiones celulares y la formación de las capas embrionarias (ectodermo, mesodermo y endodermo). El desarrollo de este organismo es rápido y a las 24 horas ya se aprecia la segmentación del cerebro y se han formado estructuras como el tubo neural, la notocorda y las somitas (precursores de músculo y esqueleto). Para los cinco días de desarrollo se han formado órganos sensoriales como los ojos y los oídos. Asimismo, han aparecido el corazón, el hígado, los riñones y el páncreas, además de que los sistemas circulatorio, digestivo y nervioso son perfectamente funcionales (Figura 8).

En este momento el pez es perfectamente capaz de responder a estímulos visuales, olfativos y mecánicos y comienza a nadar buscando alimento. La embriogénesis del pez cebra podemos resumirla entonces en cuatro etapas, siendo cruciales las primeras veinticuatro horas ya que es cuando se pueden modificar las señalizaciones genéticas de las que depende la morfogénesis craneal y neuronal:

- ▲ **Segmentación:** Primera etapa que se caracteriza por múltiples procesos de mitosis hasta la formación del blastocele, que es la primera cavidad general de los vertebrados y que genera al blastocito.
- ▲ **Gastrulación:** Se genera una invaginación en el blastocele que dará lugar más tarde a la médula espinal. En esta etapa, el embrión se diferencia en 3 capas germinales: ectodermo (capa externa, de él se desarrolla el sistema nervioso), mesodermo y endodermo. Las capas mencionadas anteriormente contienen las instrucciones que llevarán el desarrollo del embrión. En esta etapa están presentes las vías de señalización **WNT (Wingless iNtegration Genes)** y **Hedgehog**.

- ▲ **Neurulación:** Las crestas neurales se unen para formar el tubo neural esbozo de la médula espinal y el encéfalo.
- ▲ **Organogénesis:** Es el proceso por el cual el ectodermo, mesodermo y endodermo se desarrollan en los diferentes órganos y estructuras del organismo.

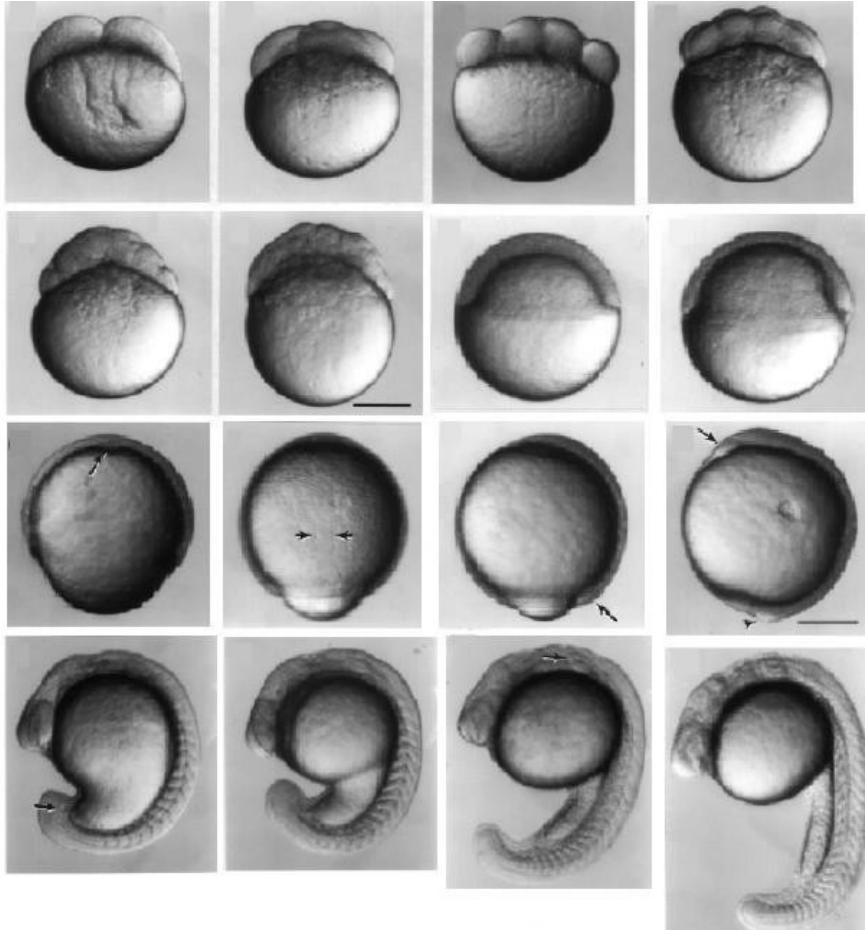


Fig. 6: Imágenes de distintos estadios de desarrollo embrionario de *D. rerio* (Maldonado, 2003). Se presentan las primeras 18 horas del desarrollo. La primera división celular ocurre 45 minutos después de la fertilización y las siguientes divisiones cada 15 minutos, aquí se muestran los eventos de blastulación, epibole, gastrulación y somitogénesis; escala = 1 mm.

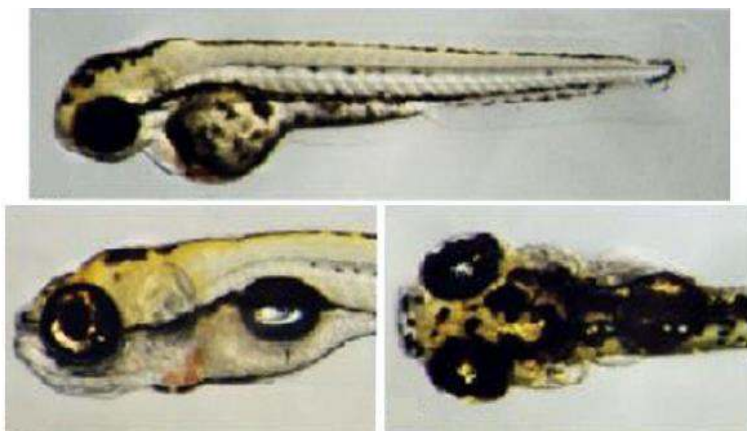


Fig. 7: Imágenes de Larvas de *D. rerio* a los 2 días (superior) y 5 días (inferior) de desarrollo (Maldonado, 2003).

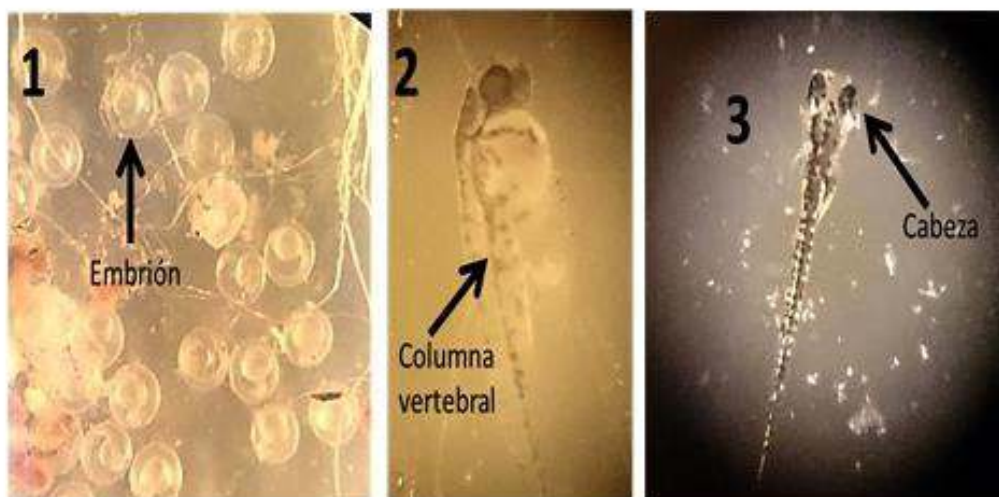


Fig. 8: Imágenes de desarrollo embrionario de *D. rerio* (Mora, Sánchez & Garduño, 2016). **1)** 24 horas post – fertilización; **2)** 48 horas post – fertilización; **3)** 78 horas post – fertilización.

BIBLIOGRAFÍA

Maldonado, E. (2003). Experimentación en el pez-cebra, un modelo de biología del desarrollo. *Mensaje bioquímico*, 27.

Rocha, A., Ruiz, S., & Coll, J. (2002). Método sencillo para producir huevos embrionados de pez Cebra. *Investigación agraria: Producción y sanidad animales*, 17, 1-2.

Prieto García, F., Báez Ramírez, O. A., Scoot, W., Gaytán Oyarzún, J. C. & Zúñiga Estrada, A. (2006). Acumulación, toxicidad y teratogénesis provocada por presencia de arsénico en aguas en el pez cebra (*Danio rerio*). *AquaTIC*, 24, 72 – 85.

Slack, J. M., & Dale, L. (2021). *Essential developmental biology*. John Wiley & Sons.

Téllez Mora, A., Ramírez Sánchez, E., & Ayala Garduño, L. (2016). *Alteraciones en el desarrollo embrionario del pez cebra Danio rerio causadas por factores químicos* [Sesión de Congreso]. Memorias del XVIII Concurso Lasallista de Investigación, Desarrollo e Innovación CLIDI, Ciudad de México, México.

<https://repositorio.lasalle.mx/bitstream/handle/lasalle/1898/Alteraciones%20en%20el%20desarrollo%20embrionario%20del%20pez.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

DESARROLLO EMBRIONARIO EN ANFIBIOS

OBJETIVOS:

- ▲ Comprender el proceso de Desarrollo embrionario en anfibios y sus características.
- ▲ Reconocer las distintas etapas de desarrollo y sus características visuales.
- ▲ Establecer las diferencias con otros grupos de vertebrados.

MARCO TEÓRICO:

Los Anfibios son los tetrápodos terrestres más primitivos. Este grupo comprende las salamandras (Orden Caudados), los sapos y ranas (Orden Anuros), cecilias tropicales ápodas (Orden Gimnofiones) y varias formas fósiles que surgieron en el Devónico. Algunas de las características principales de este grupo son:

- v Piel húmeda, sin escamas y con glándulas.
- v Poiquilotermos.
- v Un par de fosas nasales en comunicación con la boca provistas de válvulas para impedir la entrada de agua. Lengua a menudo protáctil.
- v Corazón de 3 cámaras (2 aurículas y 1 ventrículo).
- v Respiración por pulmones, branquias, cutánea o por la mucosa de la boca. En algunas fases de vida hay presencia de branquias.
- v Presencia de cuerdas vocales en sapos y ranas.
- v Fecundación externa o interna; en su mayoría ovíparos. Suelen tener una fase larvaria acuática con metamorfosis a la forma adulta.

Reproducción

En la fase adulta de la mayoría de las especies de ranas y sapos existe dimorfismo sexual. Los machos poseen una mayor musculatura en las patas anteriores y unas **callosidades nupciales** ásperas en los dedos, que utilizan al momento del **amplexo o abrazo sexual**, como se muestra en la Figura 1.

En general, los anfibios se aparean y depositan sus huevos en el agua. Cada especie tiene un lugar característico, que suele consistir en un lago o estanque tranquilo, río o una charca temporal. No obstante, hay algunas especies que se crían en tierra.

Dentro del agua, los sapos y ranas macho atraen a las hembras mediante su canto. Cuando una hembra ingresa en el agua, el macho la agarra y salta sobre su dorso (amplexo). Con las callosidades nupciales presiona el pecho de la hembra y en el momento que se produce la ovulación, el macho descarga el esperma sobre los ovocitos para fecundarlos. En el caso de las salamandras terrestres y acuáticas, muchas especies tienen actos de cortejo similares a los sapos y ranas, pero en algunos casos, el macho deposita espermátóforos gelatinosos en el fondo de una corriente, charca o en el suelo. Éstos son recogidos por la hembra y almacenados en un receptáculo seminal en la cloaca, para luego fecundar internamente los óvulos, antes de la puesta.

Los huevos de anfibio están cubiertos por una o más envolturas gelatinosas que los protegen de golpes, de organismos patógenos y de depredadores. Luego de la puesta, estas

cubiertas protectoras se hinchan y adhieren a tallos de plantas u otros objetos. La forma y disposición de la masa de huevos y la de sus envolturas es característico de cada especie.

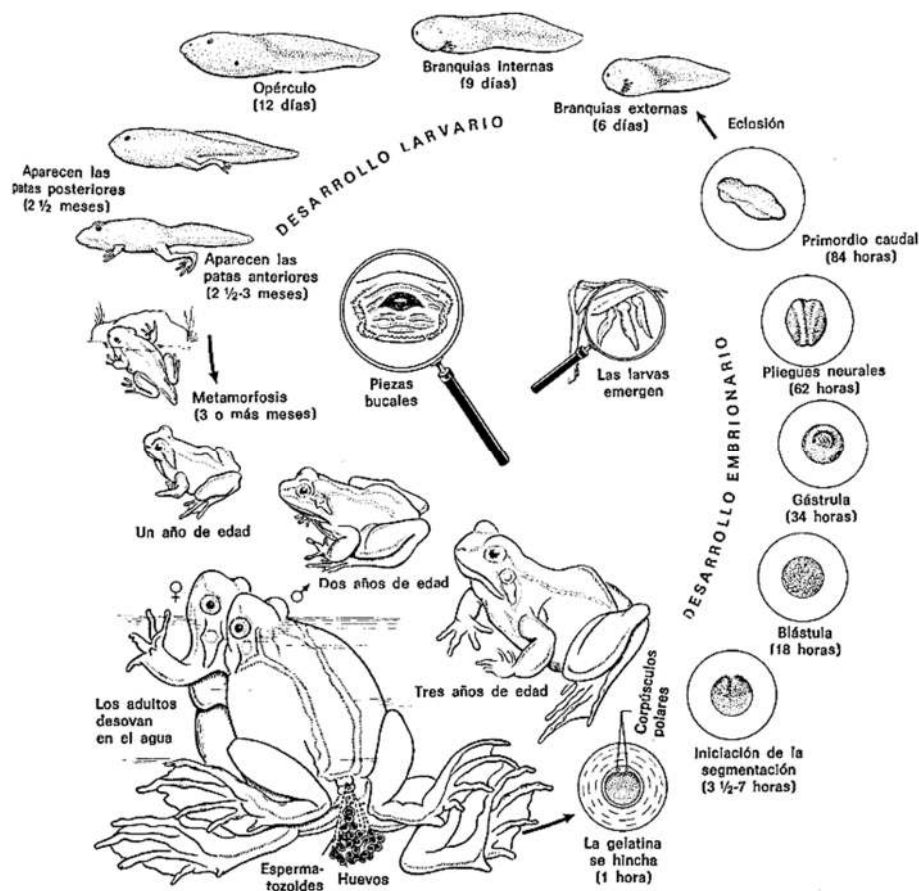


Fig.1: Esquema del ciclo biológico de la rana. Desde la izquierda, ciclo dividido en desarrollo embrionario, fase larvaria, metamorfosis y adulto (Storer *et al.*, 2003).

