



# ANTOLOGÍA

# Biología del Desarrollo

*Licenciatura en Medicina Humana*

*Primer Semestre*

---

## Marco Estratégico de Referencia

---

### ANTECEDENTES HISTORICOS

Nuestra Universidad tiene sus antecedentes de formación en el año de 1979 con el inicio de actividades de la normal de educadoras “Edgar Robledo Santiago”, que en su momento marcó un nuevo rumbo para la educación de Comitán y del estado de Chiapas. Nuestra escuela fue fundada por el Profesor de Primaria Manuel Albores Salazar con la idea de traer Educación a Comitán, ya que esto representaba una forma de apoyar a muchas familias de la región para que siguieran estudiando.

En el año 1984 inicia actividades el CBTiS Moctezuma Ilhuicamina, que fue el primer bachillerato tecnológico particular del estado de Chiapas, manteniendo con esto la visión en grande de traer Educación a nuestro municipio, esta institución fue creada para que la gente que trabajaba por la mañana tuviera la opción de estudiar por las tardeS.

La Maestra Martha Ruth Alcázar Mellanes es la madre de los tres integrantes de la familia Albores Alcázar que se fueron integrando poco a poco a la escuela formada por su padre, el Profesor Manuel Albores Salazar; Víctor Manuel Albores Alcázar en septiembre de 1996 como chofer de transporte escolar, Karla Fabiola Albores Alcázar se integró como Profesora en 1998, Martha Patricia Albores Alcázar en el departamento de finanzas en 1999.

En el año 2002, Víctor Manuel Albores Alcázar formó el Grupo Educativo Albores Alcázar S.C. para darle un nuevo rumbo y sentido empresarial al negocio familiar y en el año 2004 funda la Universidad Del Sureste. La formación de nuestra Universidad se da principalmente porque en Comitán y en toda la región no existía una verdadera oferta Educativa, por lo que se veía urgente la creación de una institución de Educación superior, pero que estuviera a la altura de las exigencias de los jóvenes que tenían intención de seguir estudiando o de los profesionistas para seguir preparándose a través de estudios de posgrado.

Nuestra Universidad inició sus actividades el 18 de agosto del 2004 en las instalaciones de la 4ª avenida oriente sur no. 24, con la licenciatura en Puericultura, contando con dos grupos de cuarenta alumnos cada uno. En el año 2005 nos trasladamos a nuestras propias instalaciones en la carretera Comitán – Tzimol km. 57 donde actualmente se encuentra el campus Comitán y el Corporativo UDS, este último, es el encargado de estandarizar y controlar todos los procesos operativos y Educativos de los diferentes Campus, Sedes y Centros de Enlace Educativo, así como de crear los diferentes planes estratégicos de expansión de la marca a nivel nacional e internacional.

Nuestra Universidad inició sus actividades el 18 de agosto del 2004 en las instalaciones de la 4ª avenida oriente sur no. 24, con la licenciatura en Puericultura, contando con dos grupos de cuarenta alumnos cada uno. En el año 2005 nos trasladamos a nuestras propias instalaciones en la carretera Comitán – Tzimol km. 57 donde actualmente se encuentra el campus Comitán y el corporativo UDS, este último, es el encargado de estandarizar y controlar todos los procesos operativos y educativos de los diferentes campus, así como de crear los diferentes planes estratégicos de expansión de la marca.

## **MISIÓN**

Satisfacer la necesidad de Educación que promueva el espíritu emprendedor, aplicando altos estándares de calidad Académica, que propicien el desarrollo de nuestros alumnos, Profesores, colaboradores y la sociedad, a través de la incorporación de tecnologías en el proceso de enseñanza-aprendizaje.

## **VISIÓN**

Ser la mejor oferta académica en cada región de influencia, y a través de nuestra Plataforma Virtual tener una cobertura Global, con un crecimiento sostenible y las ofertas académicas innovadoras con pertinencia para la sociedad.

## VALORES

- Disciplina
- Honestidad
- Equidad
- Libertad

## ESCUDO



El escudo de la UDS, está constituido por tres líneas curvas que nacen de izquierda a derecha formando los escalones al éxito. En la parte superior está situado un cuadro motivo de la abstracción de la forma de un libro abierto.

## ESLOGAN

“Mi Universidad”

## ALBORES



Es nuestra mascota, un Jaguar. Su piel es negra y se distingue por ser líder, trabaja en equipo y obtiene lo que desea. El ímpetu, extremo valor y fortaleza son los rasgos que distinguen.

## INDICE

### UNIDAD I

1.	Introducción a la embriología	10
1.1.	Introducción general.	10
1.2.	Embriología y Biología del Desarrollo.	12
1.3.	Historia.	13
1.4.	Fases del desarrollo ontogénico.	16

### UNIDAD II

2.	Modelos y técnicas experimentales en embriología y biología celular del desarrollo	19
2.1.	Modelos	19
2.1.1.	Dictyostelium discoideu	20
2.1.2.	Caenorhaditis elegans,	21
2.1.3.	Arbacia punctulata,	22
2.1.4.	Drosophila melanogaster,	27
2.1.5.	Branchydanio rerio, Xenopus laevis,	28
2.1.6.	Gallus domestica y Mus musculus.	31
2.2.	Técnicas	34
2.2.1.	Microscopia de luz y electrónica,	36
2.2.2.	Inmunocitoquímica,	38
2.2.3.	Hibridación "in situ"	40
2.2.4.	Transfección de genes,	41
2.2.5.	Transplantes,	43
2.2.6.	Animales Knock out y transgenicos,	44
2.2.7.	Células madre, teratocarcinomas	48

### **UNIDAD III**

3.	Embriología descriptiva	55
3.1.	Gametogénesis.	55
3.2.	Espermatogénesis.	55
3.3.	Ovogénesis.	57
3.4.	Fecundación.	63
3.5.	Activación del espermatozoide: Maduración y Capacitación.	64
3.6.	Aproximación. Adhesión y reacción acrosómica: Erizo de mar y mamíferos	73
3.7.	Activación del óvulo. Cambios en la organización del citoplasma del huevo causados por la fecundación.	74
3.8.	Segmentación	75
3.9.	Características generales.	75
3.10.	Tipos y ejemplos. Los núcleos de los blastómeros ¿son equivalentes entre sí?	80
3.11.	Importancia del citoplasma en la segmentación.	81
3.12.	Manifestación de los genes maternos durante las primeras fases del desarrollo	82
3.13.	Gastrulación.	84
3.14.	Características generales.	85
3.15.	Tipos y ejemplos: Erizo de mar, Anfibios, Aves (Anexos embrionarios)	91
3.16.	Mamíferos (Desarrollo embrionario precoz. Placenta: Funciones y tipos)	92
3.17.	Desarrollo temprano de los vertebrados (Histogénesis).	94
3.18.	Derivados ectodérmicos, mesodérmicos y endodérmicos.	95

## **UNIDAD IV**

4.	Biología celular del desarrollo	97
4.1.	Introducción a la Biología Celular del Desarrollo.	97
4.2.	Proliferación celular. Diferenciación y Reordenación espacial.	98
4.3.	Equivalencia genómica y expresión génica diferencial	103
4.4.	Evidencias de la equivalencia genómica: Metaplasia y Clonaje.	104
4.5.	Causas por las cuales no existe equivalencia genómica: Pérdida de DNA	106
4.6.	Amplificación del genoma y Reestructuración del DNA.	107
4.7.	Base celular de la morfogénesis.	109
4.8.	Afinidad celular diferencial.	111
4.9.	Moléculas de adhesión	115
4.10.	Migración.	117
4.11.	Especificación del destino celular.	118
4.12.	Especificación autónoma o citoplasmática.	120
4.13.	Especificación condicional o por interacciones celulares	121
4.14.	Organogénesis.	121
4.15.	Secundaria: Interacciones epitelio-mesénquima.	125
4.16.	Interacciones celulares a distancia.	130
4.17.	Control hormonal	134
4.18.	Formación del patrón	135
4.19.	Biología del desarrollo e inquietudes humanas	135

---

## **Biología del Desarrollo**

---

### **Objetivo de la materia:**

**Comprender y analizar el desarrollo biológico y los modelos y técnicas experimentales en embriología y biología celular del desarrollo sus técnicas y su desarrollo.**

## **Unidad 1 INTRODUCCIÓN A LA EMBRIOLOGÍA**

### **I.1 INTRODUCCIÓN GENERAL**

De una sola célula a un neonato en 9 meses, es un proceso de desarrollo que representa una integración impresionante de fenómenos cada vez más complejos. El estudio de estos fenómenos se denomina embriología, y este campo abarca investigaciones sobre factores moleculares, celulares y estructurales que contribuyen a la formación de un organismo. Estos estudios son importantes debido a que aportan el conocimiento esencial para integrar estrategias de atención de la salud a fin de lograr mejores resultados reproductivos. Así, nuestro mayor y creciente conocimiento de la embriología ha permitido el desarrollo de técnicas nuevas para el diagnóstico y el tratamiento prenatales, procedimientos terapéuticos para resolver los problemas vinculados con la infertilidad y mecanismos para prevenir los defectos congénitos, la causa principal de mortalidad infantil. Estos avances en la atención de la salud prenatal y reproductiva son relevantes no sólo por su contribución al mejoramiento de los resultados al nacer, sino también por sus efectos posnatales a largo plazo. Por ejemplo, tanto nuestra capacidad cognitiva como nuestras características conductuales se ven afectadas por las experiencias prenatales, y factores como el tabaquismo, la nutrición, el estrés y la diabetes en la madre, entre otros, influyen sobre nuestra salud posnatal. Por otra parte, las experiencias prenatales combinadas con factores moleculares y celulares determinan nuestro potencial para desarrollar ciertas enfermedades en la edad adulta, como cáncer y trastornos cardiovasculares. De este modo, nuestro desarrollo prenatal tiene muchas consecuencias sobre nuestra salud tanto a corto como a largo plazo, lo que hace del estudio de la embriología y el desarrollo fetal un tema importante para todos los profesionales de la atención de la salud. De igual modo, excepto por contados especialistas, la mayor parte de los médicos y los trabajadores de la atención de la salud tendrá oportunidad de interactuar con mujeres en edad reproductiva, lo que crea un potencial para que estos proveedores tengan un mayor impacto sobre la evolución de los procesos del desarrollo y sus complicaciones.

Entre las disciplinas morfológicas, la Embriología/Biología del Desarrollo es la que despierta una curiosidad inmediata, ya que el saber cómo nos desarrollamos a partir de una célula resulta

fascinante. El asombro no cesa al entender la gran cantidad de interacciones celulares y moleculares que, maravillosamente orquestadas, darán como resultado un nuevo ser y cómo cualquier desviación de ese plan general puede conducir a un defecto congénito.

Siempre ha sido una cuestión de seductor interés la de cómo nos desarrollamos antes de nacer. “¿De dónde he venido?”, es una de las primeras preguntas reflexivas de un niño. Desde siempre el hombre, formulándose la pregunta sobre su propio origen y su propio destino y sobre la consistencia última de la vida, se ha considerado a sí mismo y a sus propios hijos como dependiente del gran misterio del cual todo fluye en su totalidad y en cada instante. Entre los pueblos primitivos (pueblos en una infancia cultural) este mismo interés se manifiesta en forma intensa y urgente. No es sorprendente que se acoplan al comienzo de una nueva vida muchas supersticiones extrañas y una maraña de elementos folclóricos, y que lo rodearan de una serie de tabús. Pero siempre detrás del misticismo, se hallaba en función ese característico instinto primario de curiosidad – el impulso que induce a averiguar cómo suceden las cosas y por qué suceden. Mediante primitivos documentos escritos sabemos que el hombre tenía conocimiento de que el nacimiento se producía como resultado de la unión sexual.

Es así que, en el documento posiblemente más antiguo de embriología indostana escrita en hindú, que se denomina: Garbba Upanisad en el año 1416 a.C. describe ideas antiguas sobre el embrión y comenta: “Por la conjugación de sangre y semen el embrión obtiene su existencia. Durante el periodo favorable para la concepción, después del coito, (el) se torna en un Kalada (un embrión de un día de edad). Luego de permanecer siete noches se transforma en una vesícula. En una quincena, se transforma en una masa esférica. Transcurrido un mes, se constituye en una masa firme. Después de dos meses, se forma la cabeza. A los tres meses aparecen las regiones de los miembros”.

## **1.2 EMBRIOLOGÍA Y BIOLOGÍA DEL DESARROLLO**

La embriología, subdisciplina de la genética (según el código UNESCO), es la rama de la biología que se encarga de estudiar la morfogénesis, el desarrollo embrionario y nervioso desde la gametogénesis hasta el momento del nacimiento de los seres vivos. La formación y el

desarrollo de un embrión es conocido como embriogénesis. Se trata de una disciplina ligada a la anatomía e histología.

El desarrollo de un embrión se inicia con la fertilización, que origina la formación del cigoto. Cuando finaliza el proceso durante el cual se generan todas las principales estructuras y órganos del sistema (a las 9 semanas aproximadamente), el embrión se denominará feto, (Embrio-, de embrios, embrión; -logía, de logos, estudio) En otras palabras, el estudio de las primeras ocho semanas de desarrollo después de la fecundación de un óvulo humano.

La Embriología se puede clasificar de la siguiente manera:

- Embriología Comparada: Se encarga de comparar los embriones de los seres vivos.
- Embriología Química: Proporciona bases químicas del desarrollo ontogénico.
- Embriología Moderna: Se desarrolló a principios del siglo XXI y se complementa con variadas disciplinas tales como la Genética, Medicina y Bioquímica.

La Biología del desarrollo es la rama de la medicina que estudia los procesos que participan en la formación de un nuevo ser, considerando los mecanismos de control morfológicos, moleculares, de crecimiento y diferenciación celular; estos mecanismos ayudan a comprender la embriogénesis normal y las anomalías congénitas que se generan durante dicho proceso.

La biología del desarrollo es una rama de la biología que estudia los procesos mediante los cuales los organismos crecen y se desarrollan desde una célula única (el cigoto) hasta su forma adulta. Esto incluye la investigación de los mecanismos genéticos, celulares y moleculares que controlan la diferenciación celular, la morfogénesis, el crecimiento y la regulación del desarrollo a lo largo del ciclo de vida del organismo. La biología del desarrollo también aborda cómo estas dinámicas pueden llevar a variaciones en la forma y función entre diferentes especies.

Existen diversos mecanismos del desarrollo que podemos clasificarlos en: Mecanismos básicos y mecanismos moleculares. Los mecanismos básicos involucran:

- Mitosis asimétrica.
- Dinámica temporal interna acoplada a mitosis.

- Inducción jerárquica.
- Mitosis dirigida.
- Crecimiento diferencial.
- Apoptosis.
- Migración.
- Adhesión.
- Contracción.
- Tumefacción, pérdida o deposición de la matriz celular

Mientras que los mecanismos moleculares involucran los factores de transcripción que son reguladores clave para la expresión de los genes, y es el control de transcripción que permite que cada tipo celular (epitelial, neuronal, muscular, etc.) exprese sus proteínas específicas en determinadas cantidades. Los factores de transcripción son regulados por cascadas de transducción de señales que reciben señales exteriores a la célula, y se las "comunican" al núcleo celular. Estas cascadas de señales casi siempre involucran receptores de membrana, a los que se unen los ligandos, y enzimas. Un tipo de genes muy importante, los cuales son regulados por distintos factores de transcripción en distintas células, son los genes que codifican para proteínas de adhesión, las cuales son muy importantes en la morfogénesis.

### 1.3 HISTORIA

El proceso de evolución desde una sola célula y su avance por el periodo de establecimiento de los esbozos de los órganos (las primeras 8 semanas del desarrollo humano) se denomina periodo de embriogénesis (en ocasiones llamado periodo de organogénesis); el periodo que transcurre desde ese momento hasta el nacimiento se denomina periodo fetal, y en él continúa la diferenciación al tiempo que el feto crece y gana peso. Las estrategias científicas para el estudio de la embriología han progresado a lo largo de cientos de años. No resulta sorprendente que las estrategias anatómicas dominaran en los estudios tempranos. Se hacían observaciones, que se volvieron cada vez más sofisticadas con los avances en el equipo óptico y las técnicas para disección. Los estudios comparativos y evolutivos formaron parte de esta

ecuación, puesto que los científicos hicieron comparaciones entre especies y comenzaron a comprender de este modo la evolución de los fenómenos del desarrollo.

