

Guía de Estudio:

Estados del desarrollo en mamíferos

Genética de desarrollo: Drosophila Melanogaster

1.- Estados del desarrollo en mamíferos

Segmentación

La segmentación es holoblástica rotacional. Al proceso de segmentación hasta el blastocisto se llama estado **embrionario** preimplantatorio.

Las segmentaciones tienen lugar cada 12-24 horas. Los blastómeros cuando se dividen adoptan una orientación particular, la primera segmentación se divide meridionalmente dando lugar a dos blastómeros hijos de igual tamaño, la segunda segmentación en uno de los blastómeros es meridional y en la otra es ecuatorial, por eso se llama disposición rotacional y no radial. Las divisiones son asincrónicas por lo que se pueden tener embriones con un número de blastómeros impar.

Se da un fenómeno de compactación: los embriones en estadio de 8 células se encuentran en una disposición entre ellos amplia (no muy unidos), a partir de la tercera segmentación, los blastómeros empiezan a aproximarse (maximizan sus contactos) formando uniones estrechas entre ellos. Por estas uniones puede haber intercambio de iones y moléculas y se forma una estructura con aspecto de mora: este estadio se llama mórula.

A partir de ahora, las células del exterior secretan un fluido hacia el interior de la mórula mediante un fenómeno llamado cavitación y va a dar una cavidad llamada blastocele. En este momento el estadio es blastocisto y se pueden diferenciar dos zonas: trofoectodermo o trofoblasto y masa celular interna.

En este estadio el embrión es capaz de implantarse y el trofoectodermo es el encargado de fijarse a las paredes del útero. El trofoectodermo dará lugar al corion, mientras que la masa celular interna dará lugar al embrión en sí.

- Un óvulo fecundado es capaz de generar un nuevo individuo completo. Se trata, pues, de una célula totipotente: capaz de producir un individuo completo con todos sus tejidos.
- En los días uno al cuarto del desarrollo embrionario, la célula va dividiéndose (clivaje). Cada una de estas células, si es separada del resto, es capaz de producir un individuo completo. Son también células totipotentes.

- A partir del cuarto día del desarrollo embrionario humano se forma el blastocisto.
- El blastocisto está formado por dos capas:
 - Capa externa: forma la placenta y los tejidos necesarios para el desarrollo fetal.

Capa interna: formará todos los tejidos del cuerpo humano.

- Las células de un blastocisto ya no son totipotentes
- Vitelo en mamífero: Isolecítico
- Luego del tercer clivaje, el embrión de mamífero caen en un proceso de COMPACTACIÓN

Importancia de la cadherina E: Moléculas de adhesión

Gastrulacion

La mayoría de los mamíferos se desarrollan en el interior de la madre. Esto ha hecho que la anatomía materna cambie y se forme el útero capaz de implantar el embrión y por otra parte se ha tenido que desarrollar un órgano fetal que es la placenta, que es el encargado de captar los nutrientes de la madre y llevarlos al embrión.

En la gastrulación, lo primero que ocurre es una segregación de una capa de células de la masa celular interna. Esta capa forma el hipoblasto que será el que tapizará el blastocele y dará lugar al endodermo del saco vitelino. El resto de la célula de la masa celular interna se le denominan epiblasto y dará lugar al embrión sí.

En epiblasto es donde va a aparecer la línea primitiva a través de la cual van a migrar las células precursoras del endodermo y el mesodermo. Por otra parte, este epiblasto va a dar lugar al ectodermo del embrión y parte del epiblasto va a dar lugar al tejido que va a revestir el amnios. Esta cavidad amniótica se llena de un líquido que es el encargado de absorber los productos de desecho y evitar la desecación del embrión.

Por otra parte el trofoblasto dará lugar a un tejido llamado sinciotrofoblasto que va a ser el encargado de penetrar en el tejido uterino para que el embrión pueda implantarse.

Se forma un órgano llamado corion formado por tejido trofoblástico y mesodermo y presenta vasos sanguíneos y junto con la pared del útero formará la placenta.

Las primeras células que segregan de la MCI (masa celular interna) forman el hipoblasto que da lugar al endodermo extraembrionario. El resto de la MCI dará el epiblasto que da lugar a las células endodérmicas, ectodérmicas y mesodérmicas.

Anexos embrionarios

- Amnios: Cavidad revestida por una sola capa de células ectodérmicas. Su función es permitir un medio líquido que protege al embrión
- Saco vitelino: Cavidad de naturaleza vestigial en mamíferos pues el huevo casi no posee vitelo, por lo que degenera, contribuyendo a estructurar el cordón umbilical.

En aves y reptiles delimita el vitelo.

- Alantoides: Se origina por evaginación de la región posterior del intestino del embrión. Suministra al corion los vasos sanguíneos que harán posible la conducción de sustancias entre la madre y el feto. Posteriormente, pasará a formar parte de los vasos sanguíneos del cordón umbilical.
- Placenta: De origen materno-embriionario y a través de ella, el feto obtiene de la sangre materna O_2 y nutrientes a la vez que elimina CO_2 y otros desechos. Además, secreta hormonas como la gonadotropina coriónica, progesterona y estrógeno (después de los 3 meses) para mantener al endometrio uterino.

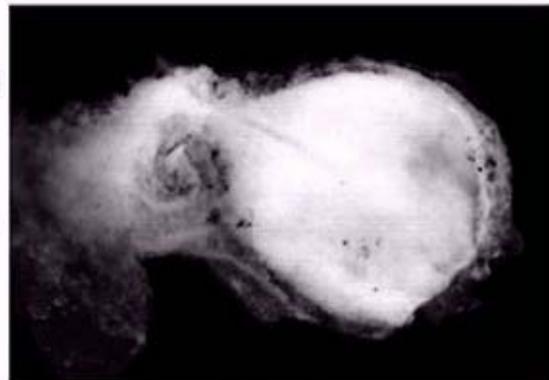
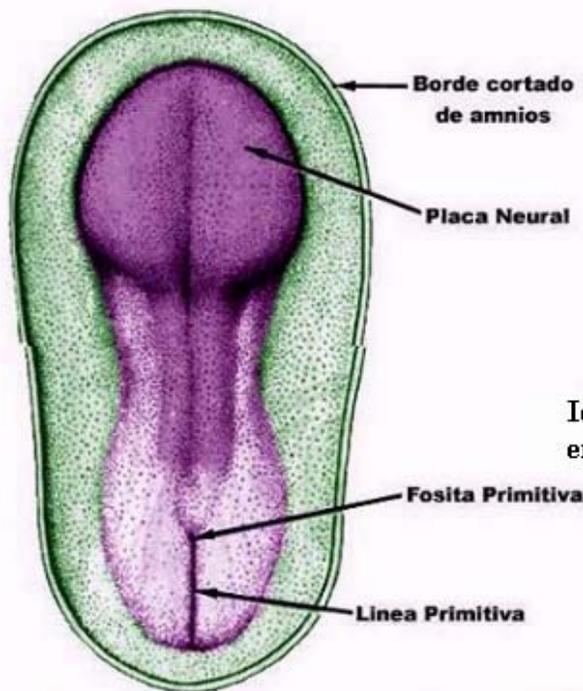
Organogenesis