Durante el proceso de ovogénesis el ovocito comienza a adquirir, por medio de la circulación sanguínea, grandes cantidades de vitelo provenientes del hígado de la hembra. Es durante este proceso que en el ovocito surge la **polaridad animal-vegetal** y para el momento de la ovulación, ya se encuentra bien diferenciada.

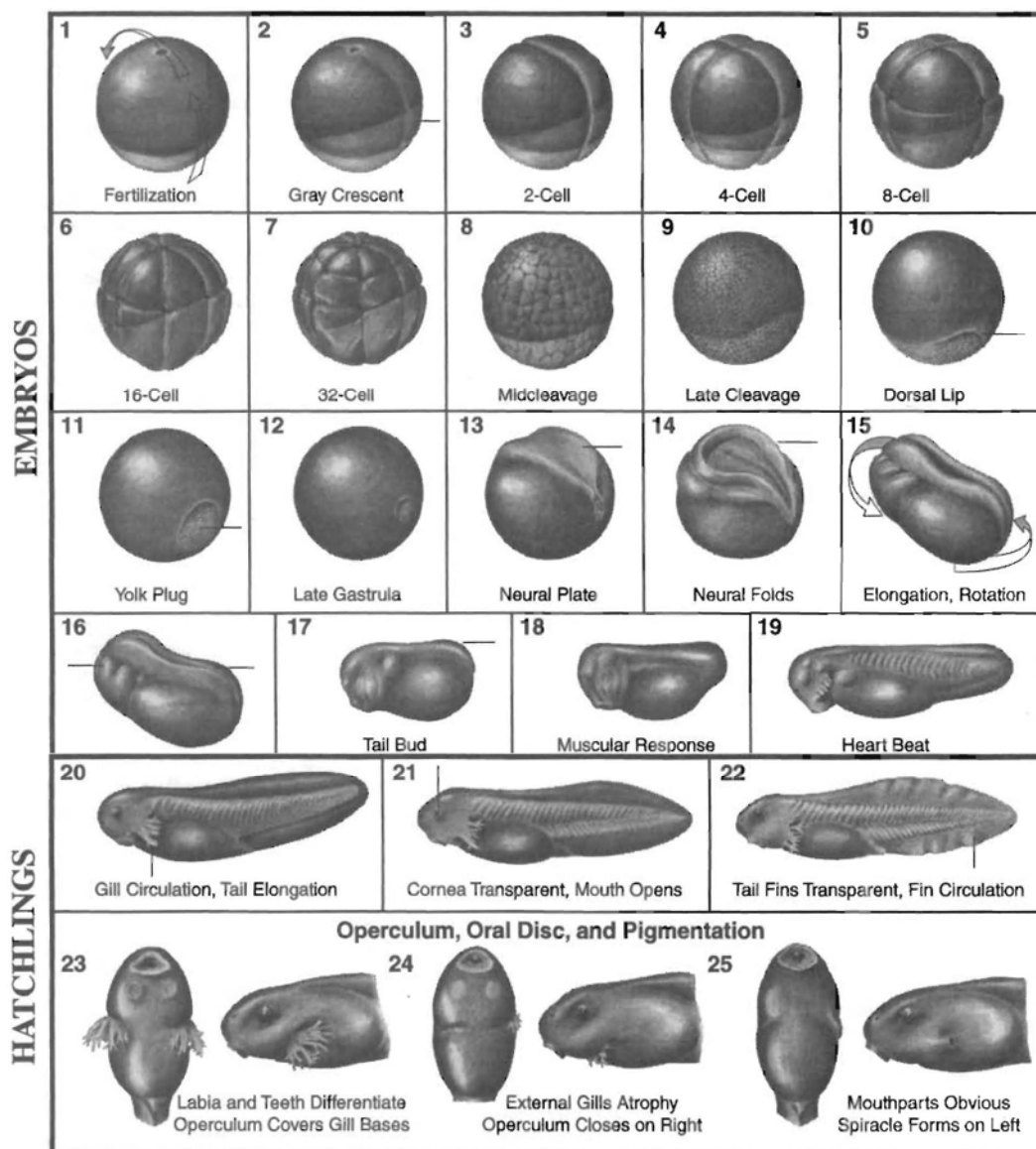
Luego de la fecundación, la entrada de los espermatozoides ocasiona un aumento del contenido de calcio intracelular que desencadena la progresión de la Meiosis y que se levante la membrana vitelina de la superficie del huevo, posibilitando que gire libremente bajo la influencia de la gravedad para llevar el hemisferio animal hacia arriba.

Desarrollo Embrionario y Metamorfosis

Debido a las características propias de este grupo taxonómico, para los estudios de desarrollo se han creado numerosos sistemas de estadificación, que permiten identificar distintos eventos del desarrollo y categorizarlos en estadios. Uno de los más utilizados es el criterio de clasificación propuesto por Gosner (1960), que permite diferenciar cuatro grandes etapas de desarrollo en relación a sus cambios morfológicos (Figura 2):

- ▲ **EMBRIÓN (Gosner 1-20):** Desarrollo intracapsular: comprende los procesos de fecundación, clivaje, gastrulación, nerulación y somitogénesis.
- ▲ **ECLOSIÓN (Gosner 21-24):** Período de transición entre el embrión relativamente inmóvil y un renacuajo activo.
- ▲ **RENACUAJO (Gosner 25-41):** Movilidad completa y capacidad de alimentarse. Es una de las etapas más largas, marcada principalmente por el crecimiento y el desarrollo de los miembros.
- ▲ **METAMORFO (Gosner 42-46):** El renacuajo pierde sus características larvares por completo y comienza a tomar la forma de un individuo adulto: la cola comienza a atrofiarse, las estructuras de alimentación larvares son reemplazadas por los dientes y la lengua y las extremidades comienzan a ser funcionales. Marca la transición del ambiente acuático al terrestre.

El estadio al cual ocurre la eclosión depende de la especie y las condiciones ambientales. Por lo cual ese momento se convierte en el criterio absoluto. Por otra parte, es necesario tener en cuenta que, en el caso de los cecílicos y las salamandras, sus larvas no son renacuajos, por lo que es recomendable utilizar otros sistemas de clasificación para estudiar su desarrollo como, por ejemplo, el propuesto por Duellman y Trueb, (1986).



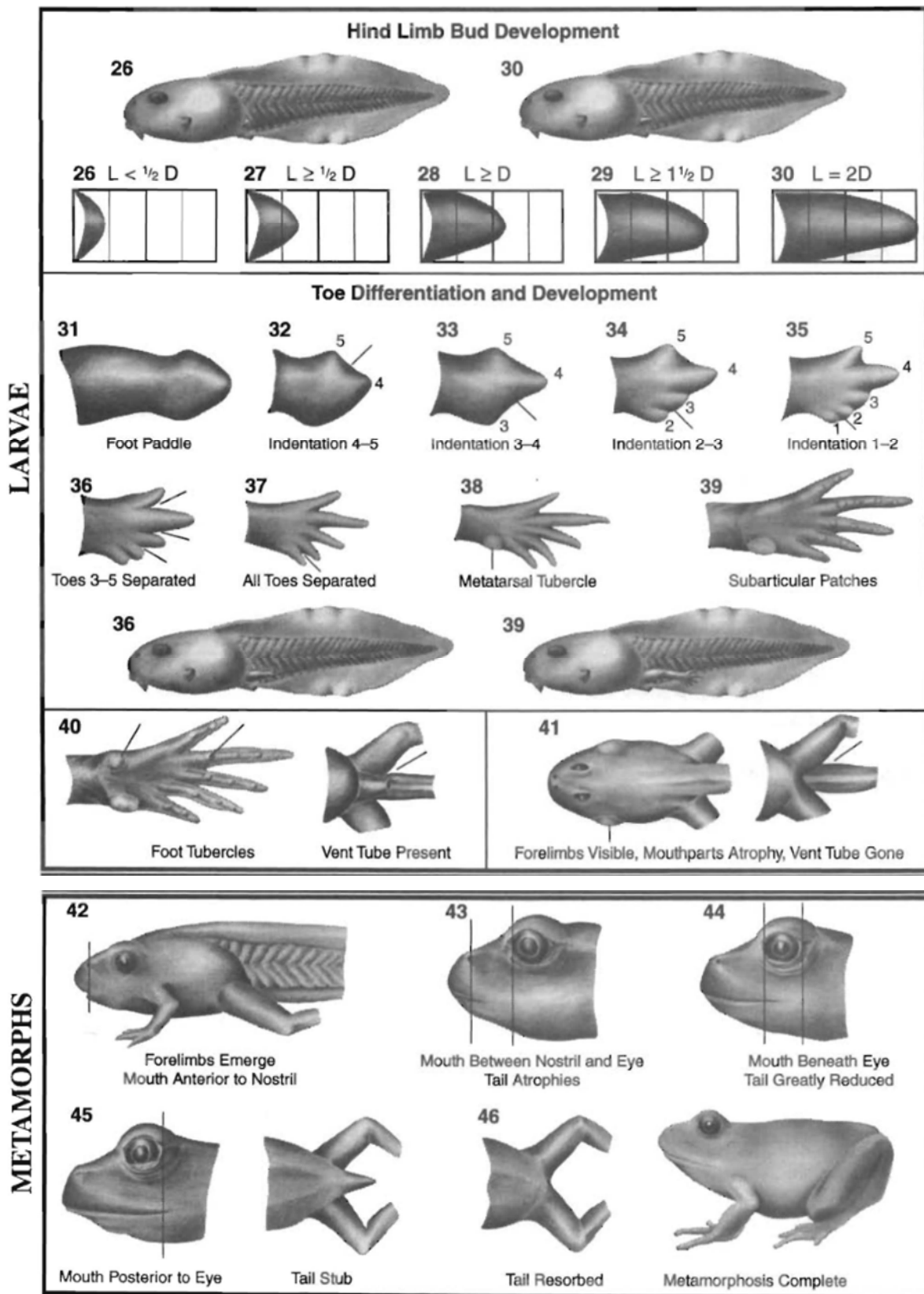


Fig.2: Esquema del sistema de estadificación del desarrollo de anfibios propuesto por Gosner (1960) tomado de Mc Diramid *et al.* (1999): Embrión (G1-20), Eclosión (G21-24), Renacuajo (G25-41) y Metamorfo (G42-46).

Etapas de desarrollo embrionario:

En concordancia con el programa de contenidos de la asignatura, en la presente guía de trabajos prácticos se abordará en profundidad únicamente los eventos que comprenden el período embrionario (G1-20).

El ingreso del espermatozoide al polo animal del ovocito desencadena un reordenamiento citoplasmático que se conoce como **reacción cortical** (G1). Esta rotación de la corteza del huevo con respecto al interior se asocia con la aparición transitoria de una matriz orientada de microtúbulos en el hemisferio vegetal y conduce a una reducción de la pigmentación del hemisferio animal en el lado dorsal opuesto al punto de entrada de los espermatozoides. Internamente, un determinante dorsal se mueve desde el polo vegetal hacia el lado dorsal, asegurando que las estructuras dorsales se desarrollen frente al punto de entrada de los espermatozoides. En algunas otras especies de ranas, un cambio de pigmentación similar da lugar a una característica superficial conocida como **media luna gris** (G2).

Podemos subdividir el período de desarrollo embrionario en tres grandes etapas: Clivaje, Gastrulación y Nerulación.

Clivaje: Las dos primeras divisiones son verticales: la primera divide al cigoto en mitades derecha e izquierda y la segunda, en ángulo recto con la primera, lo divide en las mitades dorsal y ventral. La tercera división es ecuatorial y separa el lado animal del vegetal. Los clivajes subsiguientes varían entre individuos, pero es usual que en el estadio de 32 células (G7) algunos embriones presenten cuatro filas con 8 células cada una.

Las células que se originan en esta etapa reciben el nombre de **blastómeras** y a medida que las divisiones avanzan, en el centro del polo animal se forma una cavidad que se denomina **blastocelo** y el embrión en su conjunto se conoce como **blástula** (G8-9), cuya cara externa consiste en la membrana plasmática del ovocito original (Fig. 3 a). El blastocelo se encuentra sellado por una red de uniones estrechas que se forman alrededor de las células del margen exterior, impidiendo el ingreso de cualquier sustancia. Las células internas se encuentran interconectadas por cadherinas.

Esta diferenciación comienza luego de las primeras 12 divisiones, momento en el que se produce la **transición a blástula media**: baja la tasa de divisiones, se pierde la sincronización de la división celular y se incrementa la fuerza en las uniones celulares. También en este momento comienza la transcripción del genoma del cigoto.

Gastrulación: En esta etapa, el tejido que se encuentra alrededor de la zona ecuatorial del embrión (**zona marginal**) se desplaza hacia el interior a través de una abertura que recibe el nombre de **blastoporo**, configurándose la estructura trilaminar del embrión formada por: **ectodermo (capa externa)**, **mesodermo (capa media)** y **endodermo (capa interna)**. El inicio de la gastrulación está marcado por la aparición de una depresión pigmentada en el cuadrante vegetal dorsal (**labio dorsal del blastoporo**). Pronto, el blastoporo se elonga lateralmente hasta formar un círculo completo, alrededor del cual las células de la zona marginal se invaginan (G11-12).

Se pueden distinguir varios movimientos en la gastrulación. Si bien la mecánica de los mismos aún no se comprende bien, se sabe que hasta cierto punto son independientes entre sí:

- ▲ **EPIBOLIA:** Expansión del polo animal, que termina cubriendo la superficie del embrión por completo.
- ▲ **INVAGINACIÓN:** La zona marginal comienza a invaginarse desde el lado dorsal y se extiende lateral y ventralmente hasta que el blastoporo es circular. Se forma una cavidad llamada **arquenterón** que se expande a expensas del blastocele a medida que la gastrulación avanza. Cuando el tapón vitelino se interioriza, se convierte en parte del piso del arquenterón. En el curso de la invaginación, el borde delantero del endodermo se arrastra al interior del blastocele y requiere una capa de fibronectina en la superficie de éste para hacerlo.
- ▲ **INVOLUCIÓN:** El mesodermo se separa del endodermo e involuciona en una capa de tejido medial, que separa el ectodermo del endodermo. Este movimiento ocurre en simultáneo con el de invaginación.
- ▲ **EXTENSIÓN CONVERGENTE:** Proceso activo de intercalación celular en las tres capas germinales que elonga el mesodermo dorsal axial en dirección anteroposterior. Este movimiento ayuda a impulsar la internalización de la zona marginal y el cierre del blastocele.
- ▲ **EXPANSIÓN:** El mesodermo ventrolateral se expande hacia la línea media dorsal.

