

ARTÍCULO**Uso de embriones de pollo para el estudio de la embriogénesis del intestino primitivo****Leidy Carolina García Mendieta***, **Maribel Palencia Palacios***, **Jaime Alfonso Beltrán****

*Estudiante de la Maestría en Morfología humana; **Profesor Asociado. Coordinador.

Maestría en Morfología humana. Departamento de Morfología Facultad de Medicina.

Universidad Nacional de Colombia.

lecgarciam@unal.edu.co, mpalenciap@unal.edu.co, jabeltrang@unal.edu.co

USO DE EMBRIONES DE POLLO PARA EL ESTUDIO DE LA EMBRIOGÉNESIS DEL INTESTINO PRIMITIVO**RESUMEN**

El desarrollo del intestino primitivo ocurre alrededor de la cuarta y quinta semana de embriogénesis, posterior a la formación del disco trilaminar (tercera semana) o periodo de gastrulación, dando origen al endodermo, mesodermo y ectodermo. Comienza realizando los movimientos rotacionales céfalo-caudal y lateral donde se da la ventralización de células del mesodermo y del endodermo. De esta manera se forma una cavidad en el saco vitelino donde se va a crear un tubo denominado “intestino primitivo”. De aquí derivan el sistema respiratorio y gastrointestinal. El intestino primitivo se divide en anterior; donde se originan la faringe, laringe, sistema respiratorio, hígado, estómago, páncreas y la región proximal del duodeno; el intestino medio que da origen a la región distal del duodeno, yeyuno íleon, colon transversal, 2/3 proximales colon ascendente y descendente, y en la región posterior donde se forma el tercio distal del colon transversal, sigmoide y recto. Estos procesos están regulados por genes como Shh, caja Hox, factores de transcripción como FGF 9-10 y proteínas, entre otros, para su adecuada formación ubicación y funcionamiento (1).

Palabras clave: embriogénesis, intestino primitivo, embriones de pollo.**INTRODUCCIÓN**

El intestino primitivo se divide en anterior, medio y posterior. Éstos derivan del endodermo y del mesodermo por el proceso de gastrulación donde por movimientos de plegamiento se da la formación de un tubo y una cavidad dentro del saco primitivo. Estas

formaciones se denominan intestino primitivo que, posteriormente, darán una invaginación de la pared ventral del intestino anterior (3 semana) (2). De aquí se formará del endodermo el piso de la laringe, tráquea, bronquios, pulmones y glándulas digestivas. Del mesodermo se

deriva el componente cartilaginoso muscular y conectivo de estas estructuras. Estos procesos están regulados por los genes factor de crecimiento fibroblástico-4 (FGF-4) y el ácido retinoico. Una ausencia de éstos o un mal funcionamiento pueden llevar a malformaciones en el intestino

primitivo como por ejemplo el déficit del ácido retinoico. Este déficit puede generar malformaciones a nivel pulmonar como hipoplasias pulmonares y gastrointestinales a nivel de estómago, duodeno e hígado. (3)

MATERIALES Y METODOS

Se realizó revisión sistemática de material bibliográfico, libros de embriología y artículos de revisión. Posteriormente se realizó el proceso de incubación con embriones de pollo tomando diferentes estadios y clasificándolos por escala de Hamburger para documentar los

hallazgos encontrados a nivel macroscópico e histológico. Este proceso fue llevado a cabo en la Universidad Nacional en el laboratorio de histotecnología de la Facultad de Medicina en el periodo 2017-2018.

INTESTINO ANTERIOR

El intestino anterior se forma a la cuarta semana embrionaria. Al inicio se da la comunicación del esbozo pulmonar con el intestino anterior. Pero a medida que crece hacia la región caudal se encuentra con los rebordes traqueo-esofágicos dando forma al **tabique traqueo-esofágico** que divide el intestino anterior en esófago (dorsal), en tráquea y esbozos pulmonares (ventral) (1). Esto ocurre desde la semana 7 hasta la 16 de gestación. Estos esbozos pulmonares se ramifican de forma dicotómica y repetitiva creando los bronquios principales derecho e izquierdo. El derecho se divide en 3 bronquios y el izquierdo en 2 bronquios secundarios, donde más adelante se formaran lóbulos, bronquiolos y los conductos alveolares (fase pseudoglandular 5-16 semanas de gestación). También aparece en esta etapa

