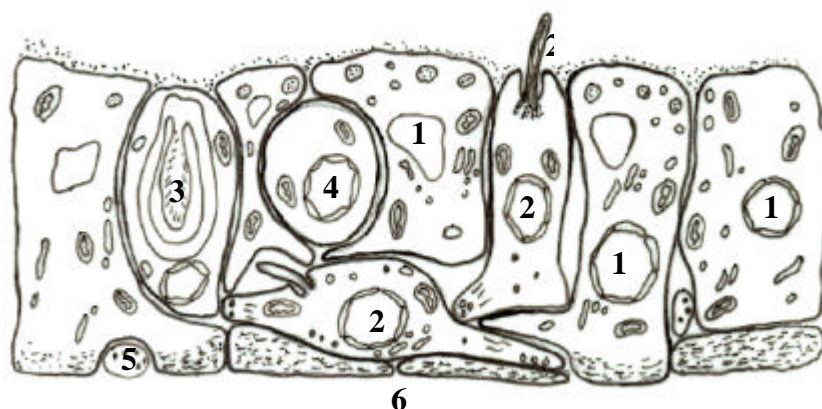


1. ACTIVIDAD NEUROSECRETORA. HIPÓFISIS.

La eficacia en la regulación del organismo depende de la acción coordinada de células nerviosas y endocrinas, asegurando la transmisión a las glándulas endocrinas de las señales aferentes del medio, tanto interno como externo. Aunque se podría pensar que la mayor eficacia para realizar esta cooperación, sería que las células endocrinas estuvieran invadidas directamente, este tipo de uniones constituyen más la excepción que la regla no siendo una característica del sistema endocrino. En contrapartida, lo que se ha desarrollado en todo el reino animal, es un tipo de control neural a través de células especializadas denominadas células neurosecretoras las cuales siendo neuronas, son capaces de sintetizar y liberar a la sangre ó a un órgano neurohemal, moléculas que van a regular la actividad de otras células. Este tipo de regulación está presente desde celentéreos hasta mamíferos.

Aunque no de forma estricta, podemos decir que el esquema básico de regulación neurosecretora en animales más evolucionados consta de: neurona-órgano neurohemal-célula endocrina; sin embargo en los primeros organismos en que se conoce actividad neurosecretora, celentéreos (*Hydra sp.*), era la misma neurona la encargada de percibir, sintetizar una molécula y secretarla controlando de esta forma la actividad del organismo (Fig 1).

CELENTÉREOS



1. Células mioepiteliales.
2. Células sensoriales.
3. Nematocisto.
4. Célula intersticial.
5. Proceso nervioso.
6. Mesoglea.

Fig 1. Esquema que ilustra el mecanismo general de neurosecreción en Celentéreos. Tomado de Matsumoto y Ishii (Atlas of Endocrine Organs. Springer-Verlag).

En los anélidos, ya fueron descritas células neurosecretoras y la existencia de un órgano neurohemal (Fig 2). En 1.936 Scharrer describió células neurosecretoras en el cerebro del poliqueto *Nereis virens* Sars, 1.835, y en algunos Oligoquetos; en estos animales las hormonas

que se han aislado están implicadas fundamentalmente en la maduración sexual y la reproducción. Además las hormonas también están implicadas en la regulación del peso corporal, presión osmótica y concentración de iones. Las técnicas inmunohistoquímicas, han puesto de manifiesto la presencia en estas células, de péptidos y hormonas implicados en la regulación hipofisaria de vertebrados y que tienen una estructura similar puesto que son capaces de ser reconocidas por anticuerpos contra péptidos de vertebrados. Así, se ha observado en Poliquetos, la presencia de somatostatina, β -endorfina, CRF, GHRH, β -MSH, CCK y VIP.

ANÉLIDOS

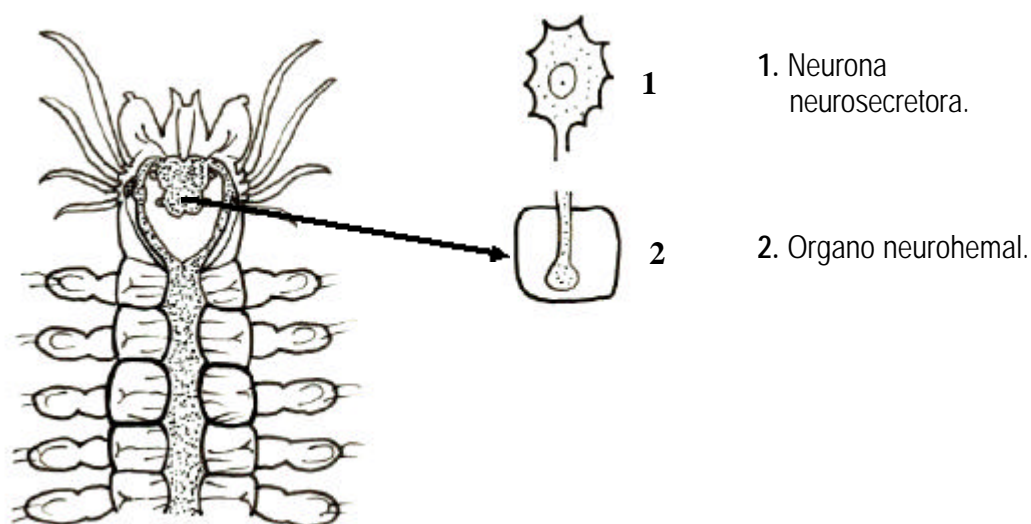
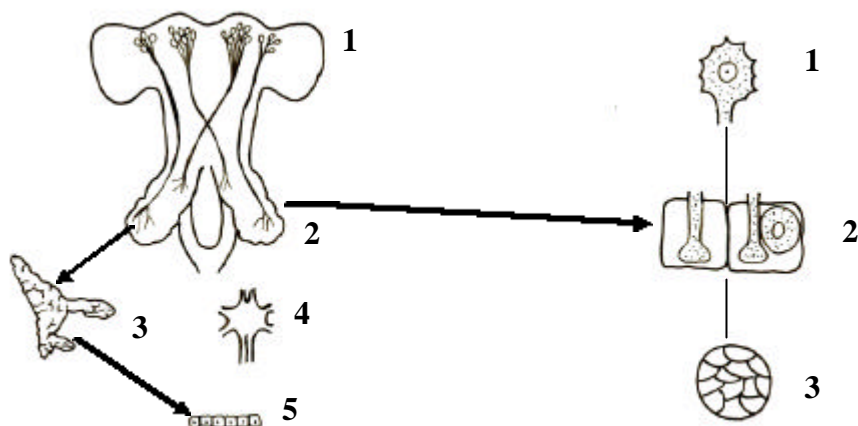