Para el final de la gastrulación, lo que era la capa animal cubre externamente el cuerpo del embrión mientras que los tejidos vegetales vitelinos se han convertido en una masa de

endodermo en el interior. La zona marginal generó una capa cilíndrica de mesodermo que se extiende en el lado dorsal desde el blastoporo en forma de hendidura hasta el extremo anterior y en el lado ventral, a una distancia limitada del blastoporo. La capa mesodérmica permanece incompleta en la región anteroventral durante algún tiempo (Fig. 3 b-d).

A partir de las tres capas embrionarias formadas, se originarán los siguientes tejidos:

▲ **ECTODERMO:** Da lugar a la Epidermis, Sistema Nervioso, Cristalino, Oído y Glándulas mucosas (“*Cement glands*”).

▲ **MESODERMO:** Forma el mesodermo de la cabeza, Notocorda, Somitas, Riñón, Gónadas, Placa Lateral, Sangre, Vasos Sanguíneos, Corazón y Extremidades.

▲ **ENDODERMO:** Se convierte en el revestimiento epitelial del Intestino, Pulmones, Hígado, Páncreas y Vejiga.

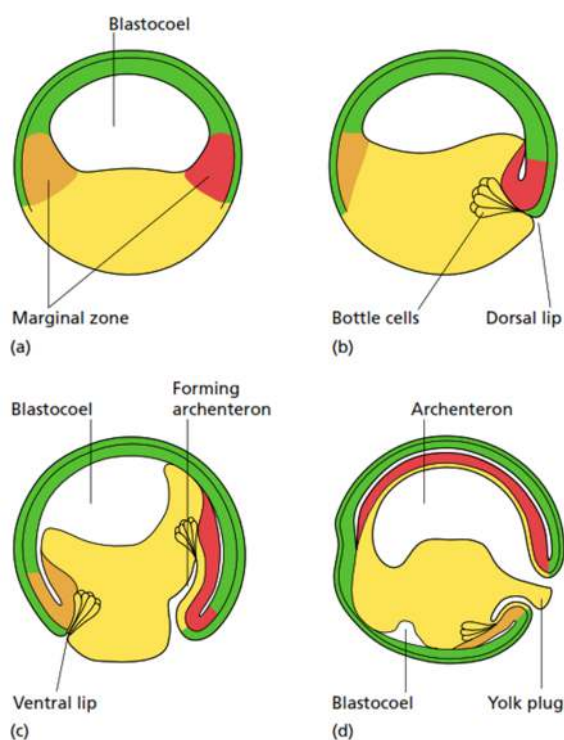


Fig. 3: Proceso de Gastrulación (Slack, 2006): **a)** Blástula; **b)** Gástrula temprana; **c)** Gástrula media y **d)** Gástrula tardía. Vista de la sección media, hojas embrionarias: ectodermo verde, mesodermo naranja-rojo y endodermo amarillo (Slack, 2006).

Nerulación: El ectodermo del lado dorsal da lugar al Sistema Nervioso Central. La **placa neural**, una región en forma de cerradura, se torna visible y se encuentra delimitada por pliegues neurales elevados que cubren gran parte de la superficie dorsal del embrión (G13). Estos pliegues

se elevan y juntan para formar el **tubo neural**, que luego de cerrarse, queda cubierto por la **epidermis**, una capa de ectodermo lateral procedente de los pliegues neurales (Figura 4). Durante y luego del proceso de Neurulación, el cuerpo se elonga notablemente. Esto es impulsado por un proceso continuo de intercalación celular tanto en la notocorda como en otros tejidos. Al conjunto formado por la notocorda, el tubo neural y los somitas se lo conoce como **eje** (o “axis” en inglés).

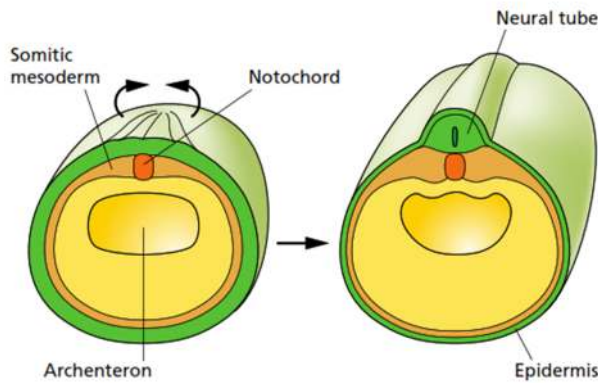


Fig. 4: Proceso de Neurulación: Sección a través de la región media del cuerpo (Slack, 2006).

Para el estadio en el que se forma el **brote de la cola**, conocido como “**tailbud stage**” (G17-19), la mayoría de las partes del cuerpo se encuentran en su posición final (Figura 5). La notocorda se forma a partir de la línea media dorsal del mesodermo y a cada lado aparecen hileras de somitas segmentados; más tarde el mesodermo de la placa lateral origina los brotes de las extremidades, el riñón y el mesotelio celómico, mientras que en la en la región ventroposterior del mesodermo se forman islotes sanguíneos que proveen de eritrocitos al renacuajo temprano.

Posteriormente, otra población de células sanguíneas se forma en el mesodermo dorsolateral. El brote de la cola tiene su origen a partir de una región compleja en el extremo posterior, que comprende la placa neural posterior y el mesodermo debajo de ella. Esta región genera la notocorda, el tubo neural y los somitas de la cola durante los siguientes 1 o 2 días.

Debido a que los pliegues neurales se cierran sobre el blastoporo, se crea una conexión entre la luz del tubo neural y el intestino, llamada **canal neuroentérico**. Esto persiste durante aproximadamente un día y luego se bloquea. El **proctodeo**, que termina en el ano, se forma a partir del canal que queda entre el canal neuroentérico y el exterior que se forma por el proceso del cierre del tubo neural (Fig. 5 c). El desarrollo de la boca tiene lugar un poco más tarde, a partir de una nueva abertura formada en el extremo anterior.

En la cabeza, el tubo neural anterior forma tres

vesículas encefálicas: prosencéfalo, el mesencéfalo y el rombencéfalo. A partir de la epidermis, se forman engrosamientos columnares llamados **placodas**, que incluyen:

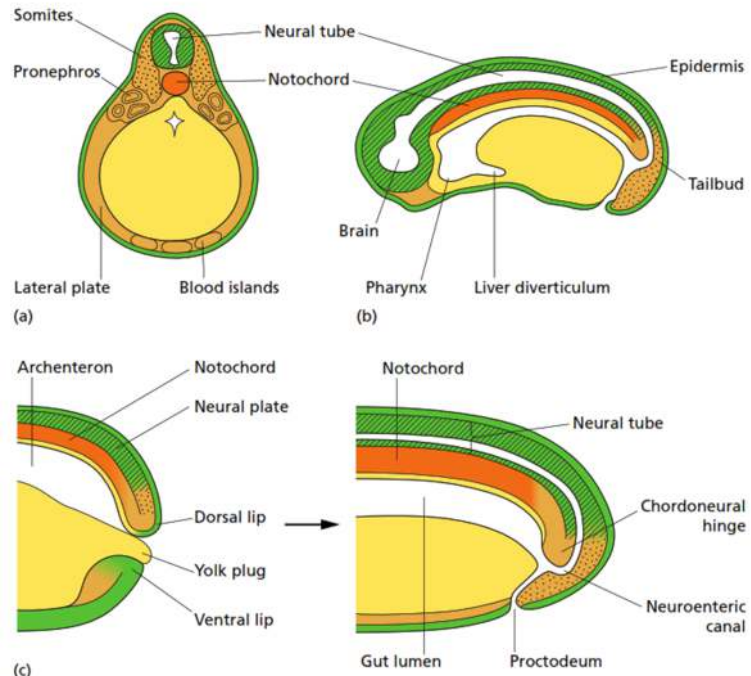


Fig. 5: Proceso de Neurulación (Slack, 2006): Estadío en el que se forma el brote de la cola: **a)** Sección transversal a través del tronco; **b)** sección mediana; **c)** formación de la cola por cierre de la placa neural sobre el blastoporo residual (Slack, 2006).

- ▲ **PLACODA NASAL:** Células sensoriales de las que se originan los axones del nervio olfativo, se conectan al telencéfalo.
- ▲ **PLACODAS DEL CRISTALINO:** Forman el cristalino del ojo.
- ▲ **PLACODAS ÓTICAS:** Forman las orejas.

Los ojos se desarrollan como protuberancias del prosencéfalo (**lóbulos ópticos**) que se invaginan en forma de copa, de modo que el epitelio pigmentario se forma a partir de la capa externa y la retina a partir de la capa interna. El cristalino se invagina desde la placoda del cristalino epidérmico superficial y queda rodeado por la copa óptica. El nervio óptico vuelve a crecer desde la retina hacia abajo por el tallo óptico y se proyecta hacia la tecta óptica en el mesencéfalo.

Un grupo de células de los pliegues de la placa neural, ubicadas en el lado dorsal del tubo neural, dan lugar a la **cresta neural**, un tejido migratorio que forma una gran variedad de tejidos. En la cabeza forma la mayor parte de los tejidos esqueléticos del cráneo. En el tronco, los ganglios de la raíz dorsal, los ganglios simpáticos y los melanocitos. En las regiones vagal y sacra del tronco también forma los ganglios parasimpáticos (= entéricos).

El mesodermo de la cabeza origina parte de los músculos de la mandíbula y los arcos branquiales. Una estructura conocida como “**cement gland**” se desarrolla a partir de la epidermis anterior, ventral a la futura boca. Esta se considera una característica externa prominente de la cabeza de la neurula tardía (G18). El corazón se forma a partir de los bordes ventrales del mesodermo lateral anterior que se mueven hacia abajo y se fusionan en la línea media ventral alrededor del final de la neurulación (G19-22).

Amodo de resumen, la siguiente figura (Fig. 6) muestra un ejemplo del periodo de desarrollo embrionario en anfibios de la especie *Physalaemus biligonigerus*.

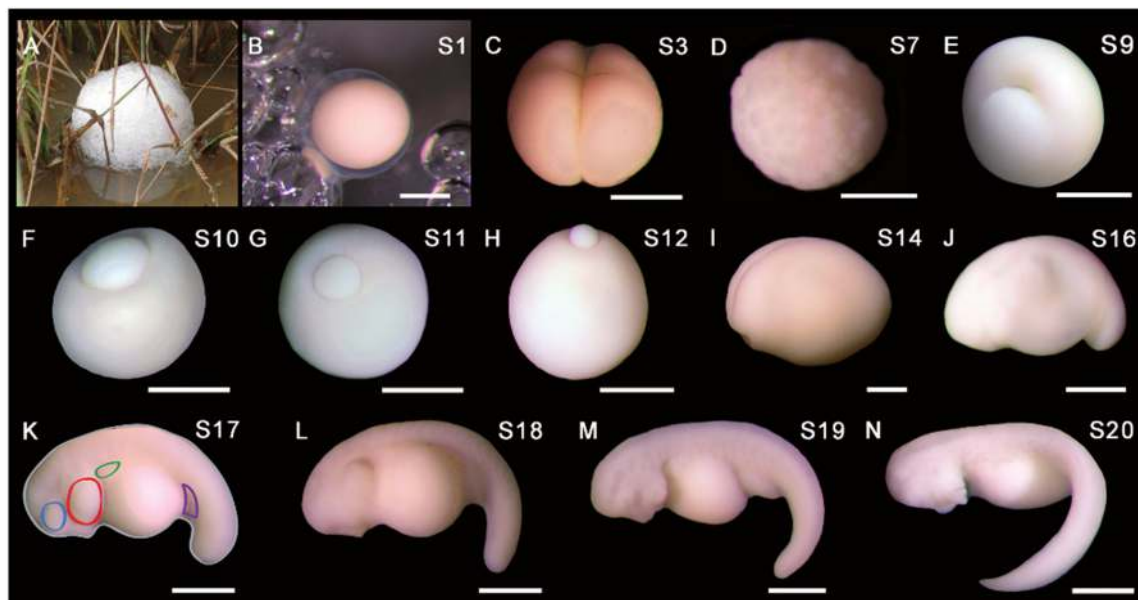


Fig. 6: Vista externa de embriones y larvas de *Physalaemus biligonigerus*, desde el clivaje hasta la primera etapa de alimentación (Chuliver & Fabrezi, 2019). **a)** nido de espuma; **b)** huevo dentro del nido de espuma; **c)** clivaje: etapa de cuatro celdas; **d)** blástula de células grandes; **e)** gástrula temprana, labio dorsal del blastoporo como hendidura en forma de media luna; **f)** gástrula media, labios del blastoporo que encierra el tapón vitelino; **g)** gástrula tardía, tapón vitelino 25% del diámetro del embrión; **h)** gástrula tardía con pequeño tapón vitelino; **i)** nerulación: embrión que muestra la formación del surco neural; **j)** embrión con el brote de la cola; **k)** nerulación: embrión con protuberancias: ojos (azul), branquias (rojo), pronefros (verde) y futura zona del tubo anal (violeta); **l)** nerula tardía: etapa con yemas branquiales esféricas y prominentes; **m-n)** Estadios 19–20, durante la segmentación de la musculatura axial se observa el desarrollo de glándulas adhesivas y la cola se alarga. Barras de escala = 0,5 mm.

BIBLIOGRAFÍA

- Chuliver, M. & Fabrezi, M. (2019). A Developmental Staging Table for *Physalaemus biligonigerus* (Cope, 1861) (Anura: Leptodactylidae). *South American Journal of Herpetology*, 14 (2), 150-161.
- Gilbert, S. F. (2000). Chapter 11: The early development of vertebrates: Fish, birds, and mammals. *Developmental Biology* (6th ed). Sinauer Associates, Sunderland (MA), 313-328.
- Mc Diramid, R. W & Altig, R (1999). Chapter 2: Materials and Techniques. *Tadpoles: The Biology of Anuran Larvae* (1st ed). The University of Chicago Press; Chicago and London, 7-23.
- Storer, T. I., Usinger, R. L., Stebbins, R. C. & Nybakken, J. W. (2003). Capítulo 31: Clase Anfibios. *Zoología general* (6° ed.). McGraw-Hill Book Company; Omega, 724-751.
- Slack, J. M. W (2006). Chapter 7: *Xenopus*. *Essential Developmental Biology* (2° ed.). Blackwell Publishing Company; Malden, London and Carlton, 67-88.

