

Cómo construir un tubo neural: la genética molecular del desarrollo neuroembriológico

H.B. Sarnat

HOW TO CONSTRUCT A NEURAL TUBE: THE MOLECULAR GENETICS OF NEUROEMBRYOLOGICAL DEVELOPMENT

Summary. Introduction. The 'new neuroembryology' combines classical morphogenesis with new molecular genetic data on the programming of neural differentiation and the interactions of transcription products of various developmental genes. Development. The neuroepithelium is generated from the primitive (Hensen's) node in birds and mammals, homologous with the dorsal lip of the amphibian gastrula. The developing neural placode is 'induced' by the notochord, which initiates the differentiation of the floor plate, a ventral midline ependyma. This induction is effected by a gene called Sonic hedgehog, which also is a strong ventralizing influence and induces motor neuron differentiation. Various families of genes program neural tube differentiation with dorsoventral or ventrodorsal gradients, rostrocaudal gradients and mediolateral gradients. Genes that establish the primordial axes of differentiation are 'organizer genes' and those involved with the identity of specific structures are 'regulatory genes'. Some developmental genes continue to be expressed in adult life and preserve the unique identity of specific cellular types. The neural tube is divided into compartments or segments known as neuromeres (or rhombomeres in the hindbrain) with physical and chemical barriers that limit cell migration between segments; the entire spinal cord is formed from rhombomere 8. Both extrinsic and intrinsic mechanical factors contribute to bend the neural placode to form the neural tube [REV NEUROL 1999; 28: 110-6].

Key words. Developmental genes. Induction. Malformation. Molecular genetics. Neural tube. Neuroembryology. Neuromeres. Rhombomeres. Segmentation.

INTRODUCCIÓN

La embriología clásica consiste en la morfogénesis descriptiva: observaciones detalladas de los cambios anatómicos e histológicos de los órganos y tejidos durante el curso del desarrollo del embrión y del feto. Durante la década pasada, la genética molecular nos ha ofrecido el don de una comprensión profunda, anteriormente ni siquiera sospechada, que explica por primera vez por qué estos cambios siguen tan precisamente una secuencia espacial y temporal tan bien programada. Sin embargo, la embriología clásica todavía sirve para documentar muchos detalles de las relaciones estructurales entre grupos de células neurales y vías axonales que forman la arquitectura del cerebro y de la médula espinal. Así, la nueva neuroembriología es una síntesis integrada que abarca los dos aspectos: los cambios anatómicos y los programas genéticos que dirigen la diferenciación.

Además de revolucionar nuestros conceptos del desarrollo normal, la genética molecular nos ha enseñado nuevos mecanismos de las disgenesias del sistema nervioso. El enfoque de las categorías tradicionales, p. ej. la neuronogénesis, la migración neuroblástica, las proyecciones axonales y la sinaptogénesis, hacia una comprensión más integrada de estos procesos solapados como interacciones de los productos proteínicos de la transcripción de los genes que especifican la diferenciación, no importa que las células existan por un período limitado, seguido por la apoptosis o muerte celular programada, o que los genes sigan expresándose durante toda la vida para conservar la identidad de ciertos tipos de células.

La importancia de la nueva neuroembriología para la neurología pediátrica, aparte de la nueva comprensión, incluye las posibilidades potenciales en el futuro para prevenir y, tal vez, para tratar con la ingeniería genética las malformaciones del sistema nervioso. Para entender bien la plasticidad del cerebro en desarrollo, hay que crear primero una plasticidad en nuestro modo de pensar y, a veces, subordinar la clasificación tradicional de las disgenesias cerebrales. Ya no son categorías de procesos aislados del desarrollo. Este subordinado no quiere decir que estos conceptos más antiguos y tradicionales ya no sean válidos y que ahora deban rechazarse por completo, pero hay que considerar, abierto de mente y en la luz de la evidencia reciente de la genética molecular, otra clasificación completamente nueva y todavía no bien conocida de estas malformaciones, que tiene como su base la expresión o coexpresión defectuosa de los productos de transcripción de uno o varios de los muchos genes que programan y coordinan todos los aspectos del desarrollo embriológico, desde la gastrulación hasta los detalles definitivos posnatales de la mielinización y de la sinaptogénesis. La nueva neuroembriología, por tanto, requiere que se abarquen igualmente la neuroanatomía tradicional y los conceptos genéticos moleculares contemporáneos para explicar cómo se forma y madura el sistema nervioso. Son fragmentarios los dos conceptos, el uno sin el cumplimiento del otro.

INDUCCIÓN (Tabla I)

En el caso del sistema nervioso, la creación y desarrollo subsiguiente del tubo neural primitivo pueden definirse en términos de los gradientes de influencias inductivas. La *inducción* es un término que indica la influencia de un tejido embrionario sobre otro, de manera que los dos, el inductor y el inducido, se diferencian para formar tejidos maduros muy distintos. La inducción ocurre con mayor frecuencia entre dos capas germinativas diferentes, p. ej. la inducción de la placa del suelo del tubo neural (ectodérmica) por la notocorda (mesodérmica). La inducción también puede ocurrir

Recibido: 03.07.98. Aceptado: 14.07.98.

Departamentos de Neurología, Pediatría y Patología (Neuropatología).
Universidad de Washington. Facultad de Medicina. Seattle, WA, EE.UU.