la cavidad corporal que es ocupada por los pulmones los cuales contribuyen en la división del canal pericardio peritoneal por medio de pliegues pleuro-peritoneales y pleuro-pericárdicos formando cavidades pleurales definitivas. El mesodermo que cubre la parte externa del pulmón forma la pleura (1). Posterior a esto, de la semana 16 a la 24 se da la fase canalicular donde el crecimiento disminuye, la diferenciación celular epitelial aumenta y se lleva a cabo el crecimiento capilar pulmonar con la aparición de los neumocitos tipo II los cuales contienen cuerpos lamelares y los organelos que contiene el surfactante pulmonar; en la fase sacular terminal presente a la semana 25 de gestación hasta el tercer trimestre intrauterino, se da el crecimiento capilar y la remodelación por

diferenciación celular, adelgazamiento del estroma (mesénquima) y la expansión de los alvéolos definitivos, mayor síntesis de surfactante pulmonar a la semana 30 e inicia el proceso de respiración e intercambio oxígeno - CO₂ (2). Su regulación genética está dada por la actividad HEX-1, FOXA2 y cerberus (3). FGF es expresado por el mesénquima esplácnico y actúa en el desarrollo pulmonar como mediador de la interacción entre epitelio-mesénquima y la diferenciación celular. TFG beta promueve a la formación epitelio pulmonar; *shh* ayuda a la diferenciación y proporción entre epitelio y mesénquima en el estroma pulmonar para la formación alveolar. (2) En la Formación de la laringe, su revestimiento interno es derivado del endodermo y la mucosa y su parte muscular es derivada del mesénquima del cuarto y sexto arcos faríngeos (1).

Esófago: Se da por la evaginación del intestino anterior en la región caudal. Posteriormente crece sufriendo varios cambios importantes como la diferenciación celular. Al inicio tiene un epitelio cilíndrico estratificado y hacia la octava semana este epitelio ocluye la luz del esófago, apareciendo vacuolas que generan la recanalización del mismo y formando epitelio poliestratificado ciliado que al cuarto mes es reemplazado por epitelio escamoso estratificado típico del esófago maduro. No solo se da la diferenciación de epitelio sino también de las capas musculares de una musculatura circular a una longitudinal externa (octava semana), la cual contiene epitelio liso y

esquelético innervado por el X par craneal. Su estructura transversal se organiza en capas: la más interna la mucosa (endodermo), lámina propia, submucosa la cual separa la mucosa de la capa muscular. (Ver figura No. 3) Su regulación es dada por *Sonic hedgehog (shh)*, proteína morfogénica - 4 (**BMP-4**) (3) RAR ayuda a la separación del esófago y de la tráquea (2).

Estómago: Se caracteriza por ser ancho, grueso con cambios histológicos y de rotación durante su formación. Aparece a la cuarta semana de gestación como una dilatación del intestino anterior que se encuentra suspendida en la porción del mesenterio dorsal (**mesogastrio dorsal**). Al crecer, rota 90° en sentido de las manecillas del reloj en el eje longitudinal. Esta rotación causa que el lado izquierdo quede hacia adelante y el lado derecho hacia atrás. El crecimiento de la pared posterior es mayor respecto a la pared anterior formando las curvaturas mayor y menor. Posteriormente, se da otra rotación en el eje anteroposterior, haciendo que el píloro se desplace hacia la derecha y hacia arriba, mientras que el cardias lo hace hacia el lado izquierdo y ligeramente abajo (semana 14). Asociado a esto, se da la rotación del mesogastrio dorsal que forma la bolsa omental o epiploica en esta zona, quedando incluidos la cabeza del páncreas y el bazo (3). El crecimiento aumenta hacia la semana 20 por los movimientos de deglución de líquido amniótico y la diferenciación y proliferación hacia la

semana 32-34(4). Luego del crecimiento también crece el mesogastrio dorsal convirtiéndose en el epiplón mayor, el cual cuelga por delante del colon transversal y del intestino delgado como un delantal en dos capas que posteriormente se fusionan. Los cambios histológicos que ocurren durante la embriogénesis son la diferenciación de las capas que se componen de mucosa, submucosa, muscular externa y serosa (mesotelio). El epitelio es cilíndrico simple y tiene funciones de revestimiento y secreción. También posee células principales, parietales, células mucosas del cuello y enteroendocrinas. Su inervación está dada por placas de Meissner en la mucosa y los nervios mesentéricos en la muscular (4)