DESARROLLO EMBRIONARIO EN AVES – PARTE I

OBJETIVOS:

- ▲ Reconocer las partes de un huevo, tanto su constitución macroscópica como microscópica.
- ▲ Comprender el proceso de Desarrollo embrionario en aves y sus principales características.
- ▲ Reconocer las distintas etapas de desarrollo y sus características visuales.
- ▲ Establecer las diferencias con otros grupos de vertebrados.

MARCO TEÓRICO:

Las aves son los únicos animales vivientes que poseen el cuerpo recubierto por plumas, las cuales le permiten regular la temperatura del cuerpo y facilitan el vuelo. Algunas de las características principales de este grupo son:

- v Cuerpo cubierto de plumas.
- v Homeotermos.
- v Par anterior de extremidades modificado en forma de alas para el vuelo y par posterior adaptado para pararse, andar o nadar (con lóbulos o membranas interdigitales).
- v Corazón de 4 cámaras (2 aurículas y 2 ventrículos separados). Glóbulos rojos nucleados, ovales y biconvexos.
- v Respiración por pulmones adheridos a las costillas y en comunicación con sacos aéreos extendidos entre los órganos internos y partes del esqueleto.
- v 12 pares de nervios craneales.
- v Excreción por riñones metanéfricos.
- v Fecundación interna. Huevos con cáscara cubiertos por una capa calcárea dura.

Determinación sexual

El ovocito del ave puede llevar en su información genética al cromosoma Z o el W, mientras que el espermatozoide siempre aporta un cromosoma Z. La anfigamía dará por resultado una herencia sexual ZZ (macho) o ZW (hembra).

Reproducción

La fecundación es siempre interna y todas las aves ponen huevos con yemas grandes y cáscara calcárea que deben incubarse para que los embriones puedan desarrollarse. Las crías de pollos, codornices, patos y aves costeras son precoces; es decir, se encuentran completamente formados, cubiertos de plumón y son capaces de correr inmediatamente después de nacer. Si bien existe una amplia diversidad de características en torno a los rituales de cortejo, cuidados parentales y otras particularidades del desarrollo propias de cada especie, en la presente guía de Trabajos Prácticos, se tomará a *Gallus gallus* como modelo para abordar tanto las características fisiológicas del ciclo reproductor como el desarrollo embrionario de Aves.

Características del Ciclo Reprodutor:

En las gallinas, la postura u ovoposición, se realiza una vez por día en horas de la mañana, siguiendo un ciclo de ovulaciones de varios días. Posteriormente, el ciclo se interrumpe por uno o dos días y comienza de nuevo otro ciclo de postura. Esto ocurre de forma continua durante su ciclo. La ovulación depende de aumentos bruscos de la hormona luteinizante (LH) segregada por

la hipófisis a la sangre circundante. Estos picos de secreción dependen de **estímulos lumínicos**, actuando **por vía hipotalámica**. Los picos de LH se producen aproximadamente a las 8, 13 y 20 horas del día.

Dentro del ovario se encuentran los folículos que van madurando sucesivamente. De este modo, se ordenan jerárquicamente, siendo F1 el folículo más maduro, F2 el siguiente, etc. Cada folículo difiere del adyacente por **un día de crecimiento**. La formación y el transporte del huevo con todas sus membranas tardan de 25 a 26 horas. Como cada ovulación depende del pico de LH, a ésta hay que añadir el tiempo que tarda en atravesar el oviducto. De esta forma, llegará un momento del ciclo en el cual la siguiente ovoposición deberá ocurrir en horas de la tarde. En este caso, el ciclo se interrumpe y no hay ovulación ese día, siguiendo entonces un descanso de 1 o 2 días.

La hormona **prolactina**, secretada por la adenohipófisis, interrumpe el desarrollo folicular y la ovoposición, pues actúa antagónicamente con la hormona foliculoestimulante (FSH) y luteinizante. La prolactina induce las mudas fisiológicas durante las cuales las aves no ponen huevos y se produce el cambio de plumaje. También es responsable de la cloquera, esto incita al ave a echarse sobre los huevos y empollarlos, con lo cual los huevos se incuban y prosiguen el desarrollo embrionario (Fig. 1). La temperatura normal de incubación es la del cuerpo de la gallina (41°C) cuando se **enclueca**. Durante la incubación artificial, la temperatura se mantiene a 37.5°C. A esa temperatura, el pollito nace a los 21 días aproximadamente. Si la temperatura baja los 21°C el desarrollo cesa. El día 19 el pollito penetra en la cámara de aire con el pico y respira para llenar sus

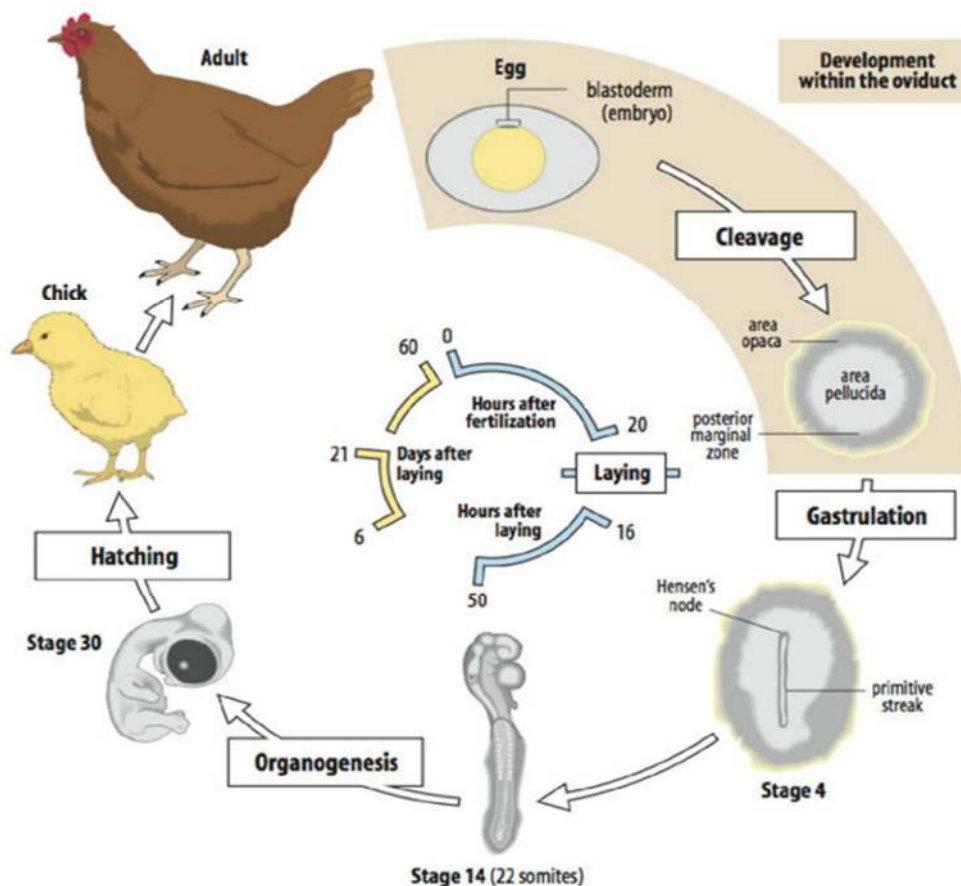


Fig.1: Esquema del ciclo biológico de *Gallus gallus*. En la imagen se distinguen las fases del desarrollo que ocurren dentro del oviducto y fuera del mismo (imagen ilustrativa de uso libre, autor desconocido).

pulmones. Seis horas después el pollito rompe la cascara, formando un agujero pequeño con su pico, hasta que en el día 21 se produce la eclosión.

Estructura del huevo o cigoto:

El ovocito fecundado (cigoto) se encuentra formado por:

- ▲ **Citoplasma o Idioplasma:** Es el citoplasma aportado por el ovocito más las organelas de éste y las organelas aportadas por el espermatozoide.
- ▲ **Plasma nutritivo o Deuteroplasma:** Está compuesto por vitelo (blanco y amarillo) y otros elementos de reserva, como los lípidos, gránulos de hidratos de carbono, y otras sustancias de tipo fibrilar. Además, posee elementos inorgánicos como S, Fe, K, Na, Cl, Ca, Mg, P y una concentración elevada de provitaminas.

El **vitelo** es el material alimenticio de reserva del ovocito. En las aves está compuesto por dos componentes distintos: el **vitelo amarillo**, que constituye la mayor proporción de la esfera vitelina y el **vitelo blanco**, que rodea al núcleo del ovocito II y en la blástula se encuentra por debajo del **blastodisco** (disco germinal) formando el **disco de Pander**. Las capas de vitelo blanco son finas y se disponen concéntricamente, alternando sus láminas con las de vitelo amarillo que son más gruesas (Fig. 2).

- ▲ **Envolturas:** Le confieren protección al cigoto. La membrana ovular u oolema es la **membrana primaria**. En el caso de las aves, es una membrana vitelina que se rompe después de la ovulación y solo quedan trazas de ella en el huevo.

Las membranas que se forman en el ovario y rodean a la membrana citoplasmática se denominan **membranas previtelinas o secundarias**. Entre estas se encuentra la corona radiada y la membrana previtelina, ambas producidas por las células foliculares del ovario.

Las membranas que son elaboradas en el tracto genital de la hembra, producto de la secreción glandular, reciben el nombre de **membranas terciarias** (Fig. 2). Entre estas, se encuentran las chalazas, el albumen, las membranas testáceas y las cáscaras:

Las **chalazas** secretadas por el infundíbulo. Son dos cordones formados por fibras parecidas a la mucina que se unen por un extremo a la membrana chalcífera y por otro, a la lámina densa del albumen. La formación retorcida que tiene se debe a la rotación producida durante el pasaje del cigoto a través de oviducto.

El **albumen** es secretado por el mágnium. Está compuesto por 3 capas: una capa interna líquida, que rodean a la lámina chalcífera. Una capa media densa, bastante rígida que se fija a ciertos puntos de la membrana testácea conocidas como ligamentos del albumen. Y finalmente, una capa externa líquida. Las 3 capas están compuestas por proteínas (ovoalbúmina en su mayoría) y glucoproteínas. La alta proporción de agua en la albumina sirve como capa aislante para mantener una temperatura interna constante, a la vez que proporciona la humedad necesaria para el desarrollo del embrión.

Las **membranas testáceas** son dos láminas, una interna y una externa, formadas por fibras de proteínas unidas por un cemento albuminoso. La membrana interna está firmemente unida a la externa es más gruesa y se encuentra firmemente unida a la cascara. Estas membranas evitan la contaminación bacteriana.

La **cáscara** está compuesta por tres laminas: la lámina interna o mamilar formada por cristales esféricos de carbonato de calcio, la lámina esponjosa intermedia o en empalizada, consistente en una red de pequeños cristales de calcita que forman columnas cuyas bases son

las mamilas y la cutícula, que es una fina lamina de proteínas con gotas de lípidos esparcidas que cubren la superficie del huevo. Las láminas de la cáscara se encuentran atravesadas por miles de poros que permiten el intercambio gaseoso y permite la liberación de vapor de agua (Fig. 3).

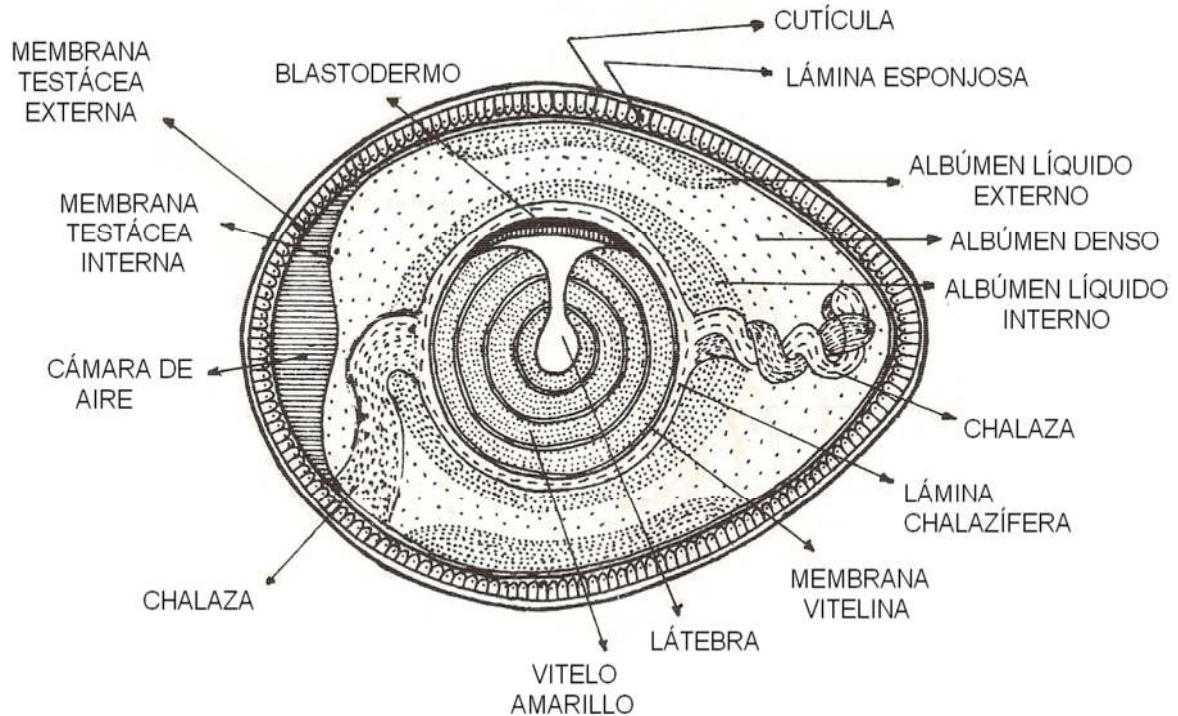


Fig. 2: Esquema de la estructura del huevo con embrión (Discoblástula) de *Gallus gallus*: muestra Deuteroplasm y membranas terciarias (Sánchez & Von Lawzewitsch, 1984).

