
INFLUENCIA DE LOS LIQUIDOS OCULARES Y DEL ACIDO HIALURONICO SOBRE LA METAMORFOSIS DEL AJOLOTE DE XOCHIMILCO (*Siredon mexicanus* SHAW)

EDUARDO VERGARA SOTO y MARCO A. TAPIA
Departamento de Fisiología. Escuela
de Medicina. Universidad Nacional de
México

En 1912 Gudernatsch (1), demostró que los extractos tiroideos aceleran notablemente la metamorfosis de los renacuajos, y en 1918, Allen (2) observó que las larvas tiroidectomizadas de *Rana pipiens*, sólo inician el desarrollo de los miembros posteriores, suspendiéndose la evolución. Posteriormente se observó que los extractos tiroideos tienen efectos distintos sobre la metamorfosis de otros anfibios: en aquellos que evolucionan espontáneamente, siempre aceleran la metamorfosis; en otros, como los de la familia Proteidae, que permanecen en estado larvario toda su vida, no provocan ningún cambio morfológico; tal acontece con el *Necturus* americano, que no sufre metamorfosis a pesar de poseer glándula tiroidea fisiológicamente activa (3), ni aun cuando se le inyecten 20 miligramos de tiroxina (4). En fin, el *Ambystoma tigrinum*, que no se transforma espontáneamente, y alcanza su madurez sexual conservando su forma larvaria (neotenia) sufre la metamorfosis si se agrega tiroide al agua en donde vive (4) (5) (6).

Swingle (3) considera que el estado de neotenia, más que a defecto morfológico de la glándula, o a incapacidad de ella para sintetizar su hormona, es debido a la inhibición de la secreción (excreción) tiroidea. Sin embargo, según Pensen (6) pueden demostrarse alteraciones histológicas en los tiroides de ajolotes de más de tres a seis meses de edad.

La diferencia en las respuestas de los distintos grupos de anfibios, a la acción del tiroide, llevó a Huxley (7) (8) a enunciar el principio general de "la reactividad específica de los tejidos a las hormonas", que explicaría en parte la neotenia del ajolote, también atribuible, al menos parcialmente, a la falta de liberación de hormona tiroidea. Este último factor está considerablemente influido por la hipófisis anterior, como lo demostró Smith (9) y fue confirmado por Allen (10), Adler (11) y Swingle (4). D'Angelo y colabs. (12) demostraron en el renacuajo, que dicho efecto es mediado por la hormona tirotrópica.

Por las razones que expondremos más adelante (véase la discusión) consideramos que de existir la distinta reactividad de los tejidos a la hormona tiroidea, invocada por Huxley, podría ser debida en buena parte, a los diversos tipos de mucopolisacáridos que sirven de radical prostético a "mucoproteínas" o "mucoides" que forman parte de la substancia fundamental conectiva. Con objeto de investigarlo, observamos en este experimento, el efecto que los líquidos oculares, el ácido hialurónico y la tiroxina tienen sobre la metamorfosis de *Siredon mexicanus*, (Shaw) (*).

Método. Se tuvieron en observación, durante 30 días, 17 ajolotes (*Siredon mexicanus* Shaw) procedentes del lago de Xochimilco, los cuales durante todo ese período fueron alimentados con carne fresca de res, molida, y con plantas acuáticas. Se les distribuyó en 5 grupos: A, B₁, B₂ C y D. Los grupos primero y último, estaban formados de 4 individuos cada uno; y los restantes de 3.

A los ajolotes del grupo A, se les inyectó en la musculatura de la base de la cola, 0.5 c.c. de solución salina fisiológica; a los del grupo B₁, 0.5 c.c. de solución de ácido hialurónico, a concentración de 20 mg. en 100 c.c. de solución salina, también en la base de la cola; y a los del B₂ la misma cantidad de esta solución, pero por vía pleuroperitoneal. Los animales del grupo C, recibieron 0.5 c.c. de líquidos oculares de buey, obtenidos en la forma indicada en otros trabajos (13, 14), por vía intramuscular. Todas las inyecciones se hicieron los lunes, miércoles y viernes de cada semana, durante 24 días; pero desde el 15° día, todos los grupos se colocaron en sendos cristalizadores con 6 litros de agua de la llave A1 agua de cada uno de los grupos A, B₁, B₂ y C, se le agregó 0.5 mg. de tiroxina, durante 9 días. Los ajolotes del grupo D no recibieron inyecciones, ni tiroxina.