También se investigó a los nacidos con defectos congénitos, y estos casos se comparaban con los organismos con patrones de desarrollo normal. El estudio de los orígenes y las causas embrionarias de estos defectos congénitos se denominó teratología. En el siglo xx, el campo de la embriología experimental floreció. Experimentos numerosos se diseñaron para seguir a las células durante el desarrollo y determinar sus linajes celulares. Estas estrategias incluían observaciones de embriones transparentes de especies del subfilo Tunichata, que contenían células pigmentadas que podían visualizarse por medio de un microscopio. Más tarde, se recurrió a tinciones vitales para visualizar células vivas y seguir su destino. Más adelante, en la década de 1960, se utilizaron marcadores radioactivos y técnicas autorradiográficas. Uno de los primeros marcadores genéticos también surgió en torno a esta época, con la creación de las quimeras de pollo-codorniz. En esta técnica las células de codorniz, que cuentan con un patrón único de distribución de heterocromatina en torno al nucléolo, se injertaban en embriones de pollo en fases tempranas del desarrollo. Más tarde, los embriones receptores eran sometidos a exploración histológica y se determinaba el destino de las células de codorniz. Una adaptación de esta estrategia condujo al desarrollo de anticuerpos específicos contra los antígenos de las células de codorniz, que facilitaban en gran medida su identificación.

El seguimiento del destino de las células con estas y otras técnicas aporta información valiosa en cuanto a los orígenes de distintos órganos y tejidos. Los experimentos de injerto también trajeron consigo los primeros conocimientos relativos a la señalización entre los tejidos. Ejemplos de este tipo de experimentos fueron el implante del nodo primitivo en una posición distinta a la que, por lo general ocupa en el eje corporal, y la demostración de que esta estructura podía inducir un segundo disco germinal. Otro ejemplo corresponde a la utilización de yemas de extremidades en desarrollo, con las que se probó que, si una porción de tejido del borde axial dorsal de una extremidad se injertaba en el borde anterior de una segunda extremidad, los dígitos de la extremidad receptora sufrían duplicación en espejo.

Esta región de señalización dorsal se denominó zona de actividad polarizante (ZAP), y en la actualidad se sabe que la molécula de señalización (o señalizadora) que media en ella es SONIC HEDGEHOG (SHH). En 1961 la ciencia de la teratología adquirió relevancia como consecuencia del uso del fármaco talidomida para eliminar la náusea e inducir sedación en mujeres gestantes. Desafortunadamente, el fármaco produjo defectos congénitos, entre ellos anomalías únicas en las extremidades, como agenesia de una o más de ellas (amelia) o ausencia de sus huesos largos, de modo tal que sólo la mano o el pie se insertaban en el tronco (focomelia). La asociación entre el fármaco y los defectos congénitos fue reconocida de manera independiente por dos clínicos, W. Lenz y W. McBride, y puso en evidencia que el producto era vulnerable a factores maternos que atravesaban la placenta. Poco después, modelos numerosos en animales que confirmaban la relación entre factores ambientales, fármacos y genes, arrojaron más información en torno a los eventos del desarrollo y el origen de los defectos congénitos. En la actualidad a la lista de paradigmas experimentales aplicados para estudiar el desarrollo normal y el anormal se han agregado las estrategias moleculares.

Medios numerosos para identificar células, que recurren a genes reporteros, sondas fluorescentes y técnicas de marcado, han incrementado nuestra capacidad para seguir los destinos celulares. Con el uso de otras técnicas para modificar la expresión genética, como las tecnologías de knock-out, knockin y de pérdida de sentido, se crearon nuevas alternativas para inducir un desarrollo anómalo y permitir el estudio de la función de genes independientes en tejidos específicos.

Así, el advenimiento de la biología molecular ha hecho avanzar el campo de la embriología al siguiente nivel, y al tiempo que desciframos los papeles de genes específicos y su interacción con los factores ambientales, nuestro conocimiento en torno a los procesos de desarrollo normales y anormales avanza. La pregunta “¿cómo nos formamos?” no es nueva, y las respuestas inician con Hipócrates de Cos y Aristóteles, quienes sientan las bases de la embriología como ciencia al describir el desarrollo del pollo y otros embriones. Y aunque las conclusiones de Aristóteles sobre el inicio de la vida del nuevo ser no fueron las correctas, no quita mérito a sus observaciones tomando en consideración las dificultades técnicas para hacerlas. En el siglo II de nuestra era, Galeno escribió la obra Sobre la formación del feto. En el

Talmud, el Corán y en tratados sánscritos, ya se hace referencia a la morfología del embrión con descripciones que encajan en los primeros estadios del desarrollo (cigoto, blastocisto y hasta el estadio somítico).

Durante la Edad Media poco se sabe del desarrollo del conocimiento del área, y es hasta la adecuación del microscopio por Anton van Leeuwenhoek cuando se recibe un nuevo impulso, tras describir por primera vez los espermatozoides humanos en 1677; por su parte, en 1672 Reinier de Graaf describe en conejos los ovarios y sus folículos maduros. Estas observaciones apoyaron la aparición de dos corrientes: los homunculistas, quienes favorecían la idea de que dentro del espermatozoide se encontraba un humano en miniatura que era nutrido por el ovocito; y los ovistas, con el punto de vista contrario, en el cual el nuevo ser contenido en el ovocito era estimulado para crecer por el líquido seminal. Ambas teorías fueron desplazadas cuando Lazzaro Spallanzani (1729-1799) demostró la necesidad de ambos elementos para la formación del nuevo ser, y cuando Caspar Friedrich Wolff introdujo en 1759 sus postulados revolucionarios: la teoría de la epigénesis, según la cual “el desarrollo embriológico ocurre mediante remodelamiento y crecimiento progresivo”, y la de la formación de capas celulares, o disco embrionario, que refutaron definitivamente los conceptos previos.

#### **I.4 FASES DEL DESARROLLO ONTOGÉNICO**

La ontogenia, crecimiento ontogenético o desarrollo es, en biología, la progresión de estadios vitales desde la fecundación hasta la senescencia (vejez). Cada organismo está conformado por un gran número de unidades, las células, que poseen en su interior un conjunto de instrucciones, los genes, que permiten desarrollar las distintas partes del organismo. Cada gen está internamente programado para actuar o expresarse en diferentes momentos de los estados de desarrollo, generando de esta manera cambios en la forma del (fenotipo) del ser vivo. Este proceso es universal en el sentido que ha sido observado en todos los organismos pluricelulares vivos. El crecimiento es, también, el proceso por el cual una sola célula se convierte en una criatura compuesta por una unidad de células con funciones distintas. Estas células están organizadas en órganos funcionales de cuerpos adultos o juveniles. De una sola célula proveniente de un óvulo fecundado pueden surgir desde las células musculares del corazón hasta los glóbulos rojos o las células sensibles a la luz de la retina en los ojos.

El principio esencial a través del cual sucede esto es que una sola célula se divide en dos células que son distintas una de la otra y que van a seguir caminos distintos. Este proceso se denomina diferenciación celular y aún falta mucho camino por recorrer antes de entenderlo completamente. (crecimiento ontogenético conjuntos y aplicaciones, tesis doctoral).

Los patrones y procesos asociados con el crecimiento varían mucho de una especie a otra. Por ejemplo, muchas especies de ranas comienzan como huevos, se convierten en renacuajos y pasan por una transición drástica para convertirse en ranas adultas terrestres. Una vez que llegan a la edad adulta, sus cuerpos pueden continuar adaptándose y cambiando a medida que envejecen. Por otro lado, un óvulo humano fertilizado se convertirá en un embrión y luego en un feto dentro del útero. Luego, los bebés humanos nacen dependientes de sus madres y experimentan un crecimiento más lento y gradual hasta la edad adulta. sexualmente). En esta lección, explore los procesos ontogenéticos con más detalle para comprender en qué consisten y cómo varían a lo largo del árbol de la vida. Las etapas y transiciones que experimenta un organismo desde la concepción hasta la edad adulta se conocen colectivamente como la ontogenia de ese organismo. Los procesos ontogenéticos están involucrados en el crecimiento y desarrollo desde el momento en que un espermatozoide fertiliza un óvulo (en organismos que se reproducen).

La ontogenia describe el crecimiento y desarrollo de un organismo. Cada especie tiene sus propios procesos ontogenéticos por los que los juveniles deben pasar para convertirse en adultos desarrollados. Los árboles filogenéticos se pueden usar para mapear la ontogenia, pero no describen inherentemente los procesos ontogenéticos. Por ejemplo, se podría anotar el árbol de la vida (un árbol filogenético muy grande) con los tipos de desarrollo ontogenético de las diferentes especies. En este ejemplo, los organismos con ontogenias similares pueden estar muy juntos porque evolucionaron a partir de ancestros similares con una ontogenia compartida, o pueden estar muy alejados si sus procesos ontogenéticos han cambiado varias veces a lo largo de la historia evolutiva.

Las ontogenias han arrojado información importante sobre la filogenética. Por ejemplo, mientras que los humanos, los peces y las aves parecen bastante diferentes entre sí, estos tres grupos experimentan eventos notablemente similares en su desarrollo. Mientras que las branquias son más evidentes en los peces, los embriones humanos mantienen hendiduras

branquiales en el útero. Al reconocer los cambios en la ontogenia a lo largo del árbol evolutivo, los científicos han podido comprender mejor las relaciones entre los organismos.

La ontogenia sigue patrones similares en todos los organismos, aunque las etapas individuales pueden diferir entre especies. Estas etapas incluyen (pero no se limitan a):

Gametogénesis

Fecundación

Segmentación

Gastrulación

Organogénesis

Crecimiento y diferenciación

Los procesos de desarrollo ontogenético comienzan en la fertilización, en la que un gameto masculino y femenino se combinan para formar un conjunto completo de ADN. A partir de aquí, las células comienzan a dividirse rápidamente. entrando en las primeras etapas de crecimiento.

La fertilización puede verse drásticamente diferente entre especies. Por ejemplo, muchos animales utilizan la fertilización externa, en la que el óvulo y el espermatozoide se encuentran y se desarrollan fuera del cuerpo de los padres.

Otros organismos utilizan la fertilización interna, en la que el óvulo y el espermatozoide se encuentran dentro del cuerpo de uno de los padres. En este último caso, un embrión puede desarrollarse completamente dentro de un progenitor o ser expulsado del cuerpo después de un breve período para desarrollarse externamente. (ontogenia: características y desarrollo ontogenético).

## Unidad II: MODELOS Y TÉCNICAS EXPERIMENTALES EN EMBRIOLOGÍA Y BIOLOGÍA CELULAR DEL DESARROLLO

### 2.1. MODELOS

Un organismo modelo es una especie no humana que se estudia extensamente para comprender fenómenos biológicos particulares, con la expectativa de que los descubrimientos realizados en el organismo modelo proporcionen información sobre el funcionamiento de otros organismos. Los organismos modelo se utilizan ampliamente para investigar enfermedades humanas cuando la experimentación humana sería inviable o poco ética.

La investigación con modelos animales ha sido central para la mayoría de los logros de la medicina moderna. Ha contribuido con la mayor parte del conocimiento básico en campos como la fisiología humana y la bioquímica, y ha desempeñado papeles importantes en campos como la neurociencia y las enfermedades infecciosas. En la investigación de enfermedades humanas; los organismos modelo permiten una mejor comprensión del proceso de la enfermedad sin el riesgo añadido de dañar a un ser humano real. La especie del organismo modelo suele elegirse de forma que reaccione a la enfermedad o a su tratamiento de una forma que se asemeje a la fisiología humana, aunque se debe tener cuidado al generalizar de un organismo a otro. Sin embargo, muchos fármacos, tratamientos y curas para enfermedades humanas se desarrollan en parte con la guía de modelos animales.

Los organismos modelo provienen de los tres dominios de la vida, así como de los virus. Uno de los primeros sistemas modelo para la biología molecular fue la bacteria *Escherichia coli* (*E. coli*), un constituyente común del sistema digestivo humano. El ratón (*Mus musculus*) ha sido usado ampliamente como organismo modelo y está asociado con muchos descubrimientos biológicos importantes de los siglos XX y XXI. Otros ejemplos incluyen la levadura de panadería (*Saccharomyces cerevisiae*), el virus del fago T4, la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, la planta con flores *Arabidopsis thaliana* y los conejillos de indias (*Cavia porcellus*). Varios de los virus bacterianos (bacteriófagos) que infectan a *E. coli* también han sido muy útiles para el estudio de la estructura y regulación génica (p. ej., los fagos Lambda y T4).

### 2.1.1 DICTYOSTELIUM DISCOIDEUM

*Dictyostelium discoideum*, un protista ameboide, es para el estudio del reconocimiento entre células, la motilidad y los mecanismos de adhesión, desarrollo y diferenciación celular lo que *Mus musculus* Linnaeus, 1758, ha sido para la medicina: son “organismos modelos”. ¿Qué es un “organismo modelo”? Fields y Johnston lo definen como el que se estudia para entender fenómenos biológicos y del que se esperan mayores descubrimientos con objeto de comprender la biología de otros seres vivos. Con ellos se experimenta y se exploran las causas posibles de enfermedades y sus tratamientos, y deben ser “no humanos” Este punto no es menor. Cuando Andrea Vesalio publicó su atlas anatómico en 1543 instauró un nuevo papel para el desarrollo de la medicina moderna. Esta idea de un atlas es análoga al conocimiento del genoma, representado en forma gráfica como un mapa, una anatomía con una visión neo-vesaliana de la medicina. Con este enfoque, los diagnósticos y terapias serían más específicos, efectivos, sensibles y seguros. *Dictyostelium discoideum* es un eucarionte que pertenece a uno de los grupos de “amebas sociales”, así llamadas por John Tyler Bonner, por su “fase social” ya que, después de comportarse como una población amebiana cuyos miembros fagocitan independientemente, se agregan para formar una masa celular: un pseudoplasmodio. Luego se desarrollará como una “babosa” de 2 a 4 mm de largo. Las amebas “cooperan” en la formación de una fructificación multicelular arboriforme (cuerpo fructífero). Son gregarias, en un sentido “no etológico” sino bioquímico y morfogenético, y para esta definición se requiere de un lenguaje antropológico (hasta teleológico) que simplifique la comprensión de los “comportamientos” del organismo. No todos los estudiosos del tema están de acuerdo con esta terminología, pero su uso ayuda al entendimiento de *Dictyostelium*. Porque la secuencia de su genoma se conoce al igual que el desarrollo; tiene sólo seis cromosomas y ca. 12 500 proteínas. Es fácil de manipular *Dictyostelium* tiene homologías con las células humanas. El citoesqueleto es el más cercano al de los leucocitos de nuestra sangre. Las cepas salvajes del *D. discoideum* son muy sensibles lo que facilita multitud de ensayos con cada una de sus fases: unicelular, agregativa, multicelular migrante (“babosa”), fructificación, esporas y células de sostén. La información sobre *Dictyostelium discoideum* como organismo y como “modelo” es vasta y puede obtenerse en la web. Ha demostrado ser versátil durante el siglo XX, sigue

siéndolo hoy para escudriñar ciertas regulaciones génicas, marcadores específicos en fisiopatología; lo es y será para evaluar los efectos del “cambio climático” a pequeñas y grandes escalas en biodiversidad (como grupo), frecuencia en los suelos y en el poder predictivo de las estrategias de supervivencia ante los cambios ambientales que, al fin, hace a la medicina preventiva.

### 2.1.2 CAENORHABDITIS ELEGANS

*Caenorhabditis elegans* está ganando terreno como sistema modelo para abordar cuestiones fundamentales de la biología celular en organismos multicelulares. *C. elegans* ofrece numerosas ventajas para los biólogos celulares. Es fácil de manipular y mantener en el laboratorio gracias a su pequeño tamaño, autofecundación, ciclo de vida relativamente corto y crecimiento a temperatura ambiente. En la investigación sobre *C. elegans* se emplean habitualmente potentes técnicas genéticas, incluyendo métodos de genética directa (mutagénesis, mapeo y estudios de interacción genética), técnicas de genética inversa [aislamiento de alelos knockout de genes, interferencia mediada por ARN (ARNi)] y métodos para generar gusanos transgénicos estables que expresan variantes genéticas. Además, *C. elegans* es transparente en todas las etapas de su ciclo de vida. Esto lo convierte en un organismo ideal para estudios *in situ* de procesos biológicos celulares. Por lo tanto, se pueden utilizar técnicas genéticas sofisticadas para abordar problemas fundamentales de la biología celular en células en su entorno normal dentro de un organismo multicelular.