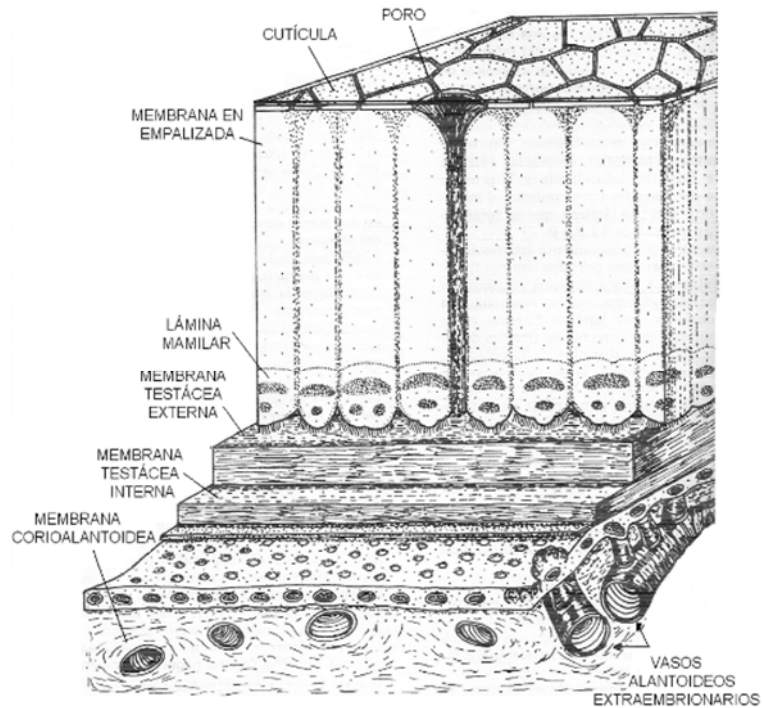


Fig. 3: Esquema de la estructura interna de la cáscara de *Gallus gallus* (Sánchez & Von Lawzewitsch, 1984).

Desarrollo Embrionario

Para describir los eventos del desarrollo embrionario desde el clivaje hasta el momento en el que se produce la ruptura del cascarón, Hamburger y Hamilton (1951) desarrollaron un sistema de clasificación por etapas en función a la aparición de determinadas estructuras embrionarias fácilmente reconocibles. En la actualidad, dicho sistema sigue utilizándose.

Estadios Iniciales y desarrollo del Plan Corporal:

Desarrollo de 0 a 16h de incubación (HH 1 – 3): Una vez producida la fecundación y la anfimixis, se forman inmediatamente por mitosis 2 blastómeras que seguirán dividiéndose de forma geométrica hasta formar la blástula. El clivaje es meroblástico e involucra únicamente a las células del polo animal en el borde de la masa vitelina. Dadas estas características, la blástula adopta una forma discoidal aplanada que en las aves se denomina discoblástula o blastodisco. Los primeros clivajes tienen lugar dentro del oviducto de la hembra. Ya en el estadio de 32 células, las blastómeras secretan un líquido albuminoso que constituye el blastocele (Fig.4).

El gran tamaño del vitelo condiciona la división de las células del Polo Animal de tal forma que se pueden distinguir 2 zonas: el Área Pelúcida, que se ubica por debajo del blastocele y el Área Opaca, cuyas células se encuentran próximas al vitelo (Fig.4). Entre ambas regiones se puede distinguir una zona intermedia que se denomina Zona Marginal (aclaración: no es una estructura equivalente a la Zona Marginal de Anfibios). A medida que las blastómeras continúan sus divisiones, pequeños grupos de células ingresan al área pelúcida y junto con células

provenientes de la parte posterior de la zona marginal dan origen al Hipoblasto, mientras que la capa superior de células forma el Epiblasto. Estos dos tejidos eventualmente darán origen a las membranas extraembrionarias y al embrión respectivamente.

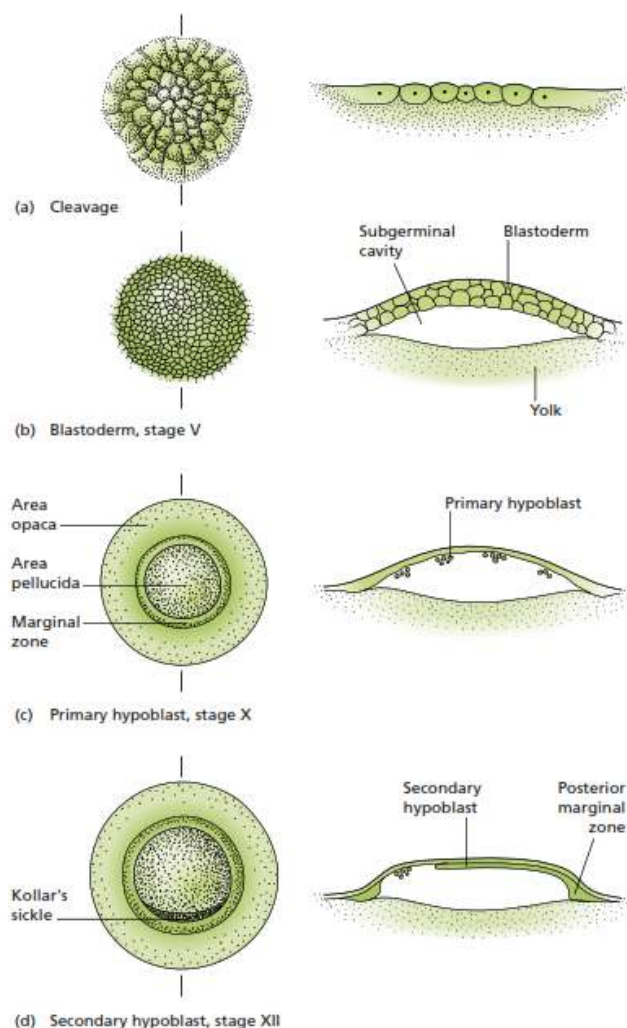


Fig. 4: Esquema del clivaje de *Gallus gallus*, previo a la formación de la Línea Primitiva. Las líneas verticales en la imagen de la derecha (blástula vista desde arriba) representan los planos de división. En ambas, se observa: área pelúcida, el área opaca y la formación del Hipoblasto (Slack, 2006).

A las 3-4 hs de la ovoposición, el área pelúcida se estratifica y las blastómeras se invaginan en un área que aparece engrosada en la línea media y se elonga hasta alcanzar el centro en sentido caudal- cefálico (Sánchez & Von Lawzewitsch, 1984; Slack, 2006). Esta región alargada se denomina línea primitiva y se reconoce entre las 7-8 h y 10 h (HH 2) del desarrollo.

Desarrollo de 16 a 22h de incubación (HH 4 – 6): En *Gallus gallus*, se considera que la gastrulación al momento en el cual las células del Epiblasto pasan a través de la línea primitiva para formar el mesodermo y endodermo definitivo (Fig. 5). En este caso, el arquenterón se forma a partir de un espacio pre-existente situado debajo del endodermo. En el extremo anterior de la línea primitiva se forma un engrosamiento celular que recibe el nombre de Nódulo de Hensen, el cual es el equivalente funcional al Labio Dorsal del Blastoporo en Anfibios y al Escudo Embrionario en los Peces. El nódulo contiene células que darán lugar a la notocorda, algunas de las cuales migran hacia la región anterior para formar el proceso de la cabeza o parte de la notocorda situada en su interior. El resto del nódulo se mueve hacia atrás, dando lugar a la formación de las principales estructuras del plan corporal: la notocorda en la línea media, los somitas a ambos lados y la placa neural en el epiblasto. Las células germinales primordiales aparecen en el borde anterior extremo del área pelúcida, fuera del embrión propiamente dicho.

A las 22 horas el embrión sobresale del área pelúcida, distinguiéndose claramente la región embrionaria (HH 6). Lo que está fuera de ella se conoce como área extraembrionaria y va a originar las estructuras anexas del embrión, que están fuera del cuerpo del mismo, pero son vitales para su nutrición y protección.

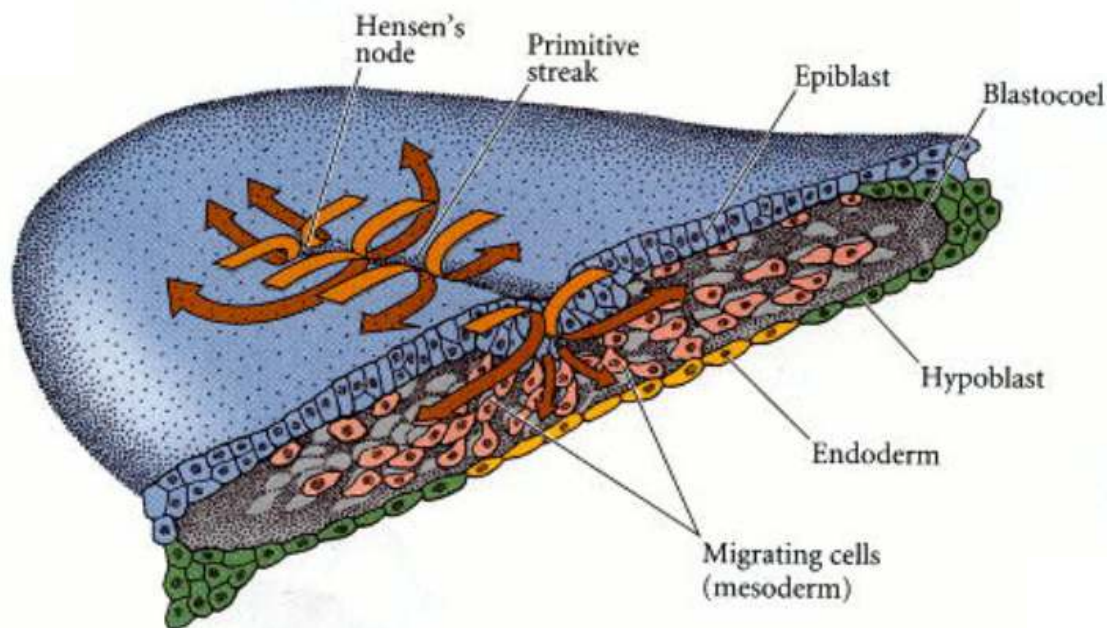


Fig. 5: Esquema del proceso de gastrulación de *Gallus gallus*. Las flechas muestran los movimientos migratorios de las células del Epiblasto para formar el Mesodermo (Gilbert, 2000).

Desarrollo de 22 a 33h de incubación (HH 7 – 9): Durante este período el embrión sufre un alargamiento de la cabeza y un aumento en la longitud del intestino primitivo. En las primeras horas del segundo día de incubación, aparecen los islotes sanguíneos en la región extraembrionaria del blastodermo. Para esta altura, el pliegue de la cabeza se ha levantado considerablemente, provocando que la porción anterior del intestino primitivo se encierre sobre sí misma y que el desarrollo del corazón tenga lugar en la región anterior media ventral. El

corazón se forma a partir de la fusión de un par de túbulos situados a ambos lados del mesodermo anterior, dando lugar al endocardio del corazón. El mesodermo visceral forma el epimiocardio, el mesocardio dorsal y ventral. En el curso de la torsión del corazón sobre sí mismo se constituyen las 4 cavidades: la parte anterior da lugar al ventrículo y el tronco arterioso, mientras que la parte posterior forma el seno venoso y la aurícula. Los latidos del corazón se inician cerca de las 29 hs aproximadamente (HH 8-9); no obstante, todavía no bombean sangre por el cuerpo del embrión.

Entre las 26 y 29h (HH 8), el surco neural se cierra para formar el tubo neural (Fig. 6). La región del encéfalo se diferencia en 3 vesículas: el prosencéfalo o encéfalo anterior, el mesencéfalo o encéfalo medio y la parte posterior del tubo neural, el rombencéfalo, se convierte en la medula espinal. A las 30 hs se presentan las vesículas ópticas en las paredes laterales del prosencéfalo. En la base del prosencéfalo se desarrolla el infundíbulo.

Pasadas las 33h de incubación (HH 10), ya se tornan visibles 10 pares de somitas y las tres vesículas encefálicas primarias. Por otro lado, debido a la extensión y anastomosis de los islotes sanguíneos se forma una red vascular, que se distribuirá sobre la superficie vitelina supliendo las necesidades nutricionales del embrión durante el período de incubación.

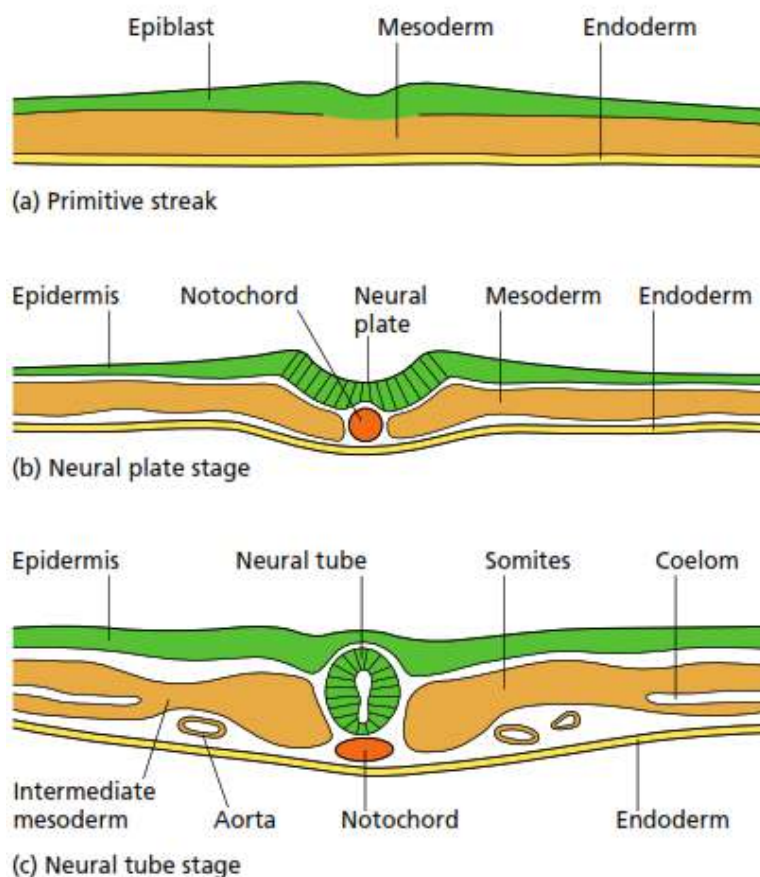


Fig. 6: Esquema de un corte transversal que muestra la formación de los principales elementos que forman el eje axial (Tubo Neural, Notocorda y Somitas) de *Gallus gallus* (Slack, 2006).

Desarrollo de 33 a 50h de incubación (HH 10 – 13):

Estos estadios son muy importantes para el desarrollo del sistema nervioso central y el sistema circulatorio. A las 36 horas se inicia un proceso que cambia la configuración del embrión

y sus relaciones con el vitelo, ya que produce la flexión y torsión del eje embrionario. Para esta instancia, el embrión posee 10 somitas y el tubo neural se encuentra completamente cerrado.