* Es pertinente recordar, que la familia Ambystomidae comprende dos subfamilias: *Siredoninae* a la cual pertenece el grupo *Siredon*, que engloba tanto la forma perennebranquiada del ajolote de Xochimilco, como anfibios

de transformación espontánea como el Siredon de Lerma (Estado de México); y la subfamilia *Ambystominae* en la cual se encuentra el género *Ambystoma*, que en nuestro país tiene diversas representantes de transformación espontánea

Agradecemos al Prof. Manuel Maldonado Koerdell su valiosa información acerca de la clasificación y biología del ajolote, así como el haber hecho la clasificación taxonómica de los ajolotes utilizados en este trabajo.



Fig. 1. Grupo A, a los 20 días de suspendida la administración de tiroxina.

Fig. 2. Grupo B₁, a los 20 días de suspendida la administración de tiroxina, y del ácido hialurónico por vía intramuscular.

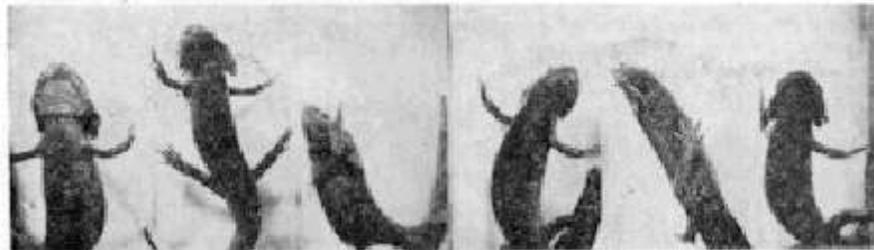


Fig. 3. Grupo B₂, a los 20 días de suspendidas la administración de tiroxina, y del ácido hialurónico por vía pleuroperitoneal.

Fig. 4. Grupo C, a los 20 días de suspendidas la administración de tiroxina, y de líquidos oculares por vía intramuscular.

Resultados. Al 4º día de iniciadas las inyecciones, se observó que dos animales del grupo B₁ y dos del grupo B₂, presentaban ondulados los bordes superior e inferior de la cola, y que lo mismo aconteció en uno de los tratados con líquidos oculares. A los 3 días de iniciada la tiroxinización, se observó erección de las branquias y congestión de los filamentos branquiales de los animales del grupo A, e iguales cambios, pero en menor grado, en los de los grupos B₁, B₂ y C. A los 9 días de tiroxinización, el crecimiento de branquias y filamentos branquiales era más aparentes en el grupo A, en contraste con los animales de B₁ y B₂ cuyas branquias casi no habían crecido, y con un animal de cada uno de estos últimos grupos, en el cual, en vez de crecimiento se iniciaba la reabsorción branquial. Dos animales de C, mostraban entonces festoneado el borde dorsal de la porción membranosa de la cola.



Fig. 5. Grupo A, a los 30 días de suspendida la administración de tiroxina.

Fig. 6. Grupo B₁, a los 30 días de suspendidas la administración de tiroxina, y del ácido hialurónico por vía intramuscular.

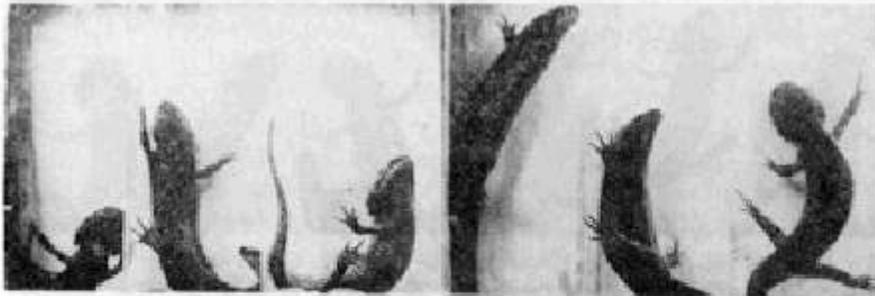


Fig. 7. Grupo B₂, a los 30 días de suspendidas la administración de tiroxina, y de ácido hialurónico por vía peritoneal.

Fig. 8. Grupo C, a los 30 días de suspendidas la administración de tiroxina y de líquidos oculares por vía intramuscular.