El nematodo tiene un ciclo de vida corto de ~3.5 días a 20 °C desde el huevo a través de cuatro etapas larvarias hasta el adulto que pone huevos y vive hasta 2-3 semanas en condiciones favorables. Un gusano de tipo silvestre puede generar alrededor de 300 progenies por autofecundación y más de 1000 progenies cuando es fertilizado por un macho. Con su cuerpo transparente en todas las etapas de su ciclo de vida, lo que permite el uso de marcadores fluorescentes, y su pequeño tamaño. Estas ventajas únicas, junto con el desarrollo de potentes metodologías de biología molecular y genética como la transgénesis, la mutagénesis y la selección de genes, entre otras, han permitido la disección de las vías de señalización clásicas que subyacen al desarrollo, la neurobiología, la muerte celular y el envejecimiento; la investigación ha avanzado nuestra comprensión de los mecanismos causales detrás de una

variedad de patologías humanas comunes, como la isquemia , los accidentes cerebrovasculares y las enfermedades por plegamiento y agregación de proteínas, incluidos los trastornos neurodegenerativos relacionados con la edad. Cabe destacar que la variedad de recursos disponibles para la comunidad de gusanos ha contribuido significativamente a la rápida adopción de como sistema modelo para la investigación biomédica. Uno de estos recursos específicos para gusanos es WormBase (y otras especies de nematodos relacionadas. WormBase contiene una gran cantidad de información sobre estructuras genéticas, fenotipos mutantes y de ARNi, patrones de expresión génica basados en datos de microarrays y ARN-seq, redes de interacción genética e interacción proteica, entre otros conjuntos de datos experimentales. *Por lo tanto, Caenorhabditis elegans* representa un recurso clave para facilitar los estudios sobre especies de plagas y se utiliza en numerosos programas de investigación y desarrollo industrial para el descubrimiento de nuevos fármacos antiparasitarios . Dado que se han realizado numerosos estudios sobre nematodos y las tecnologías asociadas en *C. elegans*, la utilidad de este organismo modelo se mantendrá incluso a medida que aumente el número de parásitos con genomas completamente secuenciados.

### **2.1.3 ARBACIA PUNCTULATA**

Los erizos de mar se han utilizado para analizar los mecanismos del desarrollo embrionario. La longevidad y el valor de este modelo experimental son atribuibles a varias de sus características, incluyendo el rápido desarrollo externo del embrión, su transparencia óptica y simplicidad anatómica, y la facilidad con la que se puede obtener un gran número de embriones en desarrollo sincrónico. Históricamente, los estudios experimentales con erizos de mar condujeron a conocimientos fundamentales en los campos de la embriología, la genética y la biología molecular . Más recientemente, la accesibilidad de este sistema a los enfoques genómicos lo ha convertido en un modelo experimental preeminente para descifrar la base genética del desarrollo. Actualmente, el trabajo con erizos de mar y otros equinodermos está proporcionando nuevos e importantes conocimientos sobre las redes reguladoras de genes del desarrollo , los mecanismos de patrones, la morfogénesis y la evolución de los programas de desarrollo.

Los primeros estudios sobre los gametos y embriones de erizos de mar condujeron a numerosos avances fundamentales en los campos de la embriología y la genética. Los primeros artículos que describían la fertilización in vitro y el desarrollo de embriones de erizo de mar fueron publicados por separado por Dubosse, Derbes y von Baer en 1847. Los primeros trabajos con erizos de mar revelaron el papel central de los cromosomas y el núcleo en la herencia y el desarrollo, la no equivalencia de los cromosomas y la distribución asimétrica de factores en el citoplasma del óvulo. Los experimentos de aislamiento de blastómeros de Driesch se encontraban entre los primeros en el campo de la embriología experimental y condujeron al descubrimiento del desarrollo regulador. Varias décadas después, los famosos experimentos de aislamiento y trasplante de células de Hoërstadius proporcionaron evidencia de interacciones inductivas entre células embrionarias y ayudaron a establecer el concepto de gradientes de desarrollo.

Durante las décadas de mediados del siglo XX, el trabajo con embriones de erizo de mar condujo a importantes avances en el nuevo campo de la biología molecular, incluyendo contribuciones al surgimiento del dogma central. El trabajo de R. Britten, E. Davidson y otros convirtió a los erizos de mar en un modelo preeminente para el análisis cuantitativo de la expresión génica durante el desarrollo temprano. Al mismo tiempo, los estudios con gametos de erizo de mar y embriones en etapa de segmentación hicieron contribuciones fundamentales a nuestra comprensión de la fertilización y la división celular. La microscopía de lapso de tiempo de embriones de erizo de mar vivos condujo a una nueva apreciación de los cambios dinámicos en las formas y los movimientos celulares que subyacen al desarrollo embrionario. En la actualidad, el trabajo pionero del laboratorio de E. Davidson en Caltech ha establecido al erizo de mar como un modelo experimental preeminente para la elucidación de las redes reguladoras de genes (RGG) del desarrollo. Estas son redes dinámicas de genes reguladores y señalizadores que especifican las interacciones combinatorias entre estos genes, así como sus entradas en los efectores posteriores. Las RGG están demostrando ser herramientas poderosas para analizar el control genético y la evolución del desarrollo. El trabajo actual con erizos de mar tiene como objetivo dilucidar la arquitectura de las GRN y su evolución, el control de la morfogénesis tisular por las GRN y la regulación de las GRN por vías de señalización intercelular. El análisis de las GRN se ha visto mejorado gracias a avances técnicos recientes, como la multiplexación

de constructos de reporteros y el aislamiento basado en FACS de tipos específicos de células embrionarias tempranas. El trabajo sobre la genómica reguladora de los erizos de mar está impulsando la aplicación de enfoques similares a otros modelos animales.

Estudios recientes sobre la formación del eje embrionario han revelado el papel esencial de las vías de señalización conservadas, en particular las vías de señalización de TGF $\beta$  y Wnt, en la formación del embrión a lo largo de los ejes A-V, dorsal-ventral e izquierdo-derecho. En la mayoría de los aspectos, estos estudios apuntan a una notable conservación evolutiva de los mecanismos básicos de formación de patrones en los deuteróstomos, aunque también se han revelado invenciones específicas del erizo de mar. También se han identificado precursores embrionarios de la línea germinal y se han dilucidado características importantes de su distintivo programa molecular de especificación.

#### **2.1.4 DROSOPHILA MELANOGASTER**

La mayor parte de nuestra comprensión de la biología subyacente a la regeneración tisular proviene de experimentos con organismos modelo, incluida *la Drosophila*. Para estimular la regeneración tisular en el sitio de la lesión o para generar tejidos nuevos, es necesario comprender qué productos génicos están involucrados y cómo interactúan entre sí. No es sorprendente que las vías y los procesos que sabemos que se activan durante la regeneración tisular se utilicen primero durante el desarrollo embrionario. En ambos contextos, las células deben dividirse para aumentar en número y luego dejar de dividirse y diferenciarse en tipos celulares específicos en ubicaciones específicas. Estos eventos deben estar altamente regulados para dar lugar a los complejos órganos y tejidos que se encuentran en los animales y también para evitar la división celular descontrolada y la diferenciación inadecuada, es decir, el cáncer.

La capacidad regenerativa de los discos imaginales *de Drosophila* ha sido estudiada por más de 40 años. Los fragmentos de discos imaginales trasplantados en los abdómenes de moscas hembras adultas pueden sobrevivir por varios días. Las células en estos discos proliferan, pero no se diferencian. Por el contrario, los fragmentos de discos imaginales trasplantados en larvas (justo antes de la pupación) sí se diferencian en el tejido para el que estaban destinados originalmente. Sin embargo, los discos que han sido cultivados repetidamente en diferentes

abdómenes de moscas (mientras las células proliferan), pueden diferenciarse en un tejido alternativo que demuestra "transdeterminación". Por lo tanto, se dedujo que, aunque la identidad futura de los discos se determina temprano en el desarrollo embrionario, no se fija hasta el inicio de la diferenciación. Otra observación interesante es que los discos imaginales que han sido cultivados en huéspedes adultos antes de permitir que se diferencien en larvas regenerarán o duplicarán el tejido dependiendo del origen preciso del fragmento de disco. Estas observaciones clásicas se hicieron mucho antes de que se comprendieran las vías subyacentes de formación de patrones moleculares que desde entonces se han deducido en cierta medida a partir del análisis genético.

Estudios recientes han utilizado *la Drosophila* como modelo para la cicatrización de heridas . Se ha demostrado que la maquinaria molecular y los mecanismos que impulsan la cicatrización de heridas se asemejan a los encontrados en eventos de fusión tisular durante el desarrollo animal, incluyendo un proceso llamado cierre dorsal en el *embrión de Drosophila* . Estudios sofisticados que utilizan genes de fusión de la proteína verde fluorescente (GFP) transgénica (p. ej., actina-GFP) en combinación con imágenes de lapso de tiempo han revelado la secuencia precisa de cambios en la forma y movimientos celulares durante el cierre dorsal y la cicatrización de heridas en embriones *de Drosophila*. Mientras tanto, el análisis genético ha identificado muchos de los factores y vías que dirigen y median estos procesos.

Aunque la respuesta de regeneración tisular después de una lesión es altamente compleja, generalmente implica la activación de la proliferación celular (para reemplazar las células perdidas) seguida de la determinación del destino celular (patrón del nuevo tejido) y la diferenciación de las células para formar el tejido deseado. El control de la proliferación en organismos maduros debe ser controlado estrictamente para prevenir tumores; por lo tanto, la mayoría de los tejidos adultos tienen una capacidad regenerativa muy limitada. Las células madre en los tejidos adultos son fundamentales para la regeneración, ya que tienen la capacidad de dividirse para renovarse y también producir células hijas que se diferencian en respuesta a señales contextuales. Típicamente, las células madre se dividen con poca frecuencia en los tejidos adultos, sin embargo, pueden ser estimuladas para dividirse más rápidamente en respuesta a la pérdida celular o herida. Los estudios con *Drosophila* han hecho una contribución

significativa a nuestra comprensión de las vías moleculares que regulan la actividad de las células madre en todos los animales. Por ejemplo, se demostró por primera vez en *Drosophila* que las células que experimentan muerte celular programada (apoptosis) en respuesta al estrés o daño producen señales moleculares que activan la proliferación de células madre para iniciar la regeneración tisular

*Drosophila* está emergiendo como un sistema valioso para su uso en el proceso de descubrimiento de fármacos clínicos. *Drosophila* puede usarse como modelo para probar los efectos de nuevos fármacos en las vías bioquímicas conservadas en humanos que controlan muchas actividades celulares clave para la regeneración tisular, como la división celular, la diferenciación y el movimiento. Nuevos fármacos pueden probarse en *Drosophila* mucho más rápido que en modelos mamíferos ; de hecho, incluso pueden usarse para el proceso inicial de cribado de alto rendimiento como alternativa al cultivo celular. El cribado en un organismo completo promueve la selección de compuestos que tienen un perfil de seguridad mejorado para pruebas posteriores en costosos modelos mamíferos. Además, cuando se usa *Drosophila*, puede ser relativamente fácil manipular el trasfondo genético para imitar un estado patológico y probar la eficacia del fármaco en ese contexto.

La mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* ha sido ampliamente utilizada como organismo modelo genético en la investigación biomédica durante más de 100 años. Ha avanzado enormemente nuestra comprensión de una amplia gama de procesos biológicos que incluyen genética, herencia, desarrollo embrionario, aprendizaje y comportamiento. Hay muchas ventajas que hacen de *Drosophila* un organismo modelo atractivo, por ejemplo, la facilidad de mantenimiento, la rentabilidad, menos restricciones éticas y la disponibilidad de una caja de herramientas genéticas grande y sofisticada. El genoma de *Drosophila* ha sido completamente secuenciado. Comprende alrededor de 13.600 genes codificadores de proteínas que se distribuyen en cuatro cromosomas. Aproximadamente el 75% de todos los genes relacionados con enfermedades humanas tienen un ortólogo en la mosca, lo que la convierte en un valioso organismo modelo para estudiar enfermedades humanas. El corto ciclo de vida (10 días a 25 °C) de *Drosophila* se compone de cuatro etapas de desarrollo: embrión, larva, pupa y adulto. Además del corto tiempo de generación, la gran cantidad de crías facilita el análisis estadístico.

El cerebro de la mosca adulta comprende alrededor de 100,000 neuronas que forman circuitos discretos que son responsables de comportamientos complejos como el cortejo, el sueño, los ritmos circadianos, el aprendizaje y la memoria. Aunque la estructura anatómica del cerebro de la mosca difiere considerablemente de la del cerebro humano, muchas funciones fundamentales de las neuronas, por ejemplo, la excitabilidad de la membrana, los canales iónicos dependientes del voltaje y los receptores de neurotransmisores, están altamente conservadas entre las dos especies.

Una de las ventajas más sorprendentes del modelo de la mosca es la disponibilidad de un amplio y sofisticado repertorio de herramientas genéticas. Por ejemplo, se pueden aprovechar agentes químicos, p. ej., etil metil sulfonato, o radiación de rayos X para introducir mutaciones aleatorias en el genoma de la mosca. Las moscas mutagenizadas resultantes se pueden examinar para un fenotipo conductual de interés. Dichos cribados genéticos directos son un método adecuado para explorar enfermedades, cuyos fundamentos genéticos no se han dilucidado. Por el contrario, se pueden evaluar las funciones fenotípicas de un gen de interés en particular mediante la inhibición mediada por interferencia de ARN (ARNi) o la sobreexpresión génica. Además, se dispone de numerosas herramientas genéticas para facilitar la edición precisa del genoma, incluidos los elementos P transponibles, la recombinación homóloga y CRISPR/Cas9. Estas técnicas se pueden utilizar fácilmente para investigar la causalidad de la enfermedad de variantes raras encontradas en pacientes humanos. Un enfoque común es eliminar o inactivar el ortólogo de *Drosophila* del gen humano respectivo y analizar el fenotipo resultante. Si se observa una alteración fenotípica, se expresan posteriormente el ADNc humano de tipo salvaje y la variante. La naturaleza causal de una variante puede confirmarse si el fenotipo observado es mejorado por el ADNc humano de tipo salvaje pero no por la variante. Todos estos aspectos y técnicas posicionaron a *Drosophila* como un poderoso organismo modelo que se estudia en una amplia gama de enfermedades humanas, incluidas la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Huntington, la esclerosis lateral amiotrófica, los tumores cerebrales y la epilepsia.

*Drosophila* como organismo modelo ofrece uno de los conjuntos de herramientas genéticas más amplios disponibles y un sistema nervioso que permite investigar el comportamiento complejo. Una alta tasa de conservación de genes asociados a enfermedades humanas de ~75% la convierte en un modelo atractivo para estudiar variantes genéticas encontradas en humanos. En la epilepsia, muchos síndromes graves son causados por variantes monogénicas. A menudo falta información sobre las consecuencias funcionales de estas variantes en el fenotipo epiléptico. Como consecuencia, la decisión sobre la medicación adecuada puede ser difícil. Por lo tanto, es deseable el análisis funcional de variantes de genes de enfermedades individuales en un sistema modelo altamente accesible. *Drosophila* ofrece esta posibilidad cumpliendo con la inversión de mano de obra y el costo razonable. El conjunto de herramientas genéticas existente para *Drosophila* permite estudios profundos de redes genéticas y función de proteínas y centros de stock en todo el mundo proporcionan muchas de las cepas de moscas necesarias.

No cabe duda de que la investigación con *Drosophila* conducirá a futuros avances en la medicina regenerativa. Muchos de estos avances se derivarán de estudios genéticos que desentrañen los mecanismos moleculares fundamentales del compromiso y la diferenciación del destino celular. Sin embargo, las moscas tienen el potencial de utilizarse de muchas otras maneras novedosas e imaginativas para abordar las cuestiones centrales que enfrentan los investigadores en medicina regenerativa.

### **2.1.5. DANIO RERIO, XENOPUS LAEVIS**

Pez cebra (*Danio rerio*) es un organismo modelo destacado en las investigaciones biológicas recientes. El pez cebra es un pez tropical de agua dulce, habitante de ríos (principalmente el Ganges) de la región del Himalaya del sur de Asia, especialmente de India, Nepal, Bután, Pakistán, Bangladesh y Myanmar. Es un pez óseo (teleósteo) que pertenece a la familia de los ciprínidos, dentro de la clase Actinopterygii (peces con aletas radiadas).

El pez cebra fue utilizado por primera vez como modelo biológico por George Streisinger (Universidad de Oregón) en la década de 1970, ya que era más simple que el ratón y fácil de manipular genéticamente. Los colegas de Streisinger, especialmente Chuck Kimmel en su universidad, quedaron muy impresionados por la idea de usar embriones de pez cebra más atractivos para estudiar el desarrollo del sistema nervioso.

El uso del pez cebra como organismo modelo cobró impulso en la década de 1990, cuando se empleó para desarrollar dos grandes mutantes genéticos: uno por el premio Nobel Christiane Nusslein-Volhard en Tubinga (Alemania) y el otro por Wolfgang Driever y Mark Fishman en Boston (EE. UU.). La identificación de mutantes es una de las estrategias de estudio más importantes en diversas áreas de la biología.