En los embriones de 30 a 38h comienza a verse una división de las 3 vesículas cerebrales primarias para formar 5 regiones: el telencéfalo, el diencefalo, el mesencéfalo, el metencéfalo y el mielencéfalo (Fig. 7). Las vesículas ópticas adoptan una forma de copa, formando una cavidad denominada opticocoele. Más tarde (HH 12) se producirá la constricción del pedúnculo óptico y perderá su unión al prosencéfalo.

Durante el desarrollo del corazón se forman también los vasos sanguíneos (Fig.8). En el extremo cefálico, el corazón se continúa con la aorta ventral. Esta se bifurca para formar los dos troncos aórticos ventrales, que se dirigen hacia la cabeza. Cuando llegan al nivel del saco ciego se tuercen dorsalmente corriendo paralelamente al intestino; formando las dos aortas dorsales. Entre las 33 y 38h, estas aortas al torcerse forman el 1º arco aórtico, tornándose visibles a partir de las 50h. En el extremo caudal del corazón se continúa el sistema venoso, luego de la fusión del seno venoso en dos estructuras que configuran las venas onfalomesentéricas o vitelinas. Los conductos de Cuvier reciben a las venas vitelinas y se conectan con el plexo vitelino extraembrionario.

El mesodermo de la placa lateral se divide en una capa somática, adherida a la epidermis y una capa esplánica, adherida al endodermo. El espacio que queda entre ellos constituye el celoma embrionario. Posteriormente, entre el mesodermo presomítico y la placa lateral, el mesodermo vuelve a dividirse para dar lugar a una franja lateral de mesodermo intermedio que dará origen a los riñones, glándulas adrenales y gónadas del embrión.

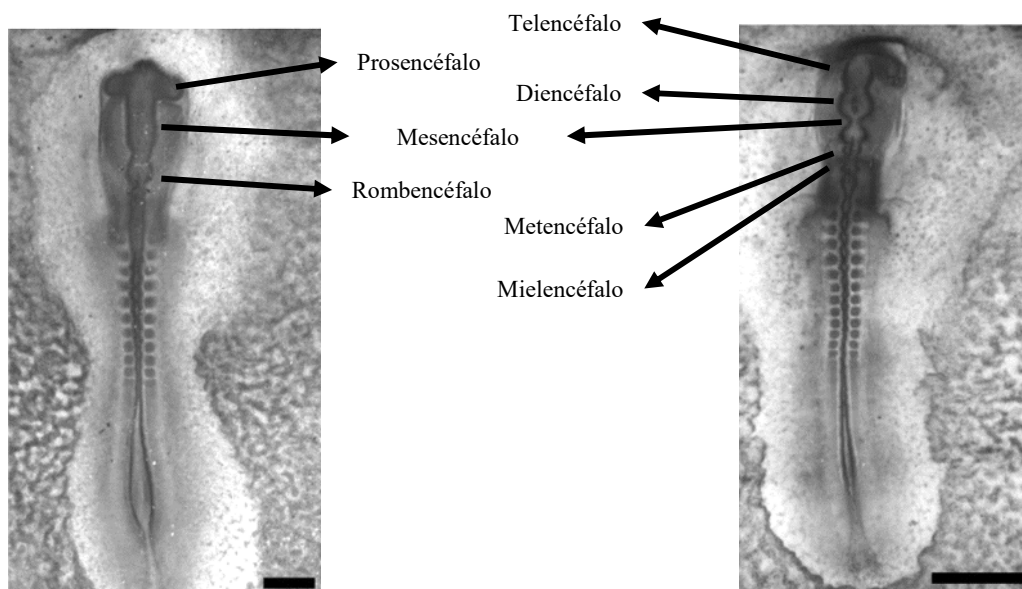


Fig. 7: Vista de vesículas encefálicas en estadios HH 10 (a; barra = 0.5 mm) y HH11 (b; barra = 1.0 mm) en embriones de *Gallus gallus* (imágenes de Li *et al.*, 2019).

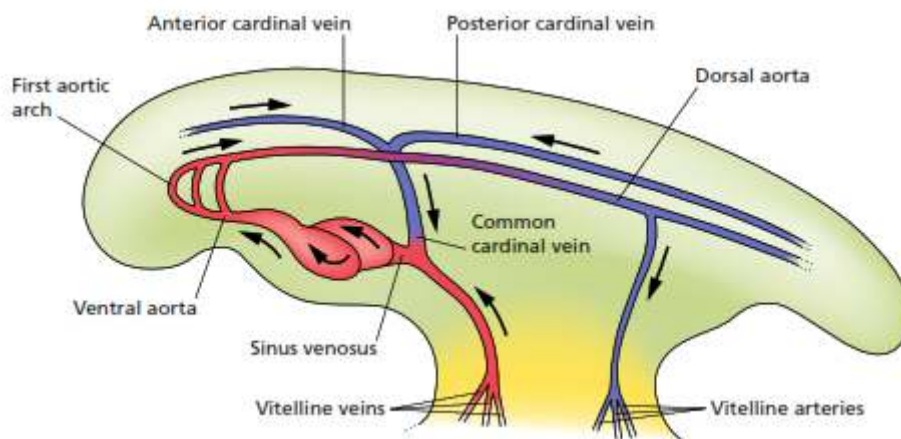


Fig. 8: Esquema de la Circulación básica en un embrión amniótico (Slack, 2006).

Organogénesis:

Para esta etapa, en la siguiente guía de Trabajos Prácticos se desarrollarán principalmente los eventos del desarrollo que tienen lugar durante el 3 y 4 día de incubación, a fines de resaltar los procesos que marcan el inicio de la organogénesis.

Desarrollo de 50h en adelante: El plan corporal general ya se encuentra establecido y comienzan los procesos de organogénesis. Asimismo, a partir de este punto, los estadios de Hamburger y Hamilton se identifican a partir de las estructuras anatómicas visibles debido a que ya es difícil distinguir el número de somitas que se forman en la cola del embrión.

Entre las 52 y 64 h (HH 17) del desarrollo pueden distinguirse los esbozos de las alas y las patas. Por otro lado, entre las 65 y 70 h (HH 18 – 19) comienzan a tronarse visibles el Alantoides y los procesos maxilares.

3° día (HH 20 – 23):

- Delimitación y formación de la cola.
- Membranas extraembrionarias bien definidas.
- Marcada torsión del dorso del embrión, más allá del nivel del corazón.
- Prosencéfalo (diencéfalo y telencéfalo) enfrentando el corazón.
- Flexión craneal entre el mielencéfalo y la medula espinal.

4° día (HH 23 – 26):

- Embrión apoyado totalmente con su lado izquierdo sobre el vitelo (forma de C), con la cabeza muy cerca del extremo caudal.

MESODERMO: se produce la diferenciación de los somitas (Fig. 9) en:

- Esclerotomas: se extienden hacia la notocorda y el tubo neural. Desarrollan el esqueleto axial (vertebras y costillas).
- Dermatomas: originarán los tejidos de la dermis.
- Miotomas: se transforman en células llamadas miotubos, que originarán los músculos esqueléticos de tórax, abdomen y cuello.

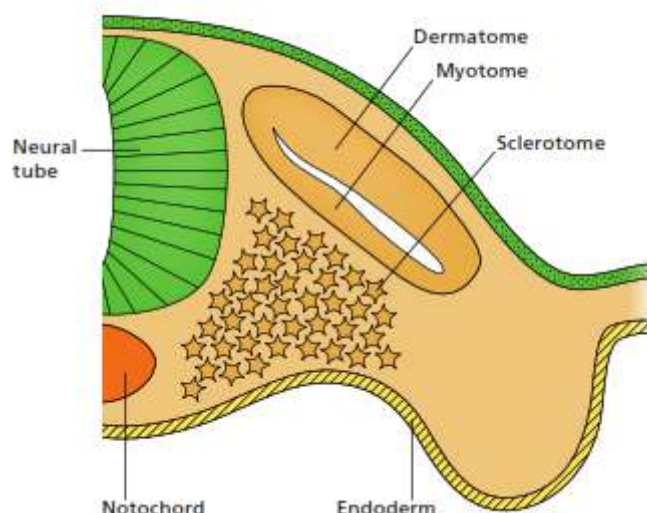


Fig. 9: Esquema de la diferenciación de los somitas en embrión de *Gallus gallus*. Los somitas continúan formándose hasta el 4 día aproximadamente y comienzan a diferenciarse en esclerotomas, miotomas y dermatomas (Slack, 2006).

A continuación, se resumen por sistema los principales cambios en el desarrollo que suceden en este periodo:

SISTEMA CARDIOCIRCULATORIO

El corazón se encuentra sobre el lado derecho del embrión, como un tubo en forma de U y libre en la cavidad pericárdica. A medida que el tubo endocárdico crece, se pliega sobre sí mismo. Al tercer día de incubación, el corazón aparece como un tubo plegado que consta de:

- Tronco arterioso.
- Ventrículo.
- Aurícula.
- Seno venoso.

Para el cuarto día de incubación, ya se han formado los 4 primeros arcos aórticos, y durante el mismo, se produce la regresión de los 1° y 2° arcos mesodérmicos y aparece el 6° arco aórtico y su correspondiente mesodérmico.

SISTEMA UROGENITAL

A las 55h de incubación están presentes los pronefros y mesonefros (Fig. 10). A medida que los primeros involucionan, se hacen funcionales los mesonefros. Cuando éstos se reducen (a partir de sus restos mesodérmicos se originarán los órganos genitales) comienza a funcionar los metanefros.

Los conductos paramesonéfricos (de Müller) se desarrollan en el animal sexualmente indiferenciado. Estos son paralelos y laterales a los conductos néfricos o de Wolff. Si el embrión es determinado como hembra, los conductos de Müller evolucionarán para desarrollar el oviducto. En el caso de los machos, quien persiste y forma la vía genital es el conducto de Wolff.

SISTEMAS DIGESTIVO Y RESPIRATORIO:

Al tercer día de incubación, la zona de la membrana oral en el estomodeo se abre y se comunican el intestino anterior (faringe) con la cavidad amniótica.

Tanto el estomodeo como la parte más craneal del intestino anterior forman la cavidad bucal del pollo. El intestino anterior se divide a su vez en varias regiones que originarán la boca, faringe, esófago, buche, estómagos y parte del duodeno. El resto del intestino delgado, parte del intestino grueso y los sacos ciegos se forman a partir del intestino medio, mientras que el intestino posterior origina la cloaca y vesícula alantoidea.

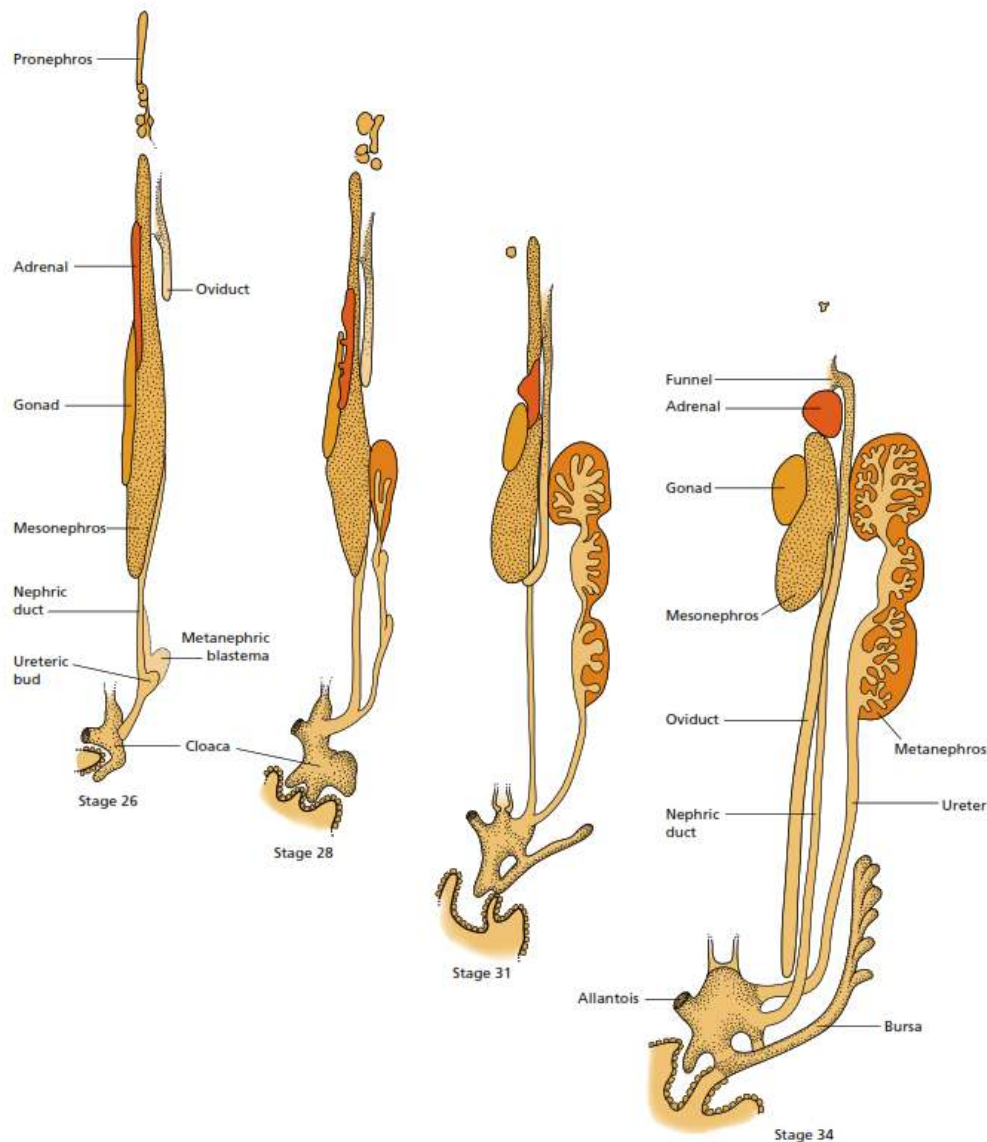


Fig. 10: Esquema del desarrollo de los Riñones, glándulas Adrenales y Gónadas *Gallus gallus* a partir del mesodermo intermedio (Slack, 2006).

SISTEMA NERVIOSO:

Evolución de las vesículas encefálicas:

- Entre el 3° y 4° día se forman las vesículas telencefálicas, originando cada una de ellas un hemisferio cerebral.
- En el mesencéfalo se desarrollan los cuerpos cuadrigéminos, centrorreflejos para la audición y la visión.
- El metencéfalo, más tarde, originará el puente y los pedúnculos cerebelosos y el cerebelo.
- El mielencéfalo se continúa con la médula y es el lugar donde se desarrolla el bulbo raquídeo.