Correspondencia: Harvey B. Sarnat, MD, FRCPC. Dept. of Neurology.
CH49. Children's Hospital and Regional Medical Center. 4800 Sand Point
Way NE. Seattle, WA 98105-0371, EE.UU. Fax: 1-206-528-2649 E-mail:
hsarna@chmc.org

© 1998, REVISTA DE NEUROLOGÍA

Tabla I. Influencias inductivas sobre el desarrollo del tubo neural.

Gradientes dorsoventrales
Influencias para la diferenciación de estructuras dorsales
Influencias para la diferenciación de estructuras ventrales
Gradiente rostrocaudal
Gradiente mesiolateral
Segmentación
Cerradura del neuroepitelio para formar un tubo
Esfuerzos extrínsecos
Tejidos mesodérmicos circundantes
Epitelio superficial
Esfuerzos intrínsecos
Forma de cuña de las células de la placa del suelo
Crecimiento diferencial de las zonas ventral y dorsal
Moléculas de adhesión
Orientación del huso mitótico del neuroepitelio
Canal central fetal grande de la médula espinal del feto
Separación de la cresta neural

dentro de una sola capa germinativa. Un ejemplo es la cúpula óptica (neuroectodérmica) que induce la formación del cristalino y de la córnea del epitelio superficial (ectodérmico), el cual habría simplemente diferenciado como máximo epidermis si no hubiera sido inducido. La *inducción neural* significa la diferenciación o maduración de las estructuras del sistema nervioso de las células ectodérmicas no diferenciadas a causa de la influencia de los tejidos embrionarios circundantes.

El proceso de inducción fue descubierto en 1924 por Hans Spemann y Hilda Mangold, quienes demostraron que el *labio dorsal* de la gástrula de la salamandra poseía la capacidad de causar la formación de un segundo sistema nervioso central si era trasplantado a otro sitio en un embrión receptor, otro individuo de la misma especie [1]. Este labio dorsal del anfibio es homólogo al *nódulo primitivo* o *nódulo de Henson* de los embriones de las aves y de los mamíferos, e incluso del hombre. El trasplante del nódulo primitivo, al igual que los experimentos de Spemann y Mangold, produce resultados parecidos. El gen regulador *Cnot*, con acción principal sobre el nódulo primitivo, la notocorda y la placa neural poscordal, es el factor genético molecular responsable de esta inducción [2].

La especificidad de la inducción no es la molécula inductiva, sino los receptores sobre la membrana de la célula inducida. Esta distinción es importante porque otras moléculas ajenas, que sean parecidas a las naturales, son reconocidas a veces por el receptor como iguales, y de esta manera desempeñan el papel de teratógeno si el embrión se expone a una toxina de esta categoría. La inducción tiene lugar durante una temporada muy precisa y limitada; el período de respuesta de la célula inducida se denomina su *competencia*, y la misma célula no es capaz de responder ni antes ni después de este período. La membrana receptora, que representa la especificidad de la inducción, también está genéticamente pro-

Tabla II. Segmentación del tubo neural.

Neurómero	Estructuras derivadas en el SNC maduro
Rombómero 8 (r8)	Médula espinal entera, bulbo caudal, n. XI, XII
Rombómero 7 (r7)	Bulbo, n. IX, X, cresta neural
Rombómero 6 (r6)	Bulbo, n. VIII
Rombómero 5 (r5)	Bulbo, n. VII, cresta neural
Rombómero 4 (r4)	Bulbo, n. VI, VII
Rombómero 3 (r3)	Puente caudal, n. V, cresta neural
Rombómero 2 (r2)	Puente caudal, núcleos cerebelosos, n. IV
Rombómero 1 (r1)	Puente rostral, corteza cerebelosa
Neurómero mesencefálico	Mesencéfalo, n. III, cresta neural
Neurómero diencefálico 2	Diencéfalo dorsal
Neurómero diencefálico 1	Diencéfalo ventral, n. II y retina
Neurómero prosencefálico 2	Núcleos telencefálicos, bulbo olfatorio
Neurómero prosencefálico 1	Corteza cerebral, hipocampo, cuerpo calloso

Nota: r3 se asocia al primer arco branquial; r4 y r5 se asocian al segundo arco branquial; r7 se asocia al tercer arco branquial; n.= nervios o pares craneales.

gramada: un gen llamado *Notch* tiene una importancia especial en regular la *competencia* de una célula a reaccionar a las señales inductoras que provienen de dentro del tubo neural y de los otros tejidos embrionarios circundantes [3]. Algunos tejidos mesodérmicos, como el músculo liso del intestino fetal, pueden servir de mitógenos para el neuroepitelio al aumentar la frecuencia de proliferación celular [4], pero este fenómeno no es la inducción verdadera, pues las células proliferantes no se diferencian y no maduran. Algunos genes reguladores del sistema nervioso, como el *Wnt-1*, también muestran efectos mitógenos [5].

La formación temprana de la placa neural no se realiza exclusivamente por la proliferación mitótica de células neuroepiteliales, sino también por una conversión de células próximas a un destino neural. En los anfibios, el gen *achaete-scute* (*XASH-3*) se expresa en la parte dorsal del embrión desde el período de la gastrulación y sirve de conmutador molecular que cambia el destino de las células no diferenciadas para que lleguen a ser neuroepiteliales, en vez de tejidos mesodérmicos o ectodérmicos superficiales [6]. Algunas células se diferencian como clases específicas porque son activamente inhibidas a diferenciarse como otros tipos; todas las células neuroepiteliales al principio son programadas a ser neuronas, si no son inhibidas por genes que dirigen su diferenciación según otro linaje diferente, por ejemplo células gliales o ependimarias [7,8].