A los 20 días de suspendidos, tanto la tiroxina como el ácido hialurónico y los líquidos oculares, los animales del grupo A (fig. 1) presentaban sólo ligera atrofia de la porción membranosa de la cola, pero sus branquias, con excepción de uno de ellos, tenían abundantes filamentos. En cambio, en todos los animales de los grupos B₁, B₂ y C, las branquias estaban casi totalmente atrofiadas, quedándose sólo restos branquiales de 2 mm., y además la porción membranosa de la cola estaba totalmente reabsorbida (fig. 2, 3 y 4). El grupo D permanecía igual que al principiar el tratamiento

A los 30 días de suspendidos todos los tratamientos, tan sólo un animal del grupo A había llegado a metamorfosearse casi por completo, pues sus branquias se encontraban reducidas a restos de unos 3 mm. de longitud, y la porción membranosa de la cola se encontraba reabsorbida casi en su totalidad. En cambio, los otros 3 animales del mismo grupo, conservaban sus branquias íntegras, y con muy moderada atrofia en su porción membranosa caudal (fig. 5). Los animales de los grupos B₁, B₂ y C, totalmente metamorfoseados, habían cambiado de piel, y presentaban las manchas tegumentarias amarillentas más marcadas y grandes (figuras 6, 7 y 8). Los del grupo D seguían sin cambio alguno.

A los 42 días de suspendidos los tratamientos, seguían sin observarse mayores cambios en A (fig. 9) ni en D; en tanto que los animales de los otros tres grupos, podían ya vivir fuera del agua (figs. 10, 11 y 12). A los 56 días, en un segundo animal del grupo A, se habían atrofiado las branquias, y los otros dos no presentaban mayores cambios (fig. 13), estado en el cual se encontraban 6 meses después. D permanecía sin cambio alguno; y en los tres grupos restantes, las manchas amarillentas de la piel se marcaban cada vez más (figs. 14, 15 y 16).



Fig. 9. Grupo A, a los 42 días de suspendida la administración de tiroxina.

Fig. 10. Grupo B, a los 42 días de suspendida la administración de tiroxina, y de ácido hialurónico por vía intramuscular.

Para comprobar la constancia de los resultados aquí descritos, se repitió el experimento, con ligeras variantes, en un lote de 8 ajolotes observados previamente durante 30 días. 4 formaron el grupo control A y el grupo B fue formado por los 4 restantes, que recibieron diariamente durante 30 días, por vía intraperitoneal, 0.5 c.c. de la solución antes indicada de ácido hialurónico. A los 15 días de iniciado este tratamiento, ambos grupos fueron sometidos a los efectos de la tiroxina, agregando tan sólo 0.25 mg. de ésta, a los 4 litros de agua en que se hallaban colocados los animales de cada grupo. Se esperaba que la metamorfosis en ambos grupos fuera más lenta en producirse; y así sucedió. Esperábase también que las diferencias entre los animales de los grupos A y B se hicieran más notables, pero esto no se observó. La tiroxinización fue prolongada durante 15 días.



Fig. 11. Grupo B₁, a los 42 días de suspendida la administración de tiroxina, y de ácido hialurónico por vía pleuro-peritoneal.

Fig. 12. Grupo C, a los 42 días de suspendida la administración de tiroxina, y de líquidos oculares por vía intramuscular.

A los 30 días de haber suspendido la administración de tiroxina, uno de los animales del grupo A, presentaba atrofia parcial, tanto de las branquias, como de la porción membranosa de la cola. En los 4 animales del grupo B, aunque se observaba la misma reabsorción, era un poco más marcada. Desgraciadamente, a los 31 días murió uno de los individuos del grupo A que aun no iniciaba su transformación, por lo que este grupo quedó reducido a 3 ajolotes.

Cuarenta y cinco días después de suspendida la tiroxinización, uno de los animales del grupo A (fig. 17) se había metamorfoseado completamente pero los 2 restantes todavía conservaban sus branquias y sólo mostraban parcial atrofia de la porción membranosa de la cola. En cambio los 4 ajolotes del grupo B ya habían terminado su metamorfosis (fig. 18). Cuatro semanas después, ambos grupos permanecían aún en ese estado, al escribir este trabajo.

En trabajos anteriores (13, 14, 15) hemos presentado algunas pruebas en apoyo de una hipótesis que en los mismos sustentamos, la cual, esencialmente consiste en considerar que uno de los más importantes efectos de la hormona tiroidea, sería el de movilizar el material proteico extracelular que se encuentra ligado a los mucopolisacáridos, formando parte de la substancia fundamental conectiva y de los cementos intercelulares, constituyendo los llamados "mucoides".



