

# ¿EJERCE EL PROLAN UN EFECTO PERNICIOSO SOBRE LAS PRIMERAS FASES DEL DESARROLLO DEL EMBRIÓN DEL POLLO? CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DE LAS HETEROTAXIAS

F. RAMOS MARTÍN

(Profesor Auxiliar de Patología Interna de la Facultad de Medicina)

Laboratorio de Anatomía y Embriología de la Facultad de Medicina de Cádiz

## SUMARIO:

Introducción. — Material y Técnica. — Casuística. — Embriones con área vascular asimétrica. — Embriones con heterotaxia. — Embriones con malformaciones del sistema nervioso y de otras partes del cuerpo embrionario. — Mecanismo de acción del Prolan. — Explicación de las figuras. — Resumen. — Bibliografía.

**INTRODUCCIÓN.** — Nos ha movido a elegir este tema para nuestra tesis doctoral, el hecho de que desde hace algún tiempo se vienen verificando interesantes trabajos en el Laboratorio de Embriología, que dirige el profesor ORTOS LLORCA, en la Facultad de Medicina, en donde se están estudiando los efectos químicos de variadas activas substancias sobre embriones de pollo, en distintas fases de su evolución. Forman ya legión las experimentaciones que se han hecho para conocer la influencia de variados productos químicos sobre el desarrollo embrionario. No podemos aquí, ni es objeto de nuestro trabajo, citarlas todas, pero sí diremos, que por razones fáciles de comprender, entre ellas por la mayor facilidad en la técnica, son mucho más numerosas las que se han realizado en peces y anfibios que en embriones de pollo; entre las primeras (las hechas en peces y anfibios), y dejando a un lado las experiencias ya antiguas de SCHIMKEWITSCH y LUCKSCH, las de JENKINSON, que obtuvo espinas bífidas en ranas por la acción de ciertos productos químicos, MORGAN (1905) y HERTWIG (1892), que también obtenían espinas bífidas en huevos de anfibios que se desarrollaban en una solución de cloruro sódico al seis por ciento; MORGAN, que conseguía asimismo espinas bífidas en el *Fundulus*, añadiendo al agua cierta cantidad de magnesio; de MORGAN y otros autores que originaban la misma malformación en huevos de anfibios a los que centrifugaban previamente, etc., y entre las más modernas e interesantes podemos citar los trabajos de LEHMANN (1937), de TÖNDURY (1938), que sometiendo blástulas y gástrulas de anfibios a la acción de soluciones de cloruro de litio, han obtenido malformaciones interesantes del mesodermo y de la notocorda, que entre otros resultados importantes han contribuido a esclarecer la acción inductora que ejercen los mencionados órganos sobre el desarrollo y diferenciación del sistema nervioso subyacente. Los resultados son tanto más valiosos, cuanto que demuestran que la acción alteradora que ejercen las sales de litio sobre el desarrollo embrionario se rea-

liza única y exclusivamente en una fase determinada del desarrollo, que es precisamente la de gástrula; por eso los mencionados autores afirman que su acción es específica de una fase del desarrollo. Más modernamente, TÖNDURY (1941), ha experimentado también la acción del Testosterón y otras esterinas sobre embriones de anfibios, obteniendo variadas malformaciones, contándose entre las más curiosas la obtención de asimetrías embrionarias, que en los casos más marcados, llegaban a originar verdaderos hemiembriones.

Conocemos el importante trabajo de WOLFF, FRIEDRICH y MARGARETE, que lleva por título: "Schwere Erbschädigung der weissen Maus durch Hypophysenvorderlappenhormon"; en este trabajo se comunican experimentos, de los cuales, se deduce: Primero, pequeñas dosis de extracto de lóbulo anterior de la hipófisis pueden originar trastornos hereditarios, como han sido descritos anteriormente; segundo, animales ya alterados, son influenciados desfavorablemente por extracto del lóbulo anterior de la hipófisis; la acción puede ser comparada a la obtenida con radiaciones Roentgen. De todo ello, puede deducirse que, en la mujer, no deben ser empleados tales extractos de lóbulo anterior de la hipófisis, y cuando por otras causas su empleo es necesario debe cuidarse que no se origine descendencia. Si los extractos ováricos actúan sobre el lóbulo anterior de la hipófisis, tampoco deben emplearse. Y conocemos asimismo el trabajo de JÖRG H. que lleva por título: "¿Gibt es eine nachweisbare Erbschädigung der weissen Maus durch das gonadotrope Hypophysenvorderlappen hormon?"; en este trabajo dice: "Partiendo de las observaciones de WOLFF, que dando orina de embarazada y pre-hormona al ratón blanco observa lesiones en la descendencia, que fueron explicadas por la acción de la hormona gonadotropa del lóbulo anterior de la hipófisis, el autor quiso comprobar la acción del Prolan sobre un gran material de ratones blancos y numerosas generaciones. Una lesión hereditaria en el ratón blanco, por la acción de la hormona gonadotropa, no pudo ser establecida; esta observación tiene su importancia, pues anula los prejuicios que se pudieran tener para tratar la insuficiencia genital con los preparados del lóbulo anterior de la hipófisis."

En vista de estos opuestos resultados, hemos querido experimentar cuidadosamente con embriones de pollo, muy jóvenes, para deducir lo que hubiera en esto de verdad, ya que a la clínica interesa de especial manera saber si puede manejar con amplitud o con limitación la hormona gonadotropa de la hipófisis.

**MATERIAL Y TÉCNICA.** — Nos hemos servido para nuestro trabajo de cuarenta y ocho huevos de pollo, los cuales, todos, tenían menos de veinte horas de puestos, y algunos de ellos no llegaban ni tan siquiera a las dos horas de puestos. El *modus operandi*, era el siguiente: Teníamos los huevos en posición horizontal durante un buen rato, y tras ello, de la parte más culminante del huevo (que con rigor continuaba en posición horizontal) extirpá-

bamos una porción circular de su cáscara de unos diez milímetros de diámetro, aproximadamente. Entonces, le agregábamos el Prolan, unas veces una vigésima de centímetro cúbico y otras veces una décima de centímetro cúbico, del preparado de la casa Bayer que se expende en el comercio, en ampollas secas de 100 u. i. (léase la casuística más abajo); procurábamos que la solución estuviera aproximadamente a una temperatura de 37° o algo menos. Realizada la intervención, el huevo era cerrado por un pequeño vidrio de reloj que se fijaba a la cáscara por un anillo de parafina y era cuidadosamente colocado en la estufa; en algunos huevos, como en la casuística se detalla, verificábamos la introducción del Prolan tras algún día de incubación; una vez transcurridas algunas horas, que eran veinticuatro como mínimo según también se detalla en la casuística, los sacábamos de la estufa, procurábamos meticolosamente que continuaran en posición horizontal, y se realizaba una coloración vital del disco embrionario, tras quitar naturalmente el vidrio de reloj a que antes hemos aludido. Utilizamos como colorante una solución de rojo neutro, como aconseja WETZEL; esta solución, así como todas las manipulaciones, han sido realizadas asépticamente. La concentración que hemos utilizado del colorante era generalmente al 1 por 3.000. Colocando entonces el huevo en la platina del microscopio binocular y trabajando con un aumento de quince a veinte veces, aparecen perfectamente visibles los detalles del disco embrionario. En varios (los de más interés) de nuestros casos fijábamos en Bouin e incluíamos en parafina para posteriormente cortarlo y colorearlo para estudio.

**CASUÍSTICA.** — Como se observa en el cuadro, la mortalidad fué muy elevada al comienzo de la incubación, puesto que alcanzó la cifra de un 41,66 por 100. En casi todos estos casos o se había detenido por completo el desarrollo o se había desintegrado rápidamente el embrión después de las primeras horas de incubación.

Aunque parte de esta mortalidad pueda ser atribuida a la acción física exclusivamente del acto quirúrgico, conviene tener en cuenta que el porcentaje es mucho más elevado que cuando nos limitamos a hacer la misma intervención sin introducir substancia alguna. Los embriones que vivían en el momento de la observación (que varía entre 46 y 71 horas de incubación) y que pudieron ser estudiados alcanzaba un 58,33 por 100. De ellos un 18,75 por 100 eran embriones que en nada se distinguían de los considerados como automáticamente normales, pero en un 39,58 por 100 presentaban anomalías más o menos intensas, puesto que variaban entre ligeras asimetrías del área vascular con embrión normal o casi normal, rotación invertida del cuerpo del embrión y del asa cardíaca (? heterotaxia?), hasta graves deformaciones del conjunto embrionario y sobre todo del sistema nervioso.