Neurulación

El sistema nervioso humano empieza a desarrollarse durante la tercera semana posterior a la fecundación del óvulo (embrión de aproximadamente 1,5 mm.). Lo primero en aparecer es una placa alargada de origen ectodérmico llamada placa neural ([foto 1](#)), la que pronto se transforma en un surco neural ([foto 2](#)), seguido luego por una fusión de la región dorsal que determina la formación del tubo neural. En esta etapa, un grupo de células ectodérmicas vecinas al sitio de cierre del tubo neural se separan para constituir las crestas neurales. El cierre del tubo neural no es simultáneo a lo largo de él, sino que comienza en la región cervical del embrión progresando luego hacia caudal y más hacia cefálico. El tubo permanece temporalmente abierto a la cavidad amniótica en los denominados neuroporos anterior o cefálico y posterior o caudal. El neuroporo cefálico es el primero en cerrarse a los 25 días de gestación; dos días más tarde se cierra el neuroporo caudal ([foto 3](#)). Un defecto en el cierre de los neuroporos produce una alteración grave en el desarrollo del SNC (anencefalia y mielosquisis, por ejemplo). El tubo neural es el que da origen a todo el sistema nervioso central, mientras que las crestas neurales darán origen a casi todo el sistema nervioso periférico, las leptomeninges (piamadre y aracnoides), melanocitos, médula suprarrenal y odontoblastos. A diferencia del tubo neural, que permanece como una

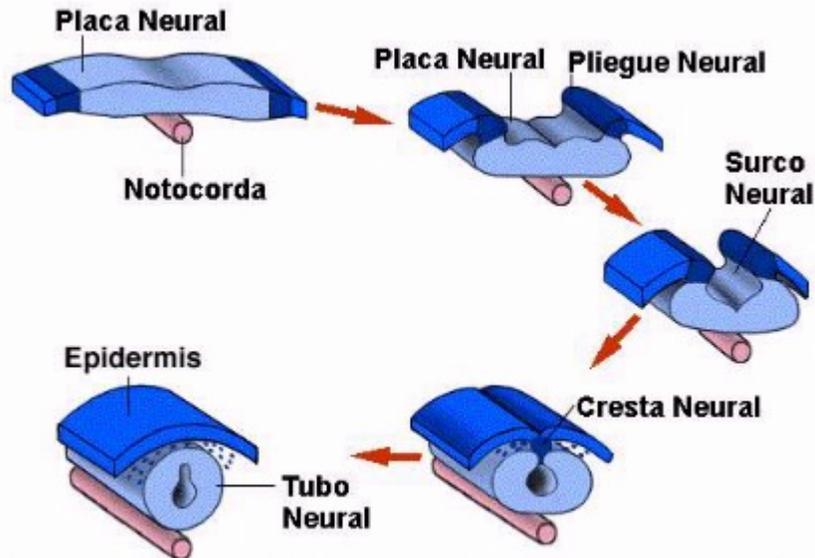
estructura continua, las crestas neurales se fragmentan con la aparición de los somitos, originando así los ganglios de la raíz posterior de la médula espinal ([foto 4](#)). Luego de su cierre, el tubo neural produce una intensa proliferación celular en la capa neuroepitelial o matriz, distinguiéndose en este periodo la formación de la capa del manto que originará la sustancia gris y la capa marginal que originará la sustancia blanca. Regionalmente, en el tubo neural se distingue la formación de una placa basal (ventral) y de una placa alar (dorsal) separadas por el surco limitante. Dorsalmente a la placa alar se describe la lámina del techo, y ventralmente a la placa basal se describe la lámina del piso ([foto 5](#)). Las neuronas que se originan en las vecindades del surco limitante tendrán una función visceral, mientras que aquellas que lo hacen de la región dorsal de la lámina alar y de la región ventral de la lámina basal serán somatosensitivas y somatomotoras, respectivamente. Además de las neuronas, en el sistema nervioso se encuentran las células de glía o neuroglia. De ellas, los astrocitos y las células de la oligodendroglia se originan del tubo neural, mientras que las células de Schwann y las células satélites se originan de las crestas neurales ([foto 6](#)). Los axones de las neuronas sensitivas de los ganglios espinales establecen contacto sináptico con las neuronas del SNC, mientras que sus dendritas lo hacen con los órganos blancos correspondientes (músculos, articulaciones, piel o mucosas). Como también las motoneuronas del asta anterior de la médula espinal han enviado sus axones hacia los músculos estriados, tempranamente se forman vías que establecen arcos reflejos funcionales. Esto último requiere que se haya producido la mielinización de los axones correspondientes, la cual es realizada por las células de Schwann en los nervios periféricos y por las células de la oligodendroglia en el SNC. Cuando el embrión tiene doce semanas (unos 30 mm.), la médula espinal se extiende a lo largo de todo el canal raquídeo. A partir de este momento, las vértebras y cartílagos intervertebrales crecen más rápido que la médula espinal, por lo que en el recién nacido el extremo caudal de ella se encuentra a nivel de la tercera vértebra lumbar. Esto explica que las raicillas sensitivas y motoras tengan una orientación oblicua y casi vertical en los segmentos más caudales de la médula espinal ([foto 7](#)). En el extremo cefálico, el tubo neural se expande diferenciándose en tres vesículas encefálicas primarias, que desde caudal a cefálico son: Rombencéfalo (cerebro posterior), Mesencéfalo (cerebro medio) y Prosencéfalo (cerebro anterior). Posteriormente, estas tres vesículas se transforman en cinco por división del prosencéfalo y rombencéfalo ([foto 8](#)): (1) la vesícula más caudal (mielencéfalo) origina el bulbo raquídeo y posee una placa basal para las neuronas eferentes viscerales y somáticas, y una placa alar para las neuronas aferentes viscerales y somáticas ([foto 9](#)). (2) El metencéfalo originará al puente o protuberancia (vía que permite la comunicación entre la médula espinal y las cortezas cerebral y cerebelosa) y al cerebelo (centro de coordinación de las funciones de postura y movimiento). Consta de las placas basal y alar típicas ([foto 10](#)). (3) El mesencéfalo originará la estructura anatómica del mismo nombre; constituye la vesícula encefálica más primitiva con un desarrollo muy parecido a la médula espinal, lo que se comprueba al tener las placas basal eferente y alar aferente bien definidas. Las placas alares originarán los colículos o tubérculos cuadrigéminos: los anteriores de función visual, y los posteriores de función auditiva ([foto 11](#)). (4) El diencéfalo (la parte posterior del prosencéfalo) originará el tálamo, hipotálamo, epitalamo, neurohipófisis y retina a partir de una delgada placa del techo y una gruesa placa alar. La bolsa de Rathke forma la adenohipófisis, y el diencéfalo dará origen al lóbulo posterior o neurohipófisis que recibe fibras hipotalámicas ([foto 12](#)). (5) Por último, el telencéfalo (la vesícula más rostral) originará la corteza cerebral, la lámina terminal (utilizada por las comisuras como una vía de conexión interhemisférica) y el cuerpo