SEGMENTACIÓN

La segmentación del tubo neural crea compartimentos intrínsecos que limitan el movimiento de células por las barreras físicas y químicas que se forman entre los segmentos adjuntos, denominados *neurómeros*. La médula espinal, que aparece como la parte del SNC más segmentada en el adulto, en realidad no comprende

segmentos intrínsecos sino que se corresponde totalmente con el neurómero más caudal del tallo cerebral. La segmentación aparente de la médula espinal se debe a la agrupación de las raíces nerviosas, impuesta por la segmentación mesodérmica de los tejidos circundantes que forman las somitas, los arcos neurales de las vértebras y las estructuras asociadas. Los ocho neurómeros del tallo cerebral se denominan *rombómeros* [9-12]. Toda la corteza cerebelosa, tanto del vermis como de los hemisferios, se forma del rombómero 1, pero los núcleos profundos cerebelosos se forman del rombómero 2. La parte más rostral del tubo neural consiste en un *neurómero* mesencefálico y en cuatro neurómeros que se llaman *prosómeros*; entre ellos dos *neurómeros* *diencefálicos* y, por lo menos, dos *prosencefálicos*, aunque es posible que los dos *prosencefálicos* se subdividan [13,14]. Los neurómeros del cerebro humano embrionario se resumen en la tabla II.

Los segmentos del tubo neural se distinguen por barreras físicas formadas por prolongaciones gliales como de células radiales gliales especializadas [15,16] y también por factores químicos o moléculas secretadas que repelen las células migratorias. La adhesión de células en las zonas entre los rombómeros está aumentada, hecho que contribuye también a la formación de barreras contra la migración celular en el eje longitudinal [17]. Además, se limita la proliferación mitótica de las células neuroepiteliales en las fronteras entre los neurómeros. Durante la división de las células en esta zona, sus núcleos se quedan junto al ventrículo durante el ciclo mitótico en vez de alejarse mientras se suceden las fases intermitóticas [17]. Los rombómeros del tallo cerebral se identifican morfológicamente por una serie de surcos y lomos en la superficie dorsal, el futuro suelo del IV ventrículo, así que son compartimentos anatómicos verdaderos.

EL ESTABLECIMIENTO DE MARCOS DE REFERENCIA PARA EL TUBO NEURAL: GENES ORGANIZADORES Y GENES REGULADORES

El desarrollo temprano del sistema nervioso central de todos los vertebrados, aun antes del cierre de la placoda neural para formar el tubo neural, requiere el establecimiento del plan fundamental del cuerpo para la simetría bilateral, la cefalización o la identidad de ambos extremos –cabeza y cola– y de las superficies dorsal y ventral. Estos ejes del cuerpo mismo, y también del sistema nervioso central, requieren la expresión de genes que impongan los gradientes de diferenciación y de crecimiento. Los genes que determinan las polaridades y los gradientes de los ejes anatómicos se denominan *genes organizadores*. Muchos se expresan no sólo en el SNC, sino también en otros órganos y tejidos [18].

Las características básicas del plan del cuerpo son los *marcos de referencia* (en inglés, *patterning*) [12]. Se realizan por el código genético dentro del ADN nuclear de cada célula, pero también resultan de señales entre células vecinas, llevadas por moléculas que son los productos secretados traducidos de varias familias de genes organizadores, cada uno expresado en una distribución y en un período específicos.

El ARN que representa un transcrito del ADN traduce un péptido, una glucoproteína u otra molécula que sirve para la inducción o, a veces, como factor de crecimiento. Algunos genes también funcionan para estimular o inhibir la expresión de otros, o existe antagonismo o equilibrio entre ciertas familias de genes, por ej. los que se expresan como un gradiente dorsoventral y otros que causan un gradiente ventrodorsal.

Conservación evolutiva de los genes

Son tan primordiales en la vida animal las secuencias de nucleótidos del ADN que existen pares de bases idénticos o casi idénticos no sólo en todos los vertebrados sino también en todos los invertebrados, desde los gusanos más sencillos hasta los primates más complejos [19]. Los biólogos sobre anatomía comparada de la segunda mitad del siglo XIX, como Thomas Huxley, siempre buscaron *el eslabón ausente* (en inglés, *the missing link*) entre la evolución de los invertebrados y la de los vertebrados, pues la anatomía comparada no bastaba para proveerles de una respuesta convincente que, por supuesto, nunca hallaron porque la tecnología de la época no era suficiente para responder a esta pregunta tan profunda; el eslabón que ellos buscaban es la secuencia idéntica de los ácidos nucleicos que forman los mismos genes organizadores entre todos los animales. Los fanáticos religiosos de EE.UU. todavía no desean comprender o rehusan aceptar el hecho de *la conservación evolutiva de los genes*, esta obra tan magnífica de Dios, aun cuando estamos entrando en el siglo XXI.

Los genes que programan el desarrollo del sistema nervioso son series específicas de pares de bases del ADN, ligadas a proteínas pequeñas llamadas *factores de transcripción*. Una estructura frecuente en muchos factores de transcripción es el *rizo-lazo-rizo básico* (en inglés, *basic helix-loop-helix*, abreviado *bHLH*), que es tan primordial en la evolución de la vida que aparece por primera vez en ciertas bacterias, aun antes de la evolución del núcleo celular para concentrar el ADN [20].