Expondremos a continuación resumidamente las observaciones correspondientes a estos embriones anómalos, las cuales, se descomponen en la siguiente forma:

Embriones Núm.	Prolan c. c.	Muertos	Normales	Anormales	Horas de incu- bación
8	0,1		1		48
9	0,1			1	47 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
10	0,1			1	48
11	0,1	1			46 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
12	0,1			1	46 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
13	0,1		1		46
14	0,1 (escaso)			1	46
15	0,1	1			46 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
16	0,1	1			46
17	0,1	1			46 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
18	9,1	1			46 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
19	0,1			1	47
20	0,1	1			47 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
21	0,1		1		71
22	0,1	1			47
23	0,1			1	46 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
24	0,1		1		70
25	0,1			1	52 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
26	0,1			1	46
27	0,1			1	48
28	0,05	1			48
29	0,0			1	48
30	0,05				47
31	0,0		1		47
32	0,1	1			47
33	0,1			1	46
34	0,1			1	47 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
35	0,1	1			47 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
36	0,1		1		47
37	0,1	1			47 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
38	0,1			1	46 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
39	0,1		1		48
40	0,1	1			47 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
41	0,05			1	47
42	0,05	1			48
43	0,05		1		47 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
44	0,1	1			47
45	0,1			1	70
46	0,1 (escaso)			1	46 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
47	0,1	1			46 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
48	0,1		1		46 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
49	0,1 (escaso)	1			46
50	0,05	1			46
52	0,05			1	47
53	0,1	1			47
54	0,05			1	17
55	0,1 (escaso)	1			46 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
56	0,05	1			47
		41,66%	18,75%	39,58%	

Anorma- les núm.	Heterotaxia	Área vascular asimétrica	Malforma- ciones del S. N.	Anorma- les núm.	Heterotaxia	Área vascular asimétrica	Malforma- ciones del S. N.
9	1			30		1	
10			1	33		1	1
12	1			34		1	1
14			1	38		1	1
19			1	41			1
23		1		45		1	1
25			1	46		1	
26		1		52	1		
27		1		54		1	
29		1			15,78 (%)	57,8 (%)	47,37 (%)

I. Embriones con área vascular asimétrica, 57,8 por 100.

II. Embriones con heterotaxia, 15,78 por 100.

III. Embriones con malformaciones del sistema nervioso y de otras partes del cuerpo embrionario, 26,31 por 100 (en esta última cifra no hemos considerado aquellos embriones que aunque tenían malformaciones del sistema nervioso, presentaban área vascular asimétrica, en el porcentaje de los cuales fueron incluidos).

I. *Embriones con área vascular asimétrica.* — Están en este grupo los señalados con los números 23, 26, 27, 29, 30, 33, 34, 38, 45, 46 y 54. De entre estos embriones había unos con predominio del área

Número 26: NORMAL

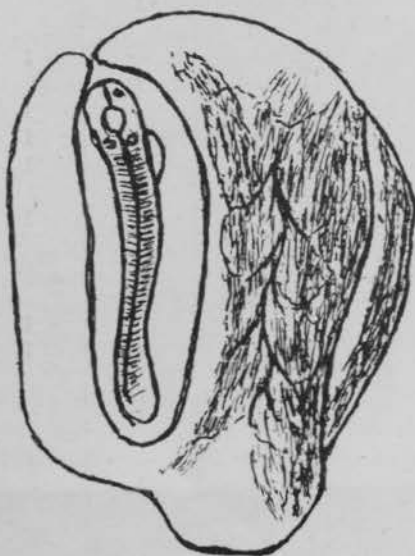


Fig. 1

vascular a la derecha (23, 26, 27, 34, 38, 45 y 54), cuyo predominio era ligero en algunos casos (números 23 y 27) y netamente observable en los demás; en cambio, en otros embriones (núms. 29, 30, 33 y 46) el área vascular estaba más desarrollada a la izquierda, a veces ligeramente, como en el número 29, y netamente observable en los otros; en algún caso como en el embrión núm. 33, acontecía que estando el área vascular bien desarrollada a la izquierda, existía una atrofia a la derecha. En el embrión núm. 26 (fig. 1), puede apreciarse muy claramente el predominio del área vascular a la derecha. Son también casi en un doble los embriones con predominio del área vascular en parte dextra sobre los de predominio en parte sinistra.

El gran DARESTE, con respecto a las áreas vasculares asimétricas, dice lo que sigue: "He visto con mucha frecuencia esta malformación del área vascular, la cual, tiene un gran interés desde el punto de vista científico, ya que es posible producirla experimentalmente, y añadido que es el único hecho teratogénico que hasta ahora (1891) se puede obtener de manera cierta; he demostrado que cuando se calientan desigualmente las diferentes partes del blastodermo, este calentamiento desigual origina el desarrollo preferente de una parte con respecto a la otra, y por consiguiente la forma circular primitiva del

blastodermo y del mesodermo se hace elíptica; estas deformaciones elípticas del blastodermo y del área vascular irían acompañadas con frecuencia de diversas anomalías o monstruosidades del embrión; entre éstas, existe una que he encontrado con bastante frecuencia y es la inversión de las vísceras; ésta (la inversión) se produciría, aunque no de manera constante, en los casos en que el mayor desarrollo del área vascular se hace a la izquierda del embrión. Creo que el exceso del desarrollo del área vascular a la izquierda no es la única causa de esta anomalía, sino que sería necesario una cierta temperatura y otras condiciones que no puedo determinar. Sea de ello lo que fuere, me parece probable la influencia de los agentes extrínsecos en la producción de la inversión visceral, puesto que esta anomalía se produce siempre por series, y por lo tanto, hay que admitir una misma causa que actuaba sobre todos los huevos." Por lo dicho se comprende que esta deformación blastodérmica se obtiene por la acción de influencias físicas (DARESTE) y de ciertas influencias químicas, entre ellas, la sustancia utilizada por nosotros en estas experiencias. Es seguro que en nuestros casos se puede eliminar la acción física de temperatura desigual, ya que en otra serie de huevos incubados en el mismo aparato, sin introducir sustancia alguna, o bien utilizando otros productos, no se obtuvieron con tal frecuencia, ni muchísimo menos, las mencionadas deformaciones.

II. *Embriones con heterotaxia.* — Como es sabido, normalmente, en el embrión de pollo, poco después de haberse unido los dos esbozos cardíacos laterales para constituir el tubo cardíaco, único, impar y medio, sufre él mismo un movimiento de rotación de tal forma, que su parte dorsal se hace derecha y su parte izquierda, ventral. Ello trae como consecuencia, que pronto cuando se observa un embrión de pollo por su cara dorsal, verbigracia *in situ*, después de levantar la cáscara, se ve al esbozo cardíaco, que ya late claramente en este estadio del desarrollo, sobresalir por la derecha del cuerpo embrionario. Cuando esto ocurre, todavía la extremidad cefálica del embrión no ha sufrido ningún movimiento de rotación. Rápidamente, sin embargo, la cabeza rueda de tal forma que viene a apoyarse por su cara izquierda sobre la yema del huevo, mientras que la derecha, será ahora la única que aparece al observador. Los autores opinan que este movimiento de rotación de la cabeza, es consecuencia del que experimentó el asa cardíaca. La figura 1, correspondiente al embrión núm. 26, muestra un caso con disposición normal del asa cardíaca sobresaliendo por el lado derecho del cuerpo embrionario. Algunas veces, sucede que la rotación cardíaca se realiza a la inversa, viniendo a sobresalir por la izquierda del cuerpo embrionario, lo que trae también como consecuencia, la rotación inversa de la cabeza, siendo ahora el lado izquierdo de la extremidad cefálica del embrión el que ahora podemos observar, siempre, repetimos, que el embrión esté naturalmente *in situ*. Esta rotación anómala del asa cardíaca y de la extremidad cefálica sería la primera manifestación de la inversión visceral (*situs inversus*, heterotaxia). Casos de rotación anómala se observan espontáneamente en el embrión de pollo, pero ello es extraor-

dinariamente raro. DARESTE, la evalúa en un caso por cada doscientos cincuenta, aproximadamente; nosotros opinamos que esta cifra es exagerada, pues en varios centenares de huevos que se han visto en el Laboratorio, no se ha observado nunca, en condiciones normales de incubación y, en los casos en que ésta fué observada, se había experimentado, introduciendo en el huevo alguna substancia. Probablemente la cifra encontrada por DARESTE, en casos de normal incubación, se debía quizás a las condiciones defectuosas de las incubadoras de aquella época, en las que oscilaba la temperatura demasiado, y había un desigual reparto de la temperatura ambiental; los casos en que se ha observado en el Laboratorio inversión anómala del asa cardíaca son cinco; en uno de ellos se había experimentado con las sales de litio, en otro con la vitamina E, y en tres con Prolan. Los dos casos más típicos eran los obtenidos con las sales de litio, y uno con Prolan (embrión núm. 9). Este último fué fijado a las cuarenta y siete y media horas. Haremos notar que no por el hecho de que el corazón sobresalga por la izquierda del cuerpo embrionario quiere decir que el asa cardíaca ha verificado una rotación a la inversa de lo normal, pues es entonces necesario hacer una observación ventral (que es lo que nosotros hemos hecho, cuando era aconsejable) para afirmar la existencia o no de la indicada rotación anómala, y así, por ejemplo, nuestras observaciones de los embriones núms. 9 y 33, acreditan cuanto acabamos de decir, pues en la observación dorsal de los mismos, el corazón sobresalía por la izquierda, mas en la observación ventral, se comprobaba en el primero de ellos (núm. 9) la existen-

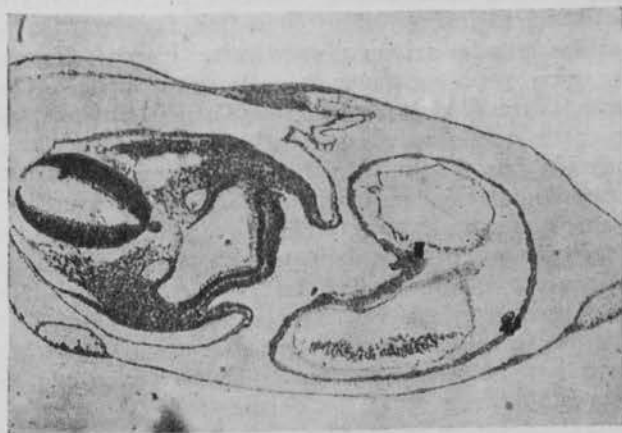


Fig. 2

cia de una inversión del asa cardíaca, mientras que en el segundo (núm. 33) no había tal inversión del asa cardíaca. El embrión núm. 9, que fué observado a las cuarenta y siete horas de incubación, mostraba viéndolo dorsalmente, la rotación de la cabeza en sentido inverso a lo normal y el corazón sobresalir por el lado izquierdo del cuerpo embrionario; examinado ventralmente se ve que el asa cardíaca ha rotado en sentido contrario de lo normal, por lo que la convexidad de la misma está dirigida hacia la izquierda; se trata, pues, de un verdadero caso en el que su hubiere originado de manera segura una inversión visceral; un caso idéntico era el embrión Ap. núm. 4, que fué obtenido en una serie en la que

se experimentaba con las sales de litio; era un caso todavía más demostrativo que el que anteriormente dejamos señalado, ya que se trataba de un embrión más desarrollado, pues en el momento de la observación tenía ciento dieciocho horas de incubación. Las figuras 2 y 3 sirven para ilustrarnos a este respecto: corresponden a cortes que pasan por el asa cardíaca de un embrión normal y por el asa cardíaca de un embrión con heterotaxia (E. núm. 9).