estriado. Las regiones telencefálicas pronto toman íntimo contacto con el diencéfalo. Las cavidades ventriculares se extienden desde la luz de la médula espinal hasta el cuarto ventrículo ubicado en el rombencéfalo, el cual se comunica con la cavidad del diencéfalo (tercer ventrículo) a través de la estrecha luz del mesencéfalo (acuoducto cerebral). A la vez, el tercer ventrículo se comunica con los ventrículos laterales (las cavidades del telencéfalo) a través de los agujeros interventriculares. Todo este sistema ventricular aloja al líquido cefalorraquídeo, el cual es producido por los plexos coroideos de los ventrículos tercero, cuarto y laterales (foto 13). El taponamiento del sistema ventricular o del espacio subaracnoideo origina enfermedades tales como la hidrocefalia. Esta patología se encuentra íntimamente relacionada con el desarrollo de espina bífida con meningocele. Son frecuentes las malformaciones congénitas del SNC (cerca de 3 por cada mil nacimientos). Dentro de ellas, una de las más comunes son los defectos del cierre del tubo neural (disrafias), que se manifiestan en alrededor del 80 % de los casos de malformaciones. Las malformaciones del SNC pueden ser provocadas por factores genéticos (como la trisomía 21 o Síndrome de Down), o por factores ambientales (como en las enfermedades metabólicas o por agentes infecciosos o farmacéuticos). En general, la mayoría de los defectos congénitos se debe a una combinación de ambos factores de riesgo. Las malformaciones no sólo afectan al SNC, sino que también pueden involucrar los tejidos circundantes (por ejemplo, huesos, tejido conectivo o músculos). Así como algunas malformaciones congénitas producen incapacidad funcional en algún grado, otras simplemente son incompatibles con la vida.

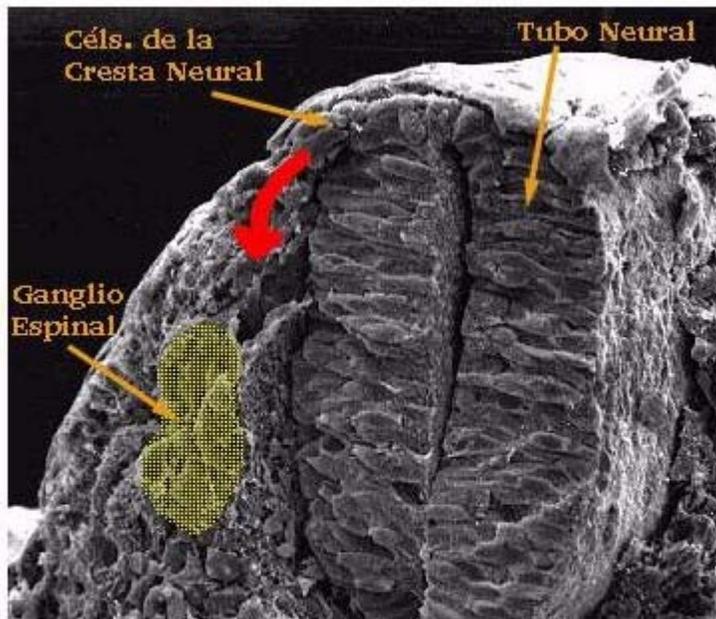


Identifique las estructuras del esquema en esta RNM de embrión humano de 18 días.

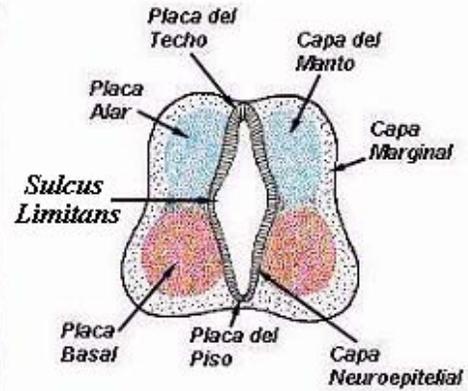
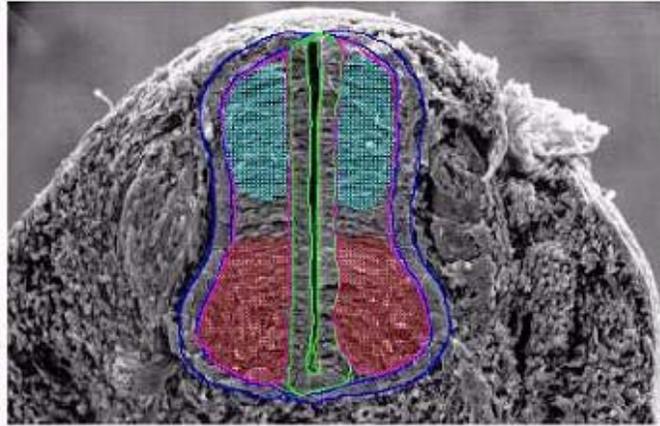
Vista Dorsal de Embrión Humano Presomítico de 18 días.



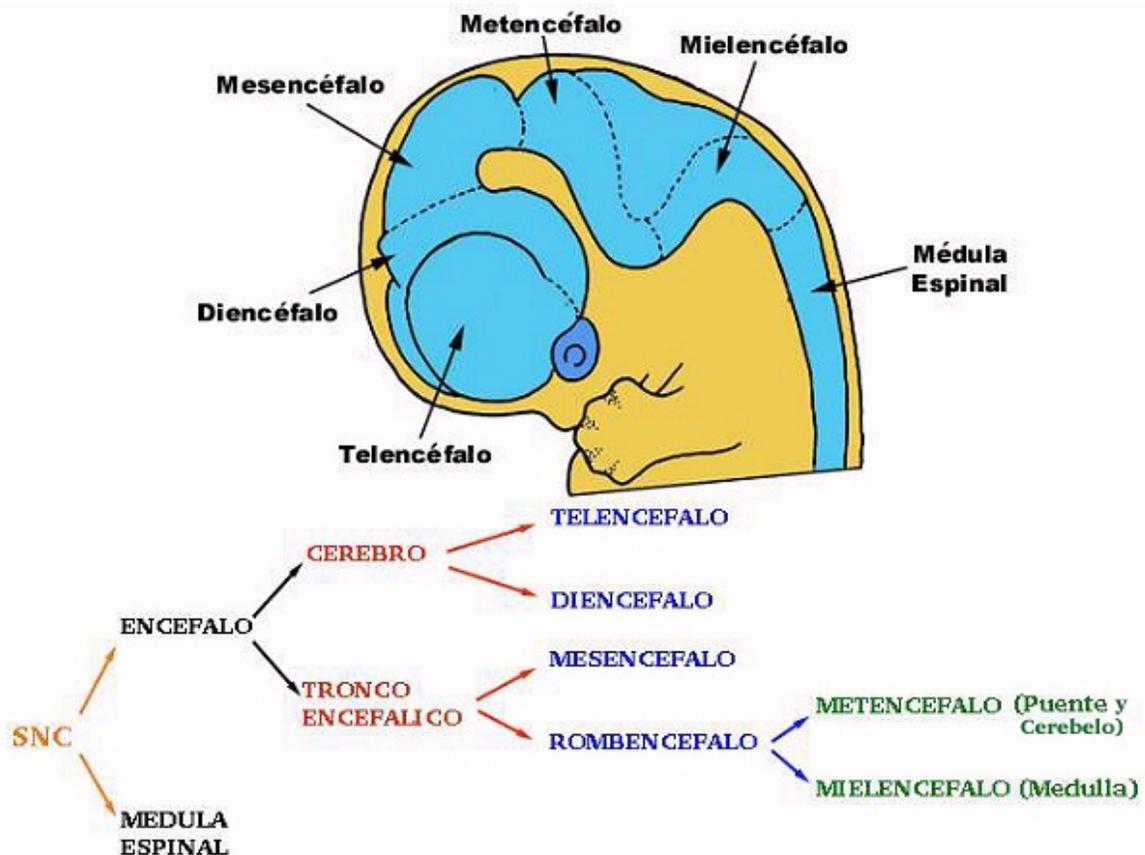
* Proceso de Neurulación. Observe cómo la migración de las células de la cresta neural ocurre mientras se fusionan los pliegues neurales.