Las familias de genes del desarrollo del SNC

Los genes que programan los ejes y gradientes del tubo neural se pueden clasificar como familias por sus secuencias de ácidos nucleicos semejantes y también por sus funciones generales, aunque existen diferencias importantes en el sitio o neurómero donde se expresa cada uno y las estructuras formadas por su expresión. Un gen del gradiente dorsoventral no sólo tiene un territorio dorsal de expresión, sino que hace que las partes ventrales del tubo neural se diferencien como estructuras dorsales si las influencias de otros genes de gradiente ventrodorsal no se antagonizan con suficiente esfuerzo, y viceversa. Un buen ejemplo se presenta en el desarrollo del somita. El esclerótomo (que forma el cartílago y el hueso del cuerpo vertebral) se sitúa habitualmente ventral al miótomo (que forma las fibras musculares estriadas) y al dermátomo. Células ectópicas de la placa del suelo o de la notocorda implantadas juntas al somita en embriones de pollos causan una *ventralización* del somita, de manera que forman un exceso de cartílago y hueso y producen una deficiencia de músculo y de dermis [21,22]. La placa del suelo, en este caso la notocorda, es el inductor ventralizante del somita mesodérmico, y ya se sabe que el producto genético responsable es del gen *Sonic hedgehog*, que también sirve como apoyo ventralizante del tubo neural [23]. Si un fragmento de notocorda se implanta ectópicamente junto a la región dorsal o lateral del tubo neural, se forma otra placa del suelo y se diferencian neuronas motoras a ambos lados de esta nueva placa, aun cuando ya se formaran antes una placa del suelo natural y neuronas motoras en sus sitios normales [24]. El *Sonic hedgehog*, un gen fuerte del gradiente ventrodorsal, ha inducido la ventralización de una región dorsal del tubo neural, y un eje del tubo neural se desarrolla mal o se duplica. Tal influencia en el feto humano puede ser la explicación de algunos casos raros de diplomielia y diastematomielia [25]. Por otra parte, el *Sonic hedgehog* también ejerce una influencia fuerte en la diferenciación de las estructuras ventrales y mediales del prosencefalo [26], y la expresión defec-

Tabla III. La familia de los genes *Engrailed (En)* y *Wingless (Wnt)*.

Gen	Sitio de expresión	Funciones
En-1	r1 y mesencéfalo	Diferenciación del mesencéfalo, puente rostral y corteza cerebelosa
En-2	r1 y mesencéfalo	Diferenciación del mesencéfalo, puente rostral y corteza cerebelosa
Wnt-1	r1 y mesencéfalo; borde lateral de placoda neural r3 a r8; difuso y débil en diencefalo y prosencefalo	Conserva expresión de En-1; mitógeno; influencia débil de polaridad dorsal en r3-r8
Wnt-3	r1 y mesencéfalo; r3-r8	Redundante con <i>Wnt-1</i> en mesencéfalo y r1; fuerte influencia de polaridad dorsal en r3-r8 incluso médula espinal; diferenciación de estructuras del tallo cerebral
Wnt-7	Neurómeros diencefálico y prosencefálico	Diferenciación de estructuras del diencefalo y hemisferios telencefálicos

tuosa por la mutación de este gen puede ser la base molecular de la malformación humana llamada holoprosencefalia [27].

Para establecer un equilibrio con los genes de influencia ventral, otras familias de genes ejercen una influencia dorsal, es decir, causan la diferenciación de estructuras dorsales del tubo neural; la familia *Pax* sirve en tal antagonismo [28,29]. El eje rostrocaudal del tubo neural y la segmentación, o formación de los neurómeros, son dirigidos en gran parte por una familia de 38 genes, divididos en cuatro grupos, que se denomina la familia *Hox* [9-11,30,31]. Cada uno de los trece genes *Hox* se expresa en ciertos rombómeros y no en otros (Tabla IV). Además de sus funciones en el establecimiento de los compartimentos o rombómeros del tallo cerebral y en la diferenciación de ciertas estructuras, los genes *Hox* también sirven para guiar los conos de crecimiento (puntas de los axones) que están formando las vías largas que ascienden y descienden entre el tallo cerebral y la médula espinal [32].

Los genes que dirigen la diferenciación específica de estructuras se llaman *genes reguladores* y a veces son los mismos que sirven de genes organizadores en un período más temprano. Las otras familias más importantes para el desarrollo del tallo cerebral y el mesencéfalo son *Engrailed (En)*, *Wingless (Wnt)*, *Hox*, *Knox*, y *Paired (Pax)*. Resúmenes de estos genes, sus sitios de expresión y sus funciones se presentan en las tablas III y V. Los genes tienen nombres extraños que no se corresponden en absoluto con sus funciones. A veces, hay nombres diferentes para el mismo gen en los invertebrados y en los vertebrados, aun cuando las secuencias bioquímicas sean iguales. Por ejemplo, *Sonic hedgehog* en los vertebrados se denomina sencillamente *hedgehog* en los invertebrados.

Algunos genes organizadores y reguladores se llaman *homeoboxes*. Un homeobox es una secuencia limitada de 183 pares de bases de nucleótidos de ADN, que codifica una clase de proteínas que comparten un grupo común de sesenta aminoácidos, denominado *homeodomain*. Las semejanzas bioquímicas de estos homeoboxes establecen la base de las agrupaciones o *familias* de genes.