El pez cebra tiene muchas similitudes fisiológicas y genéticas con los humanos, incluido el cerebro, el tracto digestivo, la musculatura, la vasculatura y el sistema inmunológico innato. Además, el 70% de los genes de enfermedades humanas tienen similitudes funcionales con los del pez cebra. Este pez es el preferido por los científicos debido a su variedad de características que lo hacen útil como organismo modelo. El embrión se desarrolla rápidamente fuera de la madre y es ópticamente transparente, por lo que es fácilmente accesible para la experimentación y la observación. El embrión se desarrolla muy rápido, y la etapa de blástula dura solo 3 h, mientras que la gastrulación se completa en 5 h; en un embrión de aproximadamente 18 h de edad, se pueden observar orejas, ojos, músculos de segmentación y cerebro muy desarrollados, ya que el embrión es transparente. A las 24 h, se completa la segmentación y se forman la mayoría de los sistemas de órganos primarios. A las 72 h, el embrión eclosiona del cascarón y en los siguientes 2 días comienza a buscar alimento. En un período de solo 4 días, el embrión se convierte rápidamente en una versión pequeña del adulto. El rápido desarrollo simplifica el desarrollo y los estudios genéticos.

El genoma del pez cebra comparte muchas similitudes con el genoma humano. Alrededor del 70% de los genes asociados con enfermedades en humanos tienen homólogos funcionales en el pez cebra. Al darse cuenta de la importancia del modelo del pez cebra, Grunwald y Eisen utilizaron este modelo de desarrollo para estudiar la estructura segmentaria del cerebro y caracterizaron neuronas en el pez cebra por primera vez en un modelo vertebrado. Nüsslein-Volhard reconoció la importancia del pez cebra como modelo vertebrado para estudiar la biología del desarrollo al identificar genes importantes para el desarrollo del sistema nervioso entérico, en estudios de la angiogénesis así como en la regeneración. Además, ha sido empleado como sistema modelo del cáncer para comprender mejor la formación, el crecimiento y la propagación de los tumores malignos. En farmacología, se ha utilizado como modelo predictivo para evaluar el efecto tóxico de los fármacos. En conclusión, el pez cebra es un sistema modelo

animal exitoso y versátil, que ofrece una herramienta para modelar la función genética, el desarrollo de diversos sistemas orgánicos, estudios sobre cáncer, toxicología, descubrimiento de fármacos, enfermedades y trastornos humanos.

Por su parte, *Xenopus laevis* también conocida como rana africana de uñas, es una especie tetraploide que se ha utilizado como uno de los principales modelos vertebrados desde la década de 1950. A lo largo de los años, se ha utilizado ampliamente para comprender mejor una amplia gama de mecanismos relacionados con la embriogénesis y la organogénesis, la toxicología y también los mecanismos de las enfermedades humanas. Esto se debe a que este anfibio anuro produce una gran cantidad de huevos (aproximadamente cien) que se fertilizan fácilmente tanto in vitro como in vivo y que, por lo tanto, pueden producir una cantidad incontable de embriones en pocos días, durante todas las estaciones. Los estadios embrionarios se han empleado con frecuencia debido a sus ventajas en términos de tiempo, costo y facilidad de manejo, permitiendo así una fácil manipulación, con la posibilidad de producir alteraciones moleculares y mecánicas para estudiar la restauración de las condiciones normales y las vías involucradas.

Desde un punto de vista ético, el uso del embrión de *X. laevis* no es discutible porque, al igual que con las larvas de pez cebra, el desarrollo temprano de *Xenopus* queda fuera de la directiva 240/2010 de la UE. De hecho, hasta la etapa 46/47 (96–120 h pf a 22/23 °C según Nieuwkoop y Faber, no se alimentan activamente, porque todavía están utilizando la yema restante. Esto significa que no se necesita aprobación de las autoridades sanitarias para experimentos in vivo que involucren las primeras etapas de esta especie. Entre las grandes ventajas de *Xenopus*, está su cercanía evolutiva a los vertebrados superiores en términos de fisiología, expresión génica y desarrollo de órganos, como los ojos, el hígado, los pulmones, el corazón, el riñón, etc., lo que permite la transferencia de los resultados directamente a la especie humana. *Xenopus laevis* por tanto, se ha empleado para estudios en ovogénesis y el papel que juegan para formación de proteínas del citoesqueleto, así como para comprender y estudiar la organogénesis.

### 2.1.6. GALLUS DOMESTICUS Y MUS MUSCULUS

Es un organismo modelo para diversos campos de la investigación biológica. Gracias a sus características únicas, sirve como un modelo eficaz para el estudio del desarrollo, la genética, la inmunología y la virología de los vertebrados. Los embriones de aves se han utilizado a lo largo del tiempo como un modelo biológico eficiente para el estudio del desarrollo embrionario en vertebrados, como en estudios genéticos, debido a su disponibilidad, bajo precio y fácil manipulación. *Gallus gallus domesticus* es la especie más utilizada debido a su tamaño y la accesibilidad de su embrión. Los embriones se extraen en diferentes etapas de desarrollo, y luego se pueden realizar muestras, portaobjetos y preparaciones histológicas para estudiar cada etapa. Dentro de las áreas de importancia encontramos:

- **Biología del Desarrollo:** Los pollos han sido fundamentales en el estudio del desarrollo embrionario. La accesibilidad del embrión de pollo permite la observación y manipulación directas para examinar el desarrollo temprano, la organogénesis y la diferenciación tisular. La investigación sobre el desarrollo de las extremidades y las células de la cresta neural se ha beneficiado significativamente de los modelos de pollo.
- **Inmunología:** Los pollos han desempeñado un papel fundamental en el estudio del sistema inmunitario, como la respuesta inmunitaria adaptativa. El descubrimiento de la bolsa de Fabricio en pollos por Bruce Glick, crucial para el desarrollo de las células B, fue un hallazgo histórico. <sup>11</sup> Los pollos también se utilizan para el estudio de infecciones virales y el desarrollo de vacunas, dada su susceptibilidad a diversos patógenos.
- **Neurociencia:** Los pollos han contribuido a la investigación en neurobiología, en particular a la comprensión del desarrollo del sistema visual y la plasticidad neuronal. La retina de los pollos se ha utilizado para comprender los mecanismos del procesamiento visual y el desarrollo del sistema nervioso.
- **Genética y Genómica:** La secuenciación del genoma del pollo ha abierto nuevas vías para la investigación genética. Los pollos sirven como modelo para la función genética, las mutaciones genéticas y las modificaciones epigenéticas. El estudio de las enfermedades hereditarias y la genética de los rasgos en los pollos también revela conocimientos aplicables a otras especies.

- **Endocrinología:** Los pollos se utilizan para estudiar la regulación hormonal y las funciones del sistema endocrino. La investigación sobre reproducción aviar, hormonas de crecimiento y regulación metabólica suele utilizarlos como modelo debido a sus vías endocrinas bien caracterizadas.

A pesar de las ventajas del *Gallus gallus domesticus* (el pollo doméstico) como organismo modelo, existen limitaciones y desafíos asociados con su uso en la investigación.

- **Limitaciones de la manipulación genética:** En comparación con otros organismos modelo, como los ratones, la manipulación genética de los pollos es más compleja. Las técnicas para crear pollos transgénicos están menos desarrolladas y requieren más mano de obra, lo que puede limitar el alcance de los estudios genéticos.
- **Modelo incompleto para sistemas de mamíferos:** Si bien los pollos son útiles para diversos tipos de investigación, no son mamíferos, por lo que ciertos aspectos de su fisiología, como el desarrollo placentario y la lactancia, no pueden estudiarse en ellos. Esto los hace menos adecuados para la investigación directamente relacionada con los procesos específicos de los mamíferos.
- **Preocupaciones éticas:** Existen consideraciones éticas al utilizar animales para la investigación, incluyendo pollos. La manipulación de embriones y el uso de grandes cantidades de animales en experimentos plantean inquietudes que deben abordarse mediante estrictas normas y regulaciones éticas.
- **Requisitos de alojamiento y cuidado:** Los pollos requieren condiciones específicas de alojamiento y cuidado, que pueden ser más exigentes en comparación con organismos modelo más pequeños, como ratones o moscas. Mantener condiciones ambientales, espacio y cuidados adecuados para los pollos puede ser costoso y logísticamente complejo.
- **Disponibilidad limitada de recursos:** En comparación con organismos modelo más populares, como ratones y ratas, existen menos recursos especializados, como anticuerpos o reactivos específicos, diseñados para la investigación con pollos, lo que podría limitar el alcance de los estudios.
- **Mus musculus** El ratón doméstico se utiliza a menudo como mamífero modelo para la investigación genética. Su genoma se publicó en 2002 como parte del Proyecto Genoma

Humano. Hoy en día, los científicos pueden usar esta información para modificar genéticamente ratones que imiten la mayoría de las enfermedades humanas. Los ratones se utilizan en la investigación según los principios de las 3R: Reemplazo (utilizando alternativas cuando sea posible), Reducción (diseñando experimentos que minimicen el número de ratones necesarios) y Refinamiento (utilizando métodos que mejoren su bienestar).

Nos han ayudado a comprender mucho sobre la salud y la enfermedad, incluyendo:

- Factores de riesgo genéticos para enfermedades complejas como la aterosclerosis y la hipertensión. Los humanos y los ratones comparten muchos de los genes responsables de estas enfermedades complejas.
- ¿Cuántas enfermedades se desarrollan? Por ejemplo, en ratones sin un sistema inmunológico completamente funcional se ha revelado información importante sobre enfermedades infecciosas, cáncer y SIDA.
- Acelerar el desarrollo de nuevos fármacos. Por ejemplo, los medicamentos contra el asma, las vacunas contra la COVID-19 y los tratamientos contra el cáncer se desarrollaron con ratones. Casi todos los medicamentos y procedimientos médicos que se utilizan habitualmente hoy en día provienen de la investigación con ratones.

Beneficios de usar ratones

- Los ratones y los humanos somos biológicamente similares. Nos desarrollamos de la misma manera, tenemos los mismos tipos de órganos y podemos desarrollar enfermedades complejas, como el cáncer y la diabetes.
- Casi todos los genes humanos tienen su equivalente en el ratón.
- Los ratones son pequeños, baratos y relativamente fáciles de cuidar.
- Su ciclo de vida completo puede estudiarse en dos o tres años.
- Se pueden estudiar varias generaciones al mismo tiempo, debido a sus rápidos períodos de gestación.

### **Limitaciones y desafíos del uso de ratones**

- Aunque las enfermedades en humanos y ratones son similares, no son lo mismo. No se garantiza que los hallazgos en ratones sean idénticos en personas.
- Algunos medicamentos que funcionan en ratones no funcionan o no son seguros en humanos.
- Muchos animales necesitan ser criados para experimentos genéticos. Algunos no se utilizarán porque no todos poseen la genética adecuada.
- No entendemos del todo qué podría pasar si animales modificados genéticamente ingresaran al ecosistema natural.
- Como ocurre con toda investigación con animales, hay cuestiones éticas y morales que considerar.

## 2.2. Técnicas

Las técnicas en biología del desarrollo son los métodos y procedimientos utilizados para estudiar los procesos de desarrollo de los organismos, desde la fecundación hasta la edad adulta. Estas técnicas incluyen métodos de biología molecular, microscopía, manipulación genética y análisis de imágenes, entre otros.

### **Técnicas de Biología Molecular:**

- Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR): Amplifica secuencias específicas de ADN o ARN para su posterior análisis.
- Electroforesis en gel: Separa moléculas (como ADN, ARN o proteínas) según su tamaño y carga eléctrica.
- Secuenciación de ADN: Determina la secuencia de nucleótidos en una molécula de ADN.
- Hibridación molecular: Detecta secuencias específicas de ADN o ARN mediante la unión de sondas complementarias.
- Edición genética (CRISPR-Cas9): Permite modificar genes específicos en organismos vivos.
- Clonación molecular: Produce copias idénticas de un gen o secuencia de ADN.

### Microscopía:

- Microscopía de luz:

Permite observar estructuras celulares y tejidos con aumento.

- Microscopía electrónica:

Ofrece imágenes de mayor resolución, permitiendo observar estructuras subcelulares.

- Microscopía confocal:

Proporciona imágenes fluorescentes de alta resolución de estructuras específicas.

- Microscopía de fluorescencia:

Utiliza fluorocromos para visualizar moléculas específicas en células y tejidos.

Manipulación Genética:

- Transgénesis: Introduce genes extraños en el genoma de un organismo.

- Knockout: Elimina genes específicos para estudiar su función.

- Knockdown: Reduce la expresión de genes específicos.

Análisis de Imágenes:

- Imágenes digitales: Permiten analizar y cuantificar datos obtenidos de microscopía.

- Análisis de morfometría: Mide cambios en la forma y tamaño de estructuras biológicas.

- Análisis de expresión génica: Determina la actividad de genes específicos en diferentes etapas del desarrollo.

Otras técnicas:

- Cultivo celular:

Permite mantener células vivas en condiciones controladas para su estudio.

- Transplante de núcleos:

Permite estudiar el potencial de diferentes tipos de células durante el desarrollo.

- Inmunohistoquímica:

Detecta la presencia de proteínas específicas en tejidos.

- Análisis de expresión de ARN:

Permite estudiar la expresión de genes en diferentes etapas del desarrollo.

Estas son solo algunas de las muchas técnicas utilizadas en biología del desarrollo. La elección de la técnica adecuada dependerá del objetivo de la investigación y del sistema biológico estudiado.

### **2.2.1. MICROSCOPIA DE LUZ Y ELECTRÓNICA**

La microscopía es una técnica que permite visualizar la materia en escalas de longitud invisibles para el ojo humano. Dos de las técnicas de microscopía más comunes son la microscopía óptica (MO) y la microscopía electrónica (ME). La principal diferencia entre la microscopía óptica y la electrónica reside en el tipo de partícula fundamental utilizada y su longitud de onda correspondiente: la microscopía óptica utiliza fotones de luz visible (400-700 nm), mientras que la microscopía electrónica emplea un haz de electrones enfocado con longitudes de onda miles de veces menores (pm). La microscopía electrónica ofrece una resolución y un aumento mucho mayores que la microscopía óptica, lo que permite visualizar muestras con mayor detalle.

Un microscopio óptico utiliza luz visible y una serie de lentes para generar una imagen ampliada de un objeto. La muestra se ilumina con luz visible, que es captada por el objetivo del microscopio y ampliada mediante una serie de lentes adicionales para crear una imagen observable a través de un ocular o grabable con una cámara. La microscopía óptica es una herramienta versátil utilizada en diversas disciplinas científicas e industrias. Los microscopios ópticos se utilizan ampliamente en biología, ciencia de materiales, ciencia forense y control de calidad, y son ideales para observar estructuras de mayor tamaño, muestras vivas y materiales marcados con fluorescencia. Dentro de las ventajas del uso de esta técnica es que los microscopios ópticos están ampliamente disponibles y son relativamente asequibles, lo que los hace accesibles a una amplia gama de usuarios, desde estudiantes en las aulas hasta investigadores en laboratorios. La preparación de muestras para microscopía óptica suele ser más sencilla y menos laboriosa que la microscopía electrónica. Los microscopios ópticos pueden configurarse para la obtención de imágenes en vivo, lo que permite a los investigadores observar procesos dinámicos en tiempo real, como la división celular o la motilidad microbiana. Sin embargo, en un microscopio óptico, las ondas de luz incidentes se curvan alrededor del objeto que se está visualizando mediante un proceso conocido como difracción. A medida que las ondas de luz se dispersan, crean un patrón de interferencia con regiones claras y oscuras

características que constituyen la base de la imagen formada por el objetivo. Según el criterio de Rayleigh, la resolución limitada por difracción de un microscopio óptico es aproximadamente la mitad de la longitud de onda de la luz utilizada para la imagen. Para la luz visible (con longitudes de onda de entre 400 y 700 nanómetros), la resolución limitada por difracción suele estar entre 200 y 350 nanómetros.

Además, la profundidad de campo relativamente estrecha en la microscopía óptica, que determina el rango vertical (es decir, a lo largo del eje óptico) que puede enfocarse nítidamente simultáneamente, puede ser un obstáculo al examinar muestras grandes o con estructuras tridimensionales complejas. Asimismo, lograr un alto contraste en la microscopía óptica puede ser difícil, especialmente con muestras transparentes o de bajo contraste.