El conocimiento de esta malformación es muy antiguo, pues nada menos que Aristóteles la había ya señalado, y escribía de mamíferos que tenían el bazo a la derecha y el hígado a la izquierda, pero en ho-

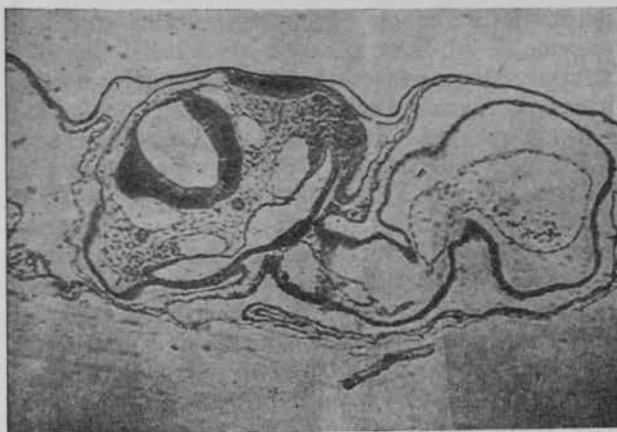


Fig. 3

nor a la verdad, debemos señalar que fué solamente en el siglo XVII cuando empezó a llamar la atención de los médicos y hasta del público; un hecho de este género fué descrito por RIOLAN en 1652, y en una obra célebre de Molière, "Le Médecin malgré-lui", se hace alusión a uno de estos casos de heterotaxia observado en 1672 por MORAND, en un inválido de 72 años. Experimentalmente se han obtenido casos de rotación anómala de la cabeza, sin inversión visceral, y verdaderos *situs inversus*; como ejemplo de lo primero citaremos a LOMBARDINI, que sometiendo huevos puestos en incubación a una rotación continua con ayuda de un aparato de relojería, observó la rotación a la derecha de la cabeza, sin inversión; es lo que él llamó "falso rotamiento"; señalaremos que los huevos que sometía a esta rotación tenían ya 55 a 60 horas, y habían pasado la época en que se produce la inversión. Otros autores obtienen heterotaxia de manera experimental, y a este propósito hemos de citar a FOL y WARYNSKI (1833-1886) que han producido artificialmente heterotaxia calentando desigualmente las dos mitades del embrión; para ello, estos autores quitaban una pequeña porción de la cáscara y sometían el lado izquierdo del embrión a la acción del termocauterio, colocado a cierta distancia; después cerraban la cáscara, y sometían de nuevo el huevo a la incubación; cuando hacían la operación en embriones incubados 24 horas, conseguían rotación anormal de la cabeza con inversión cardíaca; cuando lo hacían en embriones de 48 horas de incubación, conseguían rotación anormal de la cabeza, sin inversión cardíaca; entre las observaciones de estos dos sabios y las de DARESTE, había gran concordancia; pero estos dos

autores no admitían que la inflexión anormal del asa cardíaca era el hecho inicial, a lo que objetaba DARESTE que había observado varias veces este hecho cuando la cabeza no estaba todavía rotada.

Desgraciadamente, un trabajo de MORITA (1918), que hubiese tenido mucho interés para nosotros, porque trata de producción experimental de heterotaxias en embriones de pollo, no nos ha sido posible consultarlo por haber aparecido en la revista japonesa "The Sei-i-Kai Medical Journal", núm. 437, de muy poca circulación en Europa y por lo tanto en nuestro país.

¿Y la opinión del gran DARESTE, a este respecto, cuál es? El gran embriólogo de Francia atribuye la heterotaxia a una malformación del área vascular, y expone de modo terminante, que aquélla (la heterotaxia) se presenta cuando hay una deformación elíptica de cierta naturaleza en el área vascular, de tal forma que el mayor desarrollo de la hojilla vascular se haga a la izquierda. Nuestro juicio propio está conforme con el de DARESTE, y lo decimos después de haber obtenido en nuestras experiencias elevado porcentaje de malformaciones del área vascular, como anteriormente ha quedado ya expuesto. Desde luego, admitimos que por acción física sobre el embrión pueden obtenerse heterotaxias, pero de nuestro trabajo se deduce que por acciones químicas (Prolan, vitamina E) también puede obtenerse indistintamente el mismo fenómeno. Y ahora podemos hacernos la siguiente pregunta: ¿Todas las inversiones son debidas a factores extrínsecos, que actúan sobre el cuerpo embrionario?; la respuesta es, para nosotros, negativa, pues aunque hay que admitir la existencia de factores extrínsecos como determinantes del *situs inversus*, no hemos de olvidar el papel de factores hereditarios. De la misma gallina de la que procedía nuestro interesante caso núm. 9, hemos experimentado en otros casos de nuestro Protocolo (núms. 27 y 34) sin que hayamos obtenido de ellos repetición de la heterotaxia, pero esto no quiere decir nada que se oponga a la admisión de factores hereditarios como determinantes de la malformación que nos ocupa; el hecho de que DARESTE (tan repetido necesariamente en este trabajo) nos hable de que obtenía algunas veces en serie la heterotaxia, ¿no nos da derecho a pensar que muchos de los huevos de la serie procedieran de una misma gallina? Es éste un punto al que justipreciamos debidamente y continuamos con fe en la valoración del mismo, prometiendo publicar en su día, los definitivos resultados que obtengamos.

Reforzando el criterio de DARESTE de que en la heterotaxia lo primero que se produce, y es lo que origina el estado de inversión, está constituido por la rotación inversa del asa cardíaca, tenemos el valioso trabajo de MARCUS (1932), que estudiando embriones de *Gymnophiones*, llega a la terminante conclusión, que dice así: "Jedenfalls halte ich diese Torsion des Herz-rohres für die primäre Ursache aller Asymetrie im Körper."

COSSÍO y AGUIRRE, al describir un caso por ellos observado en un niño varón de 11 años, que presentaba dextrocardia con heterotaxia, y corazón de Fallot (estenosis de la pulmonar, agrandamiento del ventrículo derecho, comunicación interventricular y

nacimiento de la aorta desplazado hacia el ventrículo venoso) opinan que es imputable la heterotaxia a una mala posición del embrión en el corion; mientras que la tetrada de FALLOT es atribuible a una falta de desarrollo o rotación incompleta del bulbo arterial.

Resumiendo, después de nuestros trabajos, y de las consultas amplias que hemos hecho a los estudios de Embriología experimental, podemos sentar las siguientes conclusiones:

*Primero.* — La heterotaxia, es debida a una rotación anómala del embrión.

*Segundo.* — La causa primera de esta rotación anómala del embrión es la inflexión del asa cardíaca.

*Tercero.* — Esta inflexión inversa del asa cardíaca puede ser ocasionada por factores intrínsecos o hereditarios y por factores extrínsecos; no dudamos de la existencia de los primeros, y en cuanto a los factores extrínsecos, aparte de los de naturaleza física (desigual calentamiento de las dos mitades del cuerpo embrionario, etc.), tenemos que admitir los de naturaleza química, que en esencia, dado el estado actual de nuestros conocimientos, no podemos precisar el porqué de como actúan.

Es curioso hacer resaltar aquí la observación de DARESTE con respecto al porqué del predominio de la mitad derecha del cuerpo sobre la mitad izquierda, predominio que se manifiesta en todo el mundo por la superioridad de la mano derecha; por ello (decía DARESTE) yo me he preguntado desde hace tiempo si la desigualdad de las dos manos, en vez de ser un carácter adquirido como afirman muchos autores, no sería un hecho congénito, cuyo origen se debería precisamente al cambio de posición del embrión en el huevo. El insigne embriólogo francés pensaba que las dos mitades del cuerpo son primitivamente iguales, pero que a consecuencia de la rotación de la cabeza, la mitad derecha se desarrolla más libremente, mientras que la izquierda estaría más o menos comprimida por el amnios, sobre el que reposa; en los casos de rotación anormal, los hechos se desarrollarían de manera inversa, sería el motivo de los zurdos, mientras que los dextros, habrían tenido rotación normal; estos hechos los sometió a la Sociedad de Antropología (1885); estas consideraciones, decía, yo las reconozco, son enteramente hipotéticas, pero hay un modo de comprobar su exactitud: si esta hipótesis es cierta, las personas afectas de heterotaxia deberían ser zurdas.