Fig. 13. Grupo A, a los 56 días de suspendida la administración de tiroxina.

Fig. 14. Grupo B, a los 42 días de suspendidas la administración de tiroxina, y de ácido hialurónico por vía intramuscular.

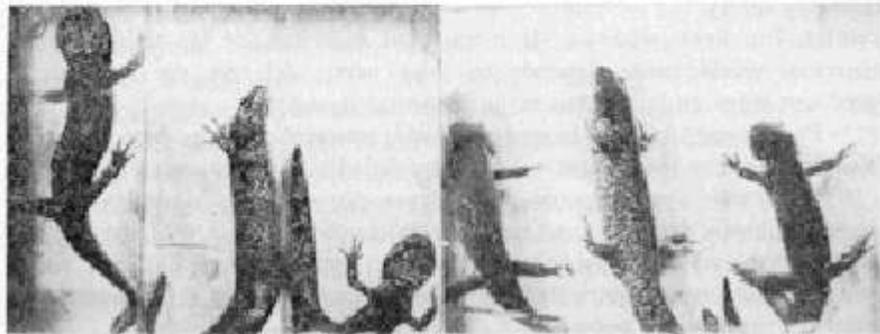


Fig. 15. Grupo B, a los 56 días de suspendidas la administración de tiroxina, y de ácido hialurónico por vía pleuroparitoneal.

Fig. 16. Grupo C, a los 56 días de suspendidas la administración de tiroxina, y de líquidos oculares por vía intramuscular.

El nitrógeno movilizado podría entonces penetrar en parte a las células y ser utilizado tanto para su nutrición y crecimiento, como para su diferenciación (metamorfosis).

Es probable que no todo el material proteico extracelular sea movilizado en igual grado por efectos del tiroide, y que las diferencias, según se verá más adelante, dependan tanto del tipo de mucopolisacárido, como de la diversa forma en que se encuentre ligado al material proteico. Es posible que los compuestos más rápida y fácilmente movilizados por la hormona tiroidea, sean la fuente del nitrógeno utilizado en la diferenciación celular. En otras palabras, "la reactividad específica de los tejidos" a la tiroxina, posiblemente depende en gran parte, del tipo de "mucoides" predominantes en la substancia fundamental conectiva.



Fig. 17. Grupo A, del segundo experimento, a los 45 días de suspendida la administración de tiroxina.

Parece que, durante la metamorfosis, ocurren en otras especies cambios bioquímicos semejantes a los aquí señalados. Los demostró Anderson (16) en el escarabajo japonés, al observar que el nitrógeno de las proteínas insolubles y de la quitina (unión de mucopolisacárido y proteína) (17), disminuyen cuando dicho animal alcanza el estado de crisálida, en tanto que simultáneamente aumentan el nitrógeno aminado, y el de las proteínas solubles, proteosas y peptonas.

Está demostrado que, por lo menos en algunos compuestos de polisacáridos y de proteína, como en los mucopolisacáridos neutros (Meyer, 17), la unión es estable y de naturaleza química. Si el grupo prostético es un sulfomucopolisacárido, la unión puede ser firme, como acontece en el cartílago hialino (17), pero tratándose de ciertos sulfomucopolisacáridos "esta unión, al menos en parte, es de naturaleza polar" (17).

En cambio, la unión del ácido hialurónico y quizás de otros mucopolisacáridos ácidos, que suponemos forman reservas proteicas en el tejido conectivo, parece ser muy lábil y reversible, y depender en buena parte del pH del medio, según ya lo hemos discutido en otros trabajos (13, 14 y 15).



Fig. 18. Grupo B, del segundo experimento, a los 45 días de suspendidas la administración de tiroxina, y del ácido hialurónico.

A la diversidad de mucoides, probablemente se deba su distinto modo de conducirse frente a la tiroxina. En efecto, la falta de función tiroidea, hace que se acumulen desde luego los "mucoides" en los tejidos conectivos y en la dermis, constituyendo la infiltración del mixedema, la que por lo menos en la piel humana en este estado, tiene mayor contenido de polisacáridos, especialmente ácidos hialurónico y condroitino-sulfúrico (18); estos "mucoides" parecen ser los más rápidamente movilizables.