Por el contrario, un microscopio electrónico utiliza un haz de electrones para sondear una muestra y obtener información sobre su estructura y composición. El haz de electrones se escanea a través de su superficie, sondeando solo las capas superiores en un modo llamado microscopía electrónica de barrido (MEB), o se transmite a través de una muestra en un modo llamado microscopía electrónica de transmisión (MET). Lo que diferencia a SEM de TEM no es solo cómo el haz de electrones interactúa con las muestras, sino también las diferentes señales que se generan y cómo se forman las imágenes. La resolución y el aumento superiores debidos al cambio de fotones a electrones revelan detalles intrincados de la topografía de la superficie que no son posibles con la microscopía óptica. Los microscopios electrónicos son esenciales para estudiar nanomateriales, virus, ultraestructura celular y moléculas individuales. EM permite obtener imágenes detalladas de orgánulos subcelulares, la caracterización de nanomateriales y el análisis de la topografía de la superficie. Los microscopios electrónicos pueden lograr una resolución mucho mayor que los microscopios ópticos, debido a la longitud de onda más corta de los electrones. Los microscopios electrónicos de barrido (SEM) pueden lograr resoluciones espaciales que van desde  $<1$  nanómetro hasta 20 nanómetros. La resolución espacial en un SEM está influenciada por múltiples factores, incluyendo el tamaño del punto del haz de electrones y el volumen de interacción con la muestra. El voltaje de aceleración determina la energía cinética y la longitud de onda de los electrones incidentes, lo que influye en el tamaño del punto del haz y la profundidad de penetración del haz de electrones dentro de la muestra. El volumen de interacción también depende de la densidad de la muestra, así como del tipo de señal que

se analiza. En comparación con OM, la profundidad de campo superior del SEM proporciona visualización de la topología de una muestra con una notable percepción de profundidad. Además, las técnicas de microscopía electrónica ofrecen diversas modalidades de imagen, cada una adaptada a diferentes tipos de muestras y aplicaciones. Por ejemplo, en un microscopio electrónico de barrido (MEB), los electrones retrodispersados y los electrones secundarios generados durante la interacción del haz de electrones con la superficie de la muestra pueden utilizarse para generar imágenes de alta resolución de la topografía superficial y las diferencias compositivas de la muestra, respectivamente. Además, los rayos X característicos emitidos por una muestra pueden utilizarse para generar mapas elementales de alta resolución de la superficie.

Aún con ello, la limitante es que los microscopios electrónicos son instrumentos complejos que requieren capacitación especializada para su operación y mantenimiento. Además, su adquisición y mantenimiento son considerablemente más costosos que los microscopios ópticos. La preparación de muestras para microscopía electrónica suele implicar un procesamiento exhaustivo, que incluye fijación, deshidratación y tinción, lo cual puede introducir artefactos y alterar la morfología de la muestra. Los microscopios electrónicos operan en condiciones de vacío, lo que puede limitar el tipo de muestras que se pueden visualizar y requiere precauciones adicionales para las muestras biológicas.

### **2.2.2. INMUNOCITOQUIMICA**

La detección de antígenos mediante técnicas inmunológicas y reacciones químicas en tejidos, inmunohistoquímica (IHQ), y preparados citológicos, inmunocitoquímica (ICQ), es una de las técnicas utilizadas en patología diagnóstica. El fundamento de estas técnicas consiste en la localización de componentes tisulares/celulares mediante la utilización de anticuerpos específicos y moléculas marcadoras (reacción enzima-sustrato que transforma un cromógeno incoloro en un producto final coloreado). Se pueden realizar utilizando anticuerpos (Ac) monoclonales (que reconocen un epítipo único, una cadena de 4 a 8 aminoácidos en una proteína) o policlonales (que reconocen varios epítipos, produciendo un aumento de la afinidad del anticuerpo en detrimento de su especificidad). Los Ac, tanto monoclonales como policlonales, son utilizados en diferentes técnicas de laboratorio, ya sea conjugados con

diferentes elementos tales como sustancias fluorescentes (fluoresceína, rodamina), enzimas (fosfatasa alcalina, peroxidasa), formando parte de inmunocomplejos (PAP), o bien sin conjugar. Estos anticuerpos “reaccionan” a diversos antígenos (Ag), que definimos como toda sustancia o partícula animada o inanimada, de cualquier constitución química, que, introducida a un organismo superior por cualquier vía, o bien perteneciente al mismo, no sea reconocida como propia e induzca en éste una respuesta humoral y/o celular detectable tanto “in vivo” como “in vitro” (Ramos-Vara 2016). Como todas las técnicas de IHQ/ICQ se basan en la conjugación de distintos marcadores con moléculas de inmunoglobulinas, es importante comprender las interacciones entre las mismas y los antígenos. La inmunoglobulina G (IgG) es el tipo de anticuerpo más utilizado en IHQ/ICQ. Su estructura está compuesta por una región variable que se une al epítipo del antígeno (Fab) y una porción constante (Fc) específica del animal en el cual se sintetizó. El Ac primario detecta el epítipo específico que se desea marcar, y el Ac secundario se une a la fracción constante de la inmunoglobulina (anticuerpo secundario anti-especie) Luego de producida la unión Ag-Ac, el marcador es localizado, generalmente mediante una reacción tintorial, permitiendo identificar la reacción del Ag problema con la célula o el tejido. En la actualidad, las técnicas más utilizadas son las que emplean la peroxidasa del rábano picante y la fosfatasa alcalina.

La inmunocitoquímica (ICQ), inmunocitología o inmunomarcación de preparados citológicos es un método que complementa el estudio citológico convencional, contribuyendo a mejorar la precisión diagnóstica y aportando, en casos particulares, datos de valor pronóstico. Esta marcación se realiza sobre preparados citológicos, obtenidos mediante los métodos tradicionales de toma de muestras para citología o bien mediante preparaciones especiales. La inmunocitoquímica es aceptada actualmente como una técnica de gran utilidad en citología. La misma aumenta la precisión del diagnóstico citológico, sobre todo en neoplasias pobremente diferenciadas o metástasis alejadas del sitio primario de lesión, y permite la identificación de marcadores para aplicar terapias oncológicas efectivas. Además, el uso de marcadores pronósticos permite una mayor predicción del comportamiento del tumor, su respuesta al tratamiento y su eventual recidiva.

### 2.2.3. HIBRIDACIÓN IN SITU

La hibridación in situ es una técnica de laboratorio empleada para localizar una secuencia de ADN o ARN en una muestra biológica. En esta técnica, una muestra biológica que consiste en cortes de tejido, células o cromosomas de un individuo se fija a un portaobjetos de vidrio y luego se expone a una “sonda”, que es una pequeña secuencia de ADN de una sola hebra marcado con un tinte químico o fluorescente. La sonda marcada halla su secuencia correspondiente y se une a ella en la muestra biológica. La ubicación de la sonda unida luego puede verse con la ayuda de un microscopio. ¿Cómo funciona?

1. 1. Preparación de la muestra:

Se fija la muestra biológica (tejido, células, cromosomas) en un portaobjetos.

2. 2. Desnaturalización:

Se desnaturaliza el ADN o ARN de la muestra, separándolo en cadenas simples para que las sondas puedan acceder a ellas.

3. 3. Hibridación:

Se añade la sonda (ADN o ARN marcado) a la muestra. Las sondas se unirán a las secuencias complementarias en la muestra.

4. 4. Visualización:

Se lava la muestra para eliminar sondas no unidas y se visualiza la molécula reportera con un microscopio. En el caso de la hibridación fluorescente in situ (FISH), se utiliza un microscopio de fluorescencia para detectar las señales fluorescentes de las sondas unidas, según el National Human Genome Research Institute (NHGRI).

Aplicaciones:

- Diagnóstico prenatal y preimplantacional:

FISH se utiliza para detectar aneuploidías (alteraciones en el número de cromosomas) y otras anomalías cromosómicas.

- Diagnóstico oncológico:

FISH puede detectar translocaciones cromosómicas en células cancerosas, lo que ayuda en el diagnóstico y tratamiento de ciertos tipos de cáncer, como la leucemia y el melanoma.

- Investigación:

ISH es una herramienta valiosa para estudiar la expresión génica y la localización de genes en células y tejidos, lo que ayuda a entender mejor los procesos biológicos.

- Estudios de expresión génica:

Se pueden utilizar ribosondas para localizar y evaluar el grado de expresión de genes específicos en muestras de tejido, de acuerdo con el National Institutes of Health (NIH).

Tipos de hibridación in situ:

- FISH (Hibridación Fluorescente In Situ): Utiliza sondas marcadas con fluorocromos para la detección.
- CISH (Hibridación In Situ Cromogénica): Utiliza enzimas para detectar las sondas, generando una señal cromogénica visible.

#### **2.2.4. TRANSFECCIÓN DE GENES**

La transfección es un proceso de introducción de ácidos nucleicos en células eucariotas mediante diversos métodos químicos o físicos. Desde una perspectiva más amplia, se enumeran los diferentes términos y significados utilizados en la tecnología de transfección. Como sistema de administración no viral, la transfección ha ganado popularidad debido a las preocupaciones de seguridad que a veces se asocian con el uso de vectores virales. Además, la transfección puede suministrar secuencias de ácidos nucleicos más largas a las células, algo que no es posible con el sistema de vectores virales. La transfección se ha utilizado para la generación de clones estables, la producción de proteínas terapéuticas y la aplicación de la terapia génica. Esta metodología también ha facilitado el estudio y la comprensión de las funciones proteicas y la regulación génica en las células. Cuando Alexander demostró que el ARN extraído del virus de la polio puede ser absorbido por las células HeLa y volverse infeccioso, se despertó el deseo de aumentar la eficiencia de absorción de ácidos nucleicos por las células. Inicialmente, se probaron altas concentraciones de sal, pero resultaron tóxicas para las células.

La transfección implica la introducción de material genético en una célula huésped, lo que puede dar lugar a cambios en la expresión génica o incluso a la integración del nuevo material genético en el genoma de la célula. Existen diferentes métodos para lograr la transfección, incluyendo:

- **Métodos químicos:**

Utilizan compuestos químicos como lípidos catiónicos o fosfato de calcio para facilitar la entrada del ADN en la célula.

- **Métodos físicos:**

Emplean fuerzas físicas, como la electroporación o la microinyección, para forzar la entrada del material genético en la célula.

- **Métodos biológicos:**

Utilizan virus modificados genéticamente para entregar el material genético a la célula, aunque este método plantea preocupaciones de seguridad.

Aplicaciones de la transfección:

La transfección tiene diversas aplicaciones en investigación y medicina:

- **Investigación básica:**

Permite estudiar la función de genes específicos y la expresión de proteínas en diferentes tipos de células.

- **Terapia génica:**

Se utiliza para introducir genes correctivos en células de pacientes con enfermedades genéticas, con el objetivo de corregir la causa subyacente de la enfermedad.

- **Desarrollo de fármacos:**

Permite generar células que expresan proteínas terapéuticas o anticuerpos para su uso en tratamientos.

- **Producción de células madre pluripotentes inducidas (iPSC):**

La transfección se utiliza para introducir factores de reprogramación en células somáticas para convertirlas en iPSC.

Por ello, podemos decir que la transfección es una herramienta fundamental en la investigación biológica y la medicina, que permite la introducción de material genético en células para diversos fines, desde el estudio de la función génica hasta el desarrollo de nuevas terapias.

### **2.2.5. TRANSPLANTES**

Un trasplante es un procedimiento médico donde se reemplaza un órgano o tejido enfermo o dañado por uno sano, ya sea del mismo individuo (autotrasplante) o de un donante (alotrasplante o xenotrasplante). El objetivo es restaurar la función perdida y mejorar la calidad de vida del receptor.

Tipos de trasplantes:

- **Autotrasplante:** El tejido o órgano se traslada del mismo individuo, por ejemplo, un injerto de piel.
- **Alotrasplante:** El tejido u órgano proviene de un donante de la misma especie, como un trasplante de riñón entre humanos.
- **Xenotrasplante:** El tejido u órgano proviene de un donante de diferente especie.

Importancia de los trasplantes:

- **Salvavidas:**

En muchos casos, los trasplantes son la única opción para tratar enfermedades graves como insuficiencia cardíaca, renal o hepática.

- **Mejora de la calidad de vida:**

Un trasplante exitoso puede permitir a los pacientes llevar una vida normal y activa.

Consideraciones importantes:

- **Rechazo:** El sistema inmunológico del receptor puede atacar el órgano trasplantado. Para prevenir esto, se utilizan medicamentos inmunosupresores.
- **Compatibilidad:** Es crucial que el donante y el receptor sean compatibles, especialmente en cuanto a tipo de sangre y marcadores genéticos (HLA).

- Donación: La donación de órganos es un acto altruista que puede salvar vidas.

En México:

- Existe un Registro Nacional de Trasplantes que lleva un control de los pacientes en espera y de los trasplantes realizados.
- La Sociedad Mexicana de Trasplantes trabaja para mejorar la calidad de vida de los pacientes que necesitan un trasplante.

### **2.2.6. ANIMALES KNOCKOUT Y TRANSGÉNICOS**

En biología del desarrollo, un knockout se refiere a la inactivación o eliminación de un gen específico en un organismo para estudiar su función. Los científicos crean organismos knockout para observar los efectos de la ausencia del gen en el desarrollo y funcionamiento del organismo. Esta técnica es crucial para comprender cómo interactúan los genes y cómo contribuyen al desarrollo normal y a la aparición de enfermedades.

¿Cómo se realiza un knockout?

La técnica de knockout se basa en la ingeniería genética para alterar el ADN del organismo de manera que el gen objetivo ya no pueda producir su proteína funcional. Esto puede lograrse mediante diferentes métodos, como:

- Recombinación homóloga:

Introducir una secuencia de ADN que reemplace el gen original, inhabilitándolo o introduciendo una mutación que impida su función.

- Técnicas CRISPR/Cas9:

Utilizar la herramienta CRISPR/Cas9 para cortar el ADN en el sitio del gen objetivo, lo que puede llevar a la eliminación del gen o a la inserción de una mutación.

¿Por qué es importante el knockout en biología del desarrollo?

El knockout de genes es una herramienta esencial en biología del desarrollo porque permite:

- Comprender la función de los genes:

Al eliminar un gen, se puede observar qué funciones o procesos se ven afectados, lo que ayuda a determinar la función del gen en el desarrollo.

- Estudiar la expresión génica:

Permite analizar cómo la ausencia de un gen afecta la expresión de otros genes y cómo esto influye en el desarrollo.

- Modelar enfermedades:

Se pueden crear modelos animales knockout con mutaciones que replican enfermedades humanas, lo que facilita el estudio de estas enfermedades y el desarrollo de nuevas terapias.

- Identificar vías de señalización:

Permite investigar las vías de señalización celular que dependen de genes específicos, lo que ayuda a entender cómo se regulan los procesos de desarrollo.

Tipos de knockouts:

- Knockouts constitutivos: Inactivan el gen en todas las células del organismo.
- Knockouts condicionales: Permiten la inactivación del gen en tejidos específicos o en momentos específicos del desarrollo, lo que es útil cuando un knockout constitutivo es letal.

En resumen, los knockouts son una herramienta fundamental en biología del desarrollo que ha revolucionado nuestra comprensión de cómo los genes controlan los procesos de desarrollo y cómo las alteraciones genéticas pueden conducir a enfermedades.

En genética, un animal knockout es aquel en el que se ha eliminado o inactivado uno o más genes específicos mediante ingeniería genética. Estos animales se utilizan en la investigación para estudiar la función de los genes al observar los cambios en el organismo cuando el gen en cuestión no funciona. Los ratones son los animales knockout más comúnmente utilizados debido a su similitud genética con los humanos y la facilidad con la que se pueden manipular genéticamente.

¿Cómo se crea un animal knockout?

El proceso generalmente implica la creación de un fragmento de ADN artificial que interrumpe o reemplaza el gen de interés en el genoma del animal. Este fragmento se introduce en células madre embrionarias, que luego se utilizan para crear embriones. Estos embriones se implantan en hembras para generar animales knockout.

¿Para qué se utilizan los animales knockout?

- Estudio de la función génica:

Al observar los cambios en un animal knockout, se puede inferir la función del gen inactivado.

- Modelado de enfermedades humanas:

Los animales knockout pueden ayudar a entender cómo los genes defectuosos contribuyen a enfermedades humanas, como el cáncer, la enfermedad de Parkinson y la diabetes.

- Desarrollo de terapias:

Los modelos knockout pueden utilizarse para probar nuevos tratamientos para enfermedades genéticas.

Tipos de ratones knockout:

- Ratones knockout constitutivos: El gen se elimina en todas las células del animal.
- Ratones knockout condicionales: La eliminación del gen se produce solo en tejidos específicos o en etapas específicas del desarrollo.