Nosotros, hemos sabido de tres casos de dextrocardia, desde luego dos de ellos con *situs viscerus inversus*, recientemente observados aquí en Cádiz, dos de ellos en el Dispensario Antituberculoso, y el otro en el Servicio de Medicina Interna del Hospital Provincial; a pesar de nuestros esfuerzos para localizar a estos tres pacientes, no lo hemos podido conseguir por ser todos ellos naturales de otra provincia no precisada, y uno de los mismos era un portugués que accidentalmente se encontraba en esta ciudad; citamos lo que acabamos de expresar porque caso de ser zurdos apoyarían la sugestiva consideración de CAMILO DARESTE. No obstante, y teniendo en cuenta que los casos publicados de inversión visceral en el hombre no hacen mención del predominio sinistro, y sería raro que a todos se les pasase señalar este dato,

no nos atrevemos, ni con mucho, a afirmar la simultaneidad de heterotaxia con zurdera.

III. *Embriones con malformaciones del sistema nervioso y de otras partes del cuerpo embrionario.* — Nueve embriones pertenecen a este grupo (núms. 10, 14, 19, 25, 33, 34, 38, 41, 45), o sea, el 47.37 por ciento; de ellos, existían cuatro en que las malformaciones que vamos a describir iban asociadas a área vascular asimétrica (núms. 33, 34, 38, 45), y a este respecto, ya fueron considerados anteriormente; además, uno de ellos, presentaba aparte del área vascular asimétrica, posición anómala del corazón, ya que éste sobresalía a la izquierda en vez de a la derecha del cuerpo embrionario, pero sin presentar inversión del asa cardíaca, como también se dijo ya con anterioridad. Uno de ellos, el núm. 45, era un embrión normal, en el que sólo llamaba la atención la detención en el cierre del canal medular, hecho evidente, puesto que en este estadio debía estar completamente cerrado. Otro de ellos, embrión núm. 33, presentaba también el canal medular ampliamente abierto en casi toda su extensión. Por su estadio, tal vez pudiera hablarse en este caso solamente de un retraso en el cierre, pero el aspecto del embrión, mostrándonos un canal medular con bordes asimétricos ya que el derecho es mucho menos marcado que el izquierdo, nos hace decir que no hay tal retraso en el cierre. Los cortes de este embrión muestran este hecho al mismo tiempo que la existencia de numerosas células en picnosis, que habrían conducido rápidamente a la desintegración y muerte del embrión.

El embrión núm. 38 muestra una malformación, desde hace tiempo bien estudiada en el embrión del pollo: la onfalocefalia. Consiste la misma, en que la extremidad cefálica del embrión se incurva precozmente, por lo que viene como a formar hernia en el canal intestinal, y en esta posición anómala, se atrofia y desintegra rápidamente; como consecuencia de ello, al unirse los dos esbozos cardíacos para formar el corazón único, lo hacen por delante del cuerpo embrionario, por lo que el corazón parece ser la formación más craneal del embrión. Los cortes muestran el canal medular abierto, y en la parte media del mismo, este canal es asimétrico. La estructura íntima del sistema nervioso está también alterada, no apreciándose la distribución regular y radiada de sus células. Sin entrar en el mecanismo íntimo de como se origina la onfalocefalia, todo sucede como si el sistema nervioso no se alargara, como debe de ocurrir normalmente, en la misma medida que el entomesodermo subyacente, por lo que éste sobresale por delante con respecto a aquél, y el corazón tiene la posición antes mencionada. Esta malformación que nos ocupa es una de las más frecuentes que se observan en el embrión de pollo. Se ha observado espontáneamente, y los autores antiguos, entre ellos DARESTE, dicen que con bastante frecuencia. También se decía que en el pollo serían mucho más frecuentes que en los otros animales homeotermos las malformaciones espontáneas, pero MORITA (1936) afirma que en realidad son raras, pues él no las ha observado nunca sin experimentación. Nosotros creemos acertada esta opinión y atribuimos, como ya hemos citado anteriormente, las frecuentes malformaciones espontáneas que nos ci-

tan los autores antiguos a lo poco adecuado de las incubadoras que utilizaban. Experimentalmente se han obtenido onfalocefalias por acción mecánica, como WARYNSKI, produciendo una presión sobre la extremidad cefálica del embrión con el dorso de pequeño escalpelo y afirma que las que se observan espontáneamente se deben a una presión anormal de la cáscara del huevo sobre el dorso del embrión, argumento que le parece tanto más aceptable a DARESTE cuanto que la onfalocefalia no se ha observado nunca espontáneamente en embriones vivíparos, que rodeados de membranas blandas serían incapaces de ejercer una presión suficiente.

Número 41  
También se han obtenido experimentalmente onfalocefalias por MORITA (1936) introduciendo debajo de la membrana vitelina pequeños trozos de órganos muertos previamente por calentamiento y pulverizados de pulmón, hígado, bazo, riñón, corazón, musculatura estriada, ojo, testículo, etcétera, de pollo, ratón y otros animales. Probablemente la acción perturba-

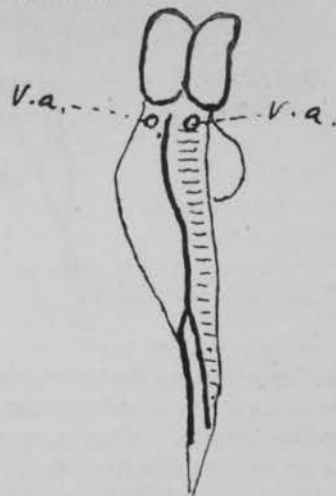


Fig. 4

dora en estos casos es de naturaleza química, habiéndose obtenido también por la acción de las sales de litio, Testovirón, Prolan, entre las sustancias hasta ahora experimentadas.

La anomalía que presentaba el embrión núm. 14 consistía en que el sistema nervioso era demasiado alargado.

La malformación del sistema nervioso, que presentaban los embriones núms. 10 y 19, consistía esencialmente en que el encéfalo era sumamente atípico. La malformación que presentaban los otros tres embriones (núms. 25, 34 y 41) era la más interesante. Expondremos algunos datos comunes a todos ellos, describiendo con detalle el núm. 25, del que publicamos varias microfotografías. Se caracterizan por presentar la parte media del sistema nervioso cerrado, y de estructura normal o casi normal, mientras que el encéfalo y una porción de la medula caudal no sólo han quedado ampliamente abiertos, sino que se ha detenido por completo su desarrollo "morfo-genético", no pasando de la fase de placa medular. El aspecto que tiene el embrión núm. 41 se ve en el esquema de la figura 4, y en él, solamente el procencéfalo y mesencéfalo se han detenido en su desarrollo, mientras que el rombencéfalo o una gran parte del mismo ha seguido su evolución normal, ya que como se ve en la figura 4, V. a. las vesículas auditivas aparecen claramente a los lados de la parte más craneal del sistema nervioso, que se ha cerrado. En el embrión núm. 25 (figura 5), la malformación abarca a todo el encéfalo, ya que en él no se observan las vesículas auditivas, aunque esto no quiere

decir que no se hayan desarrollado como nos enseñarán los cortes. En éstos, los que pasarán por la parte cerrada del sistema nervioso nos muestran una medula de aspecto y disposición casi normal, como puede verse en la figura 6, que representa un corte que pasa por la línea A de la figura 5 del embrión número 25; también la notocorda y el mesodermo tienen una disposición normal, viéndose asimismo en la fig. las células de la cresta neural. Siguien-

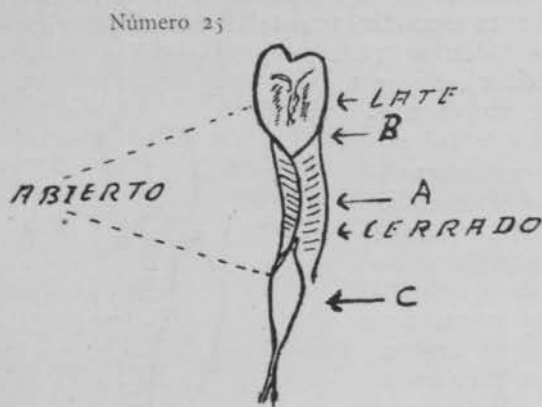


Fig. 5

do los cortes, en dirección craneal, llega un momento en que el sistema nervioso está ampliamente abierto. La fig. 7, que pasa por la línea B de la fig. 5, nos muestra uno de ellos, en el cual el canal nervioso es bien aparente, aunque no muy profundo,

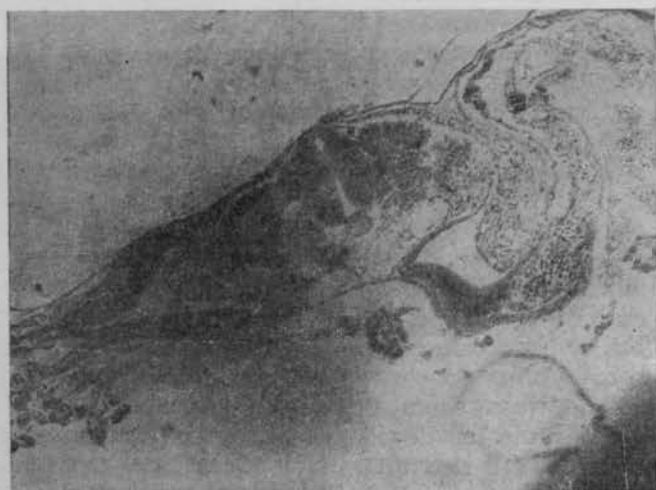


Fig. 6

y los bordes del mismo están ampliamente "ectropionados", indicándonos la imposibilidad de su cierre; en la notocorda subyacente y en el mesodermo no se ve nada anormal. Sesenta micras más cranealmente, el corte pasa por el rombencéfalo, y en él se comprueba (figura 8) que el sistema nervioso a este nivel no ha pasado de la fase de placa medular. La certeza de que el corte pasa por el rombencéfalo nos la da el hecho de que ventralmente a la placa nerviosa nos aparecen en el corte las vesículas auditivas (figura 8, V. a.). Como los cortes son algo oblicuos, la vesícula auditiva derecha está cogida de pleno, mientras que la izquierda, sólo cogida tangencialmente, aparece como un conglomerado sólido de células.