Fig 2. Esquema que ilustra el mecanismo general de regulación neurosecretora en Anélidos. Tomado de Matsumoto y Ishii (Atlas of Endocrine Organs. Springer-Verlag).

En artrópodos, desde crustáceos, ya pueden observarse glándulas epiteliales, cuyas células son dianas de los productos de secreción liberados desde un órgano neurohemal y secretados por neuronas neurosecretoras. Estas células epiteliales, ya son capaces de producir hormonas que van a controlar diversas funciones del organismo, es decir, son células glandulares independientes del tejido nervioso. Las células neurosecretoras en crustáceos, están localizadas en el cerebro y diversos ganglios como el subesofágico, torácico y abdominal; los terminales axónicos están generalmente agrupados formando un órgano neurohemal, desde donde liberan las hormonas a la hemolinfa. Algunas de estas hormonas van a actuar sobre células glandulares epiteliales, como las localizadas en el órgano Y productoras de la ecdisona y descubierto por Gabe en 1.953.

ARTRÓPODOS

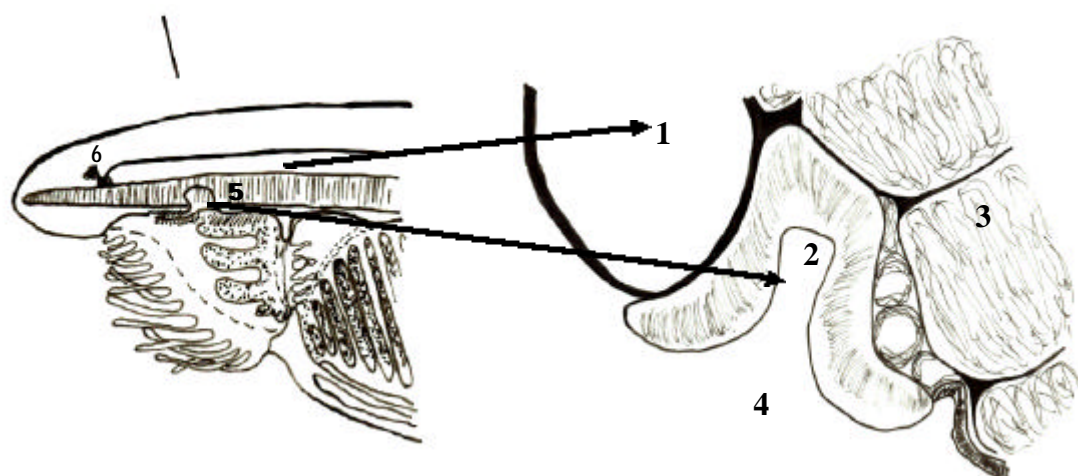


1. Cerebro (neuronas neurosecretoras).
2. Órgano neurohemal (Corpus allatum y Corpus cardiacum).
3. Glándula epitelial (Glándula protorácica, Órgano Y).
4. Cordón nervioso.
5. Células diana.

Fig 3. Esquema que ilustra el mecanismo general de regulación neurosecretora en Artrópodos. Tomado de Matsumoto y Ishii (Atlas of Endocrine Organs. Springer-Verlag).

Entre los invertebrados y los vertebrados, encontramos los protocordados, en los cuales se encuentran estructuras que, por su formación y función pueden homologarse a la hipófisis de vertebrados. Entre estas estructuras encontramos, la glándula neural de tunicados o la fosa de Hatschek de *Amphioxus sp.* (Fig 4). Esta última es la más próxima a la hipófisis en su origen y función; sin embargo, los estudios en estas especies son escasos y no están claros algunos aspectos. Así, la fosa de Hatschek, que parecía ser una evaginación del epitelio oral, se desarrolla desde una bolsa preoral de la larva. Por otro lado, estas estructuras no han sido identificadas definitivamente como órganos endocrinos aunque se han detectado en ellos inmunoreactividad para hormonas como las de vertebrados, ACTH, α -MSH, β -endorfina o LHRH.

AMPHIOXUS



1. Notocorda.
2. Fosa de Hatschek.
3. Músculos parietales.
4. Vestíbulo oral.
5. Cordón nervioso.
6. Fosa olfatoria.

Fig 4. Esquema que muestra la fosa de Hatschek, estructura análoga a la hipófisis de vertebrados, en un ejemplar adulto de *Amphioxus sp.* Tomado de Matsumoto y Ishii (Atlas of Endocrine Organs. Springer-Verlag).