Limitaciones:

- Algunas inactivaciones génicas pueden ser letales durante el desarrollo embrionario.
- Algunos animales knockout pueden no presentar cambios fenotípicos observables, lo que dificulta la interpretación de los resultados.

Por otra parte, En biología del desarrollo, los animales transgénicos son aquellos cuyo genoma ha sido modificado mediante la introducción de ADN extraño, conocido como transgén, para alterar sus características genéticas. Esta tecnología permite a los investigadores estudiar la función de genes específicos durante el desarrollo, así como crear modelos animales para enfermedades humanas y desarrollar nuevas terapias.

¿Qué son los animales transgénicos?

Los animales transgénicos se crean introduciendo un transgén en el genoma de un organismo, de modo que este nuevo gen se expresa en todas las células del animal y se hereda a través de la descendencia. Esta modificación genética puede lograrse mediante diversas técnicas, como la microinyección pronuclear o la transferencia nuclear.

## Aplicaciones en biología del desarrollo:

- Estudio de la función génica:

Los animales transgénicos son herramientas valiosas para investigar la función de genes específicos durante el desarrollo embrionario y postnatal. Al introducir genes con modificaciones o genes que se expresan en determinados tejidos, los investigadores pueden observar cómo estos genes afectan el desarrollo de diferentes estructuras y funciones del organismo.

- Modelos de enfermedades:

Los animales transgénicos se utilizan ampliamente como modelos para enfermedades humanas, como el cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas. Al generar animales que expresan mutaciones genéticas asociadas a enfermedades humanas, los investigadores pueden estudiar los mecanismos de la enfermedad, probar nuevas terapias y desarrollar estrategias de prevención.

- Desarrollo de terapias:

Los animales transgénicos también pueden ser utilizados para producir proteínas terapéuticas, como la insulina o la hormona del crecimiento, en la leche de animales transgénicos, como vacas u ovejas. Esta tecnología permite la producción a gran escala de proteínas terapéuticas de forma más eficiente y económica.

### Ejemplos de animales transgénicos:

- Ratones transgénicos:

Los ratones son los animales transgénicos más utilizados en investigación debido a su pequeño tamaño, ciclo de vida corto y facilidad para ser manipulados genéticamente. Se han creado ratones transgénicos para estudiar una amplia gama de enfermedades humanas, incluyendo cáncer, diabetes y enfermedades neurodegenerativas.

- Animales transgénicos para la producción de proteínas terapéuticas:

Se han creado ovejas y cabras transgénicas que producen proteínas terapéuticas en su leche, como el factor IX de la coagulación para el tratamiento de la hemofilia.

- Peces cebra transgénicos:

Los peces cebra transgénicos se utilizan para estudiar el desarrollo embrionario temprano y la organogénesis.

### **2.2.7. Células madre, teratocarcinomas**

Las células madre son un tipo especial de células que tienen dos propiedades importantes. Pueden producir más células de este tipo. Es decir, se renuevan por sí solas. Además, pueden convertirse en otras células que hacen cosas diferentes en un proceso que se conoce como diferenciación. Las células madre se encuentran en casi todos los tejidos del cuerpo. Además, se necesitan para mantener el tejido y para repararlo después de una lesión.

Según la ubicación de las células madre, pueden desarrollarse en diferentes tejidos. Por ejemplo, las células madre hematopoyéticas residen en la médula ósea y pueden producir todas las células que trabajan en la sangre. Las células madre también pueden convertirse en neuronas cerebrales, células del músculo cardíaco, células óseas u otros tipos de células.

Hay diversos tipos de células madre. Las células madre embrionarias son las más versátiles porque se pueden desarrollar en todas las células del feto en desarrollo. La mayoría de las células madre en el cuerpo tienen menos capacidades para producir células y solo pueden ayudar a mantener y reparar los tejidos y los órganos en los que residen.

Ninguna otra célula del cuerpo tiene la capacidad natural de generar nuevos tipos de células.

¿Por qué hay tanto interés en las células madre?

Los investigadores están estudiando las células madre para ver si pueden ayudar en los siguientes casos:

- Comprender más sobre cómo se producen las enfermedades. Al observar la maduración de células madre hasta formar células de los huesos, el músculo cardíaco, los nervios, y otros órganos y tejidos, los investigadores pueden comprender mejor cómo se desarrollan las enfermedades y afecciones.
- Generar células sanas para reemplazar las células afectadas por la enfermedad (medicina regenerativa). Las células madre pueden ser orientadas para convertirse en células específicas

que se pueden usar en personas para regenerar y reparar tejidos que la enfermedad ha dañado o afectado.

Las personas que podrían beneficiarse de tratamientos con células madre incluyen aquellas con leucemia, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin y algunos tipos de cáncer de tumor sólido. Los tratamientos con células madre también podrían beneficiar a las personas con anemia aplásica, inmunodeficiencias y afecciones hereditarias del metabolismo.

Las células madre se están estudiando para tratar la diabetes tipo I, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, la insuficiencia cardíaca, la osteoartritis y otras afecciones.

Las células madre pueden tener el potencial de crecer hasta convertirse en tejido nuevo para su uso en trasplantes y medicina regenerativa. Los investigadores continúan ampliando el conocimiento sobre células madre y sus aplicaciones en la medicina regenerativa y de trasplante.

- Probar la seguridad y eficacia de nuevos medicamentos. Antes de administrar medicamentos en desarrollo a personas, los investigadores pueden usar algunos tipos de células madre para probar la seguridad y la calidad de estos. Este tipo de prueba puede ayudar a evaluar los medicamentos en desarrollo para ver si producen toxicidad en el corazón.

Las nuevas áreas de estudio incluyen la eficacia del uso de células madre humanas que han sido programadas a fin de que se conviertan células de tejidos específicos para probar nuevos medicamentos. Para que las pruebas de los nuevos medicamentos sean precisas, las células deben programarse para que adquieran las propiedades del tipo de células a las que se dirige el medicamento. Se están estudiando técnicas para programar células a fin de que se conviertan en células específicas.

¿De dónde provienen las células madre?

Hay varias fuentes de células madre:

- Células madre embrionarias. Estas células madre provienen de embriones que tienen de 3 a 5 días de vida. En esta etapa, un embrión se llama blastocisto y tiene alrededor de 150 células.

Estas son células madre pluripotentes, lo que significa que pueden dividirse en más células madre o pueden convertirse en cualquier tipo de célula del cuerpo. Esto permite que las células madre

embrionarias se utilicen para regenerar o reparar tejidos y órganos afectados por una enfermedad.

- Células madre adultas. Estas células madre se encuentran en pequeñas cantidades en la mayoría de los tejidos adultos, como la médula ósea o la grasa. En comparación con las células madre embrionarias, las células madre adultas tienen una capacidad más limitada para generar diferentes células del cuerpo.
- Células adultas modificadas para que tengan las propiedades de las células madre embrionarias. Los científicos han transformado las células adultas normales en células madre mediante la reprogramación genética. Al modificar los genes de las células adultas, los investigadores pueden hacer que las células actúen de manera similar a las células madre embrionarias. Estas células reciben el nombre de células madre pluripotentes inducidas.

Con esta nueva técnica, se podrían utilizar células reprogramadas en lugar de células madre embrionarias y prevenir el rechazo del sistema inmunitario a las nuevas células madre. Sin embargo, los científicos aún no saben si el uso de células adultas modificadas causará efectos adversos en los humanos.

Los investigadores han podido tomar células comunes del tejido conectivo y reprogramarlas para que se conviertan en células cardíacas funcionales. En estudios, los animales con insuficiencia cardíaca que fueron inyectados con nuevas células cardíacas tuvieron una mejor función cardíaca y un mejor tiempo de supervivencia.

- Células madre perinatales. Los investigadores han descubierto células madre en el líquido amniótico, así como en la sangre del cordón umbilical. Estas células madre pueden convertirse en células especializadas.

El líquido amniótico llena la bolsa que rodea y protege al feto en desarrollo en el útero. Los investigadores han identificado células madre en muestras de líquido amniótico extraídas de mujeres embarazadas para pruebas o tratamiento, un procedimiento que se conoce como amniocentesis.

¿Por qué hay controversia en torno al uso de células madre embrionarias?

Las células madre embrionarias se obtienen a partir de embriones en etapa temprana, un grupo de células que se forman cuando los óvulos se fecundan con espermatozoides en una clínica de

fertilización *in vitro*. Debido a que las células madre embrionarias humanas se extraen de embriones humanos, se han planteado varias preguntas en torno a la ética de la investigación con células madre embrionarias.

Los Institutos Nacionales de Salud crearon pautas para la investigación con células madre humanas en el 2009. Las pautas definen a las células madre embrionarias y cómo pueden utilizarse en la investigación, e incluyen recomendaciones para la donación de células madre embrionarias. Además, establecen que las células madre embrionarias de embriones creados mediante fertilización *in vitro* solo se pueden utilizar cuando el embrión ya no se necesita.

¿De dónde vienen estos embriones?

Los embriones que se utilizan en la investigación de células madre embrionarias provienen de óvulos que fueron fertilizados en clínicas de fertilización *in vitro*, pero que nunca fueron implantados en el útero de una mujer. Las células madre son donadas con el consentimiento informado de los donantes. Las células madre pueden vivir y crecer en soluciones especiales en tubos de ensayo o placas de Petri en los laboratorios.

¿Por qué los investigadores no pueden usar células madre adultas?

El progreso en la reprogramación celular y la transformación de células madre pluripotentes inducidas ha mejorado enormemente la investigación en este campo. Sin embargo, la reprogramación es un proceso insuficiente. De ser posible, se usan células madre pluripotentes inducidas en lugar de células madre embrionarias dado que esto evita los problemas de ética en torno al uso de células madre embrionarias que algunas personas pueden objetar moralmente.

Aunque la investigación sobre células madre adultas es prometedora, las células madre adultas podrían no ser tan versátiles y duraderas como las células madre embrionarias. Es posible que las células madre adultas no puedan ser manipuladas para producir todo tipo de células, lo que limita la forma en que estas células pueden ser utilizadas para tratar enfermedades.

Las células madre adultas también son más propensas a tener irregularidades debido a peligros ambientales, como toxinas, o por errores adquiridos por las células durante la duplicación. Sin embargo, los investigadores han descubierto que las células madre adultas son más adaptables de lo que se pensaba al principio.

¿Qué son las líneas de células madre y por qué los investigadores quieren usarlas?

Una línea de células madre es un grupo de células que provienen de una sola célula madre original y se cultivan en un laboratorio. Las células de una línea de células madre se siguen reproduciendo, pero no se convierten en células especializadas. Idealmente, permanecen libres de defectos genéticos y continúan creando más células madre. Pueden tomarse grupos de células de una línea de células madre y congelarse para su almacenamiento o para compartirlos con otros investigadores.

¿En qué consiste la terapia con células madre (medicina regenerativa) y cómo funciona?

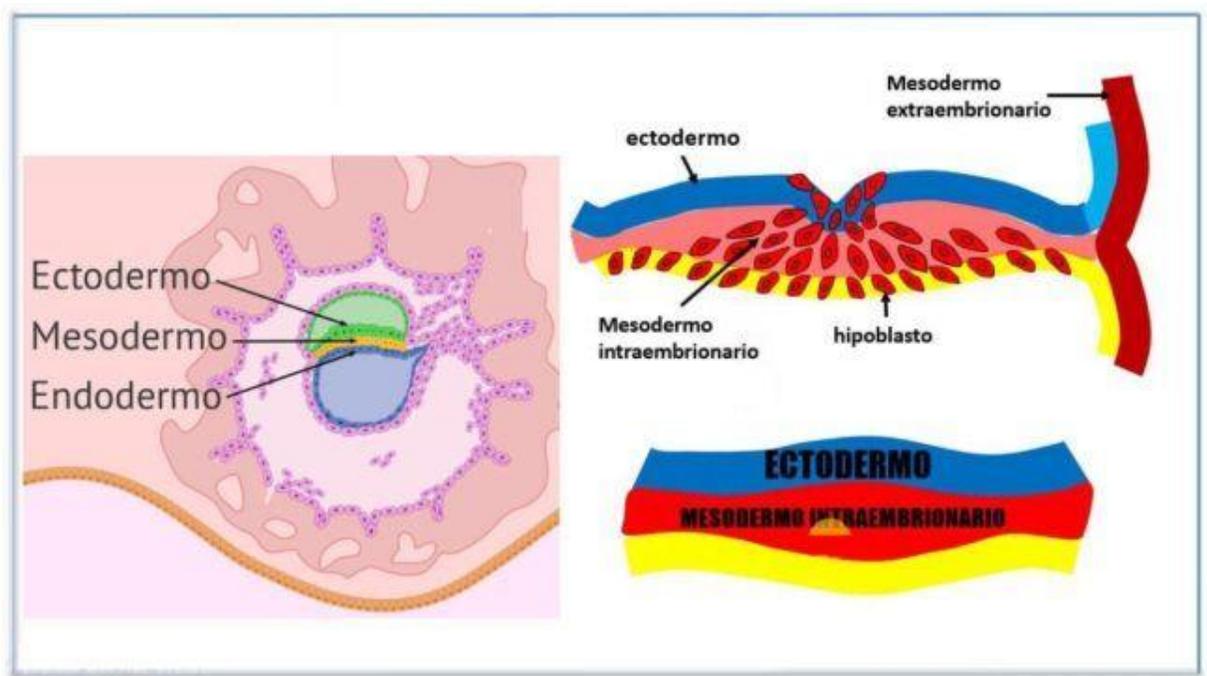
La terapia con células madre, también conocida como medicina regenerativa, promueve la reparación de tejidos afectados por la enfermedad, disfuncionales o lesionados mediante el uso de células madre o sus derivados. Es el próximo capítulo en el trasplante de órganos y usa células en lugar de órganos de donantes, cuyo suministro es limitado.

Los investigadores desarrollan células madre en un laboratorio. Estas células madre se manipulan para que se conviertan en tipos específicos de células, como células sanguíneas, nerviosas o del músculo cardíaco.

Luego se puede implantar dichas células en una persona. Por ejemplo, si la persona tiene enfermedad cardíaca, las células podrían inyectarse en el músculo cardíaco. Las células sanas trasplantadas de músculo cardíaco podrían entonces contribuir a reparar el músculo cardíaco dañado.

El teratocarcinoma es un tumor maligno de células germinales que tiende a formarse en los testículos, pero también puede formarse en los ovarios. Hay dos elementos clave que componen un teratocarcinoma: un carcinoma embrionario y un teratoma. Esta forma de cáncer tiene correlaciones intrínsecas con el desarrollo embrionario, particularmente la 3ª a 4ª semana de gestación, que es cuando ocurre la gastrulación (3ª semana) así como la neurulación primaria (en la 3ª y 4ª semana).

El teratocarcinoma es un tumor maligno de las células reproductivas, también conocidas comúnmente como células germinales, y contiene derivados de las 3 capas germinales (endodermo, mesodermo y ectodermo) formadas como resultado de la gastrulación.



Los carcinomas embrionarios son de estirpe maligna indiferenciada y además provienen de células madre pluripotenciales, mientras que los teratomas son tumores que pueden ser benignos o malignos y que surgen de las células germinales primordiales, pudiendo contener una gran variedad de tejidos (es decir, hueso, cabello y músculo).

Los teratomas se consideran tumores raros y son mas frecuentes en mujeres que en hombres, pudiendo aparecer en personas de cualquier edad, desde recién nacidos hasta adultos, sin embargo, tienden a diagnosticarse tarde, aunque la mayoría suelen ser de origen congénito. La principal importancia de su origen embriológico es que debido a que se forman a un fallo en la migración de las tres capas (endodermo, mesodermo y ectodermo).

El teratocarcinoma, un tumor maligno de células germinales que consta de un teratoma y un carcinoma embrionario tiene correlaciones intrínsecas con el desarrollo embriológico anormal. Los carcinomas embrionarios son células madre malignas indiferenciadas que provienen de células madre pluripotentes, se diferencian hacia la formación de estructuras embrionarias y metastatizan rápidamente en comparación con otros tumores. Los teratomas son tumores embrionarios formados por las tres capas germinales. A pesar de que los carcinomas y los teratomas embrionarios tienen características distintas, juntos forman teratocarcinoma, un tumor canceroso considerablemente agresivo que consiste en derivados del endodermo,

mesodermo y ectodermo. Esto último hace que sea de vital importancia el estudio del origen embriológico de estos tumores, ya que comprender el origen de los tejidos y las estructuras es fundamental para establecer su pronóstico y su tratamiento.

## **Unidad III EMBRIOLOGÍA DESCRIPTIVA**

### **3.1. GAMETOGENESIS.**

Se refiere el término a la formación de células sexuales “gametos”, tanto masculino como femenino, dando como resultado la espermatogénesis y ovogénesis.