Bazo: Su desarrollo no es muy claro. Inicialmente se da la formación bilateral de dos campos orgánicos simétricos. Después se da la regresión de un solo lado preservándose el lado izquierdo por medio del NKx2-5. Esta se ve como una condensación mesenquimatosa en el mesogastrio dorsal a la cuarta semana, rodeada por mesotelio del mesogastrio dorsal dando forma al estroma esplénico. Después es infiltrado por células linfoides y al cuarto mes se forma la estructura vascular, creada como un órgano significativo de la hematopoyesis en el embrión. Su desarrollo inicial se relaciona con el esbozo dorsal del páncreas y se realiza por acción de la proteína (**pod1**), **Bapx1**, factor de transcripción **Pbx1**

actuando sobre NKX 2-5 y el oncogén **Hox-11** (3). (Ver Figura No. 2)

Hígado: Su primordio aparece a la mitad de la cuarta semana. Inicia como una evaginación del epitelio endodérmico en el externo distal del intestino anterior que se denomina **divertículo hepático** por medio de señales como FGF, BMP-2, 4, 7, convirtiendo al endodermo del intestino anterior en precursor de células hepáticas (3). De esta manera, se forman cordones celulares de proliferación que se introducen en el septum transversum, es decir, en la placa mesodérmica entre la cavidad pericárdica y el pedículo del saco vitelino (Ver figura No.1). La comunicación entre el divertículo hepático y el intestino anterior se va disminuyendo hasta crear el **conducto colédoco**. Posteriormente nace una evaginación ventral que da origen a la **vesícula biliar** y al **conducto cístico** los cuales están regulados por **pdx1** (3). A continuación, las células epiteliales del primordio hepático se fusionan con los vasos onfalomesentéricos y umbilicales, plasmando sinusoides hepáticos que se diferencian en parénquima y dando pie así a la creación del revestimiento de los conductos biliares. (1)

Del mesodermo del septum transversum se derivan células hematopoyéticas, células de Kupffer y tejido conectivo. Luego se da el crecimiento del hígado que se dirige a la cavidad abdominal; se forman el epiplón menor y el ligamento falciforme del mesodermo del septum que

queda entre el hígado y el intestino anterior en el mesogastrio ventral. (1)

El mesodermo de la superficie del hígado se diferencia en peritoneo visceral, excepto en la parte que tiene contacto con el septum transversum, la cual compondrá la porción tendinosa del diafragma. Esta no creará peritoneo y se denominará **área desnuda del hígado. (1)** (Ver figura No. 2)

En la semana 10, el hígado es el 10% del peso del embrión e inicia su función hematopoyética, ya que ocurre la producción de eritrocitos y leucocitos entre las células hepáticas y las paredes de los vasos. Sin embargo, esta actividad va disminuyendo hacia los últimos dos meses de gestación. A la semana 12 se da la producción de bilis por la creación de la vesícula biliar y los conductos dando el paso de bilis hacia el duodeno (meconio). (1) Otra función del hígado es la producción de albúmina sérica que se da por la expresión de HNF-3. También lo es el almacenamiento de glucógeno que se da en la vida extrauterina las cuales están reguladas por las hormonas de la corteza suprarrenal y por la adenohipófisis (3).

Páncreas: Se da por el origen de dos esbozos en el revestimiento endodérmico del duodeno. El esbozo dorsal se encuentra en el mesenterio dorsal y el esbozo ventral se relaciona con el conducto del colédoco (1). Éste se origina por la expresión de proteína Pdx1/IPF1 y por inhibidores del ácido retinoico, BMP4, Shh. Estos últimos actúan durante la gastrulación (5). Cuando se da la rotación

intestinal, el duodeno gira hacia la derecha y toma forma de C en esbozo ventral, éste se desplaza dorsalmente y se ubica por debajo y detrás del esbozo dorsal que posteriormente se fusionará con el parénquima y el sistema de conductos: el ventral formará el **páncreas menor o porción unciforme** y la porción inferior la cabeza del páncreas, el cuerpo y la cola derivan del páncreas dorsal. De los conductos del páncreas, el principal (Wirsung) se forma de la porción ventral y la porción distal del dorsal y la región proximal forma un conducto de pequeño calibre accesorio (Santorini). El conducto principal se une con el colédoco en el duodeno y compone la carúncula o papila mayor. (1) Este proceso está regulado por el factor de transcripción Isl1 que se expresa en el páncreas dorsal, Pbx1 y las N cadherinas.(5)