Otros compuestos similares, de una segunda categoría, serían también afectados por las concentraciones fisiológicas de hormona tiroidea, pero parece que su movilización es más lenta: tales serían los que forman parte de la substancia fundamental del cartílago de conjunción y de los esbozos cartilaginosos del hueso, que se desintegrarían liberando material para la formación de la matriz ósea proteica, durante la osificación.

Los de una tercera categoría es posible que no se movilicen con las concentraciones fisiológicas de la hormona tiroidea, o mejor dicho, que lo hagan con velocidad igual a la de su síntesis, como tal vez sucede con la matriz huesosa proteica (15). Sin embargo, en el curso del hipertiroidismo puede predominar su movilización y producir la osteoporosis (15), la cual también se observa ocasionalmente en ratas intoxicadas con tiroide, en algunas de las cuales llegan a producirse fracturas que se califican de espontáneas (14).

El efecto retentivo de nitrógeno por la hipófisis anterior en los mamíferos, probablemente se lleva a cabo por aumento de la reserva proteica de la substancia fundamental conectiva, según ya lo hemos discutido (13 y 14). Dicho efecto también es observado en el ajolote, como lo demostró Howes (19), quien indicó que en estos animales, la hipófisis anterior actúa aumentando "la cantidad de material nitrogenado utilizable para el desarrollo y multiplicación celulares". Por lo tanto, la intervención de la hipófisis en la metamorfosis no se reduce exclusivamente a sus efectos tirotrópicos, y ello permite comprender por qué los renacuajos hipofisectomizados, a los que Swingle (3) transplantó glándulas tiroideas fisiológicamente activas, iniciaron, pero no completaron su metamorfosis.

Todo lo dicho anteriormente, permite suponer que el *ácido hialurónico que inyectamos a los ajolotes, fue a participar en la constitución de su substancia fundamental conectiva*, bajo la forma de "mucoides del tipo muy lábil a los efectos tiroides, con el ácido hialurónico como radical prostético. Esto explica por qué la metamorfosis de los animales así tratados, ocurrió más tempranamente.

Reconocimiento. Los autores expresan su agradecimiento al Sr. Dr. Don. José Joaquín Izquierdo, por sus valiosos consejos para el arreglo de esta monografía.

RESUMEN

La inyección de líquidos oculares o de ácido hialurónico, a ajolotes, aceleró notablemente, por comparación con ajolotes sometidos únicamente a iguales concentraciones de tiroxina, la metamorfosis determinada por ésta.

Se discuten las causas de las distintas respuestas a la tiroxina.

REFERENCIAS

1. GUDERNATSH, J. F. Arch. Entwicklungsmech. Organ., 35: 457. 1912.
2. ALLEN, B. M. J. Exper. Zool., 24: 499, 1918.
3. SWINGLE, W. W. J. Exper. Zool., 37: 219, 1923.
4. — J. Exper. Zool., 36: 397, 1922.
5. UHLENHUTH, E. Biol. Bull., 42: 143, 1922.
6. JENSEN, C. O. Compt. Rend. Soc. Biol., 83: 315, 1920.
7. HUXLEY, J. S. Proc. Roy. Soc. (London). 98. Series B: 113, 1925.

8. — Encyclopaedia Britannica. Vol. 15: 331, 1944.
9. SMITH, P. E. Anat. Rec. 9: 57, 1916-1917.
10. ALLEN, B. M. Biol. Bull. Marine Biol. Lab., 36: 405, 1919.
11. ADLER, L. Arch. Entwicklugsmech. Organ., 39: 21. 1914.
12. D'ANGELO, S. A., GORDON A. S. Y CHARIPPER, H. A. Fed. Proc., 1, parte 2: 18, 1942.
13. VERGARA SOTO, E. TAPIA, M. A. y CABRERA G. Ciencia, 9:131, 1948.
14. VERGARA SOTO, E., TAPIA, M. A. Trabajo leído en la Academia de Medicina. México, el 26 de marzo de 1947.
(Por publicarse en la Revista Ciencia, México, D. F.)
15. VERGARA SOTO, E. Exp. Med. and Surg., 4:167, 1948.
16. ANDERSON, J. M. Fed. Proc., 7, parte 1: 3, 1948.
17. MEYER, K. In Advances in Protein Chemistry Academic Press. N. Y. Vol. 2: 249- 275, 1945.
18. WATSON. Can. Med. Ass. J., 54: 260, 1946.
19. HOWES, N. H. J. Exper. Biol., 15: 447. 1938.