Este proceso es llevado al inicio de la pubertad, donde el humano es apto para su reproducción. Vamos a estudiar la formación de gametos y el ciclo sexual femenino, para una mayor distribución de información y mayor comprensión.

En un individuo adulto existen dos tipos de células:

**Células somáticas:** Son todas las células de un organismo, tienen naturaleza diploide y se multiplican por mitosis, haciendo copias de sí mismas.

**Células germinales:** Se trata de un tipo de célula especializada que inicialmente son diploides pero que, mediante un proceso de Meiosis, son capaces de dar lugar a células Gameto.

Las células gameto o gametos son células con dotación cromosómica haploide (23 cromosomas en lugar de 46), que tienen la capacidad de fusionarse (Una de sexo masculino con una de sexo femenino, fecundación) dando lugar a una célula ya diploide llamada cigoto que da lugar a un embrión y éste a un individuo completo.

Las células germinales primordiales (CGP) aparecen en la 3ª semana de desarrollo embrionario en la pared del saco vitelino, en la 5ª semana de gestación inician la migración a través del intestino medio hacia las crestas gonadales donde se multiplicarán por mitosis y formarán parte de las gónadas inicialmente indiferenciadas. Hacia la 7ª semana la expresión por las células de Sertoli del gen SRY (Sex determining Region Y), localizado en el cromosoma Y, hace que la gónada se diferencie hacia gónada masculina y la ausencia de expresión hace que derive hacia gónada femenina, lo cual hace que las CGP se transformen en Espermatogonias y Ovogonias respectivamente.

### **3.2. ESPERMATOGÉNESIS.**

Espermatogénesis, la podemos definir como la maduración de los espermatozoides inicia en la pubertad.

La espermatogénesis, que inicia en la pubertad, incluye todos los eventos por los cuales las espermatogonias se transforman en espermatozoides. Al nacer, las células germinales del embrión masculino pueden reconocerse en los cordones sexuales de los testículos, como células pálidas grandes circundadas por células de soporte.

Las células de soporte, que derivan del epitelio superficial de los testículos al igual que las células foliculares, se convierten en células sustentaculares o de Sertoli. Poco antes de la pubertad los cordones sexuales desarrollan un lumen y se convierten en túbulos seminíferos. Casi al mismo tiempo las CGP dan origen a las células troncales espermatogónicas. A intervalos regulares emergen células de esta población de células troncales, para dar origen a espermatogonias de tipo A, y su producción marca el inicio de la espermatogénesis.

Las células tipo A pasan por un número limitado de divisiones mitóticas para formar clones celulares. La última división celular da origen a las espermatogonias tipo B, que se dividen entonces para formar espermatoцитos primarios. Los espermatoцитos primarios ingresan entonces en una profase prolongada (22 días), seguida por una terminación rápida de la primera división meiótica y la formación de espermatoцитos secundarios.

Durante la segunda división meiótica estas células de inmediato comienzan a formar espermátides haploides. A lo largo de esta serie de eventos, desde el momento en que las células tipo A abandonan la población de células troncales hasta la formación de las espermátides, ocurre una citocinesis incompleta, de tal modo que generaciones sucesivas de células se mantienen unidas por puentes citoplásmicos.

Así, la progenie de una sola espermatogonia tipo A forma un clon de células germinales que se mantienen en contacto durante su diferenciación.

Por otra parte, espermatogonias y espermátides permanecen alojadas en intersticios profundos de células de Sertoli durante todo su desarrollo. De esta manera, las células de Sertoli sostienen y protegen a las células germinales, participan en su nutrición y ayudan para la liberación de los espermatozoides maduros.

La espermatogénesis está regulada por la producción de LH en la glándula pituitaria. La LH se une a receptores en las células de Leydig y estimula la síntesis de testosterona, que a su vez se une a las células de Sertoli para promover la espermatogénesis. Las células de Leydig, al igual

que las de la teca, se originan de estroma gonadal y se ubican fuera de los cordones seminíferos. La hormona estimulante del folículo (FSH) también es esencial, puesto que su unión a las células de Sertoli estimula la producción de fluido testicular y la síntesis de proteínas intracelulares receptoras de andrógenos.

### Espermiogénesis o espermioteliosis

La serie de cambios que da origen a la transformación de las espermátides en espermatozoides se denomina espermiogénesis o espermioteliosis. Estos cambios incluyen (1) la formación del acrosoma a partir del aparato de Golgi, que cubre la mitad de la superficie nuclear y contiene enzimas (acrosina y hialuronidasa), que facilitan la penetración al óvulo y sus capas circundantes durante la fecundación; (2) condensación del núcleo por sustitución de histonas por protaminas; (3) formación del cuello, la pieza intercalar y la cola, y (4) eliminación de la mayor parte del citoplasma una vez que los cuerpos residuales son fagocitados por las células de Sertoli. En el humano el tiempo que se requiere para que una espermatogonia se convierta en espermatozoide maduro es alrededor de 74 días, y cada día se producen cerca de 300 millones de espermatozoides. Cuando los espermatozoides completan su formación ingresan al lumen de los túbulos seminíferos. A partir de ahí son impulsados hacia el epidídimo por elementos contráctiles ubicados en la pared de los túbulos seminíferos. Si bien al inicio su motilidad es escasa, los espermatozoides la desarrollan en su totalidad durante su estancia en el epidídimo.

### **3.3. OVOGÉNESIS.**

La ovogénesis es el proceso por el cual las ovogonias se diferencian en ovocitos maduros. La maduración de los ovocitos inicia antes del nacimiento. Una vez que las CGP llegan a la gónada de un embrión con genética femenina se diferencian en ovogonias. Estas células experimentan varias divisiones mitóticas y, al final del tercer mes de la gestación, se encuentran dispuestas en cúmulos circundados por una capa de células epiteliales planas. Si bien es posible que todas las ovogonias de un mismo cúmulo deriven de una sola célula, las células epiteliales planas, conocidas como células foliculares, se originan del epitelio celómico que cubre al ovario. La mayor parte de las ovogonias continúa dividiéndose por mitosis, pero algunas de ellas detienen su división celular en la profase de la primera división meiótica y forman ovocitos primarios. Durante los siguientes meses el número de ovogonias se incrementa con rapidez y para el

quinto mes de desarrollo prenatal el número total de células germinales en el ovario alcanza su máximo, que se calcula en 7 millones. En ese momento comienzan a morir células, y muchas ovogonias y también ovocitos primarios se degeneran y desarrollan atresia. Para el séptimo mes la mayor parte de las ovogonias ha degenerado, excepto un número menor cerca de la superficie. Todos los ovocitos primarios sobrevivientes se encuentran en la profase de la primera división meiótica, y la mayor parte de ellos está rodeado de manera independiente por una capa de células de epitelio folicular plano. Un ovocito primario, junto con las células epiteliales planas que le circundan, se conoce como folículo primordial.

La maduración de los ovocitos continúa en la pubertad. Cerca del momento del nacimiento todos los ovocitos primarios han ingresado a la profase de la primera división meiótica, pero en vez de avanzar a la metafase ingresan a la etapa de diploteno, una fase de reposo propia de la profase, que se caracteriza por el aspecto de la cromatina similar al del encaje. Los ovocitos primarios permanecen detenidos en la profase y no terminan su primera división meiótica antes de alcanzar la pubertad. Este estado de detención es producido por el inhibidor de la maduración de los ovocitos, un péptido pequeño secretado por las células foliculares. El número total de ovocitos primarios al nacer se calcula entre 600 000 a 800 000.

Durante la niñez la mayor parte de los ovocitos sufre atresia; sólo alrededor de 40 000 persisten al llegar la pubertad, y menos de 500 serán liberados en la ovulación. Algunos ovocitos que alcanzan la madurez en una fase tardía de la vida se han mantenido detenidos en la fase de diploteno de la primera división meiótica durante 40 años o más antes de la ovulación. Se desconoce si el diploteno es la fase más apropiada para proteger al ovocito contra los influjos ambientales. El hecho de que el riesgo de tener hijos con anomalías cromosómicas aumente a la par de la edad materna indica que los ovocitos primarios son vulnerables al daño mientras envejecen. Al llegar la pubertad se establece una reserva de folículos en desarrollo, que se mantiene de manera continua gracias a la provisión de folículos primordiales. Cada mes se seleccionan entre 15 y 20 folículos a partir de esta reserva para comenzar a madurar. Algunos de estos mueren, en tanto otros comienzan a acumular líquido en una cavidad denominada antro, de modo que ingresan a la etapa antral o vesicular. El fluido sigue acumulándose, de tal modo que antes de la ovulación los folículos se encuentran bastante ingurgitados y se denominan folículos vesiculares maduros o de Graaf. La etapa antral es la más prolongada, en

tanto la etapa vesicular madura corresponde al periodo aproximado de 37 h previo a la ovulación. Al tiempo que los folículos primordiales comienzan a crecer, las células foliculares circundantes cambian su configuración de planas a cúbicas, y proliferan para generar un epitelio estratificado de células de la granulosa; esta unidad se denomina folículo primario. Las células de la granulosa que descansan sobre una membrana basal que las separa del tejido conectivo circundante (estroma ovárico), el cual forma la teca folicular. De igual modo, las células de la granulosa y los ovocitos secretan una capa de glucoproteínas que rodea al ovocito y que constituye la zona pelúcida. Mientras los folículos siguen creciendo, células de la teca se organizan en una capa interna de células secretoras, la teca interna, y una cápsula fibrosa superficial, la teca externa. De igual modo, procesos digitiformes pequeños de las células foliculares se extienden para atravesar la zona pelúcida y entrelazarse con las microvellosidades de la membrana plasmática del ovocito. Estos procesos son importantes para el transporte de materiales desde las células foliculares hasta el ovocito.

Al tiempo que el desarrollo continúa, aparecen espacios ocupados por líquido entre las células de la granulosa. La coalescencia de estos espacios da lugar al antro, y el folículo se denomina entonces folículo vesicular o antral. Al inicio el antro tiene forma de media luna, pero al pasar el tiempo crece. Las células de la granulosa que circundan al ovocito permanecen sin cambios y constituyen el cúmulo oóforo. Al alcanzar la madurez el folículo vesicular maduro (de Graaf) puede tener un diámetro de 25 mm o más. Está circundado por la teca interna, compuesta por células con característica de aquéllas que secretan esteroides y rica en vasos sanguíneos, y la teca externa, que de manera gradual se fusiona con el tejido conectivo ovárico.

En cada ciclo ovárico comienza a desarrollarse cierto número de folículos, pero por lo general sólo uno alcanza la madurez completa. Los otros se degeneran y se vuelven atrésicos. Cuando el folículo secundario está maduro, un pico de hormona luteinizante (LH) induce la fase de crecimiento preovulatoria.

La primera división meiótica se completa, lo que trae consigo la formación de dos células hijas de tamaño diferente, cada una con 23 cromosomas de estructura doble. Una célula, el ovocito secundario, recibe la mayor parte del citoplasma; la otra, el primer cuerpo polar, lo recibe al mínimo.

El primer cuerpo polar queda alojado entre la zona pelúcida y la membrana celular del ovocito secundario, en el espacio perivitelino. La célula ingresa entonces a la segunda división meiótica, pero se detiene en la metafase alrededor de 3 h antes de la ovulación. La segunda división meiótica sólo se completa si el ovocito es fertilizado; de lo contrario la célula degenera alrededor de 24 h después de la ovulación. El primer cuerpo polar puede experimentar una segunda división.

## CICLO OVÁRICO

Al llegar a la pubertad la mujer comienza a tener ciclos regulares cada mes. Estos ciclos sexuales están controlados por el hipotálamo. La hormona liberadora de gonadotropinas (gonadotropin-releasing hormone, GnRH), sintetizada por el hipotálamo, actúa sobre las células del lóbulo anterior de la glándula hipófisis (adenohipófisis), que a su vez secretan gonadotropinas. Estas hormonas, la hormona estimulante del folículo (follicle-stimulating hormone, FSH) y la hormona luteinizante (luteinizing hormone, LH), estimulan y controlan los cambios cíclicos en el ovario.

Al inicio de cada ciclo ovárico entre 15 y 20 folículos primarios (preantral) reciben estimulación para crecer bajo la influencia de la FSH (la hormona no es necesaria para promover el desarrollo de los folículos primordiales hasta la fase de folículo primario, pero sin ella estos folículos primarios mueren y se atresian).

De este modo, la FSH rescata entre 15 y 20 de estas células a partir de una reserva de folículos primarios que están en formación continua. En condiciones normales sólo uno de estos folículos alcanza la madurez completa y sólo un ovocito se libera; los otros degeneran y desarrollan atresia.

En el ciclo siguiente otro grupo de folículos primarios es reclutado y, de nuevo, sólo uno de ellos alcanza la madurez. En consecuencia, la mayor parte de los folículos degenera sin alcanzar nunca la madurez completa. Cuando un folículo sufre atresia, el ovocito y las células foliculares circundantes degeneran y son sustituidos por tejido conectivo para formar un cuerpo o folículo atrésico.

La FSH también estimula la maduración de las células foliculares (de la granulosa) que circundan al ovocito.

A su vez, la proliferación de estas células es mediada por el factor de diferenciación del crecimiento 9 (growth differentiation factor 9, GDF9), un miembro de la familia del factor de crecimiento transformante beta (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ).

En cooperación, las células de la teca interna y la granulosa producen estrógenos: las células de la teca interna sintetizan androstenediona y testosterona, y las células de la granulosa convierten a estas hormonas en estrona y 17  $\beta$ -estradiol. Como consecuencia de esta síntesis de estrógenos:

El endometrio uterino entra a la fase folicular o proliferativa. Ocurre un adelgazamiento del moco cervical para permitir el paso de los espermatozoides. El lóbulo anterior de la glándula hipófisis recibe estimulación para secretar LH. A la mitad del ciclo existe un brote de LH que: Eleva las concentraciones del factor promotor de la maduración, lo que hace que los ovocitos terminen la primera división meiótica e inicien la segunda división meiótica. Estimula la producción de progesterona en las células del estroma folicular (luteinización). Induce la rotura del folículo y la ovulación.

## OVULACIÓN

En los días inmediatos previos a la ovulación, bajo la influencia de FSH y LH, el folículo vesicular crece con rapidez hasta alcanzar un diámetro de 25 mm y se convierte en un folículo vesicular maduro (de Graaf). A la par del desarrollo final del folículo vesicular ocurre un incremento abrupto de LH, que hace que el ovocito primario complete la primera división meiótica y el folículo ingrese a la etapa vesicular madura preovulatoria. También da inicio la segunda división meiótica, si bien el ovocito queda detenido en su metafase alrededor de 3 h antes de la ovulación.

Entre tanto, la superficie del ovario comienza a mostrar un abultamiento localizado y, en su ápice, aparece un centro avascular, el estigma. La concentración alta de LH incrementa la actividad de la colagenasa, lo que da origen a la digestión de las fibras de colágena que circundan al folículo.

Las concentraciones de prostaglandinas también aumentan en respuesta al pico de LH e inducen contracciones musculares locales en la pared del ovario. Esas contracciones expulsan al ovocito,

el cual es liberado junto con las células de la granulosa derivadas del cúmulo oóforo que lo rodean (ovulación) y flota para salir del ovario. Algunas de las células del cúmulo oóforo se reacomodan en torno a la zona pelúcida para constituir la corona radiada.

**Cuerpo amarillo (lúteo)** Tras la ovulación las células de la granulosa que permanecen en la pared del folículo roto, junto con las derivadas de la teca interna, son vascularizadas por los vasos sanguíneos circundantes. Bajo la influencia de la LH estas células desarrollan un pigmento amarillento y se transforman en células luteínicas, que constituyen el cuerpo lúteo y secretan estrógenos y progesterona.

La progesterona, junto con algo de estrógeno, hace que la mucosa uterina ingrese a la fase pregestacional o secretoria, para prepararse para la implantación del embrión.

## TRANSPORTE DEL OVOCITO

Poco antes de la ovulación, las fimbrias de la tuba uterina barren la superficie del ovario, y la tuba misma comienza a contraerse de manera rítmica. Se piensa que el ovocito, circundado por algunas células de la granulosa, es llevado hacia el interior de la tuba por estos movimientos de barrido de las fimbrias, así como por los de los cilios del recubrimiento epitelial.

Una vez dentro de la tuba, las células del cúmulo retraen sus procesos citoplásmicos de la zona pelúcida y pierden el contacto con el ovocito. Ya que el ovocito se encuentra dentro de la tuba uterina es impulsado por contracciones musculares peristálticas de la tuba y por los cilios de la mucosa tubaria, siendo la velocidad de su transporte regulada por el ambiente endocrino durante y después de la ovulación.