En los vertebrados, la hipófisis es el componente clave del sistema neuroendocrino y de la regulación neurosecretora. Esta glándula mixta, constituye por una parte un órgano neurohemal, que contiene la secreción de los terminales axónicos de neuronas neurosecretoras, y por otra, una glándula endocrina de origen epitelial que secreta hormonas que van a regular la actividad de otras glándulas totalmente epiteliales; la regulación de la parte epitelial de la hipófisis también procede en parte, de la secreción de neuronas neurosecretoras. La parte epitelial se origina a partir de una evaginación del epitelio de la cavidad bucal denominada bolsa de Rathke. En las formas más primitivas como el milkfish la bolsa es retenida durante toda la fase larvaria, observándose una región rostral que contiene un tipo celular secretor el cual, por sus características ultraestructurales y de afinidad tintorial, se asemeja a las células productoras de prolactina, y una región caudal abierta a la cavidad bucal cuyas células presentan cilios en la superficie apical. Es posible que estas células actúen como quimiorreceptores y que sus especializaciones apicales puedan testar el fluido presente en la bolsa y dirigir, en base a estas señales externas, la síntesis y liberación de hormonas (Loretz y col. 1.982; Foskett y col

1.983; Schreibman 1.986) lo cual constituye un mecanismo de regulación directo. Progresivamente se van a ir complicando tanto la estructura anatómica como los mecanismos de regulación, pasando de este tipo de estructuras relativamente sencillas a la hipófisis de los vertebrados más evolucionados, compuesta de células dispuestas en cordones cuya actividad está regulada por sofisticados mecanismos que implican la secreción por parte de neuronas neurosecretoras, de péptidos que, liberados vía sanguínea, van a actuar regulando la actividad de cada una de las células epiteliales.

La hipófisis de los vertebrados se sitúa en la zona ventral diencefálica; está alojada en una depresión ósea situada en el hueso esfenoides denominada silla turca. Desde el punto de vista embriológico, la hipófisis es un órgano doble de origen ectodérmico y neural, consecuencia de lo cual son sus dos componentes estructural y funcionalmente distintos: La adenohipófisis y la neurohipófisis respectivamente. La adenohipófisis se origina a partir de una evaginación del estomodeo (epitelio de la cavidad bucal primitiva), mientras que la neurohipófisis tiene su origen en una evaginación de la base del diencefalo, es decir, va a constituir una prolongación del hipotálamo. Esta dualidad es la que permite la interrelación funcional de sistema nervioso y endocrino.

Anatómicamente, de forma general, la adenohipófisis se divide rostrocaudalmente, en tres regiones: la pars tuberalis o lóbulo tuberal, la pars distalis o lóbulo anterior y la pars intermedia o lóbulo intermedio. El lóbulo tuberal, en estrecho contacto con la eminencia media, forma junto con ella el tallo hipofisario. Citológicamente, está constituido por células glandulares con características endocrinas; por otra parte, es la zona más irrigada de la hipófisis puesto que debido a su localización, los vasos sanguíneos de los plexos que irrigan el lóbulo anterior deben primero irrigar el lóbulo tuberal (Knowles y Anand Kumar 1.969; Dierickx 1.971). Otra característica de las células del lóbulo tuberal es su contacto con los tanicitos, células que bordean el tercer ventrículo (Knowles y Anand Kumar 1.969; Blier 1.972; Kobayashi y col. 1.972, 1.975); los pies terminales de los tanicitos pueden terminar sobre los vasos porta o sobre las mismas células del lóbulo. De esta forma, los tanicitos parecen establecer un nexo entre líquido cefaloraquídeo, células del lóbulo tuberal y posiblemente vasos porta. (Knowles y Anand Kumar 1.969; Kobayashi y Matsui 1.969; Knigge y col. 1.972; Kobayashi y col. 1.972; Katzman y Pappius 1.973; Kobayashi 1.975). Todas estas características ya proponen un sistema de regulación que desconocemos todavía a pesar de conocer las características morfológicas desde

hace varias décadas. Además también sabemos que en todos los grupos de vertebrados desde anfibios (Baker y Yu 1.975; Baker y col. 1.977; Pearson y Litch 1.982; Gross 1.984; Nemeskéri y col. 1.988; Bello y col. 1.991a; Japon y col. 1.994; Kameda y col. 1.998) hasta humanos (Midgley 1.966) ha sido puesta de manifiesto la presencia de hormonas en células de este lóbulo, similares a las del lóbulo anterior, aunque algunos autores también han observado células aparentemente específicas que no reaccionan con ninguno de los anticuerpos contra las hormonas clásicas (Pearson y Litch 1.982). Las características morfológicas y su relación con las estructuras adyacentes, así como la presencia de hormonas en sus células, hace suponer una importante función para este lóbulo en el proceso de la regulación neuroendocrina; sin embargo, todos los aspectos relacionados con la funcionalidad del lóbulo siguen siendo desconocidos.

El lóbulo anterior, con la secreción de sus diversos tipos celulares, controla la actividad de las glándulas endocrinas periféricas (adrenales, tiroides y gónadas) además de contribuir al control de otras actividades fisiológicas como el crecimiento, pigmentación de la piel, parto, lactancia y metabolismo hidrosalino. Las células de este lóbulo presentan péptidos (Bello y col. 1.991b, 1.992, 1.993, 1.999, 2.002; Reyes y col. 1.998, 2.000a, 2000b, 2.001) que modulan en cierta medida, junto con los péptidos hipotalámicos, la acción de sus hormonas si bien su mecanismo de acción sigue siendo desconocido.

El lóbulo intermedio, de muy variable desarrollo según las especies, presenta un solo tipo celular productor de pro-opiomelanocortina; si bien se le ha asociado normalmente con la producción de MSH y el control de la pigmentación (Howe 1.973), hasta ahora se desconoce el papel que pueden tener el resto de componentes de la POMC, que también son sintetizados por las células de este lóbulo.