El gen *Krox-20* se clasifica como un *dedo de cinc* (en inglés, *zinc finger*) a causa de complejos de cinc con los aminoácidos histidina y cisteína en su factor de transcripción. Este gen se expresa en rombómeros alternantes, pero especialmente en los rombómeros r3 y r5, donde tiene una importancia en la formación de

Tabla IV. La familia de los genes *Hox* y *Krox*.

Gen	Sitio de expresión	Funciones
Hox-1.5	Cresta neural	Separación y migración de cresta neural; glándula paratiroides; timo
Hox-1.6 (<i>Hoxa-1</i>)	r4-r7	Gradiente rostrocaudal; segmentación
Hox-2.1	r8 (médula espinal)	Gradiente rostrocaudal
Hox-2.6	r8 al borde r6/r7	Gradiente rostrocaudal; segmentación
Hox-2.8	r8 al borde r2/r3	Gradiente rostrocaudal; segmentación; regula proyecciones de axones en r3
Hox-2.9 (<i>Hoxb-1</i>)	r4	Formación de la cresta neural
Krox-20	r3, r5	Regula expresión de genes <i>Hox</i> ; formación de cresta neural; mielinización por células de Schwann en el sistema nervioso periférico

la cresta neural. Además, *Krox-20* regula la expresión de otros genes, sobre todo, de la familia *Hox* [33,34].

Factores de crecimiento, que también son moléculas creadas por secuencias de ADN, influyen en el establecimiento del plan del tubo neural; el *factor básico de crecimiento de fibroblastos* (en inglés, *basic fibroblast growth factor, bFGF*) sirve de inductor auxiliar del eje longitudinal con gradiente anteroposterior durante la formación del tubo neural [35].

La expresión de los genes es influida a veces por moléculas que no son productos de transcripción de los genes reguladores y que ni siquiera son proteínas. El ácido retinoico es un buen ejemplo. Esta molécula natural antagoniza la expresión de los genes *Hox* y, a su vez, ella misma sirve de reguladora; la sintetizan las células ependimarias de la placa del suelo y de la notocorda [36]. Pero el ácido retinoico (o retinol) es el alcohol de la vitamina A, y la exposición del embrión del animal experimental a niveles excesivos de ácido retinoico durante períodos críticos del desarrollo causa defectos graves del tubo neural, incluso el mielomeningocele y la malformación de Chiari tipo II [37,38]. Las madres humanas que toman en exceso vitamina A durante la época temprana de la gestación también tienen una frecuencia elevada de niños con defectos del tubo neural. El ácido retinoico, por tanto, es un fármaco exógeno que realiza el papel de un teratógeno por el mecanismo probable de la sobreexpresión de algunos genes y la inhibición de otros.

Muchos genes ejercen una influencia sobre la expresión de otros y algunos sirven para la misma función en este sentido. Por ej., el gen *En-1* tiene una expresión fuerte en el rombómero mesencefálico y también en el rombómero r1 de la mitad rostral del puente; este mismo territorio corresponde a la expresión de *Wnt-1* y de *Wnt-3*, y uno de estos dos genes *Wnt* es necesario para aumentar la expresión de *En-1*, pero si se produce una pérdida de *Wnt-1* o de *Wnt-3* por una mutación, el otro gen *Wnt* puede servir sólo y no ocurre ninguna malformación. La expresión redundante de estos dos genes *Wnt* provee una clase de plasticidad al nivel molecular del sistema nervioso en desarrollo. En cambio, si se pierde la expresión del *En-1*, la presencia normal de ambos genes *Wnt* todavía no basta para compensar, y de ello resulta el desarrollo defectuoso del mesencéfalo y del puente e hipoplasia cerebelosa [18,39]. Los genes *En-1* y *En-2*, que desempeñan funciones

Tabla V. La familia de los genes *Pax*.

Gen	Sitio de expresión	Funciones
Pax-2	r2-r8 en zona ventricular junto al surco limitante; mitad ventral de cúpula óptica	Gradiente de polaridad dorsal; segmentación; regulado por señales de notocorda y de la placa del suelo; formación de la retina y nervio óptico
Pax-3	r8 (médula espinal); r1 (cerebelo)	Conserva identidad de células gliales de Bergmann
Pax-6	r6-r8; r1 (cerebelo); neurómeros diencefálico y prosencefálico 1	Conserva identidad de células granulares del cerebelo

parecidas aunque en algunos detalles son diferentes, se expresan en el cerebro fetal humano tanto como en el ratón [40], y sus mutaciones pueden ser la base de una forma de hipoplasia cerebelosa y la formación defectuosa, o hasta la ausencia congénita extraña, del mesencéfalo y del puente.

Por otra parte, muchos genes reguladores cambian sus territorios de expresión en diferentes fases del desarrollo, al amplificar sus territorios para incluir más neurómeros o al comenzar con zonas difusas y terminar con zonas de expresión más limitadas. A veces, se expresan en rombómeros equivocados, la *expresión ectópica*, donde causan interferencia en el desarrollo normal [32].