Esta disposición de las vesículas auditivas es francamente anormal y nos explica el por qué no se veían cuando observábamos el embrión *in situ*. Para que se vea la diferencia entre esta disposición anormal de las vesículas auditivas y su disposición típica, publicamos a continuación (figura 9) un corte que pasa por el rombencéfalo y vesículas auditivas de un em-



Fig. 7

brión, normal de pollo, aproximadamente de las mismas horas de incubación.

Esta forma anormal de estar colocadas las vesículas auditivas ventralmente al rombencéfalo, y más aproximadas a la línea media, constituye el origen de una malformación bien conocida, que se designa con el nombre de otocefalia. DARESTE, dice que la otocefalia es una monstruosidad muy rara, pero que



Fig. 8

él ha visto embriones en los cuales la encontraba en vías de formación; da poca importancia a la explicación dada por HUSCHKE (1832) que la atribuía a la detención de desarrollo de la primera hendidura branquial, y dice que sus investigaciones le han enseñado que el acercamiento de los oídos medios, es un hecho secundario al de las vesículas auditivas (futuro oído interno), el cual es la consecuencia de una detención del desarrollo de la tercera vesícula

encefálica (rombencéfalo). Esta detención del desarrollo de la tercera vesícula, se asocia casi constantemente a la de la primera (procencéfalo), y se origina una monstruosidad que el autor describe con el nombre de triocefalia, en la cual, faltan los ojos

gión en que la medula se ha cerrado y tiene su disposición normal, existe una amplia región en que la medula se ha detenido también en la fase de placa medular, como nos muestra la figura 11 que representa un corte que pasa por la línea C de la figura 5. Varios cortes más, en dirección caudal, se ve que la



Fig. 9

y el aparato olfativo como consecuencia de la detención del desarrollo del procencéfalo, del que derivan estos órganos. Es evidente que en nuestro caso ha habido una detención "morfo-genética" de casi todo el encéfalo, el cual se ha quedado en la fase de placa medular. TÖNDURY (1938) ha obtenido mi-

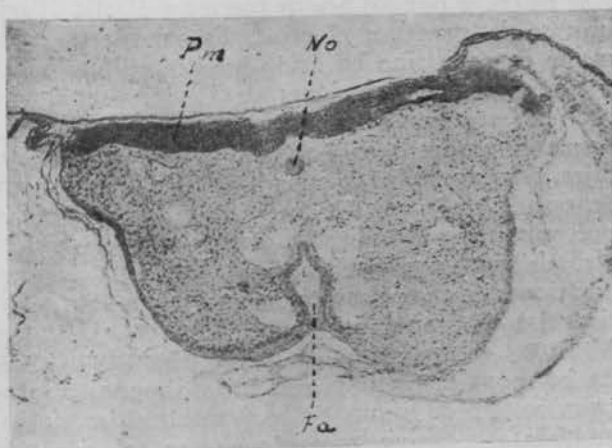


Fig. 10

crocefalias y otocefalias en el *triton alpestris*, por la acción del cloruro de litio, y un corte de un embrión que representa en la figura núm. 11 de su trabajo, se parece mucho al corte que aquí publicamos nosotros.

Más cranealmente, el mesencéfalo, se ha detenido también en la fase de placa medular, como puede observarse en la figura 10: tanto en esta figura como en la 8, se observa la faringe. Por detrás de la re-

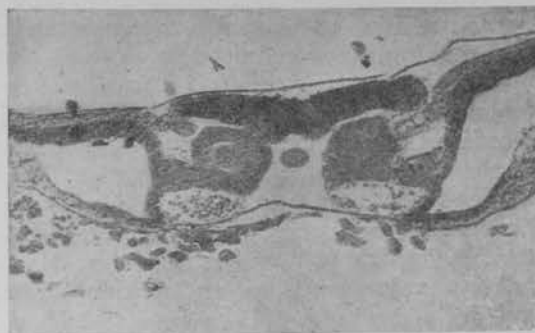


Fig. 11

medula se ha cerrado parcial y atípicamente, por lo que se observa una pequeña porción cerrada ventralmente, y una gran porción abierta dorsalmente, figura 12. Por último, la pequeña porción caudal

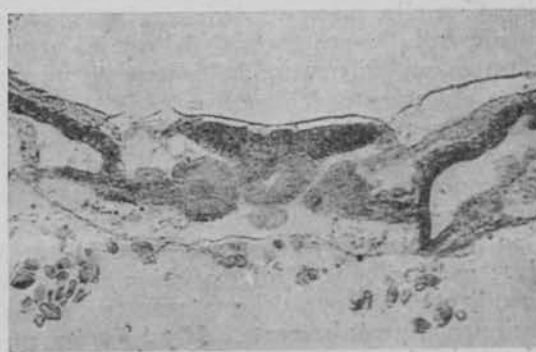


Fig. 12

de la medula, aparece cerrada por completo y subdividida en una serie de luces o "canales centrales", muy variables según los cortes y muy irregulares: uno de ellos, aparece en la figura 13, en la que se

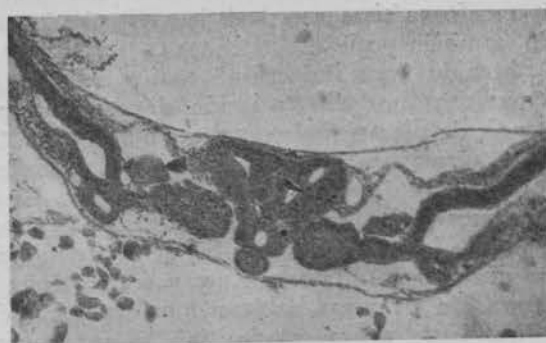


Fig. 13

observan cinco luces endimarias, es decir, se trata de una multiplicidad de la luz endimaria. A partir de los estudios de SCHUMACHER, pero sobre todo de IKEDA, conocemos lo frecuentemente que se observan desdoblamiento o multiplicidades del *canalis centralis* de la parte más caudal de la medula. Hoy es sabido que la frecuencia de estas malforma-

ciones en dicha región, obedece a la manera especial de desarrollarse esta porción del sistema nervioso. Los estudios de HOLMDAHL, sobre todo, han demostrado que esa porción de la medula, no pasa por las fases de placa ni de canal nervioso, sino que se forma por un proceso de diferenciación *in situ* de células ectodérmicas que se conglomeran formando un cordón sólido, en el cual aparecen secundariamente hendiduras, que reuniéndose entre sí, acaban por originar el *canalis centralis*. La frecuencia de los desdoblamientos y multiplicidades en esta porción, obedecería a trastornos en el proceso de canalización que acabamos de exponer. Es evidente que los desdoblamientos del *canalis centralis* en el embrión del cual aquí nos ocupamos, tienen esta explicación. SAGRA ha descrito una multiplicidad medular observada espontáneamente en un embrión de pollo, a nivel de la región dorsal, en cuyo trabajo se señala además el mecanismo probable de su formación y se citan otros casos que existen en la literatura. En las figuras que pasan por las regiones abiertas del sistema nervioso, se observa que aunque el mismo se ha detenido en la fase de placa medular, la estructura es normal, como se deduce de los caracteres y de la disposición regular y radiada de sus células. Con ello queremos decir que ha habido una detención en la "morfogénesis" del sistema nervioso, pero no en su "diferenciación". Recordaremos aquí que con el concepto de "morfogénesis" se entiende la serie de cambios en la forma que experimentan los órganos hasta adquirir la forma definitiva; y, con el concepto de "diferenciación" se entiende la serie de cambios en la estructura celular que experimentan los órganos hasta adquirir la estructura definitiva; morfogénesis y diferenciación son procesos independientes, aunque de una manera fisiológica, evolucionan sincrónicamente, de tal forma que a un determinado estadio morfogenético corresponde un determinado estadio de diferenciación, pero esto no quiere decir que haya obligada dependencia en la evolución de ambos, como se creía, pues las células de un tejido embrionario pueden ir adquiriendo las diferenciaciones típicas que le conducirán a la estructura normal del órgano, sin atravesar por las fases morfogenéticas características, siendo lo contrario, también posible. Así MANGOLD y SPEMANN han obtenido "por inducción" en los anfibios, tubos nerviosos por diferenciación directa "sin preexistencia de placas ni de canal medular" y HOLT-FRETER afirma que la mayor parte de las inducciones neurales, se desarrollaban de esta forma. Es decir, tenemos datos suficientes hoy día, para poder afirmar que la parte más caudal de la medula adquiere normalmente la estructura y forma típica de la misma, sin atravesar las fases morfogenéticas clásicas, que hasta ahora se admitían, y que, aunque el resto del sistema nervioso, atraviesa las fases de placa, canal y conducto para adquirir su forma definitiva, ciertos procesos perturbadores del desarrollo, pueden impedir su evolución normal morfogenética, y no su diferenciación típica.