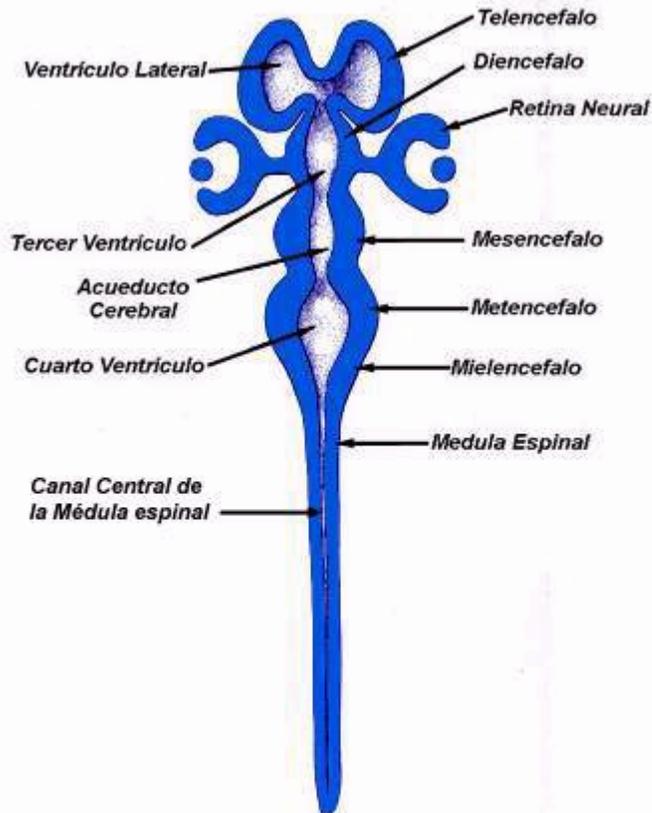
* Mientras ocurre la fusión de los pliegues neurales, las células de la cresta neural dejan el aspecto dorsal de la médula espinal en formación para originar gran parte del sistema nervioso periférico y parte del autónomo.



* Microfotografía electrónica de embrión de ratón equivalente a embrión humano de 6 semanas donde se muestran las regiones equivalentes a las del esquema. La placa alar es el componente sensitivo de la médula espinal, mientras la placa basal es el área motora. La capa marginal formará la sustancia blanca y la capa del manto formará la sustancia gris de la médula espinal.



* Diagrama que ilustra las subdivisiones del encéfalo derivadas de las vesículas embrionarias



* Diagrama que ilustra las vesículas encefálicas y las cavidades ventriculares asociadas a cada una de ellas.

DESARROLLO Y DIFERENCIACIÓN EN EL EMBRIÓN

Regulación Genética

Germán Arellano Cruz

La embriología es el estudio del **desarrollo** del huevo, desde la fecundación hasta la forma adulta. Su propósito es describir y explicar las etapas de **desarrollo** de los metazoos, desde el estadio unicelular, hasta el estadio definitivo de diferenciación en que habiéndose formado totalmente los órganos del individuo, este podrá llevar una vida libre.

La embriología es una ciencia rica en cambios, empieza un **desarrollo** acelerado a partir de las ideas evolucionistas que surgen en el siglo pasado y con el uso de instrumentos ópticos adecuados, la idea de la concepción preformista es cambiada por conceptos evolucionistas (Lamarck, 1802 y Darwin, 1859)

El investigador alemán, Karl Von Baer fue el primero en hacer plausible la interpretación del **desarrollo** embriológico en 1828. Sus reglas de **desarrollo** embriológico describen una simple gradación de una semejanza generalizada en embriones de un amplio espectro de animales, muy singular antes que el embrión tome las características de las especies. Charles Darwin usó este concepto (Von Baer), señaló que de una similitud inicial divergen en una identidad individual, en el origen de las especies (1859). Para Darwin la similitud en embriones tempranos y su posterior divergencia constituyó evidencia de un ancestro común. Von Baer se opuso hasta su muerte a la interpretación de Darwin de su investigación, como evidencia de la evolución de la vida.

Ernest Hackel colaboró con Darwin en el uso de la embriología como argumento de evolución. Su Ley Biogenética hecha en 1866 fue traducida al inglés como "la ontogenia recapitula la filogenia", pero su interpretación correcta es una corta y rápida repetición de la filogenia.

Los biólogos modernos son cautos en sus explicaciones acerca del proceso de "recapitulación" y prefieren interpretar que las características embrionarias son retenidas y pasadas durante la evolución. Este cambio en la interpretación sugiere un retorno a la interpretación de Von Baer, que le ha sido agregada la idea del común ancestro promulgada por Darwin.

¿Por qué la cautela al hablar de recapitulación?

- La ontogenia contraria la filogenia, presenta un único genomio en su transcurso. El proceso filogenético puede y suele darse más de un genomio.
- En la ontogenia se da un concepto llamado telefinalismo, que implica un conocimiento del producto final del proceso.
- El registro fósil nos resulta, en ocasiones, insuficiente para poder inferir a partir de él, acerca de las estructuras blandas de organismos ya extintos.

Se habla entonces de concordancia, donde el animal presenta, en diferentes etapas, una selección de características de sus posibles ancestros, la aparición de estas características estarían espaciadas de tal manera que concordarían con la aparición de las mismas en el tiempo geológico.

Las etapas de **desarrollo**

La ontogénesis o embriogénesis, de un individuo corresponde a una sucesión continua de cambios y variaciones mas o menos complejas. Su representación exacta exigiría una observación continua, hasta hace poco se pensó que era una tarea imposible, sin embargo, en la actualidad se ha estudiado minuciosamente el **desarrollo embrionario** del nematodo *Caenorhbditis elegans* a partir de una célula hasta el organismo completo de 959 células.

El **desarrollo** de la ingeniería genética es decir el arreglo dirigido de genes dentro de receptores biológicos, ha permitido un gran avance en la investigación del **desarrollo embrionario** en insectos, anfibios y mamíferos, llegándose a establecer el mecanismo por el cual las células logran una diferenciación en este proceso.

El **desarrollo embrionario** posee características que marcan fases durante las que se desarrollan los procesos del mismo orden. Estas etapas mas o menos virtuales, son de gran utilidad en la interpretación de los fenómenos.

El inicio del **desarrollo** ofrece aspectos semejantes en todas las clases de animales :

 Fecundación

 Segmentación

 Gastrulación

 Organogénesis

La sucesión cronológica de estas fases y las transformaciones que sufren sugieren el origen común de todos los organismos animales.