NEURULACIÓN

El encorvamiento de la placoda neural para formar el tubo neural requiere esfuerzos mecánicos intrínsecos y extrínsecos. Éstos provienen, en parte, del crecimiento de los tejidos mesodérmicos a los dos lados del tubo neural, los futuros somitos. Después de sacar el mesodermo y el endodermo de un lado del neuroepitelio en el animal experimental, el tubo neural todavía se cierra, pero vira y llega a ser asimétrico [41]. El mesodermo parece ser importante para la orientación, pero no para el cierre del tubo neural. La expansión del epitelio de la superficie del embrión es el esfuerzo extrínseco principal para que se doble el neuroepitelio al formarse el tubo neural [42]. Las células de la placoda neural son móviles y se mudan debajo del ectodermo de la superficie, levantando las zonas laterales de la placoda hacia la línea media dorsal. El crecimiento del embrión entero no parece ser un factor importante, pues la neurulación continúa igual de bien en los anamniotas (p. ej. los anfibios), que no crecen durante este período, que en los amniotas (p. ej. los mamíferos) que crecen mucho [43].

Entre los esfuerzos intrínsecos del neuroepitelio, las células de la placa del suelo en la línea media ventral, que tienen una forma de cuña, estrechas en el ápice y anchas en la base, ayudan al encorvamiento [44]. Aunque la anchura de la placa del suelo sea escasa, su sitio en la línea media ventral es suficiente para tener una influencia significativa. Es otro aspecto de la inducción de la placa del suelo por la notocorda, además de su influencia sobre la diferenciación de células neurales [45]. Las células endodermarias

que forman la placa del suelo son las primeras células neurales en diferenciarse, e inducen un crecimiento de tejido en la zona ventral del neuroepitelio más que en la zona dorsal [25,46]; este efecto mecánico también puede facilitar el encorvamiento del tubo neural. Las moléculas de adhesión, que pegan unas células a las otras, probablemente son otro factor mecánico importante para la neurulación. En las etapas más tardías, el canal central endodermario, que es mucho más grande en el feto joven que en el recién nacido, tiene importancia al ejercer un esfuerzo centrífugo para la forma tubular. Al final, la orientación rostrocaudal de la mayoría de los husos mitóticos del neuroepitelio y la dirección hacia la que empujan por su masa las células hijas recién nacidas influyen también en la forma del tubo neural [47].

EXPRESIÓN DE GENES DE DESARROLLO DESPUÉS DEL PERÍODO FETAL

Muchos genes de desarrollo siguen expresándose después del período de ontogénesis y hasta la vida adulta. En especial, los que dirigen la diferenciación de ciertos tipos de células también pueden conservar la identidad única de estas células distintas en el estado maduro. En la corteza cerebelosa, *Wnt-3* conserva la identidad de las células de Purkinje; *Pax-3* es el responsable de la conservación de las células gliales de Bergmann; las neuronas granulares son apoyadas por varios genes, *Pax-6*, *Zic-1* y *Math-1*. Si estos genes dejan de expresarse, las células que ellos conservan mueren por apoptosis y desaparecen. Teóricamente, aunque todavía no se ha comprobado, este mecanismo puede explicar los casos humanos de hipoplasia cerebelosa agranular, en los cuales hay una escasez o ausencia total de neuronas granulares, aun cuando las células de Purkinje y los otros elementos de la corteza cerebelosa estén presentes [25]. En cambio, la conservación de la expresión de *Wnt-3* en las células de Purkinje depende en parte de sus relaciones con las neuronas granulares [48], de manera que probablemente los contactos sinápticos también sirven para comunicar información genética entre las neuronas maduras.

CONCLUSIÓN

La genética molecular de la pasada década ha revolucionado nuestra comprensión de los mecanismos de desarrollo del sistema nervioso, de manera que siempre debemos estar abiertos de mente para asimilar una nueva clasificación de los procesos de génesis e integrarla en las categorías tradicionales tales como la neurogénesis, la migración neuroblástica, la proyección de axones y la sinaptogénesis. La nueva neuroembriología comprende la morfología descriptiva clásica y también los programas genéticos que guían todos los aspectos del desarrollo. No se puede construir un tubo neural con ejes longitudinal, dorsoventral y mediolateral sin las materias genéticas, las cuales también sirven de cartilla de instrucciones; los factores mecánicos intrínsecos del tejido neuroepitelial y extrínsecos de los tejidos mesodérmicos circundantes también tienen importancia para la encorvación y la forma tubular.

BIBLIOGRAFÍA

1. Spemann H, Mangold H. Über Induktion von Embryonalanlagen durch Implantation artfremder Organisatoren. *Wilhelm Roux Arch Entwick* 1924; 100: 599-638.
2. Stein S, Kessel M. A homeobox gene involved in node, notochord and neural plate formation of chick embryos. *Mech Dev* 1995; 49: 37-48.
3. Fortini ME, Artavanis-Tsakonas S. Notch: neurogenesis is only part of the picture. *Cell* 1993; 75: 1245-7.
4. Fontain-Péru J. Migration of crest-derived cells from gut: gut influences on spinal cord development. *Brain Res Bull* 1993; 30: 251-5.
5. Dickson ME, Krumlauf R, McMahon AP. Evidence for a mitogenic effect of *Wnt-1* in the developing mammalian central nervous system. *Development* 1994; 120: 1453-71.
6. Turner DL, Weintraub H. Expression of *achaete-scute* homolog 3 in