Resumiendo: los tres embriones de que nos hemos ocupado últimamente, a cuyo grupo pertenece el número 25, presentaban detención parcial en el desarrollo morfogenético del sistema nervioso, el

cual, no ha pasado de la fase de placa medular. Esta detención del desarrollo abarcaba una gran parte de la medula caudal en todos ellos, la mayor parte del encéfalo en el número 41 y todo el encéfalo en el número 25. En este último, la detención en el desarrollo del rombencéfalo, ha sido probablemente la causa de su otocefalia, y además presenta multiplicidades de la luzependimaria en la parte más caudal de la medula, debido sin duda, a defectos en el proceso de la canalización normal.

**MECANISMO DE ACCIÓN DEL PROLAN.** — Creemos que la acción perturbadora que ejerce el Prolan sobre los primeros estadios del desarrollo en el embrión de pollo, es atribuible a una acción química, pero no podemos afirmar que se trate de una acción específica del mismo, y esto por varios motivos. En primer lugar, ¿qué se conoce en la actualidad de la naturaleza química del Prolan? Por las fuentes de que nos hemos valido se conocen propiedades físico-químicas del citado producto hormonal, pero su textura química no se posee aún de una manera exacta, aunque al igual que otras hormonas del lóbulo anterior de la hipófisis, se le incluye en el grupo de las de "tipo peptídico". Aunque hasta aquí venimos hablando de Prolan a secas, lo hacemos así porque desde los célebres trabajos de ZONDEK en 1925 como consecuencia de los cuales, se señaló que había una hormona hipofisaria de maduración folicular, y otra hormona de luteinización del folículo, que fueron respectivamente designadas con los nombres de Prolan A y Prolan B, se admite que hay una plena afinidad entre la estructura química de ambas sustancias (quizás distinta isomería). He aquí los caracteres físicoquímicos: Insolubilidad en los disolventes orgánicos, precipitándose de las soluciones acuosas por la adición de éstos, tales como alcohol, acetona, etc. La hormona no es dializable y se destruye por los ácidos fuertes y álcalis. También se destruye por el calor. Es soluble no solamente en agua sino en ácido acético, sulfosalicílico y tartárico. Las soluciones de Prolan, se alteran prontamente, por cuyo motivo, la casa Bayer, expende el producto en polvo, acompañando en las cajas, unas ampollas de agua bidestilada, con objeto de que las soluciones se preparen al momento en que vayan a ser utilizadas, como acontece con el Neosalvarsán, por ejemplo. Según FISCHER, las preparaciones fisiológicamente más potentes dan positivas las reacciones del biuret, MILLON, PAULI y MOLISCH, siendo negativa la de HOPKINS-COLE. La hormona se precipita con sulfato amónico saturado, acetato de urano, ácido fosfotúngstico, fosfomolibdato y tanino, especialmente en solución acidificada. No precipita con ácido pícrico, molibdato amónico, acetato de cobre y nitrato de plata. Recientes adquisiciones de BISCHOFF y LONG demuestran que el principio gonadotropo obtenido de la orina, difiere un poco en sus propiedades del conseguido a partir de la hipófisis. HAUROWITZ sugiere que el Prolan debe ser de un alto peso molecular. Por cuanto acabamos de dejar expresado, creemos como indica ZONDEK que no estará muy lejos el día en que se descubra la constitución química del Prolan; y esta evolución paso a paso hasta llegar

al total esclarecimiento de lo que se refiere al Prolan, no es un hecho nuevo en el campo de la Medicina, pues es sabido que múltiples descubrimientos, no son repentinamente aparecidos por los esfuerzos de un sólo hombre de ciencia, sino que es producto del trabajo de muchos de ellos y de algunos años de investigación, y así por ejemplo, para no salirnos de los linderos de nuestro tema, ¿no vemos como 24 años antes de lanzar el ilustre profesor de Obstetricia y Ginecología de la Universidad de Berlín sus interesantes experimentos, era conocida la correlación hipófisisogenital?; pues, en efecto esta correlación era conocida, desde que un clínico, FROELICH en 1901, descubrió, que en aquellos enfermos, en los que la hipófisis está más o menos destruida, no aparece el ciclo sexual, o se interrumpe, si había ya aparecido.

En lo que atañe a la acción fisiológica del Prolan, se sabe de una manera terminante que actúa por intermedio de las glándulas sexuales. La hormona gonadótropa de la hipófisis constituye el motor de la función sexual; es la hormona sexual primordial, general e inespecífica del sexo. La hormona del lóbulo anterior de la hipófisis pone en marcha el aparato folicular; desencadena la maduración del folículo y moviliza secundariamente foliculina, de las células foliculares. Ésta, entonces actúa de modo específico sobre el útero y la vagina, que son los órganos de su actuación específica. También la función de los cuerpos lúteos, esto es, la producción de hormona en el cuerpo amarillo, es regida en el ser humano y en el animal, por la hormona gonadotropía hipofisaria; de modo que con la acción conjunta del Prolan se crea en el aparato genital, las condiciones más favorables para la anidación y fecundación del óvulo; ya hemos señalado en lugar anterior, que la actuación sobre folículo y cuerpo lúteo, se verifica respectivamente por los Prolan A y B; de ZONDEK, copiamos lo siguiente: "Por la hormona hipofisaria del lóbulo anterior, podemos lograr la nueva maduración de óvulos en el embarazo y con ello, alterar la evolución fisiológica de este estado."

Aparte de lo que acabamos de exponer de la indudable acción del Prolan sobre la maduración folicular y luteinización, tiene un interés más de cerca para nosotros, cuanto se refiere al efecto de la misma hormona sobre los seres en vías de desarrollo. ZONDEK nos habla de la posibilidad de destruir el óvulo fecundado al aumentar la acción de la hormona, esto es, administrando dosis elevadas de Prolan. Al elevar la concentración fisiológica de hormona en la sangre durante el embarazo, por administración persistente de Prolan, se consigue un efecto nocivo: el aborto. TEEL observó la muerte de los fetos sólo al final del embarazo, mientras que ZONDEK lo conseguía en breves días. A este propósito, dice que las ratas y ratones expulsan los fetos muertos, mientras que en las conejas, el útero retiene los fetos macerados. Después de largas experiencias pudo registrar el momento en que tenía lugar el aborto, por la acción del Prolan en un ratón preñado, observando, en las diferentes cámaras ovulares, fetos en parte vivos, en vías de muerte y muertos. En la cavidad ovular, se vislumbran hemorragias que determinan

desprendimiento placentario; no sabiendo si esta separación depende de la hormona primordial, o si el proceso tiene lugar por mediación del ovario. De todos modos, los ovarios de estos animales se hallan afectados de alteraciones profundas y son de triple a quintuple tamaño, estando ocupados por hemorragias masivas y cuerpos lúteos de nueva formación. La muerte del fruto por la acción del Prolan, le parece específica, pues se actúa primitivamente y de modo específico sobre los ovarios. La producción del aborto en el animal de experimentación debe ser interpretada clínicamente, ya que se puede producir la muerte del feto por medios inespecíficos, pero en estos casos jamás se obtienen producciones de nuevos procesos de actividad funcional en el ovario del animal preñado. En cuanto a lo que ocurre en la mujer embarazada, expresa ZONDEK que no se ha demostrado de una manera terminante si se puede producir la muerte del feto, y con esto, el aborto, por el Prolan, señalando a este respecto que en su clínica, en algunos casos en los que el embarazo había de interrumpirse por existir tuberculosis pulmonar concomitante, no se observó efecto alguno del Prolan sobre el embarazo, a pesar de inyectar en el transcurso de varios días hasta 8.000 unidades rata. Aunque lo que acabamos de dejar citado parece que debía inclinar el ánimo del profesor berlinés en un sentido claro, no es así, pues inmediatamente después nos dice que *probablemente* con dosis muy altas (10.000 unidades) se logrará algún efecto. Es decir, parece demostrado, que por lo menos en ciertos animales en los que se ha podido experimentar, dosis masivas de Prolan producen la muerte del germen, seguida de la desintegración y aborto. El que este efecto se produzca indirectamente a través del ovario, es posible, pero no está demostrado, con las experiencias que cita el autor; porque, ¿qué haría falta para que estuviere demostrado?; para ello, sería necesario hacer experiencias, inyectando dosis altas de Prolan a animales embarazados, a los que se hubiere castrado en los primeros días de la preñez; mientras estas experiencias no se realicen, la acción perturbadora del Prolan sobre el germen en desarrollo, puede ser debido tanto a una acción indirecta por intermedio del ovario, como a una acción directa sobre el embrión. De lo que nosotros hemos experimentado, se demuestra, que por lo menos en el pollo, las dosis altas de Prolan, ejercen una acción nociva directa sobre el embrión.