Los islotes pancreáticos se desarrollan a partir del tejido parenquimatoso en el tercer mes intrauterino. Estos se encuentran en glándulas acinares y su función exocrina como la liberación de insulina, glucagón y somatostatina ocurre hacia el quinto mes (1). El páncreas exocrino produce enzimas digestivas como tripsina, amilasa, las cuales son secretadas al intestino por medio de las células ductales en el lumen acinar drenado a en pequeños ductos que están organizados en epitelio acinar denso que ocupa el 95% del tejido pancreático. (5)

Cada célula produce diferentes hormonas: Las células alfa producen glucagón; las

células beta, insulina; las células gama somatostatina y las células PP secretan polipéptido pancreático. Estas células están organizadas en los islotes de Langerhans que ocupan alrededor de 1-2% de la masa pancreática total con las siguientes

proporciones: células beta (60-80%), alfa (15-20%). Este desarrollo no se da de forma sincrónica, y su diferenciación está regulada por la proteína bHLH Neurogenina 3 (Ngn3) esta actúa disminuyendo la acción de pdx1 (5).

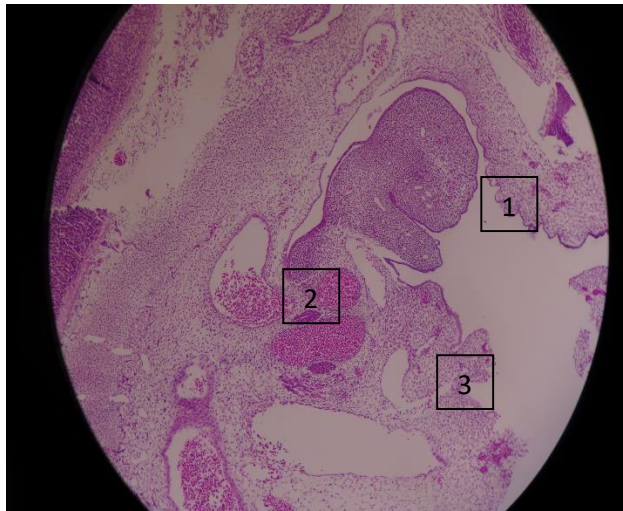


Figura No. 1. Embrión pollo día 3 (1) membrana bucofaríngea, 2 (esbozo cardiaco), 3 intestino primitivo saco vitelino.

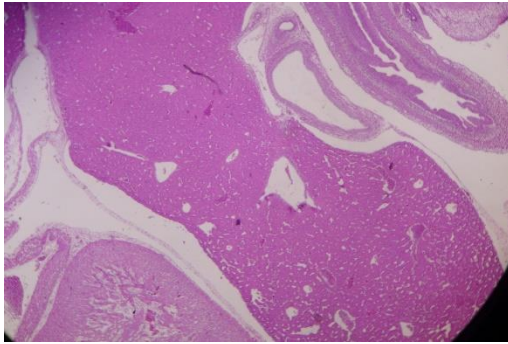
INTESTINO MEDIO

Algunos autores consideran que el intestino medio se desarrolla en la línea media del embrión. (6) Inicia inmediatamente debajo de la desembocadura del colédoco en el duodeno y termina en los 2/3 proximales del colon transverso. Esta irrigado por la arteria mesentérica superior. Su desarrollo se caracteriza por el alargamiento del intestino que forma el asa intestinal primitiva y que mantiene la comunicación con el conducto onfalomesentérico. Como

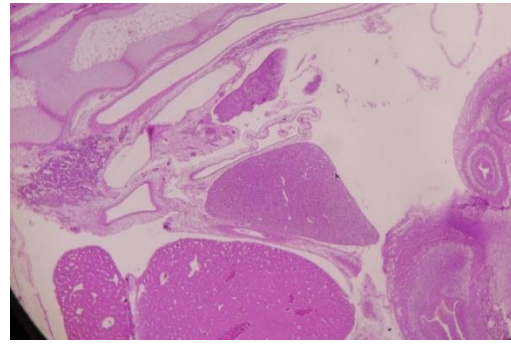
consecuencia de este alargamiento y el crecimiento simultaneo del hígado, la cavidad abdominal no es suficientemente ancha para contener las asas intestinales, por lo que se produce el celoma extraembrionario del cordón umbilical en la sexta semana. (1)