- Xenopus* embryos converts ectodermal cells to a neural fate. *Genes Dev* 1994; 8: 1434-47.
7. Anderson DJ. A molecular switch for the neuron-glia developmental decision. *Neuron* 1995; 15: 1219-22.
 8. Hemmati-Brivanlou A, Melton D. Vertebrate embryonic cells will become neurons unless told otherwise. *Cell* 1997; 88: 13-7.
 9. Keynes R, Lumsden A. Segmentation and the origin of regional diversity in the vertebrate central nervous system. *Neuron* 1990; 2: 1-9.
 10. McGinnis W, Krumlauf R. Homeobox genes and axial patterning. *Cell* 1992; 68: 283-302.
 11. Keynes R, Krumlauf R. Hox genes and regionalization of the nervous system. *Annu Rev Neurosci* 1994; 17: 109-32.
 12. Guthrie S. Patterning the hindbrain. *Curr Opin Neurobiol* 1996; 6: 41-8.
 13. Figdor MC, Stem CD. Segmental organization of embryonic diencephalon. *Nature* 1993; 363: 630-4.
 14. Rubenstein JLR, Beachy PA. Patterning of the embryonic forebrain. *Curr Opin Neurobiol* 1998; 8: 18-26.
 15. Rubenstein JLR, Shimamura K, Martínez S. Regionalization of the prosencephalic neural plate. *Annu Rev Neurosci* 1998; 21: 445-77.
 16. Mai JK, Andressen C, Ashwell KWS. Demarcation of prosencephalic regions by CD15-positive radial glia. *Eur J Neurosci* 1998; 10: 746-51.
 17. Guthrie S, Butcher M, Lumsden A. Patterns of cell division and interkinetic nuclear migration in the chick embryo hindbrain. *J Neurobiol* 1991; 22: 742-54.
 18. Wurst W, Auerback AB, Joyner AL. Multiple developmental defects in *Engrailed-1* mutant mice: an early mid-hindbrain deletion and patterning defects in forelimbs and sternum. *Development* 1994; 120: 2065-75.
 19. De Pomerai D. From gene to animal: an introduction of the molecular biology of animal development. 2 ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1990.
 20. Boncinelli E, Somma R, Acampora D, et al. Organization of human homeobox genes. *Hum Reprod* 1988; 3: 880-6.
 21. Brand-Saberi B, Ebensperger C, Wilting J, et al. The ventralizing effect of the notochord on somite differentiation in chick embryos. *Anat Embryol* 1993; 188: 239-45.
 22. Pourquié O, Coltey M, Teillet M-A, et al. Control of dorsoventral patterning of somite derivatives by notochord and floor plate. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 5242-6.
 23. Tabin CJ, McMahon AP. Recent advances in *hedgehog* signalling. *Trends Cell Biol* 1997; 7: 442-6.
 24. Van Straaten HWM, Hekking JWM, Wiertz-Hoessels EJLM, et al. Effect of the notochord on the differentiation of the floor plate area in the neural tube of the chick embryo. *Anat Embryol* 1988; 177: 317-24.
 25. Sarnat HB. Cerebral dysgenesis. Embryology and clinical expression. New York: Oxford University Press; 1992.
 26. Ericson J, Muhr J, Placzek M, et al. *Sonic hedgehog* induces the differentiation of ventral forebrain neurons: a common signal for ventral patterning within the neural tube. *Cell* 1995; 81: 747-56.
 27. Roessler E, Belloni E, Gaudenz K, et al. Mutations in the human *Sonic hedgehog* gene cause holoprosencephaly. *Nat Genet* 1996; 14: 357-60.
 28. Callaerts P, Halder G, Gehring WJ. *Pax-6* in development and evolution. *Annu Rev Neurosci* 1997; 20: 483-532.
 29. Stoykova A, Gruss P. Roles for *Pax* genes in developing and adult brain as suggested by expression patterns. *J Neurosci* 1994; 14: 1395-412.
 30. Keynes R, Krumlauf R. *Hox* genes and regionalization of the nervous system. *Annu Rev Neurosci* 1994; 17: 109-32.
 31. Murphy P, Hill RE. Expression of the mouse *labial*-like homeobox-containing genes, *Hox-2.9* and *Hox-1.6*, during segmentation of the hindbrain. *Development* 1991; 111: 61-74.
 32. Kessel M. Reversal of axonal pathways from rhombomere 3 correlates with extra *Hox* expression domains. *Neuron* 1993; 10: 379-93.
 33. Nieto MA, Sechrist J, Wilkinson DG, Bronner-Fraser M. Relationship between spatially restricted *Krox-20* gene expression in branchial neural crest and segmentation in the chick embryo hindbrain. *EMBO J* 1995; 14: 1697-710.
 34. Wilkinson DG, Krumlauf R. Molecular approaches to the segmentation of the hindbrain. *Trends Neurosci* 1990; 13: 335-9.
 35. Doniach T. Basic FGF as an inducer of anteroposterior neural pattern. *Cell* 1995; 83: 1067-70.
 36. Wagner M, Thaller C, Jessell T, et al. Polarizing activity and retinoid synthesis in the floor plate of the neural tube. *Nature* 1990; 345: 819-22.
 37. Marín-Padilla M, Marín-Padilla MT. Morphogenesis of experimentally induced Arnold-Chiari malformation. *J Neurol Sci* 1981; 50: 29-55.
 38. Marín-Padilla M. Embryology and pathology of the axial skeleton and neural dysraphic disorders. *Can J Neurol Sci* 1991; 18: 153-69.
 39. Millen KJ, Wurst W, Herrup K, Joyner AL. Abnormal embryonic cerebellar development and patterning of postnatal foliation in two mouse *Engrailed-2* mutants. *Development* 1994; 120: 695-706.
 40. Zec N, Rowitch DH, Bitgood MJ, Kinney HC. Expression of the homeobox-containing genes EN1 and EN2 in human fetal midgestational medulla and cerebellum. *J Neuropathol Exp Neurol* 1997; 56: 236-42.
 41. Schoenwolf GC, Smith JL. Mechanisms of neurulation: traditional viewpoint and recent advances. *Development* 1990; 109: 243-70.
 42. Álvarez I, Schoenwolf GC. Expansion of surface epithelium provides the major extrinsic force for bending of the neural plate. *J Exp Zool* 1992; 261: 340-8.
 43. Jacobson AG. Experimental analysis of the shaping of the neural plate and tube. *Am Zool* 1991; 31: 628-43.
 44. Schoenwolf GC, Franks MV. Quantitative analyses of changes in cell shapes during bending of the avial neural plate. *Dev Biol* 1984; 105: 257-72.
 45. Smith J, Schoenwolf GC. Notochordal induction of cell wedging in the chick neural plate and its role in neural tube formation. *J Exp Zool* 1989; 25: 49-62.
 46. Sarnat HB. Role of the human fetal ependyma. *Pediatr Neurol* 1992; 8: 163-78.
 47. Sausedo RA, Smith JL, Schoenwolf GC. Role of randomly oriented cell division in shaping and bending of the neural plate. *J Comp Neurol* 1997; 381: 473-88.
 48. Salinas PC, Fletcher C, Copeland NG, et al. Maintenance of *Wnt-3* expression in Purkinje cells of the mouse cerebellum depends on interaction with granule cells. *Development* 1994; 120: 1277-86.