MIEMBROS ANTERIORES Y POSTERIORES:

Al tercer día de incubación ya se establecen los miembros anteriores y posteriores. Las alas se forman en oposición a los somitas 15-20 y las patas en oposición a los somitas 27-32. En el 4° día, los miembros aumentan de tamaño hasta llegar a la forma de remo.

A modo de resumen, en la siguiente imagen (Fig. 11) se muestran los principales eventos de desarrollo embrionario normales en *Gallus gallus* siguiendo las etapas de Hamburger y Hamilton (1951):

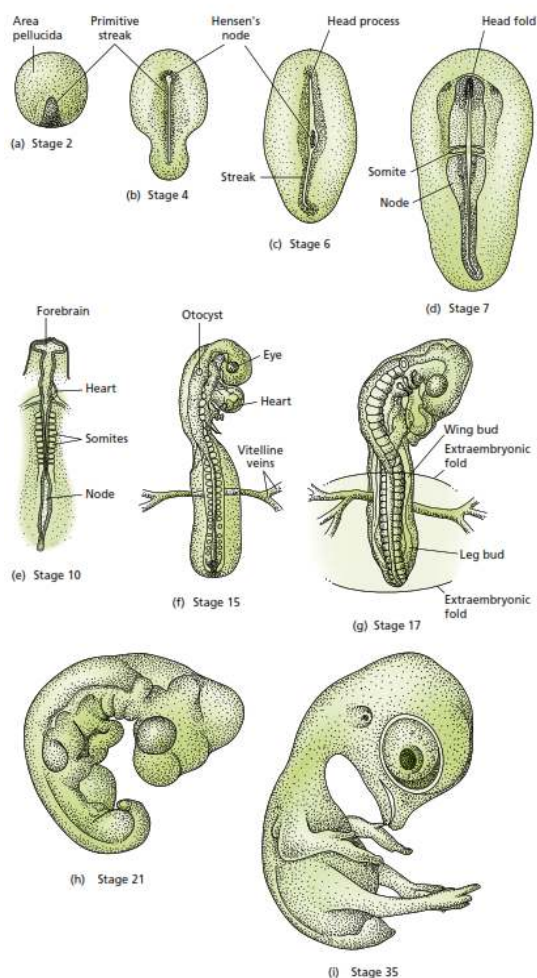


Fig. 11: Resumen del desarrollo embrionario normal de *Gallus gallus* según los estadios de Hamburger y Hamilton. La etapa 7 se alcanza después de aproximadamente 1 día de incubación del huevo, la etapa 12 después de 2 días, la etapa 17 después de 3 días, la etapa 24 después de 4 días y la etapa 35 después de 9 días. El tiempo desde la fertilización es aproximadamente 1 día más que el tiempo de incubación del óvulo (Slack, 2006).

BIBLIOGRAFÍA

- Gilbert, S. F. (2000). Chapter 11: The early development of vertebrates: Fish, birds, and mammals. *Developmental Biology* (6th ed). Sinauer Associates, Sunderland (MA), 313-328.
- Li, S.; Bai, S.; Quin, X.; Zhang, J.; Irwin, D. M.; Zhang, S. & Wang, Z. (2019). Comparison of whole embryonic development in the duck (*Anas platyrhynchos*) and goose (*Anser cygnoides*) with the chicken (*Gallus gallus*). *Poultry Science*, 98 (8), 3278-3291.
- Sánchez, A. & Von Lawzewitsch, I. (1984). Capítulo 2. *Lecciones de Embriología Veterinaria Volumen 1: Fecundación, Desarrollo del Pollo, Desarrollo del Cerdo* (3° ed). Editorial Hemisferio Sur; Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
- Slack, J. M. W (2006). Chapter 9: The Chick. *Essential Developmental Biology* (2° ed.). Blackwell Publishing Company; Malden, London and Carlton, 96-111.
- Storer, T. I., Usinger, R. L., Stebbins, R. C. & Nybakken, J. W. (2003). Capítulo 33: Clase Aves. *Zoología general* (6° ed.). McGraw-Hill Book Company; Omega, 764-817.

DESARROLLO EMBRIONARIO EN AVES – PARTE II

OBJETIVOS:

- ▲ Reconocer las estructuras extraembrionarias a nivel macroscópico en embriones de aves.
- ▲ Comprender el proceso de formación de los anexos extraembrionarios en aves, sus principales características y funciones.
- ▲ Establecer las diferencias con otros grupos de vertebrados.

MARCO TEÓRICO:

En *Gallus gallus*, los primeros indicios del desarrollo de las envolturas extraembrionarias (o estructuras anexas) pueden observarse a las **22 horas de incubación** (HH 6), momento en el cual el embrión sobresale del área pelúcida, distinguiéndose claramente las regiones embrionaria y extraembrionaria.

Desde el inicio de la Gastrulación, la región externa del área opaca comienza a expandirse sobre la superficie del vitelo, formando una capa de ectodermo y endodermo extraembrionario. En contrapartida, la propagación del mesodermo se encuentra delimitada por la región vascular extraembrionaria.

Formación de los Anexos Extraembrionarios

Las envolturas extraembrionarias presentes en *G. gallus* son: Saco Vitelino, Serosa (Corion), Amnios y Alantoides (Figuras 1 y 2).

Saco Vitelino:

El Saco Vitelino se forma a partir de la capa extraembrionaria interna que gradualmente recubre por completo al vitelo. Se encuentra compuesto por mesodermo esplácnico, tejido hematopoyético y endodermo. La principal función del Saco Vitelino es la de nutrir al embrión al absorber por los vasos sanguíneos las sustancias nutritivas provenientes del vitelo.

Serosa (Corion):

La Serosa proviene de la capa más externa de la región extraembrionaria, compuesta por mesodermo somático y ectodermo. Aproximadamente al tercer día de incubación, se forman dos pliegues en la serosa que comienzan a cubrir el cuerpo del embrión desde sus extremos, para luego fusionarse en el centro y originar dos membranas: la más externa sigue siendo la Serosa, mientras que la más interna es el Amnios.

El Amnios se llena de un líquido acuoso y en sus paredes se desarrollan fibras musculares que, al contraerse, agitan el líquido amniótico previniendo adherencias que puedan ocasionar malformaciones en los miembros.

Entre la serosa y el amnios queda una cavidad (cavidad sero-amniótica) que es parte del celoma extraembrionario. El celoma extraembrionario se comunica con el intraembrionario alrededor del tronco vitelino, hasta muy tarde en el desarrollo.

Alantoides:

El Alantoides se origina dentro del intestino posterior, crece hacia el celoma extraembrionario y se expande hasta fusionarse bajo la superficie de la serosa. A partir de esta fusión, la región situada debajo de la cáscara recibe el nombre de membrana corioalantoidea y es muy vascularizada por lo que permite el intercambio gaseoso con el exterior. Además de la función respiratoria, el Alantoides interviene en el proceso de excreción embrionaria, almacenando ácido úrico.

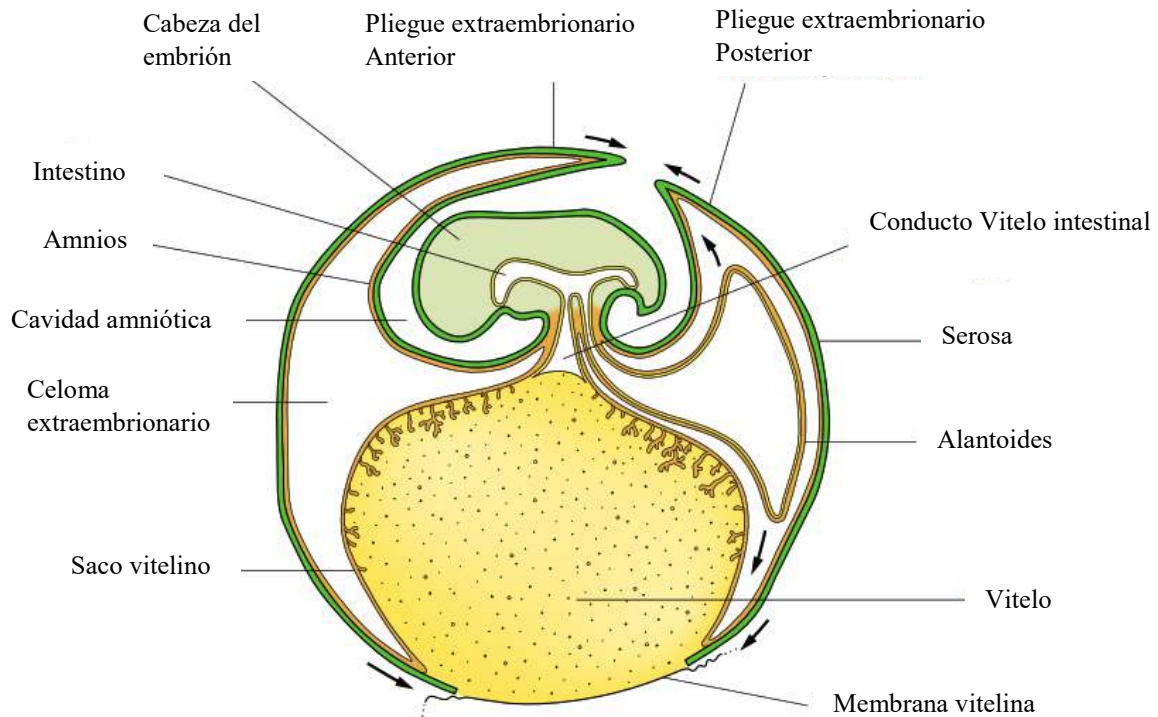


Fig.1: Representación esquemática de la formación de los Anexos Extraembrionarios de *G. gallus* (Slack,2006).

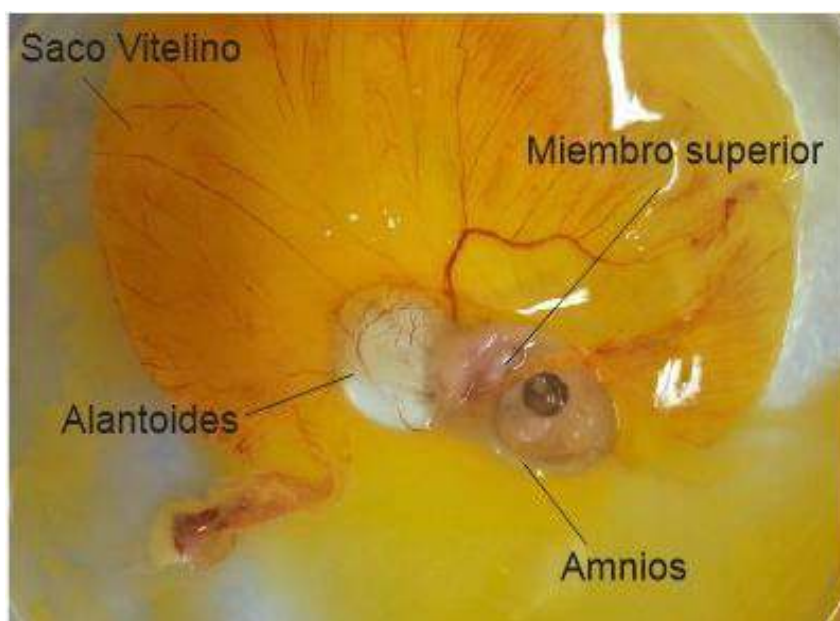


Fig.2: Vista de anexos extraembrionarios en embrión de *G. gallus* con 96h de incubación aproximadamente (Imagen de la cátedra).

BIBLIOGRAFÍA

- Li, S.; Bai, S.; Quin, X.; Zhang, J.; Irwin, D. M.; Zhang, S. & Wang, Z. (2019). Comparison of whole embryonic development in the duck (*Anas platyrhynchos*) and goose (*Anser cygnoides*) with the chicken (*Gallus gallus*). *Poultry Science*, 98 (8), 3278-3291.
- Sánchez, A. & Von Lawzewitsch, I. (1984). Capítulo 2. *Lecciones de Embriología Veterinaria Volumen 1: Fecundación, Desarrollo del Pollo, Desarrollo del Cerdo* (3° ed). Editorial Hemisferio Sur; Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
- Slack, J. M. W (2006). Chapter 9: The Chick. *Essential Developmental Biology* (2° ed.). Blackwell Publishing Company; Malden, London and Carlton, 96-111.

DIAGNÓSTICO PRENATAL

OBJETIVOS:

- ▲ Identificar los métodos invasivos y no invasivos en el diagnóstico prenatal.
- ▲ Explorar la utilidad del diagnóstico prenatal.

MARCO TEÓRICO:

El perinatólogo dispone de varios métodos para evaluar el crecimiento y el desarrollo del feto en el útero. Estas técnicas, combinadas, permiten detectar malformaciones, anomalías genéticas, el crecimiento del feto en general y complicaciones del embarazo, como anomalías uterinas o placentarias.

El interés por el estudio de la salud fetal comienza alrededor de la década de 1950 con la introducción de la **amniocentesis** para el estudio de la eritroblastosis fetal. En ese entonces, también se publicaron los primeros estudios sobre la determinación del sexo fetal mediante estudios de la cromatina X (test de Barr) en el líquido amniótico obtenido por punción. Los descubrimientos en años sucesivos fueron en aumento, apareciendo los primeros estudios *in vitro* sobre células del líquido amniótico. Los mismos permitieron obtener información sobre la alfafetoproteína y su relación con el cierre del tubo neural.

La introducción de la **ecografía bidimensional** permitió la evaluación fenotípica del feto. En un primer momento, los equipos desarrollados sólo permitían la identificación de un número limitado de anomalías, como la anencefalia. En años posteriores, con el surgimiento de equipos más sofisticados y el desarrollo de las técnicas ecográficas, se incrementó el número de malformaciones que se pueden detectar hasta tal punto que permite el diagnóstico prenatal de más del 90% de las anomalías fetales con una cierta expresividad estructural.

A continuación, en la presente guía se describirán las técnicas de Diagnóstico Prenatal más utilizadas actualmente:

Ecografía:

Es una técnica relativamente no invasiva que utiliza ondas sonoras de alta frecuencia reflejadas por los tejidos para crear imágenes (Figura 1). El abordaje puede ser **transabdominal** o **transvaginal**. La ecografía puede utilizarse para obtener imágenes estáticas o animadas. Además, es una herramienta invaluable para extraer líquido de la cavidad amniótica, obtener vellosidades coriónicas u otros tejidos del feto, insertar una aguja en la vena umbilical para administrar medicamentos, recoger sangre fetal, realizar transfusiones, para efectuar tratamientos quirúrgicos prenatales, etc.