Las ideas evolucionistas fueron el punto de partida para el **desarrollo** de la embriología descriptiva. Una vez conocido el curso del **desarrollo** normal, fue posible su estudio experimental y entonces nuevas preguntas necesitan ser respondidas:

¿"Por qué un cigoto es capaz de producir células, tejidos y órganos de estructura diferente si parten de un genomio?".

Dos teorías han dirigido el enfoque de las investigaciones:

- la teoría de la preformación
- la teoría de la epigénesis

La preformación, en el sentido estricto de la palabra significaba que el adulto se hallaba contenido por completo en el huevo. El **desarrollo** era sólo el engrandecimiento progresivo de ese adulto pequeño inicial. Como es de imaginar, que bajo esta forma, la teoría preformista no podría existir en la actualidad, surgiendo un cambio en estas ideas. Hoy esta hipótesis plantea que cada parte del futuro individuo no existe bajo su aspecto preformado definitivo, el huevo podría tener regiones definidas que posteriormente corresponderían a diferentes órganos del adulto. El huevo estaría formado por un "mosaico" de territorios o plasmas organoformadores cuyo destino sería fijado muy pronto.

Con estas ideas puede realizarse un experimento simple: al ser destruido un blástomero que correspondería al lado izquierdo, el blástomero que queda formaría un hemiembrión derecho, si los dos blastómeros siguieran su curso normal habrían producido un embrión completo, entonces el huevo se comporta de esta manera como un mosaico, Chabry (1887) y Coklin (1905) estudiaron huevos de Ascidias y descubrieron que las potencialidades totales son iguales a las potencialidades reales en los primeros blástomeros.

La epigénesis se inicia con Wolf (1759), médico alemán estudió el **desarrollo** embriológico del pollo y observó que el ave adulto no preexistía bajo una forma de miniatura en el huevo, sino que al contrario la estructura del embrión surgía poco a poco, mediante una sucesión de estadios, a partir de un estadio inicial muy simple. Actualmente la teoría de la epigénesis considera al huevo no como un mosaico de territorios ya fijados, sino como una "realización progresiva en la que cada etapa se halla condicionada por una etapa anterior más sencilla". En este caso las potencialidades totales del huevo son superiores a su potencialidad real. Esta hipótesis considera que la mitad del huevo podría dar un embrión completo, bien constituido aunque de menor tamaño y el huevo sería capaz de una regulación. En los embriones regulativos, parte del embrión puede quitarse y las células restantes pueden compensar la pérdida y dar como producto final un individuo completo.

Según estas dos teorías, ciertos huevos presentarían un **desarrollo** tipo mosaico y otros tipo regulación. Posteriormente los expertos demostraron que no hay antagonismo real entre ambas concepciones considerando como factor importante el tiempo.

Entonces tendremos que un huevo que presenta gran poder de regulación, pasado un tiempo limita sus potencialidades. Es decir un huevo relativamente homogéneo al principio capaz de regulación, mas tarde estaría formado por un conjunto de territorios bien determinados.

Como podemos pensar, la distinción entre embriones en mosaico y embriones regulativos ya no podía mantenerse y esta clasificación perdió su utilidad, pero tiene un significado histórico ya que dirigió la atención de los científicos de como se especifica el destino de las células en la embriogénesis. El fenómeno de la regulación centró la atención hacia el hecho de que grupos de células se comunican entre ellas y de este modo activan o desactivan programas específicos de expresión génica.

Polaridad.

El fenómeno de **desarrollo** en mosaico dirigió la atención en la localización de "determinantes" citoplasmáticos que actuarían como un mecanismo de especificación del destino de las células. Para el caso, el destino de una célula estaría determinado por información citoplasmática - determinante - que es heredada del huevo, lo contrario de una interacción inductiva: el destino de una célula queda especificado por información interna y no externa. En cualquiera de los dos casos debe producirse una diferencia inicial en la información del **desarrollo**, "una polaridad para el sistema". Esa diferencia inicial la podría dar una célula que le indica a otra lo que debe hacer o bien una región del citoplasma del huevo contiene información que no se encuentra en otro lado. Por lo tanto entender como se establece la polaridad en los primeros estadios de **desarrollo** es muy importante para explicar como los ejes y esquemas de los tejidos hacen su aparición en la embriogénesis.

La estructura de un organismo esta controlada por sus genes. La información genética fluye del DNA al RNA y a las proteínas, durante el proceso de la transcripción, en el que la secuencia de bases existentes de una hebra del DNA cromosómico se transcribe, enzimáticamente, en una sola hebra de RNA. Después de la transcripción el RNAm pasa a los ribosomas, en donde actúan como matriz o patrón para la ordenación secuencial de los aminoácidos durante la síntesis de proteínas. En este proceso se da la réplica, transcripción y traslación de información, la réplica es la copia del DNA con formación de moléculas hijas idénticas, la transcripción es cuando el mensaje genético del DNA es transcrito en forma de RNA y llevado a los ribosomas y la translación es cuando el mensaje genético es descifrado y convertido en el alfabeto de 20 letras de la estructura proteica.

Al menos durante un siglo, e incluso mucho después que clarificara el papel que tiene el DNA en la herencia los mecanismos del **control** genético de estructura corporal permaneció en un complicado misterio. Durante los últimos años la mosca *Drosophila* ha proporcionado información al respecto, estos estudios han puesto de manifiesto la existencia de un tipo de genes de **control** del **desarrollo**, cuya función específica es la de determinar el patrón corporal. La combinación de la genética clásica y de la genética molecular esta demostrando como actúan estos genes. Se sabe que en *Drosophila*, no solo las estrategias generadas sino también los genes específicos que controlan el patrón corporal pueden tener equivalentes cercanos en vertebrados

El sistema de regulación genética consiste en tres clases de genes de **control** del patrón :

1. En primer lugar , los productos de los genes de polaridad del huevo actúan definiendo las coordenadas espaciales del embrión, mediante la formación de gradientes de morfógeno en el huevo.

2. A continuación los genes de segmentación permiten interpretar la información de posición proporcionada por el gradiente inicial de morfógeno. Estos genes dividen el embrión en una serie de segmentos - las unidades básicas modulares a partir de las cuales se construyen los insectos.
3. Los productos de los genes de segmentación influyen en la expresión de los genes homeóticos selectores, que mantienen la diferencia entre un segmento y otro.

Por medio de las actividades combinadas de los genes de segmentación y de los genes homeóticos selectores, a las células de cada segmento se les proporciona la información de valores posicionales, información que las células recuerdan y que guía su comportamiento posterior. Por último, en el interior de cada subdivisión segmental del cuerpo las células se comunican entre sí generando los detalles concretos de la estructura madura, gobernada aparentemente por la función de intercalación de la información.

Polaridad en *Xenopus*.