También debemos citar, algunos trabajos que hemos podido consultar y que guardan cierta relación con nuestras experimentaciones. Entre ellos debemos señalar los siguientes: Primero, el de WOLFF, FRIEDRICH y MARGARETE, que como en lugar anterior dijimos, obtenían lesiones en la descendencia de aquellos animales de experimentación a los que se trataba con extracto de lóbulo anterior de la hipófisis. Segundo, el de JÖRG H., el cual como también se dijo anteriormente, llegó a opuestos resultados que WOLFF, pues, de sus experiencias dedujo que una lesión hereditaria en ratón blanco por la acción del Prolan, no pudo ser establecida. Tercero, el de AGLIALORO M. y UGO CIULLA los cuales hicieron curiosos experimentos con Prolan sólo. Prolan más hormona melanófora, y hormona me-

lanófora sola; en los animales tratados con Prolan se apreciaba un claro aumento en el desarrollo, la coloración del animal era algo clara y la metamorfosis no sufría influencia; en los tratados con hormona melanófora simultáneamente con Prolan, se veía que crecimiento y metamorfosis estaban notablemente alterados; los animales se quedaban incluso más pequeños que los tratados sólo con hormona melanófora, pero la coloración era menos intensa que tratados sólo con hormona melanófora; en los solamente tratados con esta última hormona, se veía que el desarrollo y el crecimiento de los animales estaba claramente alterado apareciendo inmediatamente una intensa y profunda coloración oscura; en los animales que trataban con extracto de lóbulo anterior de hipófisis, se mostraban los mismos hechos que con el Prolan, y concluían, que el Prolan ejercía también una influencia sobre la pigmentación. Cuarto, el de MARINESCO G. y G. ALEXIANU BUTTO, que establecen como conclusión que la hipófisis fetal no posee ninguna acción estimulante del crecimiento, como se deduce de la observación de los anencéfalos y otros monstruos que carecen del lóbulo anterior de la hipófisis.

El que los efectos obtenidos por nosotros, se deban a una acción química del Prolan, nos parece indudable, pues en numerosos huevos, sometidos a las mismas influencias físicas que en los que inyectábamos la hormona gonadotropa hipofisaria (acto quirúrgico de abrir el huevo, igual incubadora, etc.), no se obtenía absolutamente ningún efecto. Esta acción química se ejerce directamente sobre las células alterando su reproducción y conduciendo rápidamente, cuando la acción es intensa, a la picnosis, muerte y desintegración celular. Esto queda demostrado, por el hecho de la existencia de numerosas mitosis anormales. Así, estudiando los cortes del embrión número 25, con inmersión, se observa, tanto en el sistema nervioso como en el mesodermo subyacente, la presencia de numerosas mitosis atípicas, consistentes en desplazamientos cromosómicos; es decir, en la fase de estrella madre o estrellas hijas, se ven uno o más cromosomas separados de los restantes; lo que puede traer como consecuencia que al verificarse la división celular, una de las células hijas, posea un número de cromosomas distinto a la otra; además en los cortes del mismo embrión, pueden apreciarse células de gran tamaño y con vacuolas, y también, que en muchas células en fase de reposo, se aprecia una intensa coloración nuclear, en donde no se puede apreciar estructura alguna, indicando una alteración en el núcleo; en otros embriones, como por ejemplo el número 38, se recogen alteraciones celulares sumamente parecidas a las del embrión número 25, mientras que en el embrión número 33, se ven numerosas células en picnosis, que no pueden ser atribuidas a alteraciones *post mortem*, puesto que el corazón latía en el momento de la fijación.

Ahora bien, alteraciones celulares parecidas, se han observado por la acción de sustancias variadas, así V. MÖLLENDORFF y sus colaboradores las han visto en cultivos de tejidos a los que añadieron una débil solución de testosterón, y también se han observado desplazamientos celulares por la acción

del alcohol etílico, colchicina, acetona, hidrato de cloral, así como de ciertas sustancias cancerógenas, así por ejemplo, benzopirina y benzoantraceno, etc.

Las malformaciones obtenidas por la acción del Prolan, fueron principalmente: asimetrías vasculares, heterotaxias, detención en el desarrollo del sistema nervioso, onfalocefalias, etc., las cuales, como ya vimos, han sido obtenidas por la acción de distintos agentes, tanto físicos como químicos.

Por todo lo dicho, se deduce: Primero, que el Prolan ejerce una acción perturbadora sobre las primeras fases del desarrollo en el embrión de pollo. Segundo, que esta acción es de naturaleza química. Tercero, que no es específica del Prolan, ya que no se conoce su constitución química y se pueden obtener efectos parecidos por otros agentes.

## RESUMEN

En vista de los resultados opuestos obtenidos por WOLFF, FRIEDRICH y MARGARETE, por una parte, y por JÖRG H. por otra, que respectivamente decían que con la hormona gonadotropa del lóbulo anterior de la hipófisis se obtenían lesiones hereditarias en el ratón blanco, los primeros, y que no había tales lesiones hereditarias, el segundo, es por lo que hemos querido experimentar con Prolan, estudiando su acción en embriones de pollo, muy jóvenes, por el interés que sin duda tiene ello para la clínica.

Nos hemos servido en nuestras experimentaciones de cuarenta y ocho embriones de pollo, de los cuales el que más, tenía escasamente veinte horas de puesto. Se ha utilizado un producto de garantía como es el preparado por la casa Bayer, y a unos se les inyectaba una décima de c. c. y a otros una vigésima de c. c., procurando que la solución estuviere a unos 37° o un poco menos. Una vez hecho esto, se colocaban los huevos en la estufa, siendo observados después de algunas horas de incubación, que eran 24, como mínimo.

La mortalidad que obtuvimos, fué muy elevada, puesto que alcanzó la cifra de un 41,66 por 100, siendo de un 58,33 por 100 el número de los que vivían en el momento de la observación. De entre estos últimos, un 18,75 por 100 eran embriones que en nada se distinguían de los considerados como normales, pero un 39,58 por 100 presentaban anomalías más o menos intensas que variaban entre ligeras asimetrías del área vascular con embrión normal o casi normal, rotación invertida del cuerpo del embrión y del asa cardíaca (heterotaxia), hasta graves deformaciones del conjunto embrionario y sobre todo del sistema nervioso.

Los embriones anómalos, se descomponen en la siguiente forma:

Embriones con área vascular asimétrica, 57,8 por ciento.

Embriones con heterotaxia, 15,78 por 100.

Embriones con malformaciones del sistema nervioso y de otras partes del cuerpo embrionario, 26,31 por 100.

De entre los embriones con área vascular asimétrica, unos tenían predominio a la derecha, y otros

a la izquierda, siendo aquéllos en proporción casi doble a estos últimos. De nuestras experiencias se deduce, que esta deformación blastodérmica se obtiene por influencias químicas, aunque desde luego admitimos que también se produce por influencias físicas, como DARESTE demostró a finales del pasado siglo.

En tres casos de nuestro Protocolo se ha obtenido heterotaxia, uno de ellos, muy típico (embrión número 9); para que pueda hablarse con toda propiedad de la existencia de heterotaxia, o sea de inversión visceral, no hemos de guiarnos solamente por el hecho de que en una observación dorsal del cuerpo embrionario, sobresalga el corazón por la parte izquierda, sino que es necesario hacer una observación ventral, para poder afirmar su existencia, que es lo que nosotros hemos verificado cuando era aconsejable, y es por eso, que el embrión número 33, que visto dorsalmente parecía tener una inversión visceral, en la observación ventral comprobamos que no había tal fenómeno, mientras que en el embrión número 9 era indiscutible que había *situs visceris inversus*. El conocimiento de esta malformación es muy antiguo. Experimentalmente y con el auxilio de determinados medios físicos se ha obtenido por distintos autores, por ejemplo, LOMBARDINI, FOL y WARYNSKI, DARESTE, etc. Nuestra opinión está conforme con la de DARESTE en lo que se refiere a que la causalidad inmediata de la heterotaxia está constituida por la inflexión anormal del asa cardíaca y, al igual que admitimos para la producción de área vascular asimétrica las influencias físicas, también las admitimos aquí, pero sentamos la conclusión de que indiscutiblemente hay que admitir asimismo la influencia de acciones químicas, capaces de originar la heterotaxia. Aparte de estos factores genéticos, extrínsecos, consideramos que hay que tener en cuenta factores hereditarios. Señalamos la curiosa observación del gran DARESTE con respecto al predominio de la mitad derecha del cuerpo sobre la izquierda, y citamos tres casos recientemente habidos en nuestra ciudad, de inversión visceral, pero que por no estar nosotros aun ocupándonos de estas cuestiones, no pudimos comprobar si tenían zurdera, dato que hubiera sido muy interesante haberle recogido.

En nueve embriones, se obtuvieron malformaciones del sistema nervioso, de los cuales, en cuatro había además área vascular asimétrica; en uno de ellos, ocurría además, que el corazón sobresalía a la izquierda del cuerpo embrionario, pero sin presentar inversión del asa cardíaca; en dos casos, se obtuvieron detenciones en el cierre del canal medular. El embrión número 38, presentaba onfalocefalia y asimismo una hidropesía, que se recoge muy claramente en los cortes. Esta malformación ha sido obtenida de manera experimental, por medios físicos, por distintos autores, y en virtud de nuestro trabajo, puede afirmarse, su producción por la influencia de acciones químicas.

En los embriones números 25, 34 y 41, se ha obtenido la malformación más interesante, consistente en una detención morfogenética del encéfalo y de la parte más caudal de la medula, que se han quedado en la fase de placa medular; en el embrión

número 25, existe el interesante fenómeno de la otocefalia, el cual es debido primordialmente a una detención en el desarrollo de la tercera vesícula encefálica (rombencéfalo); también la otocefalia ha sido obtenida experimentalmente (TÖNDURY) por la acción del cloruro de litio; en este mismo embrión, se observa en la parte más caudal de la medula, una multiplicidad de la luz ependimaria; señalamos que en esta parte del sistema nervioso se originan más frecuentemente que en ninguna otra, esas multiplicidades de la luz ependimaria, por la especial manera de desarrollarse, ya que está terminantemente demostrado, que normalmente no pasa por las fases de placa y canal, sino que se forma por un proceso de "diferenciación" *in situ*; explicamos concisa y claramente lo que debe entenderse con los conceptos "morfogénesis" y "diferenciación".