Las Ecografías revelan parámetros importantes que influyen al momento de determinar las estrategias apropiadas para el control del embarazo, tales como: la edad y

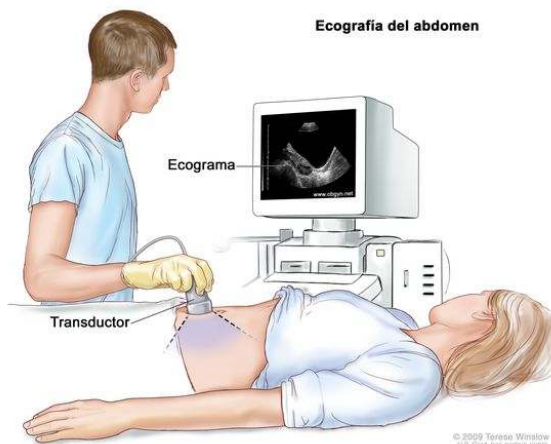


Fig. 1: Procedimiento de Ecografía Transabdominal (imagen tomada de: <https://www.cancer.gov>).

el crecimiento del feto; presencia o ausencia de anomalías congénitas, condición del ambiente uterino (incluyendo la cantidad de líquido amniótico); implantación placentaria, flujo sanguíneo umbilical y presencia de gestaciones múltiples.

Crecimiento Embrionario y Fetal: La edad y el crecimiento del feto se valoran con base en la **longitud cráneo-caudal** entre las semanas 5 y 10 de la gestación. Después de ese momento, se emplean medidas combinadas que incluyen el **diámetro biparietal**, **longitud del fémur** y **circunferencia abdominal**. La medición repetida de estos parámetros incrementa la capacidad para determinar el grado de crecimiento fetal (Figura 2).

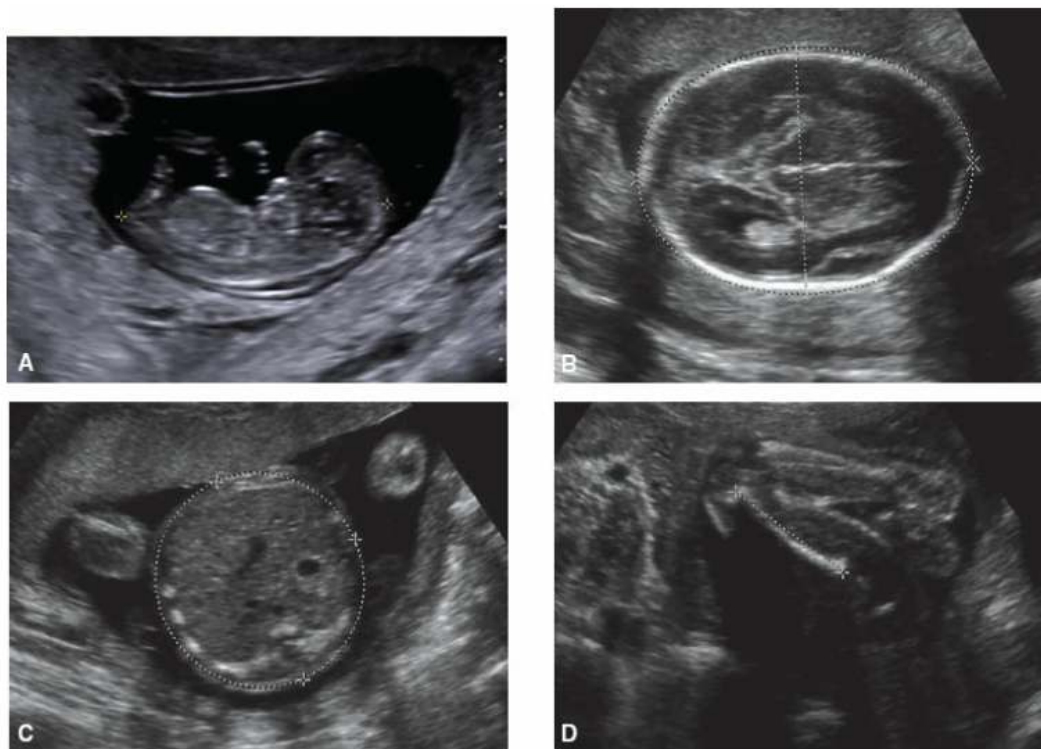


Fig. 2: Mediciones empleadas para la determinación del crecimiento embrionario y fetal (Sadler, 2001); **a)** Longitud cráneo – caudal en un feto de 10 semanas y 6 días, **b)** Circunferencia cefálica y diámetro biparietal (20 semanas); **c)** Circunferencia abdominal (20 semanas); **d)** Longitud del fémur (20 semanas).

Movimiento Fetal: Los movimientos del feto pueden ser captados desde la 10ª semana de desarrollo. Se generan espontáneamente entre intervalos de reposo de variada duración. La ausencia prolongada de movimientos puede indicar que el feto murió, que su salud está deteriorada o que la madre utilizó sedantes. A partir de la 12ª semana también pueden detectar movimientos respiratorios del feto, siendo de gran importancia los que se evalúan a partir de la 20ª semana, debido a que informan sobre la salud fetal y la madurez de los centros nerviosos de la respiración.

Diagnósticos Patológicos: Anomalías que pueden detectarse visiblemente con mediante el análisis ecográfico incluyen:

- ▲ Malformaciones Congénitas: defectos del tubo neural, anencefalia y espina bífida; defectos de la pared abdominal, tales como onfalocele y gastrosquisis, defectos cardíacos y faciales, entre ellos el labio y el paladar hendidos.

- ▲ Síndrome de Down y otras anomalías relacionadas a los cromosomas, mediante un parámetro denominado **grosor del pliegue de la nuca o translucencia nuchal** (se mide el espacio translúcido ubicado en la región posterior del cuello del embrión, sitio en que se acumula líquido cuando existen síndrome de Down y otras anomalías, como los defectos cardíacos). Este estudio se realiza entre las 11 y 14 semanas de gestación; su resultado, junto con las pruebas de marcadores en suero materno y la edad materna, permiten hacer un cálculo de riesgo para diversos síndromes.
- ▲ Alteraciones en el contenido de Líquido Amniótico: **Oligoamnios** (escasez de líquido amniótico) y **Polihidramnios** (exceso de líquido amniótico).
- ▲ Embarazos ectópicos, mola hidatiforme y corioepitelioma.

Estudio de Líquido Amniótico:

El líquido amniótico se extrae de la cavidad amniótica por punción abdominal (**amniocentesis**), con ayuda del ecógrafo, habitualmente entre las semanas 14^o y 16^o del embarazo debido a la cantidad de líquido que se requiere extraer (de 20 a 30 ml de líquido). Algunas de las complicaciones derivadas de la amniocentesis pueden ser: punción de la placenta, hemorragias amnióticas, desprendimientos placentarios, punción del feto o del cordón umbilical, punción de la vejiga o del intestino materno, abortos e infecciones.

Con la muestra del líquido amniótico extraído pueden realizarse los siguientes estudios, cuyos resultados suelen tardar entre 3 y 4 semanas:

Estudios Citológicos: El líquido amniótico posee **células epiteliales descamadas del amnios, de la piel y de las mucosas respiratoria y urinaria** del feto. Para su observación, se las colorea, centrifuga y/o cultiva. Permiten realizar diagnósticos acerca de la madurez y sexo del feto, presencia de anomalías cromosómicas (junto a técnicas de bandeado cromosómico), alteraciones bioquímicas y defectos genéticos (mediante análisis de la secuencia de genes alterados en células fetales).

Estudios bioquímicos: poseen alto valor diagnóstico los análisis de **alfafetoproteína** (concentraciones aumentadas en anencefalia y raquisquisis), **lecitina** (indicador de la madurez pulmonar) y **bilirrubina** (cuando el feto es afectado por una enfermedad hemolítica).

Biopsia de Vellosidades Coriónicas:

La biopsia de vellosidades coriónicas involucra la inserción de una aguja por vía transabdominal o transvaginal dentro de la masa placentaria y la aspiración de aproximadamente 5 a 30 mg de vellosidades (Figura 3). El material se recoge precozmente, en general durante la octava semana de desarrollo. Las células pueden analizarse inmediatamente o ser cultivadas. Debido al gran número de células obtenidas, solo se necesitan dos o tres días de cultivo para permitir un análisis genético. De esta manera, el tiempo para la caracterización genética del feto es reducido en comparación con la amniocentesis. Sin embargo, el riesgo de pérdida fetal por este procedimiento es dos veces mayor que con esta última. Asimismo, se ha señalado que la biopsia de vellosidades coriónicas puede incrementar el riesgo de anomalías de reducción de los miembros.

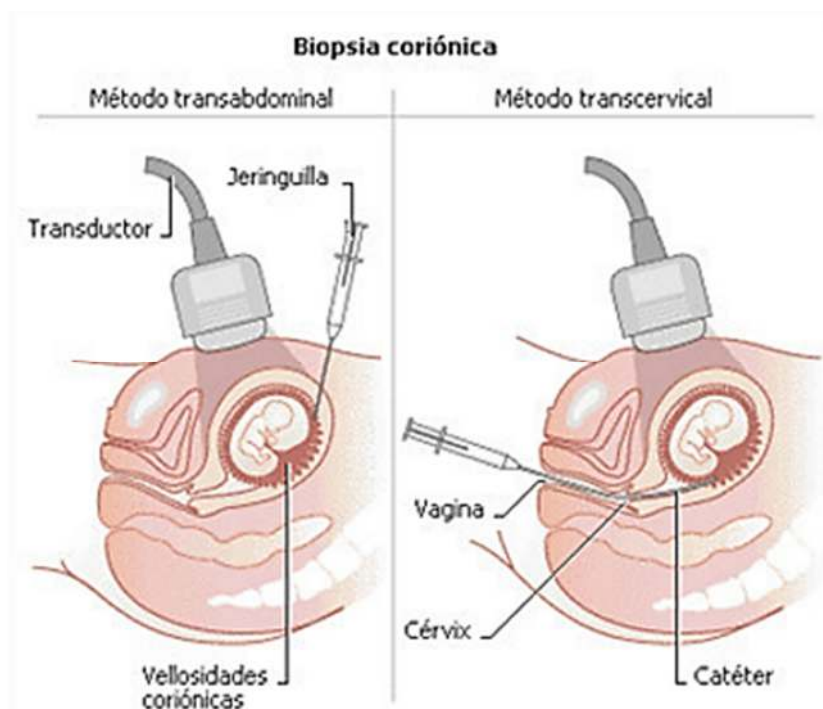


Fig. 3: Representación esquemática de los procedimientos para la obtención de muestras de vellosidades coriónicas (imagen ilustrativa de uso libre, autor desconocido).

Estudio del suero materno:

La búsqueda de marcadores bioquímicos del estado fetal llevó al desarrollo de pruebas de detección en el suero materno. Uno de los primeros ensayos realizados midió las concentraciones de **alfafetoproteína** en el suero, que es producida normalmente por el hígado fetal y se filtra a la circulación materna a través de la placenta. En caso de **defectos del tubo neural** y otras anomalías, los niveles de dicha proteína aumentan en el líquido amniótico y en el suero materno. Dichos valores disminuyen en casos de malformaciones congénitas de origen genético, como trisomías y anomalías de los cromosomas sexuales. Por lo tanto, la determinación de su concentración en el suero materno provee una técnica no invasiva para una valoración inicial del estado fetal.

Fetoscopía:

La fetoscopia permite observar al feto en forma directa mediante el ingreso en la cavidad amniótica de un dispositivo (conocido como **fetoscopio**) dotado de lentes ópticas e iluminación, por vía transabdominal. La época más propicia para realizar esta clase de estudio es el 2º trimestre de embarazo.

A partir de este método se puede conocer el sexo del feto y diagnosticar diversas malformaciones congénitas. No obstante, desde la aparición de la ecografía, tiene pocas aplicaciones. Entre ellas (y solo cuando la ecografía es insuficiente) es una herramienta para recoger tejidos fetales, obtener sangre de cordón umbilical, administrar medicamentos, transfundirle sangre o practicarle tratamientos quirúrgicos al feto.

A excepción de la Ecografía, las pruebas de diagnóstico prenatal no se usan de rutina y se reservan para los embarazos de alto riesgo. Las indicaciones para el uso de estas pruebas

incluyen: **1) edad materna avanzada** (35 años o más); **2) antecedentes de defectos del tubo neural en la familia**; **3) gestación previa con una anomalía cromosómica**; **4) anomalías cromosómicas en cualquiera de los padres** y **5) una madre portadora de un trastorno ligado al X**.

TERAPIA FETAL

Se pueden realizar ciertas intervenciones para mejorar la salud fetal, en caso de que sea requerido. Algunos de los tratamientos que se utilizan son:

Transfusión fetal:

En casos de **anemia fetal**, se utiliza la ecografía para guiar la inserción de una aguja en la vena umbilical y se transfunde sangre directamente al feto. De igual forma puede extraerse sangre fetal (cordocentesis) para análisis bioquímicos y genéticos de células sanguíneas del feto.

Tratamiento médico fetal:

El **tratamiento para las infecciones y otros problemas médicos** del feto usualmente se brinda a la madre y alcanza el compartimiento fetal a través de la placenta. En algunos casos, sin embargo, los medicamentos pueden administrarse al feto directamente por inyección intramuscular o a través de la vena umbilical.

Cirugía fetal, células madre y terapia génica:

Debido a los avances de la ecografía y de los procedimientos quirúrgicos, es posible realizar cirugías fetales. Sin embargo, debido al riesgo para la madre, el niño y los ulteriores embarazos, los procedimientos se realizan solamente en centros que cuentan con equipos bien entrenados y cuando no hay alternativas razonables. Las investigaciones en el campo del trasplante de tejidos o células se enfocan principalmente en las células madre hematopoyéticas para el tratamiento de **inmunodeficiencias y anomalías hematológicas**. Asimismo, se han realizado avances en el desarrollo de terapia génica para trastornos metabólicos hereditarios, como **la enfermedad de Tay-Sachs y la fibrosis quística**.

BIBLIOGRAFÍA

- Hib, J. (2005). *Embriología Médica*. (8ª ed.). Capítulos 28. Clareo.
- Instituto Nacional del Cáncer. (2024, 08 abril). *Ecografía Transabdominal*. Instituto Nacional del Cáncer. www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/ecografia-transabdominal
- Sadler, T. W. (2001). *Langman Embriología Médica*. (14ª ed.). Capítulo 9. Wolters Kluwer.