En el caso de *Xenopus* un huevo sin fertilizar presta un sólo eje de polaridad el eje animal - vegetal (A - V), sin embargo existen ejes adicionales de polaridad que se van sumando a medida que se va dando el proceso de **desarrollo**, la polaridad del eje A - V está evidenciada por el hecho de que las células del polo animal y vegetal tienen destinos diferentes. El polo animal origina la piel y el sistema nervioso, y el polo vegetal origina al sistema digestivo y la porción ecuatorial o zona marginal forma los tejidos mesodermales. Las moléculas responsables de la especificación de los destinos de las células animales ("determinantes") todavía se desconocen pero se ha demostrado que existen un sólo tipo especial de ARNs que están localizados a uno u otro polo del huevo. Uno de estos ARNs llamado Vg1, proviene de un gen que podría participar en la inducción mesodermal, ya que Vg1 está localizado hacia el polo vegetal y codifica un factor de crecimiento. Inicialmente en el oogenesis, este ARN se distribuye inicialmente en todo el citoplasma pero se transloca y se ancla en el polo vegetal durante el proceso.

Polaridad en *Drosophila*

Establecimiento del plan del cuerpo.

¿Cuál de los extremos en un embrión sería la cabeza? ¿Cuál su región caudal? ¿Qué determina estos ejes? ¿Cómo es la segmentación básica?

Durante muchos años estas preguntas permanecieron sin ser respondidas. A finales de la década de los 70 investigadores alemanes emprendieron investigaciones que continúan hasta hoy y han empezado a dar respuestas a estas interrogantes. Experimentos con mutaciones realizadas a través de la alimentación a moscas *Drosophila* machos adultos al ser apareadas su progenie mostró un amplio rango de defectos específicos que permitieron identificar tempranamente todos los genes y proteínas que controlan la ovogénesis en la mosca madre.

Los resultados revelaron que el eje corporal del embrión es actualmente determinado por moléculas suministradas por la mosca madre mucho antes de la fertilización. Existen células matriciales que ayudan al huevo al crecimiento dentro de la madre y estas producen también el movimiento de algunos de los componentes de ARN maternos hacia el extremo interior del huevo provocando una asimetría inicial. Parte de este ARN materno proviene de un gen llamado "bicoide" que permanece atrapado cerca del punto de entrada marcando el extremo frontal (anterior) del embrión. Otro ARN materno llamado nanos es translocado al otro extremo marcando la región posterior del futuro embrión.

Después de la fertilización el ARN materno empieza a producir proteína bicoide, la cual difunde en el embrión en **desarrollo** y forma un gradiente de concentración. Al mismo tiempo en el otro

extremo del embrión una proteína de otro gen maternal llamado "nanos" difunde dirigiéndose al centro. El nombre de estos genes son inspirados en su función - o carencia de ellos - dos mutaciones : un embrión mutante sin genes nanos carece de segmentación abdominal y también es pequeño, la palabra "nanos" deriva del griego que significa enano. Estas son gradientes opuestas y determinan el plan básico del cuerpo de la mosca. Cuando una mosca madre es incapaz de producir proteína bicoide produce embriones carentes de cabeza y tórax y los embriones presentan dos colas (bicaudales) así aparece el abreviado nombre bicoide. Sin embargo cuando el ARN bicoide es inyectado dentro del extremo frontal (anterior) de cada mutante estos se desarrollan normalmente y cuando los científicos introdujeron el mismo ARN en el extremo opuesto del embrión se desarrolló otra cabeza y otro tórax en el punto de inyección.

Genes de segmentación

¿Cómo exactamente estas gradientes proteicas ejercen su influencia?

Involucra una serie de genes que actúan en diversas zonas en el embrión :

Gradiente de concentración de proteína bicoide

|

Bicoide afecta a un gen : hunchback ARNm hunchback

(Un embrión sin genes hunchback carece de tórax y conduce a un forma jorobada).

|

ARN hunchback es distribuido por todo el embrión.

|

"Nanos" inhibe a ARNm hunchback (única función de nanos).

|

Sólo se sintetiza proteína hunchback en el extremo anterior (área controlada por bicoide).

|

La proteína hunchback se difunde al resto del embrión creando una segunda gradiente (responsable de la segmentación torácica y abdominal de la mosca)

|

Bicoide activa otros genes que controlan porciones mas pequeñas en el **desarrollo** del embrión en secciones progresivas.

|

3 Horas después de la fertilización el plan básico está trazado, han intervenido 30 genes en el patrón anterior - posterior y 14 en el patrón dorso - ventral.

Antes del término de la cascada (embrión con 14 bandas proteicas) se activan los genes homeóticos.

La expresión de estos genes se da luego de la expresión del cigoto pero antes de la diferenciación de cada célula en su segmento correspondiente.

Se desconoce si el modelo siempre es extensivo en su aplicación en otros animales. Los embriones tempranos de mosca son muy diferentes a los de mamíferos. Los embriones de mosca son más cercanos a una célula con múltiples núcleos suspendidos en su citoplasma, los embriones de mamíferos consisten de células separadas unas a otras por membranas, bicoide y otros morfógenos (sustancias difusibles que afectan la forma del cuerpo) pueden extenderse rápidamente en la masa fluida del embrión de mosca, pero podrían tener largo tiempo de difusión a través de muchas membranas celulares en un embrión de ratón o humano. Es probable que existan muchos "genes gradientes" involucrados en **desarrollo** de mamíferos que podrían trabajar en diferentes formas. No se ha encontrado muchos mecanismos trabajando en otros animales, se conoce un equivalente a bicoide en ranas llamado geosecoide, este descubrimiento podría indicar el proceso de determinación del patrón anterior (frontal) en embriones de rana.

Genes homeóticos y "homeoboxes"

Como hemos visto hasta aquí, durante las divisiones celulares que se dan después de la fertilización, las células toman diferentes formas, tamaños, funciones y potenciales, así como relaciones espaciales unas respecto a otras. Todos estos eventos se dan según factores definidos de tiempo. En algunas especies como el ratón las células que se forman en las primeras divisiones poseen todas el mismo potencial. A medida que la división celular procede, las células diferentes se orientan hacia la formación de solo un número limitado de tipos celulares adultos, por eso se dice son "determinadas". Las células determinadas están destinadas a diferenciarse en una forma específica y sus células hijas heredan este programa. La determinación viene seguida de una diferenciación, adquisición de diferentes fenotipos, ya sea a nivel morfológico o de propiedades bioquímicas. Al final es posible diferenciar más de 200 tipos celulares en diferentes en vertebrados. Hay evidencias como para indicar que existe un mecanismo de expresión génica diferencial, tanto en el tiempo como en el espacio, que determina el **desarrollo** y diferenciación, una de las metas al aproximarnos a este hecho a nivel molecular y de comprender la determinación y diferenciación es como de correlacionar los cambios espaciales y temporales con la expresión génica diferencial.

Genes homeóticos

Esta aproximación ha sido exitosa en *Drosophila melanogaster*, principalmente por que es posible la obtención de mutantes con defectos en estadios morfológicos tempranos. Los segmentos que se observan tanto en moscas en **desarrollo** como adultas se encuentran normalmente asociados con caracteres morfológicos específicos como el ojo, antenas, alas y patas. La genética clásica identificó un grupo de mutantes en *Drosophila* (antenapedia, bithorax, etc.), en los que los caracteres morfológicos particulares se desarrollan en posiciones anormales. En antenapedia por ejemplo aparecen patas donde deberían encontrarse antenas. Los genes que están involucrados en este tipo de transformaciones morfológicas son denominados grupalmente como genes homeóticos, y las consecuencias de mutaciones homeóticas específicas están localizadas hacia uno o más segmentos. El descubrimiento de mutantes homeóticos permitió realizar ingeniosos experimentos que demuestran que el cuerpo de la mosca normal esta formado por un conjunto de regiones discretas, cada una de las cuales expresa un conjunto diferente de genes selectores homeóticos. Los productos de estos genes actúan como marcadores moleculares de dirección, equipando a las células con una especificación general de su valor posicional, por lo tanto, un mutante homeótico hace que un grupo completo de células estén desinformadas de su localización y por ello produzcan una estructura apropiada para otra región.