En el último capítulo, se estudia el mecanismo de acción del Prolan.

#### BIBLIOGRAFÍA

- AGLIALORO, M. y UGO CIULLA. — Boll. Soc. Ital. Biol. oper., 10, 538, 1935.  
ARISTÓTELES. — Citado por DARESTE.  
BOUIN. — Citado por ROMEIS, en Guía formulario de Técnica Histológica, 1928.  
COSSIO, P. y AGUIRRE, R. — Rev. Arg. de Cardiol., 8, marzo-abril 1941.  
DARESTE, C. — Production des monstruosités. París, 1891.  
FALLOT. — Citado por COSSIO y AGUIRRE.  
FOL y WARYNSKI. — Recueil zoologique suisse, 1883.  
HERTWIG. — Arch. Mikrosk. Anat., 39, 1892.  
HOLMDAHL. — Huhn. Anat. Anz., 59, 1925.  
HOLTPRETER. — Roux'Arch., 127, 1933.  
HUSCHKE. — Archiv. für Anatomie und Physiologie de Meckel, 6, 41, 1832.  
IKEDA. — Z. Anat., 92, 1930.  
JENKINSON. — Arch. Entw. mechan., 21, 1906.  
JÖRG, H. — Zeit. Geburtshilfe und Gynäkol., 120, 1940.  
LEHMANN, F. E. — Roux'Arch., 136, 1937.  
LOMBARDINI. — Citado por DARESTE.  
MANGOLD, O. — Roux'Archiv., 117, 1929.  
MARCUS. — Anat. Anz., 75, 1932.  
MARINISCO, G. y G. ALEXIANU BUTTU. — Bull. Sect. Endocrin. Soc. roum. Neur., 4, 405, 1938.  
MORAND. — Collection des Mem. de l'Acad. des Sc., 1666 a 1689.  
MORGAN. — Roux'Arch., 15 y 19, 1902 y 1905.  
MORITA. — The Sei-i-Kai Medical Journal., 437, 1918, cit. Anat. Anz., 82, 1936.  
MÖLLENDORFF. — W. Z. Zellforsch., 29, 1939.  
RIOLAN. — Opuscula Anatomica varia et nova. París, 1652.  
SAGRA. — Contribución al estudio de ciertas malformaciones medulares. Tesis doctoral, 1941.  
SCHUMACHER. — Z. Mikrosk. Anat. Forsch., 10, 1927.  
SPERMANN, H. — Experimentelle Beiträge zu einer Theorie der Entwicklung, 1936.  
TELL. — Citado por ZONDEK.  
TÖNDURY, G. — Roux'Arch., 137, 1938.  
WARYNSKI. — Recueil Zoologique suisse, 1884.  
WETZEL, R. — Roux'Arch., 119, 1929.  
WOLFF, F. y WOLFF, M. — Z. Geburtsch., 114, 36, 1936.  
ZONDEK. — Las hormonas del Ovario y del lóbulo anterior de la Hipófisis. Editorial Labor, 1934.

#### ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit wird die Wirkung des Prolans auf die ersten Entwicklungsphasen des Hühnerembryons untersucht. Zu diesem Zwecke werden in frisch gelegte Eier (nach höchstens 20 Stunden Legezeit) der 10. oder 20. Teil eines ccm. von der Firma "Bayer" präpariertes Prolan eingeführt. Die Mortalität betrug 41,66 % die zur Zeit der Beobachtung Überlebenden machten 58,33 % aus. Die späteste Beobachtung datierte von 71 Stunden nach der Inkubation. Von den Überlebenden waren 18,75 % normal, die übrigen anormal. Von den anormalen Embryonen hatten 57,8 % eine asymmetrische Area vascularis; 15,78 % hatten eine Heterotaxie und 26,31 % wiesen Deformationen des

Nervensystems oder anderer Teile des embryonalen Körpers auf. Die erhaltenen Resultate werden eingehend besprochen. Als Folge davon kommt man zu der Ansicht, dass die Deformierungen infolge eines chemischen Einflusses entstanden sind, wenn sie auch experimentell vorher durch physikalische Mittel erzeugt wurden.

### RÉSUMÉ

Dans le travail on étudie l'action du Prolan sur les premières phases du développement de l'embryon du poulet. Pour cela dans des oeufs récemment pondus (le plus vieux étant de 20 heures) on introduisait un dixième ou un vingtième de c. c. de Prolan préparé par la maison "Bayer". La mortalité obtenue fut d'un 41,66 % et ceux qui vivaient au moment de l'observation étaient un 58,34 %. La dernière observation eut lieu au cours de la 71<sup>e</sup> heure après l'incubation.

Des survivants un 18,75 % étaient normaux et le reste c'était des embryons anormaux; un 57,8 % présentait une aire vasculaire asymétrique; un 15,78 % présentait hétérotaxie, et 26,31 % des malformations du système nerveux et d'autres parties du corps embryonnaire. On discute largement les résultats obtenus et, comme conséquence nous disons; bien que les malformations obtenues aient été produites expérimentalement auparavant, se servant de moyens physiques, qu'on peut affirmer sa production, au moyen de l'influence d'actions chimiques.

## EL EMPLEO DE LA VITAMINA E EN LOS PREMATUROS

J. GUTIÉRREZ ALONSO

Jefe de Clínica infantil del Hospital de la Cruz Roja. Bilbao

La crianza de los niños normales no siempre se verifica sin incidentes y es bien sabida la beneficiosa influencia que puede ejercer el médico con sus consejos. Esta influencia es mucho más manifiesta en los prematuros y débiles congénitos, que en la mayoría de los casos necesitan asiduos cuidados y una dirección inteligente, tanto más indispensable cuanto menos desarrollados al nacer sean estos niños.

Los progresos de la puericultura han resuelto ya, siquiera sea teóricamente, una serie de problemas que plantea la atención de los prematuros (englobamos en este término, no sólo a los que nacen antes del término normal del embarazo, sino a aquellos que viniendo al mundo después de una gestación de duración normal presentan un desarrollo escaso comparable en todo al de aquéllos).

Estos problemas, como son la regulación de la temperatura, humedad ambiente, cuidados higiénicos, profilaxis de las infecciones, etc., tropiezan con dificultades de solución en la práctica, pero en general se suelen resolver favorablemente y sobre todo, se sabe perfectamente cuál es la línea de conducta a seguir.

Mayores dificultades presenta la alimentación de

estos niños que ocasiona preocupaciones mucho más intensas que la de los niños normalmente desarrollados. La mortalidad de los prematuros es mucho mayor que la de los nacidos a término y está en relación con su peso al nacer. No se salvan los que nacen con un peso de 800 gramos o menos, muriendo del 80-90 por 100 de los que tienen un peso de 1.000 gramos a su nacimiento y hasta el 60-80 por 100 de los que le tienen comprendido entre 1.000 a 1.500 gramos.

La causa de esta mortalidad hay que buscarla, para los primeros días de la vida en las hemorragias de variada localización que suelen sufrir, sobre todo intracraneales, que en buena parte están en relación con una deficiente formación de protrombina consecutiva a una carencia en vitamina K y en los días subsiguientes y durante todo el primer trimestre a trastornos derivados de la labilidad trófica que presentan estos niños. Pasado el primer trimestre se van normalizando las funciones de nutrición, no sólo las digestivas, sino también las metabólicas, y desde entonces la crianza de estos niños se hace sin grandes obstáculos, poco mayores que los que hay que resolver en los casos de nacimiento normal.

Esta labilidad trófica está en relación directa con la alimentación, por una parte, y con los procesos del desarrollo, por otra. Contra una alimentación correcta se opone con una gran frecuencia la insuficiencia del reflejo de succión que trae como consecuencia en muchos casos una hipogalactia secundaria de la madre, sobre todo en clientela particular. Del mismo modo una insuficiencia del cierre del cardias ocasiona en estos niños constantes y abundantes regurgitaciones que les hacen perder una buena parte del alimento ingerido. También hay que contar con cierta escasez de la potencia digestiva, manifiesta, sobre todo, en las primeras tres semanas, con su cortejo de dispepsias, mucho más graves que la dispepsia fisiológica del niño a término, que no suele ser muy intensa y apenas dura una semana. Y no hablemos de la disergia que hace tan frecuentes y graves las más pequeñas infecciones, dependiente sobre todo, o al menos relacionada, con el grado de desarrollo de su pániculo adiposo.

La sencilla enumeración de estos graves obstáculos, aparte de otros muchos que se pueden presentar, para una alimentación correcta, da ya una idea de la cuidadosa atención que precisan estos niños que, aun en las mejores condiciones sociales, no siempre va seguida de éxitos.

Sin embargo, se ha observado que todas estas condiciones mejoran notablemente cuando los niños ganan una cantidad suficiente en peso. No son los días o semanas transcurridos desde su nacimiento los que nos dan una mayor tranquilidad y mayores facilidades para la alimentación, sino precisamente el aumento de peso. Por esta razón el problema de la alimentación de estos niños está íntimamente ligado al proceso de su crecimiento. Comprendiéndolo así se ha intentado por los más diversos procedimientos conseguir un rápido aumento del peso en las primeras semanas, substrayéndoles en lo posible a la terrible mortalidad que están acostumbrados a pagar.

Se ha visto, como era de esperar, que la lactancia materna es la que proporciona el mayor número de