La neurohipófisis, aunque morfológicamente es una prolongación de la base del hipotálamo, se puede dividir en dos regiones atendiendo a su funcionalidad, la eminencia media donde terminales nerviosos sinaptan en los capilares que constituyen la primera red del sistema porta, y el lóbulo nervioso o lóbulo posterior donde son liberadas y se acumulan hormonas producidas por núcleos hipotalámicos. El conjunto de eminencia media y lóbulo tuberal constituye el denominado tallo hipofisario. Los terminales de la eminencia media liberan a la sangre portal los péptidos reguladores de la actividad hipofisaria producidos por neuronas

hipotalámicas. Las hormonas del lóbulo posterior son liberadas a la circulación sistémica y ejercen cuatro acciones principales: elevación de la presión sanguínea (acción vasopresora), contracción de la musculatura lisa a nivel de la mama y a nivel del útero (acción oxitócica) y reducción de la producción de orina (acción antidiurética).

2. EVOLUCIÓN FILOGENÉTICA DE LA MORFOLOGÍA HIPOFISARIA EN LOS VERTEBRADOS.

A lo largo de la filogenia la hipófisis muestra, tanto en la morfología de los diferentes lóbulos, como en la distribución de los distintos tipos celulares, una gran diversidad. Se pueden presentar cambios importantes incluso dentro de un mismo grupo; los grupos de vertebrados que presentan una mayor diversidad en la morfología hipofisaria son los menos evolucionados, peces, anfibios y reptiles. A los Peces pertenecen los vertebrados más primitivos, los agnatos; de forma general en especies más primitivas pertenecientes a este grupo, hay una completa separación entre neurohipófisis y adenohipófisis estando relacionadas por medio de tejido conjuntivo. En estos animales no existe una verdadera eminencia media ni sistema porta (Gorbman 1.965; Kobayashi y Uemura 1.972; Gorbman 1.983a, 1.983b). En peces más evolucionados, y en uno de los grupos más estudiados, los teleósteos, la neurohipófisis tiene una estrecha relación estructural con todas las zonas adenohipofisarias (Fig 5) lo que hace que este grupo sea el único que presenta células adenohipofisarias directamente invadidas; a pesar de que, en algunas especies esto no ocurre y presentan un elaborado sistema de circulación que lleva los productos neurosecretores hasta las células glandulares (Fridberg y Ekengren 1.977; Knowles y Vollrath 1.966; Abraham y col. 1.982), no existe una verdadera eminencia media ni un verdadero sistema porta en este grupo de vertebrados. La neurohipófisis de los peces teleósteos, recibe terminales nerviosos desde núcleos hipotalámicos, lateralis tuberis, ó extrahipotalámicos, nucleus olfatorinalis, (Schreibman y col. 1.982; Halpern-Sebold y Schreibman 1.983) y puede dividirse en dos partes, en contacto con la pars distalis y la pars intermedia respectivamente.

La adenohipófisis de los grupos menos evolucionados, en general, no está diferenciada en zonas (Holmes y Ball 1.974) estando generalmente formada por islotes de células incluidos en un conjuntivo laxo pobremente vascularizado el cual se continúa con el conjuntivo que la separa de la neurohipófisis (Olsson 1.969; Fernholm 1.972; Tsukahara y col. 1.986).

Los peces teleosteos, grupo de vertebrados con mayor número de especies y mayor diversidad hipofisaria, tienen sin embargo en común, una adenohipófisis dividida en tres regiones distintas, pars distalis rostral, pars distalis caudal y pars intermedia (Fig 5). La claridad de esta separación se debe a la restricción en la presencia de ciertos tipos celulares en cada una de las regiones (Schreibman y Margolis-Kazan 1.979), en este grupo todavía no ha sido descrito un lóbulo tuberal o su equivalente (Fitzgerald 1.979; Schreibman 1.986)

En Anfibios, a diferencia de lo que se observa en peces, la hipófisis presenta mayor similitud con la del resto de los vertebrados. Adenohipófisis y neurohipófisis son dos zonas independientes pero interrelacionadas, existiendo una verdadera eminencia media y un lóbulo neural, además de estar bien establecido un sistema porta; sin embargo, la eminencia media sigue manteniendo relación con el lóbulo intermedio y las células de este pueden presentar innervación directa (Schreibman 1.986).

La adenohipófisis está compuesta de un lóbulo distal claramente diferenciado en dos regiones, una rostral y otra caudal; caudalmente se continúa con el lóbulo intermedio, diferenciado del anterior, y rostralmente se conecta con la eminencia media por una zona de tejido conjuntivo a través del cual pasan los vasos portales (Fig 5). El lóbulo tuberal se observa en anfibios por primera vez durante la filogenia de los vertebrados (Fitzgerald 1.979); su formación ocurre, como en todos los vertebrados, posteriormente con la proyección de dos expansiones laterales a partir de la bolsa de Rathke. Sin embargo, el lóbulo tuberal en este grupo presenta al menos tres estructuras morfológicas diferentes según los distintos órdenes. Así en anuros, considerados los más evolucionados, el lóbulo tuberal se reduce a un par de capas de células a ambos lados del tuber cinereum y rodeando parcialmente la eminencia media (Fig 5) (Fitzgerald 1.979). En urodelos, el lóbulo tuberal no está completamente separado del lóbulo distal sino que mantiene una íntima conexión con la parte rostral de este (Fitzgerald 1.979).