Los genes homeóticos controlan el **desarrollo** del sistema nervioso central así como también de estructuras musculares que se forman entre los segmentos. Estos genes no determinan el número de segmentos sino solamente el **desarrollo** morfológico.

Existen dos grandes regiones en el cromosoma 3 en *Drosophila*, cada una con 250 kb o más, que presentan los genes "antennapedia" o "bithorax". Dentro de estas regiones se encuentran lugares relacionados con la manifestación de dichas características. Algunos de estos lugares parecen regular la de las regiones en su totalidad, por ejemplo, la región *ubx* para los genes *bithorax*.

El funcionamiento de genes homeóticos particulares actúa en segmentos específicos al menos en parte de la transcripción específica. Los productos de estos genes son proteínas que poseen afinidad por determinadas secuencias de ADN y específicas en la regulación de otros genes. En conjunto estos experimentos demuestran que, así como la especificidad bioquímica el **desarrollo** morfológico está controlado por un mecanismo de expresión génica diferencial.

También se han encontrado genes que se expresan en momentos específicos del **desarrollo** en organismos tan diversos como el maíz, nemátodos, erizos de mar, ranas y ratones. Se están utilizando bibliotecas de cDNA preparadas a partir de células que se encuentran en determinados estadios de **desarrollo** con el objeto de obtener clones que presenten RNAm en ese estadio particular. No obstante el potencial de obtener progreso rápido con la mayoría de los organismos no es alto, principalmente por que no es posible obtener información genética más rudimentaria. El nematodo *Caenorhabditis elegans* constituye una excepción; no sólo porque se ha realizado un exhaustivo análisis genético, sino que ha sido posible determinar la línea que han seguido todas sus 959 células a lo largo del proceso de **desarrollo** a partir del cigote hasta el animal adulto. Entre los mamíferos el ratón es el animal más prometedor en cuanto a estos estudios, ya que existe abundante información y se conocen varias mutaciones que ocurren en él. Además es posible la obtención de células en estadios tempranos de **desarrollo**. En ratones y en algunos otros mamíferos, también es posible obtener líneas de **desarrollo** a partir de técnicas de cultivo a partir de embriones jóvenes.

Secuencias "homeobox"

Un gran número de genes conocidos que están involucrados en la regulación de la variedad de procesos en el **desarrollo** de casi todos los organismos eucariotas presentan una secuencia característica de 180 pb dentro de la región codificadora de la proteína correspondiente conocida como el "homeobox" por que fue identificada por primera vez en los genes homeóticos de *Drosophila*. La expresión de estos genes, que especifican la identidad de los segmentos que darán lugar a la cabeza, tórax y abdomen, se da luego de la expresión del cigote, pero antes de la diferenciación de cada célula en su segmento correspondiente. Desde que estas secuencias fueron descubiertas, han sido observadas en varios otros genes de *Drosophila*, en especial en aquellos genes que orientan a la células a seguir determinadas en estadios tempranos del embrión. Virtualmente, cada uno de los genes presenta esta secuencia en *Drosophila* se expresa en un grupo particular de células embrionarias, y cada grupo de células presenta una combinación única de los productos de estos genes, algunos de estos genes parecen codificar factores reguladores de la transcripción que influyen en la expresión de otros grupos de genes "homeobox" así como de otras proteínas estructurales no reguladoras. De este modo el embrión se divide en un primer momento, gracias a la expresión de genes homeobox, en dos porciones: anterior y posterior, cada una con diferente potencial de **desarrollo**.

Donde quiera que se encuentre esta secuencia de 180 pb específica una secuencia de 60 aminoácidos conocida como el homeodominio, actualmente considerado como un elemento que tiene alta afinidad por el ADN. Además de su localización casi invariable dentro de la proteína en la que se encuentran, es destacable resaltar su capacidad de formar estructuras helicoidales.

El análisis de varias secuencias de estas proteínas sugieren que existen similitudes y algunas diferencias entre vertebrados y *Drosophila*.

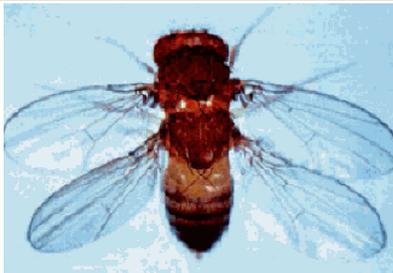
Existe suficiente evidencia como para asegurar que los homeodominios tienen una función importante en la unión de estas proteínas al ADN. La aparición de mutaciones puntuales en estas regiones disminuyen drásticamente el grado de afinidad de la proteína al ADN, mientras que alteraciones en otras regiones no afectan su afinidad. Una importante característica de ciertas homeoproteínas es su habilidad de unirse a secuencias de ADN diferentes pero relacionadas, aunque con diferentes afinidades. Así esta especificidad diferencial permitiría que una homeoproteína regule la transcripción de uno o más genes.

Con respecto a la forma de unión de los homeodominios al ADN, se ha propuesto que la estructura helicoidal es crucial en la especificidad. Otras características de la proteína también podrían influir, pero en menor grado. En consecuencia, las propiedades reguladoras de la transcripción y/o unión al ADN están moduladas por pequeñas moléculas. Estas proteínas poseen regiones que les permite interactuar con otras proteínas de modo que podrían formarse complejos proteicos que actuarían como entidades funcionales. Una vez unida al ADN, las homeoproteínas influyen en la transcripción desde sus correspondientes promotores blanco.

De acuerdo a los estudios realizados en los patrones de expresión de los genes homeóticos se puede ver al embrión de vertebrados como subdividido en campos anteroposteriores de células con diferentes capacidades de **desarrollo**, esta subdivisión del cuerpo embrionario precede a la formación de órganos o estructuras específicas. Aunque los homeodominios codificados por diferentes genes homeobox son muy similares entre si, las diferencias características en sus secuencias pueden ser utilizadas para identificarlos. Algunos homeodominios de mamíferos se asemejan fuertemente a aquellos producidos por genes de la mosca de la fruta.

Cuando los patrones de expresión de para muchos genes homeobox en embriones de ratón fueron analizados se realizaron importantes observaciones, se mostró que tanto en vertebrados como en invertebrados, los genes homeobox se agrupan en complejos o grupos en un cromosoma. En otras palabras, los genes homeobox están arreglados en un orden preciso, de izquierda a derecha, en la molécula lineal del ADN que forma un cromosoma. Además se descubrió que en ratón el orden de los genes homeobox en un grupo corresponde directamente a donde se expresa los genes. Los homeogenes localizados cerca del final izquierdo de un complejo son expresados en la parte posterior del cuerpo y los genes a la derecha son expresados mas cerca de la cabeza.