Su región proximal se convierte en la región distal del duodeno, yeyuno y parte del íleon, la porción caudal en región inferior del íleon, ciego, apéndice, colon

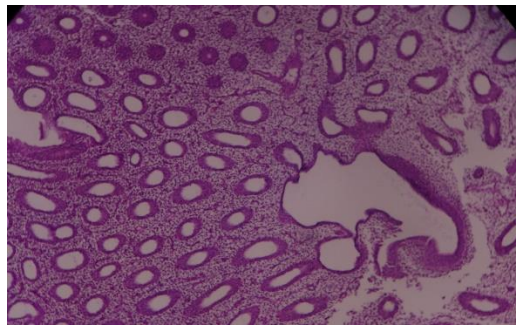
ascendente, y 2/3 proximales del colon transverso.



(A)



(B)



(C)

Figura No. 2. Embrión de pollo día 7 (A). Hígado; (B) Bazo; (C) Páncreas

La rotación del intestino medio se da sobre su mismo eje, siendo éste la arteria mesentérica superior. Se desarrolla en dirección en contra de las manecillas del reloj de la rama caudal del asa intestinal y su rotación alcanza los 270° teniendo en cuenta puntos de referencia: el anclaje del pedículo del saco vitelino y la arteria mesentérica superior (3); además no se detiene el crecimiento del intestino delgado, lo cual produce un fenómeno de

enrollamiento. En la semana 10, las asas intestinales comienzan a regresar a la cavidad abdominal, gracias a la disminución del crecimiento hepático, la regresión del riñón y el crecimiento de la cavidad abdominal. El primero en ingresar es el yeyuno en el lado izquierdo y las últimas hacia la derecha; el **asa del ciego** queda inicialmente debajo del hígado y posteriormente baja a la fosa ilíaca derecha, conformando el colón

descendente mientras que el ángulo hepático y en su región distal forma el apéndice que queda usualmente en posición retrocecal. (1)

El mesenterio también sufre cambios por los procesos de rotación y enrolamiento de las asas, ya que su región caudal se desplaza hacia el lado derecho al punto de origen de la arteria mesentérica superior. Luego el colon desciende y sus mesenterios se unen en la región posterior de la pared abdominal fusionándose y convirtiéndose en retroperitoneales al colon ascendente y descendente; las asas ileoyeyunales hasta la unión ileocecal, y el colon sigmoide que quedan con su mesenterio libre. El mesenterio del colon transversal se fusiona con el omento mayor y se inserta en el ángulo hepático con el

colon ascendente hasta el ángulo esplénico del colon descendente. (1). (Ver figura No. 3)

Estos procesos están regulados por la expresión de los genes Hox, FGF-9 (formación de ciegos) producido por el epitelio cecal y el FGF 10 por el mesodermo. La expresión de Wnt ayuda a la diferenciación del epitelio intestinal y la formación de vellosidades intestinales (3).

Se considera que la inhibición en los movimientos de rotación del intestino primitivo se denominan malrotación y es una malformación congénita (6) que puede llevar a tener alteraciones en el cierre de la pared abdominal como gastrosquisis, onfalocele, atresias, yeyunales, duodenales o colonicas.

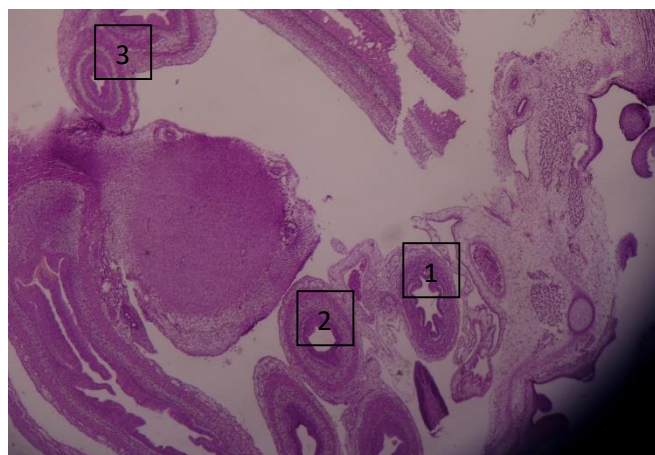


Figura No. 3. Embrión de pollo día 10. (1) estomago; 2 (intestino delgado); 3 (colon)