Otro aspecto que se repite en este grupo de vertebrados es la regionalización de las células en el lóbulo distal lo que determina las dos regiones en que se divide el mismo. Aunque esta regionalización es más patente en urodelos, de forma general se ha observado que, las células corticotropas (ACTH) y lactotropas (PRL), se localizan en la pars distalis rostral, las células tireotropas (TSH) y gonadotropas (FSH y LH) en la zona media, las células somatotropas en la pars distalis caudal y las células melanotropas (MSH) en la pars intermedia (Doerr-Schott y

Dubois 1.973; Van Oordt 1.974; Doerr-Schott 1.976; Schreibman y Holtzman 1.975; Nyholm y Doerr-Scott 1.977; Moriceau-Hay y col. 1.979, 1.982).

Los Reptiles ocupan una posición central en la evolución de los tetrápodos. Al igual que en peces, la hipófisis en este grupo de vertebrados presenta una enorme diversidad anatómica, existiendo formas menos evolucionadas que presentan características comunes a los anfibios y formas más evolucionadas que presentan características comunes a las aves y a los mamíferos. La anatomía de la hipófisis de reptiles ha sido extensamente estudiada por Wingstrand (1.966) y Saint-Girons (1.963, 1.967, 1.970).

A pesar de la diversidad, de forma general en todas las especies de reptiles, la neurohipófisis está formada por un lóbulo neural y una verdadera eminencia media que sólo contacta con la región rostral del lóbulo anterior por una red de capilares en un escaso tejido conjuntivo. En este grupo ya no se observa invasión directa de las células glandulares en ninguno de los lóbulos, característica que se mantendrá hasta los vertebrados más evolucionados.

Los distintos lóbulos de la adenohipófisis presentan grandes diferencias tanto en su desarrollo como en su localización. Las formas más primitivas, *Sphenodon sp.*, tortugas y cocodrilos presentan un lóbulo intermedio y un lóbulo tuberal bien desarrollados y un lóbulo anterior claramente dividido en una región rostral y una región caudal (Fig 5), en función de la regionalización de las células secretoras que continúa en este grupo. En Lacértidos el lóbulo tuberal se encuentra, al igual que en algunos anfibios, formado por dos grupos celulares alojados en el cerebro, rostralmente a la eminencia media, y que han perdido completamente su conexión con la hipófisis (Fig 5) (Holmes y Ball 1.974; Bello 1.987; Bello y col. 1.991a). Su presencia, dentro del tejido nervioso, hizo pensar durante mucho tiempo que no existía lóbulo tuberal en este grupo.

Otras especies carecen de lóbulo tuberal, no desarrollándose nunca esta estructura como es el caso de los Ofidios (Holmes y Ball 1.974).

Con respecto a la regionalización de los diferentes tipos celulares secretores, continúa en este grupo de vertebrados, aunque alguno de los tipos celulares ya puede observarse

disperso por todo el lóbulo anterior como ocurre con las células gonadotropas (Pearson y Litch 1.974; Pearson y col. 1.983; Batista y col. 1.989).

La hipófisis de Aves, descrita por Wingstrand (1.951), presenta una estructura anatómica entre la hipófisis de mamíferos y la hipófisis de reptiles.

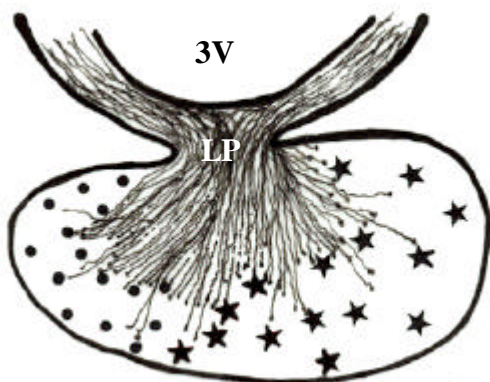
Sin embargo, algunas características son exclusivas de la hipófisis de aves, así, presenta una separación entre neurohipófisis y adenohipófisis que la hace menos compacta que la hipófisis de mamíferos (Fig 5). La eminencia media de las aves comprende dos regiones que van a irrigar a su vez las dos regiones en que se divide el lóbulo distal (Wingstrand 1.951; Vitums y col. 1.964; Calas y Assenmacher 1.970). La adenohipófisis de aves carece de lóbulo intermedio, responsable de la separación entre neurohipófisis y adenohipófisis. El lóbulo anterior está diferenciado en una región céfalica o rostral y una región caudal, y presentan un lóbulo tuberal bien desarrollado similar al de mamíferos, que contacta con la eminencia media rodeándola externamente (Wingstrand 1.951).

Las aves, al igual que el resto de los vertebrados no mamíferos, presentan una marcada regionalización de los diferentes tipos celulares secretores, si bien en algunas especies, al igual que ocurre en reptiles, se observan tipos celulares no regionalizados que aparecen distribuidos por todo el lóbulo anterior, como son las células gonadotropas y las células tireotropas (Kansaku y col. 1.994; Allaerts y col. 1.999).

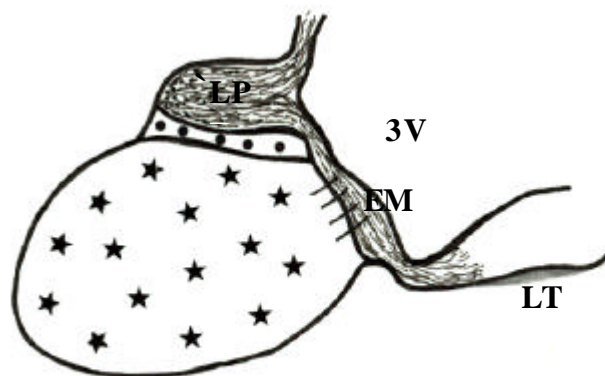
En Mamíferos, la hipófisis de forma general, responde al esquema de división en neurohipófisis con un lóbulo neural ó lóbulo posterior desarrollado y una eminencia media que comunica por un plexo capilar, con la zona más rostral del lóbulo anterior (Fig 5).