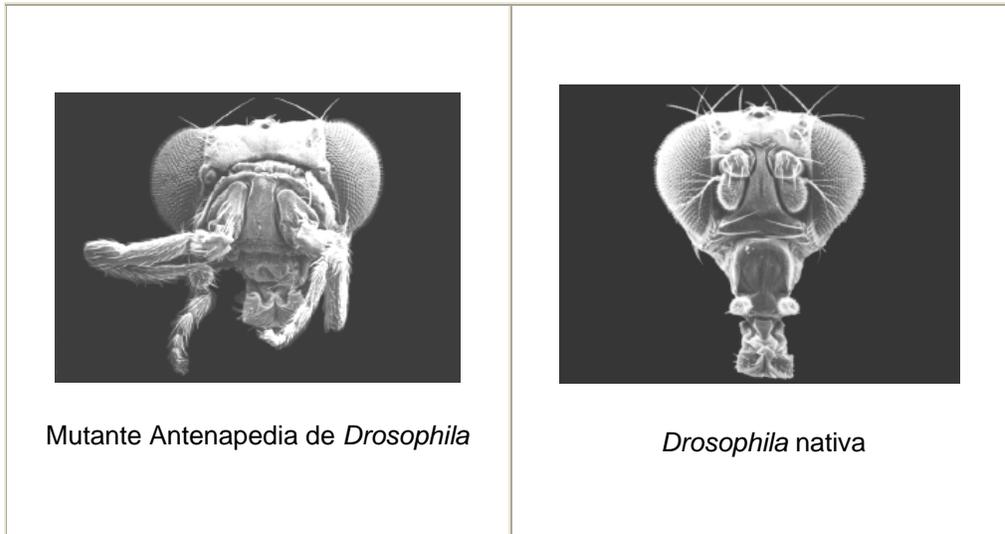
Todos los vertebrados tienen cuatro complejos homeobox, cada uno localizado en cromosomas separados. Estos complejos homeobox probablemente aparecieron durante la evolución a través de las duplicaciones de un grupo simple de genes homeobox en invertebrados. Consecuentemente cada humano por ejemplo, tiene cuatro genes que asemejan al gen Abdominal - B de *Drosophila* y otro que asemeja a Deformed.



Mutante Bithorax de *Drosophila*



Espécimen nativo de *Drosophila*



La secuencia homeobox está altamente conservada a lo largo de la evolución.

En 1990 los resultados de las investigaciones demuestran la existencia de este sistema de genes en embriones ratón y humanos. La notable homología de los genes que presentan una secuencia homeobox sugiere que han evolucionado por duplicación génica y divergencia. En el genoma de *Drosophila* muchos de estos genes se hallan agrupados muy estrechamente, lo cual también sugiere este origen por duplicación en tándem - por parejas - y divergencia. Por ejemplo, el complejo Antenapedia incluye bicoide, ftz, zerkült además del conjunto de genes homeóticos selectores. La agrupación de genes que presentan homeobox parece ser un reflejo de su historia y no de alguna necesidad fisiológica : las moscas que presentan reagrupaciones genéticas en las que el gen Ultrabithorax se separara de sus acompañantes del complejo Bithorax, no muestra anomalías en su plan corporal.

Parece probable que a medida que fue evolucionando un plan corporal cada vez más complejo, se fueron añadiendo al genoma series de genes que contenían secuencias homeobox. Los fenotipos de los mutantes de *Drosophila* que carecen de genes determinados que presentan homeobox, proporcionan una visión de la posible estructura del organismo ancestral. Así eliminando los genes homeóticos selectores se produce un animal con numerosos segmentos idénticos, parecido a un ciempiés; especulativamente retrocediendo el curso de la evolución un paso más, al eliminar también los genes de polaridad de segmento y los genes de regla par, se puede alcanzar un hipotético ancestro, organizado como un nematodo, sin segmentación pero todavía presentando diferencias entre su cabeza y su cola. Por supuesto que un relato como este es altamente especulativo.

El descubrimiento de la homeobox ha iluminado algunas preguntas evolutivas importantes. Los genes que presentan homeobox se han encontrado no solo en insectos y otros artrópodos sino también el nematodo *C. elegans*, en anélidos (en sanguijuelas y en el gusano de tierra), en erizos de mar en cordados primitivos y en vertebrados, incluyendo ranas, pollos, ratones y en humanos. La secuencia homeobox está conservada con asombrosa exactitud a nivel proteico : por ejemplo una de las proteínas homeobox de *Xenopus* de la cual 59 de 60 aminoácidos son idénticos a la secuencia homeobox de la proteína antenapedia de *Drosophila*, a pesar que ambos organismos han evolucionado en forma independiente durante más de 500 millones de años. Esta conservación sugiere que pueden existir similitudes fundamentales entre los insectos y los vertebrados en cuanto al mecanismo que controla el plan corporal básico.

Los primeros Complejos homeobox deben haber aparecido muy temprano en la historia de la vida en platelmintos u otros organismos primitivos ancestros comunes tanto para el hombre como para los insectos. El alto grado de conservación de los complejos a lo largo de la evolución sugiere que una vez que una forma de especificar el eje anterior - posterior lo suficientemente eficiente apareció, fue más fácil producir nuevas formas corporales mediante la modificación de este sistema que desarrollar estrategias completamente nuevas.

Bibliografía.

1. Basto Acosta Luís. (1992). Regulación genética del **desarrollo** y diferenciación del embrión. Separata para el curso de Histología y Embriología Animal. Departamento Académico de Biología. Universidad Nacional Agraria La Molina Lima.
2. Brody Thomas (1999). Home Page : The interactive Fly © 1995.
<http://sdb.purdue.edu/fly/aimain/4matrnl.htm>
3. _____ (1998) Flies Invade Human Genetics Volume 12, No. 13 The Scientist June 22,
4. Córdova, J. H. (1990). Biología Evolutiva. Sollerita No. 8 Oct.- Dic.
5. De Robertis, E. (1990). Homeobox Genes and the Vertebrate Body Plan. Scientific American. Julio 1990. Pag. 26 - 32.
6. De Robertis (1992). Biología Celular. Cap. 16.
7. Howard Hughes Medical Institute. (1992). From egg to adult. Maryland USA.
8. Mayr, E. 1988. Toward a New Philosophy of Biology. The Belknap Press of Harvard University Press, England. 564 pgs.
9. Nüsselein - Volhard Christiane. (1996). Scientific American. August 1996. Pag. 38 - 43.
10. Swan, L. W. (1990). The Concordance of Ontogeny with Phylogeny. BioScience vol. 40 No 5
11. Encyclopedia of Life Sciences <http://www.els.net>

Drosophila Web Sites

The Interactive Fly <http://sdb.bio.purdue.edu/fly/aimain/1aahome.htm>

Flybase (data) <http://flybase.bio.indiana.edu>

Drosophila virtual library (Internet resource list) <http://ceolas.org/fly/>

Flybrain (atlas and database of nervous system) <http://flybrain.neurobio.arizona.edu/>

FlyView (image database) <http://pbio07.uni-muenster.de/Home.html>

Berkeley *Drosophila* Genome Project (encyclopedia of sequence data) <http://fruitfly.berkeley.edu/>

DRES (*Drosophila*-related expressed sequences) <http://www.tigem.it/dros.html>