INTESTINO POSTERIOR

Da origen al colon descendente, sigmoide, recto y la porción superior del conducto anal; el endodermo forma el revestimiento interno de la vejiga y la uretra. Su región terminal se continúa con la cloaca o conducto ano-rectal la cual está revestida por endodermo y ectodermo en su región ventral en esta zona limítrofe (endodermo-ectodermo) y se forma la membrana cloacal; por otro lado, la alantoides se continúa con el seno urogenital primitivo gracias a la expresión de genes Hoxa 13-14(3). Una capa de mesodermo del tabique urorectal separa la alantoides del intestino posterior que se deriva de la fusión de mesodermo del saco vitelino y la alantoides. El tabique por crecimiento y plegamiento, termina cerca de la

membrana cloacal sin tener contacto formando una membrana anal y otra urogenital. En la séptima semana se da la apertura de la membrana cloacal originando el conducto anal y en la novena semana se recanaliza (ectodermo). Este conducto es irrigado por las arterias rectales inferiores (pudenda interna), su porción craneal se origina del endodermo del intestino y es irrigada por la arteria rectal superior rama de la arteria mesentérica inferior. Por último la unión entre estos dos epitelios se denomina línea pectínea. (1)

Su regulación genética está dada por la expresión de Cdx-2 Cdx-4. (3)

INTESTINO ANTERIOR	INTESTINO MEDIO	INTESTINO POSTERIOR
Sistema respiratorio	Duodeno	Colon transversal
Esófago	región proximal	tercio posterior
Estomago	Yeyuno	Colon descendente
Duodeno	Íleo	Sigmoides
Hígado	Colon transversal 2/3 partes	Recto
Páncreas	Colon ascendente	
Vesícula biliar		

Tabla No. 1. Organogénesis del sistema respiratorio y gastrointestinal en cada sección del intestino primitivo.

RESULTADOS

Se tomaron 65 embriones en diferentes estadios, se clasificaron cada uno según la escala de Hamburger, y se encontró que la embriogénesis del pollo es similar a la embriogénesis humana, a excepción del

sistema genitourinario. La formación del intestino primitivo no tiene ninguna alteración respecto a la organogénesis humana.

CONCLUSIONES

El desarrollo del intestino primitivo se deriva gracias a procesos de gastrulación que da forma al disco germinal y a los movimientos laterales y ventrales que realiza el embrión. Éste crea un tubo de endodermo y ectodermo el cual se denominara intestino primitivo, el cual se divide en intestino anterior medio y posterior que por medio de expresión de genes, factores de crecimiento y proteínas como Shh, BMP-4, FGF, entre otros ayudaran a que cada parte se convierta en

una unidad funcional del sistema respiratorio y gastrointestinal tanto en su formación como estructura y su posicionamiento en el desarrollo y diferenciación epitelial para su correcto funcionamiento.

Las alteraciones o falta de expresiones de estos genes pueden traer alteraciones tanto en la formación como en el correcto funcionamiento de dicho órgano afectado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lagman. Embriología medica con orientación clínica. T.W. Sadler. 8° edición. Panamericana. 2001
2. Role of transcription factors in fetal lung development and surfactant protein gene expression. Carole R. Mendelson. Department of biochemistry and obstetrics-gynecology. The University of Texas. Annual Reviews. 2000 62:875-915.
3. Embriología humana y biología del desarrollo. Bruce M. Carlson. 4° edición. Elsevier. 2009.
4. Development of esophagus and stomach. Ozefagus ve mide gelisimi. Department of histology and embryology Bezmialem Vakif University School of Medicine, Istanbul, Turkey. Bezmialem Science 2017; 5:175-82

5. Genes, signals, and lineages in páncreas development. L.charles Murtauhg and Douglas A. Melton. Department of molecular and celular biology. Howard Hughes Medical institute. Harvard university. . annual reviews. Cell dev biol 2003.19: 71-89

6. The Embryology of Gut Rotation By D. Kluth, S. Jaeschke-Melli, and H. Fiegel Hamburg, Germany. 2003 Elsevier Inc.