La adenohipófisis presenta un lóbulo anterior que no presenta división marcada en regiones, un lóbulo intermedio, que contacta con la zona más caudal del lóbulo anterior, y un lóbulo tuberal que forma junto con la eminencia media el tallo hipofisario (Fig 5) y cuyos vasos sanguíneos se comunican también, al igual que la eminencia media, con la zona más rostral del lóbulo anterior. A diferencia del resto de los vertebrados, en mamíferos no se observa regionalización de ninguno de los tipos celulares secretores, encontrándose cada uno de ellos

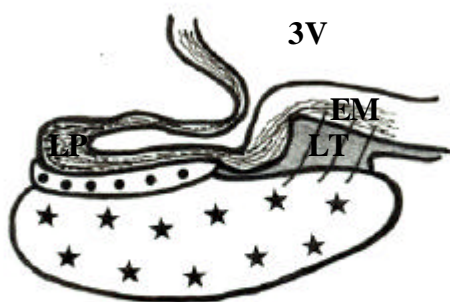
PECES (TELEÓSTEOS)



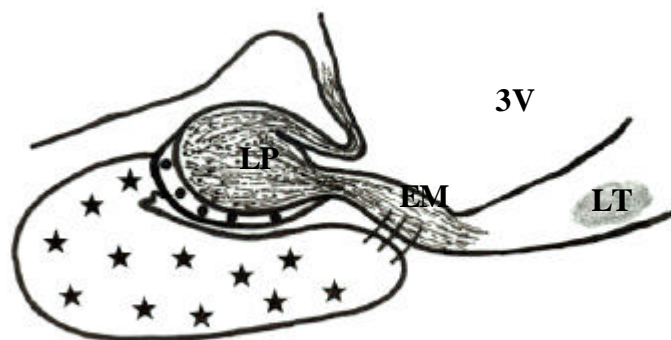
ANFIBIOS (ANUROS)



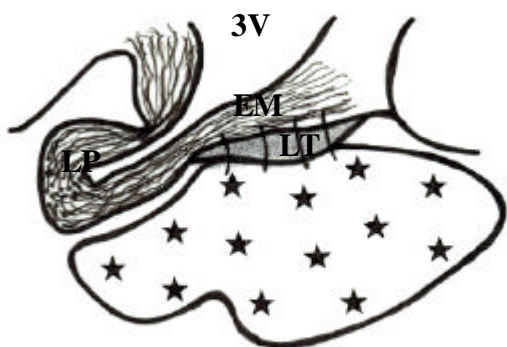
REPTILES (QUELONIOS)



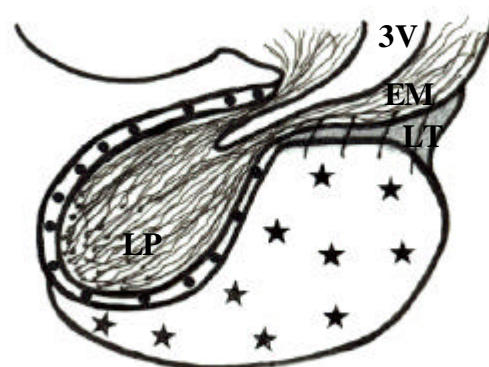
REPTILES (LACÉRTIDOS)



AVES



MAMÍFEROS



Lóbulo tuberal: LT. Lóbulo anterior: ★. Lóbulo intermedio: - . Lóbulo posterior: LP.
Eminencia media: EM. Tercer ventrículo: 3V.

Fig 5. Esquema que ilustra la variabilidad morfológica de la hipófisis en los distintos grupos de vertebrados. Tomado de Matsumoto y Ishii (Atlas of Endocrine Organs. Springer-Verlag).

distribuidos por todo el lóbulo anterior (Nemeskéri y col. 1.988; Dohl y col. 1.988; Japon y col. 1.994).

3. DESARROLLO Y DIFERENCIACIÓN DE LA HIPÓFISIS.

En el estudio de cualquier órgano, para llegar mejor al conocimiento de su fisiología, y al porqué de la relación de su estructura con la fisiología, no sólo es importante la evolución filogenética de dicha estructura sino su desarrollo. Estudiando el origen de su formación podemos llegar a comprender la estructura del órgano completamente desarrollado.

El desarrollo de un órgano, ocurre como consecuencia de una serie de procesos embriológicos no del todo conocidos, como son inducción, proliferación y diferenciación.

Dada la importancia de la hipófisis en la regulación de todos los organismos, y la gran heterogeneidad que presenta esta glándula en función del grupo o la especie, el estudio de su desarrollo puede acercarnos tanto, a esclarecer procesos comunes de su fisiología, como el porqué de las diferencias entre grupos.

La ontogenia de la hipófisis ha sido estudiada en todos los grupos de vertebrados (Rathke 1.838; Sesseel 1.877; Schwind 1.928; Wingstrand 1.951; Rugh 1.968; Schreibman y col. 1.973; Pearson y col. 1.974, 1.977; Nyholm y col. 1.977; Schreibman y Margolis-Kazan 1.979; Schreibman y col. 1.979; Gasc y Sar 1.981; Moriceau-Hay y col. 1.982; Pearson y col. 1.982, 1.983; Thommes y col. 1.987; Batista y col. 1.989). La mayoría de estos, son estudios estructurales que aportan datos exclusivamente morfológicos (Schwind 1.928; Wingstrand 1.951; Rugh 1.968; Pearson y Litch 1.974; Svalander 1.974; Schreibman y col. 1.979) es decir, características del esbozo hipofisario o de determinados tipos celulares a microscopía óptica y electrónica, observados durante el desarrollo. Estos datos han sido corroborados en trabajos posteriores (Pearson y Litch 1.982; Moriceau-Hay y col. 1.982; Pearson y col. 1.983; Bello 1.987; Asa y col. 1.988; Bello y col. 1.991a).