CÓMO CONSTRUIR UN TUBO NEURAL: LA GENÉTICA MOLECULAR DEL DESARROLLO NEUROEMBRIOLÓGICO

Resumen. Introducción. La 'nueva embriología' combina la morfogénesis clásica con nuevos datos de genética molecular sobre la programación de la diferenciación del tubo neural y las interacciones de productos de transcripción de varios genes que intervienen en el desarrollo. El neuroepitelio es generado a partir del nódulo primitivo (de Hensen) en aves y mamíferos, homólogo con el labio dorsal de la gástrula de los anfibios. Desarrollo. El desarrollo de la placoda neural es 'inducido' por la notocorda, la cual inicia la diferenciación del suelo de la placa, un epéndimo de la línea media ventral. Esta inducción es efectuada por un gen llamado *Sonic hedgehog*, el cual es también un fuerte influyente ventralizante e induce la diferenciación de las neuronas motoras. Varias familias de genes programan la diferenciación del tubo neural con gradientes dorsoventral o ventrodorsal, gradientes rostrocaudales y gradientes mediolaterales. Genes que establecen los primordiales ejes de diferenciación son 'genes organizadores' y aquellos que están involucrados con la identidad de estructuras específicas son 'genes reguladores'. Algunos genes del desarrollo continúan expresándose en la vida

COMO CONSTRUIR UM TUBO NEURAL: A GENÉTICA MOLECULAR DO DESENVOLVIMENTO NEUROEMBRIOLÓGICO

Resumo. Introdução. A 'nova embriologia' combina a morfogénesis clássica com novos dados de genética molecular sobre a programação da diferenciação do tubo neural e as interações de produtos de transcrição de vários genes que intervêm no desenvolvimento. Desenvolvimento. O neuroepitélio é gerado a partir do nódulo primitivo (de Hensen) nas aves e mamíferos, homólogo do lábio dorsal da gástrula dos anfíbios. O desenvolvimento da placa neural é 'induzido' pela notocorda, a qual inicia a diferenciação da base da placa, um epêndimo da linha média ventral. Esta indução é efectuada por um gene denominado '*sonic hedgehog*', o qual exerce também uma forte influência ventralizante e induz a diferenciação das neurónias motoras. Várias famílias de genes programam a diferenciação do tubo neural com gradientes dorsoventral ou ventrodorsal, gradientes rostrocaudais e gradientes mediolaterais. Genes que estabelecem os primordiais eixos de diferenciação são 'genes organizadores'. Aqueles que estão envolvidos com a identidade de estruturas específicas são 'genes reguladores'. Alguns genes do desenvolvimento continuam a expressar-se na vida adulta e

adulta y preservan la identidad única de tipos celulares específicos. El tubo neural está dividido en compartimentos o segmentos conocidos como neurómeros, o rombómeros en el cerebro posterior, con barreras físicas y químicas que limitan la migración celular entre segmentos; la médula espinal entera está formada del rombómero 8. Ambos factores mecánicos –extrínseco e intrínseco– contribuyen a la incurvación de la placoda neural para formar el tubo neural [REV NEUROL 1999; 28: 150-6].

Palabras clave. Genes del desarrollo. Genética molecular. Inducción. Malformación. Neuroembriología. Neurómeros. Rombómeros. Segmentación. Tubo neural.

preservam a identidade única de tipos celulares específicos. O tubo neural está dividido em compartimentos ou segmentos conhecidos como neurómeros, ou rombómeros no cérebro posterior, com barreiras físicas e químicas que limitam a migração celular entre segmentos; a medula espinal, no seu total, origina-se do rombómero 8. Ambos os fatores mecânicos –extrínseco e intrínseco– contribuem para a curvatura da placa neural para formar o tubo neural [REV NEUROL 1999; 28: 150-6].

Palavras chave. Genes do desenvolvimento. Genética molecular. Indução. Malformação. Neuroembriologia. Neurómeros. Rombómeros. Segmentação. Tubo neural.