Estos estudios han establecido un patrón de desarrollo para la hipófisis que es común a todos los vertebrados a pesar de la diversidad en la estructura de la glándula adulta. En todos los vertebrados, la hipófisis tiene un origen doble. La neurohipófisis que se desarrolla a partir de la

base del diencefalo, y la adenohipofisis que tiene su origen en el epitelio de la cavidad bucal primitiva ó estomodeo. Sin embargo, existe desacuerdo en algunos casos como en la tortuga marina **Caretta caretta** Linnaeus, 1.758, donde Pearson y col. (1.983) proponen un origen endodérmico para las células productoras de hormonas peptídicas (ACTH, MSH GH y PRL), asimismo en marsupiales ha sido descrita la participación de la bolsa de Sessel, de origen endodérmico, en la morfogénesis hipofisaria (Hall y Hughes 1.985) y en aves, donde usando el sistema de quimeras codorniz-pollo, Eagleson y col. (1.986) y Couly y Le Douarin (1.985, 1.987) proponen un origen neuroectodérmico a partir del borde anterior de la placa neural para las células productoras de ACTH. Trabajos más recientes (Cobos y col. 2.001) usando la misma técnica de quimeras codorniz-pollo, así como el del grupo de Kouki y col. (2.001) usando una técnica combinada de marcaje con Dil e inmunofluorescencia, han propuesto un origen completamente ectodérmico del esbozo adenohipofisario.

Técnicas más recientes como la inmunohistoquímica ó la hibridación *in situ*, aplicadas al estudio de la hipófisis en desarrollo, han permitido contestar algunas preguntas cómo el momento de diferenciación de cada tipo celular y el patrón de distribución de cada uno de ellos (Nyholm y col. 1.977; Schreibman y Margolis-Kazan 1.979; Gasc y Sar 1.981; Pearson y col. 1.982; Moriceau-Hay y col. 1.982; Pearson y col. 1.983; Thommes y col. 1.987; Nemeskeri y col. 1.988; Dihl y col. 1.988; Asa y col. 1.988; Batista y col. 1.989; Bello y col. 1.991a; Japon y col. 1.994; Allaerts y col. 1.999). A pesar de que estos estudios se han ocupado sólo de una parte de los fenómenos que ocurren durante el desarrollo, es decir, de la proliferación y diferenciación, no existe acuerdo sobre los resultados obtenidos incluso dentro un mismo grupo de vertebrados (Gasc y Sar 1.981; Thommes y col. 1.987; Nemeskéri y col. 1.988; Japon y col. 1.994; Porter y col. 1.995; Allaerts y col. 1.999). Estas diferencias son más importantes en aves y mamíferos, siendo especialmente contradictoria la información en las aves.

Una cuestión importante que puede explicar la distribución de los distintos tipos celulares o la presencia de regionalización o no de las células en el lóbulo anterior, sería resolver cuál es el mapa de diferenciación de los distintos tipos celulares a partir de la primitiva bolsa de Rathke. Este problema sólo ha sido planteado en dos especies de reptiles, la tortuga marina **Caretta caretta** Linnaeus, 1.758 (Pearson y col. 1.983) y el Lacértido **Gallotia galloti** Duméril y Bibron, 1.839 (Bello 1.987; Batista y col. 1.989).

Con respecto a los mecanismos implicados en la diferenciación de los distintos tipos celulares de la hipófisis existen en la literatura numerosos datos sobre la influencia que ejercen los tejidos circundantes, tanto el tejido nervioso como el mesénquima, en las primeras etapas de formación del esbozo hipofisario, así como en la proliferación y diferenciación de las células (Etkin 1.935; Atwell 1.935, 1.937; Atwell y Taft 1.940; Driskoll y Eakin 1.955; Etkin 1.958a, 1.958b; Chang 1.957; Sobell 1.958; Hanakoa 1.967; Le Douarin y col. 1.967; Le Douarin y Ferrand 1.968; Ferrand y Le Douarin 1.968; Ferrand 1.969, 1.972; Watanabe 1.982, 1.985). Estudios recientes *in vitro* han identificado como posibles candidatos de esta acción inductora a algunas moléculas procedentes de estos tejidos entre ellas distintas formas de FGF (Factor de crecimiento Fibroblástico) y BMPs (Proteínas Morfogenéticas del Hueso) (Ericson y col. 1.998).

Otros estudios *in vitro*, han implicado asimismo en la diferenciación de algunos tipos celulares hipofisarios, a distintas moléculas tales como factores liberadores hipotalámicos (Bégeot y col. 1.984; Héritier y Dubois 1.993, 1.994), péptidos (Héritier y col. 1.994) y algunas hormonas periféricas (Hemming y col. 1.984, 1.988; Mörpurgo y col. 1.997). Estudios muy recientes han involucrado en estos procesos a una serie de genes denominados comúnmente "genes del desarrollo", aunque muchos de ellos se expresan en el estado adulto, pertenecientes entre otras a las familias de genes homeobox y LIM-homeobox, los cuales codifican en su mayoría para factores de transcripción que parecen jugar papeles importantes en las primeras etapas de formación de la hipófisis (Dollé y col. 1.990; Simmons y col. 1.990; Walther y Gruss 1.991; Gérard et al. 1.993; Hermeszy y col. 1.996; Gage y col. 1.996; Mucchielli y col. 1.996; Lamonerie y col. 1.996; Szeto y col. 1.996; Sheng y col. 1.997; Parks y col. 1.997; Gage y Camper 1.997; Lanctôt y col. 1.999; Mullis 2.001; Suh y col. 2.002) así como en la determinación y presuntamente, en la diferenciación de algunas de las líneas celulares hipofisarias (Lin y col. 1.994; González-Parra y col. 1996; Cohen y col. 1.996; Sheng y col. 1.996, 1.997; Watkins-Chow y Camper 1.998; Lanctôt y col. 1.999; Mullis 2.001; Suh y col. 2.002).

Los trabajos realizados en los últimos años, muestran que otro aspecto que puede aportar datos al proceso de diferenciación funcional de la hipófisis es el estudio de la presencia de proteínas ligantes de Calcio (Ca^{2+}). El Ca está implicado en muchas funciones de la célula diferenciada, incluido el proceso de secreción (Kretsinger 1.979, 1.981; Klee y Vanamann 1.982; Means y col. 1.982; De Lorenzo 1.982; Van Eldik y col. 1.982; Watterson y col. 1.984; Cohen y

Klee 1.988; Kretsinger y col. 1.988). Durante el desarrollo se ha observado, en células nerviosas, que una de estas proteínas, la Calbindina D28K, aparece en ciertas regiones del cerebro, casi invariablemente, 1-2 días después del cese de la división celular y el comienzo de la migración neuronal sugiriendo que la calbindina puede influir sobre estos procesos dependientes de Ca^{2+} (Enderlin y col. 1.987; Bastianelli y Pochet 1.993). Además, se han puesto de manifiesto distintos tipos de estas proteínas capaces de unirse al Ca^{2+} en funciones específicas cada una de ellas (Wnuk y col. 1.982; Bronner y col. 1.986; Calabretta y col. 1.986; Zimmer y Van Eldik 1.986, 1.987; Odink y col. 1.987; Ferrari y col. 1.987; Radeke y col. 1.987; Ringwald y col. 1.987; Rogers 1.987; Kägi y col. 1.987; Masiakowski y Shooter 1.988; Shori y col. 1.988; Huang y col. 1.988a, 1.988b; Hatta y col. 1.988; Kägi y col. 1.988).

Teniendo en cuenta que han sido descritas en células endocrinas incluidas las células hipofisarias (Buffa y col. 1.989, 1.990; Abe y col. 1.990; Cimini y col. 1.997), es de interés, poder determinar cuál o cuáles de estas proteínas se expresan durante el desarrollo de la hipófisis, si esta expresión se mantiene en la hipófisis adulta y que papel están desempeñando dichas proteínas en tales procesos.

4.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.

De todo lo expuesto anteriormente se deduce que la hipófisis de los distintos vertebrados está constituida por células que secretan una serie de hormonas, muchas de ellas coliberadas con péptidos, y que van a actuar sobre células diana para regular múltiples funciones del organismo. Además, se sabe que la distribución de los tipos celulares no es la misma en los distintos grupos de vertebrados y que la funcionalidad de algunos de los lóbulos hipofisarios continua siendo desconocida. De igual forma se conocen algunos datos indirectos en relación con factores de diferenciación celular que no siempre están relacionados con el resto de fenómenos ocurridos durante el desarrollo hipofisario.

En consecuencia hemos querido relacionar los resultados sobre distintos aspectos del desarrollo para tratar de entender mejor la funcionalidad de la glándula en el estado adulto, al mismo tiempo que comparar especies distintas intentando correlacionar esas diferencias con fenómenos ocurridos durante el desarrollo. Con este propósito hemos planteado, en primer lugar dos grandes objetivos generales:

1.- Utilizando tres especies, pertenecientes a dos grupos de vertebrados que presentan patrones de distribución celular diferentes, mamíferos y aves, estudiar a partir de qué zona del esbozo proliferan y como se diferencian los distintos tipos celulares; como consecuencia, cómo se forman los distintos lóbulos con su característica distribución celular. Utilizando distintas técnicas, histológicas e inmunohistoquímicas podremos saber si lo que observamos en la hipófisis adulta es consecuencia de la forma en que ocurre la proliferación y la diferenciación durante el desarrollo.

2.- Correlacionar los procesos de proliferación y diferenciación celular a lo largo del desarrollo, incluyendo el estudio de factores implicados en la diferenciación, actividad y funcionalidad celular. Si bien el estudio de factores que nos pueden indicar actividad celular, proteínas ligantes de calcio, los estudiaremos en todas las especies mediante inmunohistoquímica, para estudiar la proliferación en células diferenciadas así como la expresión de factores reguladores de la funcionalidad celular (péptidos hipotalámicos ó hipofisarios) y factores de diferenciación como el gen Pitx 2, utilizaremos como modelo el ratón. La elección de esta especie, se debe a que es representante del único grupo de vertebrados, mamíferos, del que se tienen numerosos datos que demuestran la acción de estos factores reguladores ó de diferenciación.

En segundo lugar, como objetivos concretos, estudiar en el ratón:

1.- El origen de los distintos lóbulos y tipos celulares adenohipofisarios a partir de la bolsa de Rathke.

2.- La secuencia de la diferenciación hormonal.

3.- La proliferación celular durante el desarrollo embrionario y posnatal y su relación con la diferenciación.

4.- El inicio de la expresión de factores hipotalámicos o hipofisarios conocidos como reguladores de la funcionalidad de las células diferenciadas.

5.- La relación con la diferenciación de las células hipofisarias, de la expresión de factores indicadores de actividad celular o implicados en la diferenciación.

Habida cuenta que la hipófisis de aves es distinta en su organización y distribución celular por presentar algunos tipos celulares regionalizados, usando como modelo el pollo y la codorniz, compararemos los fenómenos que conducen a la formación de los distintos lóbulos hipofisarios así como a la diferenciación de los distintos tipos celulares, con los datos obtenidos en los objetivos 1 y 2 del ratón.