En el humano el ovocito fecundado llega a la cavidad uterina en aproximadamente 3 a 4 días. **Cuerpo blanco (albicans)** Si la fecundación no ocurre, el cuerpo lúteo alcanza su desarrollo máximo alrededor de 9 días después de la ovulación. Puede reconocerse con facilidad como una proyección amarillenta en la superficie del ovario.

Posteriormente, el cuerpo lúteo se contrae por la degeneración de las células luteínicas (luteólisis) y constituye una masa de tejido cicatrizal fibrótico, el cuerpo blanco (corpus albicans). De manera simultánea, la síntesis de progesterona disminuye, lo que precipita la hemorragia menstrual.

Si el ovocito es fecundado, la gonadotropina coriónica humana evita la degeneración del cuerpo lúteo, una hormona que secreta el sincitiotrofoblasto del embrión en desarrollo. El cuerpo lúteo sigue creciendo y forma el cuerpo lúteo del embarazo (*corpus luteum graviditatis*).

Al final del tercer mes esta estructura puede corresponder a entre un tercio y la mitad del tamaño total del ovario. Las células lúteas de tonalidad amarilla siguen secretando progesterona hasta el final del cuarto mes; a partir de entonces involucionan con lentitud al tiempo que la secreción de progesterona del componente trofoblástico de la placenta se vuelve suficiente para mantener el embarazo.

La extirpación del cuerpo lúteo del embarazo antes del cuarto mes suele desencadenar un aborto.

### **3.4. FECUNDACIÓN.**

La fecundación, el proceso por el cual los gametos masculino y femenino se fusionan, ocurre en la región ampular de la tuba uterina. Se trata del segmento más amplio de la tuba y se ubica en cercanía al ovario.

Los espermatozoides pueden conservar durante varios días su viabilidad dentro del aparato reproductor femenino. Solo 1% de los espermatozoides depositados en la vagina ingresa al cuello uterino, donde pueden sobrevivir muchas horas. El movimiento del espermatozoide desde el cuello uterino hasta la tuba uterina ocurre por contracciones musculares del útero y de la tuba uterina, y de manera escasa por su propia propulsión.

El viaje desde el cuello uterino hasta el oviducto puede realizarse en tan solo 30 min, o requerir hasta 6 días. Tras llegar al istmo, los espermatozoides pierden motilidad y detienen su migración. En el momento de la ovulación los espermatozoides recuperan motilidad, quizá por la presencia de quimioatrayentes sintetizados por las células del cúmulo que circundan al óvulo, y nadan hasta el ámpula, donde suele ocurrir la fecundación.

Los espermatozoides no pueden fecundar al ovocito justo después de llegar al aparato reproductor femenino, sino deben experimentar (1) capacitación y (2) reacción acrosómica para adquirir esta capacidad.

La capacitación es un periodo de acondicionamiento en el aparato reproductor femenino, que en el humano dura alrededor de 7 h. Así, dirigirse con rapidez al ampulla no es una ventaja, puesto que la capacitación no ha ocurrido y los espermatozoides en esa condición no pueden fecundar al óvulo.

Gran parte del acondicionamiento que ocurre durante la capacitación tiene lugar en la tuba uterina y supone interacciones epiteliales que implican al espermatozoide y a la superficie mucosa de la tuba. Durante este periodo se retiran una capa de glucoproteínas y proteínas del plasma seminal de la membrana plasmática que cubre la región acrosómica del espermatozoide.

### **3.5. ACTIVACIÓN DEL ESPERMATOZOIDE: MADURACIÓN Y CAPACITACIÓN.**

La maduración del espermatozoide se refiere al proceso en el cual se desarrollan la composición química, los cambios de membrana, la motilidad y la capacidad fertilizante de los espermatozoides a medida que pasan por el epidídimo, culminando en la capacitación espermática después de la eyaculación.

Proceso de maduración de los espermatozoides

- a) La composición química del líquido intraluminal y de los espermatozoides cambia significativamente a medida que se recorren las tres porciones anatómicas del epidídimo .
- b) También se producen diversos cambios en la permeabilidad y antigenicidad de la membrana.
- c) La movilidad y la capacidad fecundante se adquieren durante el transporte a través del epidídimo.
- d) El proceso final de maduración, la capacitación espermática, La capacidad fecundante dura aproximadamente La capacitación de los espermatozoides , en realidad, tiene lugar después de que los espermatozoides han sido eyaculados y entran en contacto con el tracto reproductivo femenino , dentro de los genitales internos femeninos, un hallazgo importante para asesorar a los pacientes sobre la frecuencia óptima de las relaciones sexuales en el momento de la ovulación .

La capacitación espermática se define como el proceso de maduración que experimentan los espermatozoides de los mamíferos tras ser liberados del tracto reproductivo masculino, lo que les permite obtener la capacidad de fecundar un ovocito mediante la pérdida de proteínas de superficie. Este proceso es reversible y puede verse afectado por la presencia de factores discapacitantes. Los espermatozoides de los mamíferos que esperan la eyaculación en la cola del epidídimo no son capaces de fertilizar los óvulos.. El requisito de maduración adicional fue reportado por primera vez en 1951 por Austin y por Chang, quienes observaron que los espermatozoides deben residir en el tracto reproductivo femenino para fecundar los óvulos. Noyes y colaboradores informaron una conclusión similar en 1953, aunque Yanagimachi sugiere que esos experimentos se completaron a finales de la década de 1940, pero no se reportaron durante varios años. El proceso por el cual los espermatozoides desarrollan fertilidad bajo la instrucción de la hembra se conoce como "capacitación". La importancia de la capacitación no debe subestimarse. Fue el último paso clave que debía comprenderse en el esfuerzo por fecundar óvulos de mamíferos in vitro, que comenzó con el trabajo de Schenk en 1878, pero produjo resultados equívocos por diversas razones. Una vez reconocido el requisito de capacitación, transcurrieron 8 años relativamente breves hasta que óvulos de conejo fueron fecundados in vitro con espermatozoides recuperados del útero y, por lo tanto, capacitados al menos parcialmente in vivo, y 4 años más tarde hasta el informe de Yanagimachi y Chang en 1963 sobre la fecundación in vitro de óvulos ovulados de hámster utilizando espermatozoides de la cola del epidídimo capacitados in vitro. Esto sentó las bases para el análisis de la interacción espermatozoide-óvulo y la fecundación en condiciones controladas. Además, la capacitación es un factor en la evolución a través de la selección sexual poscopulatoria y un objetivo plausible para la intervención anticonceptiva .

Un rasgo característico de la capacitación es un curso temporal relativamente largo. Esto varía entre las especies de mamíferos in vivo, desde aproximadamente una hora en ratones hasta más de 6 horas en algunos primates, pero en todos los casos los espermatozoides deben residir durante un período prolongado dentro del tracto reproductivo femenino. Por el contrario, los espermatozoides de algunos sistemas modelo no mamíferos bien estudiados fertilizan los óvulos poco después de ser liberados del macho; por ejemplo, en los equinodermos la fertilización puede ocurrir en <1 min después del desove. Esta diferencia puede sugerir que la capacitación

está restringida a los mamíferos. Sin embargo, el fenómeno general de la capacitación (el control de la función de los espermatozoides por factores de los óvulos o del tracto reproductivo femenino) no es exclusivo de los mamíferos, sino similar a los eventos en una amplia gama de animales y plantas. En el hidroide *Campanularia flexuosa*, la fertilidad de los espermatozoides requiere la secreción de factores de las células epiteliales que rodean el óvulo. Eventos similares ocurren en los mamíferos y están regulados por la capacitación. Una capa gelatinosa, secretada por el oviducto, es necesaria para la fecundación de los óvulos de anfibios, y las vías de señalización intracelular que la gelatina activa en los espermatozoides son similares a las que participan en la capacitación espermática de los mamíferos in vitro. En los erizos de mar, la capa gelatinosa del óvulo contiene reguladores quimiocinéticos y quimioatrayentes de la motilidad espermática, así como estimuladores del metabolismo espermático. Las hembras de otros animales vertebrados e invertebrados también producen quimioatrayentes espermáticos derivados de los óvulos.

La noción de que, como afirma Austin, «el espermatozoide debe experimentar algún tipo de cambio fisiológico o capacitación antes de ser capaz de penetrar el óvulo», y, por lo tanto, vincular la capacitación con el potencial de fertilización, ha sido difícil de abordar experimentalmente. Los ensayos de fertilización in vitro requieren proporciones espermatozoides: óvulos de 100-1000:1, por lo que solo se puede evaluar el estado de capacitación de la pequeña fracción de la población de espermatozoides que entran en los óvulos. Los espermatozoides de los mamíferos son funcionalmente heterogéneos, y es difícil correlacionar el estado fisiológico de los pocos espermatozoides fecundantes con las propiedades bioquímicas o moleculares promediadas por la población. Los estudios in vivo presentan problemas relacionados. Solo una pequeña fracción del eyaculado llega a la ampolla del oviducto y está disponible para fertilizar los óvulos. Los espermatozoides que llegan a la ampolla presentan una motilidad hiperactivada están fuertemente capacitados, pero son difíciles de estudiar debido al bajo número involucrado y a la inaccesibilidad dentro del oviducto.

Un esfuerzo para resolver estas dificultades experimentales ha consistido en desarrollar un conjunto de marcadores que permitan la identificación y posible purificación de una subpoblación capacitada. En este sentido, muchos eventos durante la capacitación pueden seguirse con sondas de fluorescencia o mediante la observación de cambios en el

comportamiento espermático. El seguimiento de estos cambios asociados a la capacitación, junto con métodos de fertilización in vitro con un número reducido de espermatozoides (ratio espermatozoide:óvulo <10:1), puede proporcionar cierta solución. Sin embargo, aún no se dispone de un conjunto completo de marcadores adecuados.

Se deben destacar varias características generales de la capacitación:

1. Se suele pensar que la capacitación refleja la reprogramación funcional de los espermatozoides dentro del tracto reproductivo femenino. Sin embargo, es posible que la capacitación comience cuando los espermatozoides se exponen a los fluidos seminales durante la eyaculación. Los espermatozoides permanecen inactivos durante su almacenamiento en la cola del epidídimo y activan rápidamente su motilidad progresiva tras su liberación. Este proceso, esencial para la fertilidad, se ve impulsado en parte por las concentraciones de  $\text{HCO}_3^-$  en los fluidos seminales a través de la vía AMPc/proteína quinasa A (PKA) y continúa dentro del tracto reproductivo femenino. La importancia de la capacitación inducida por el plasma seminal no se ha explorado completamente y es probable que varíe entre las especies de mamíferos, dependiendo del grado de mezcla de los espermatozoides con los fluidos seminales y del tiempo de exposición. La capacitación se completa in vivo en el oviducto.

2. Como consecuencia de la capacitación, los espermatozoides expresan la capacidad de interactuar con los óvulos, presentan patrones únicos de motilidad flagelar y muestran respuestas novedosas a señales externas. Muchos de los cambios bioquímicos y biofísicos que acompañan a la capacitación probablemente estén relacionados con estas modificaciones conductuales.

3. La capacitación no es un proceso unitario sino más bien la suma de varias reacciones componentes que se desarrollan con cursos temporales y regulaciones separados. Para demostrar que la vía cAMP/PKA tiene funciones tempranas y tardías separadas en la capacitación. La noción de múltiples reacciones distintas se ilustra mediante el elegante estudio químico genético de Morgan et al., en el que se modificó genéticamente una  $\text{Ca}^{2+}$ , la isoforma específica del espermatozoide de la subunidad catalítica de la proteína quinasa A,

4. Los espermatozoides dentro de una población se capacitan de una manera altamente asincrónica, de modo que la representación de espermatozoides fuertemente capacitados en

una población en un momento dado puede ser baja tanto *in vitro* como *in vivo*. Esto podría extender plausiblemente la vida fértil de un eyaculado al reponer continuamente un grupo de espermatozoides capacitados y, por lo tanto, puede ser esencial para una reproducción eficiente en especies donde la ovulación y la receptividad sexual de la hembra no están estrechamente acopladas. En cualquier caso, esta heterogeneidad complica un análisis de los mecanismos subyacentes.

5. La capacitación *in vitro* e *in vivo* puede diferir en aspectos importantes. Estudios en modelos de roedores utilizan espermatozoides de la cola del epidídimo que no se han mezclado con fluidos seminales. Esos fluidos contienen: moduladores negativos de la fertilidad (los llamados "factores de descapacitación"); moduladores positivos de la fertilidad, incluyendo proteínas de la familia de las proteínas secretoras ricas en cisteína (*CRISP*); proteínas del incluyendo algunas propiedades que pueden estar involucradas en la capacitación. Además, los fluidos del tracto reproductivo femenino contienen una serie de moléculas bioactivas que pueden afectar la función espermática, pero que no están presentes en un medio de cultivo simple. Dicho de otro modo, el desarrollo de condiciones de cultivo que favorecen la fertilidad espermática *in vitro* ha proporcionado información valiosa sobre las vías intracelulares que median la capacitación, pero no necesariamente nos informa sobre los desencadenantes extracelulares que activan estas vías *in vivo*. Proteínas de la familia de las proteínas (*CRISP*); proteínas del dominio Fn-2; espermoadhesinas; otras proteínas y péptidos secretados; así como prostaglandinas. Estos fluidos también contienen exosomas, desprendidos por el epitelio en regiones distales del tracto reproductivo masculino después de la liberación de los espermatozoides de la cola del epidídimo, que regulan la función espermática. Incluso cuando se utilizan espermatozoides eyaculados, las condiciones de cultivo *in vitro* representan una simplificación del entorno dentro del tracto reproductivo femenino. Por ejemplo, Yanagimachi observó que la composición iónica de los fluidos del tracto reproductivo femenino difiere de los medios de cultivo estándar utilizados para la capacitación, y esto puede influir en la fisiología espermática.

### **Consecuencias de la capacitación**

La capacitación se asocia con cambios generalizados en las propiedades bioquímicas y biofísicas de los espermatozoides. Estos incluyen alteraciones en lo siguiente: propiedades de la

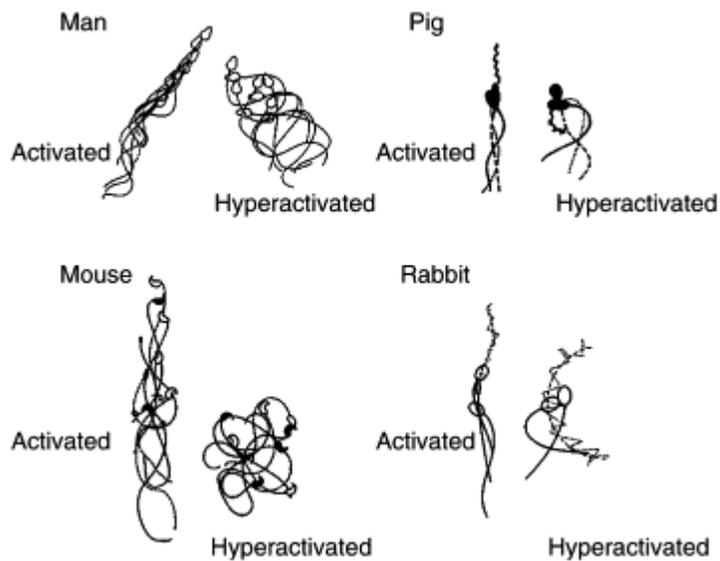
membrana plasmática y de la superficie celular a través de procesos como la desorción de glucoproteínas unidas de forma no covalente, reorganización de dominios de membrana resistentes a detergentes, cambios en el metabolismo; una fuerte hiperpolarización del potencial de membrana; y otras actividades iónicas. Esta extensa reprogramación tiene lugar tanto en la cabeza del espermatozoide como en el flagelo. redistribución de proteínas integrales de la membrana plasmática, tasas alteradas de difusión de proteínas de membrana y lípidos, alteraciones en la distribución asimétrica de fosfolípidos de la membrana plasmática y pérdida de colesterol de membrana; metabolismo alterado del AMPc; aumento del estado de fosforilación de una variedad de proteínas a través de la regulación de las proteínas quinasas y las fosfatasas; y un entorno iónico interno alterado, incluidos cambios en el pH, las concentraciones intracelulares de calcio.

Como consecuencia de la capacitación, los espermatozoides exhiben al menos tres modificaciones en el comportamiento que parecen relacionadas con la fertilidad: hiperactivación de la motilidad flagelar; regulación de las vías de transducción de señales que permiten la respuesta a quimioatrayentes; y expresión de la capacidad de reaccionar acrosómicamente e interactuar con los óvulos. Estas modificaciones se consideran por separado, ya que, actualmente, no existe un mecanismo unificado que explique la variedad de cambios de comportamiento en los espermatozoides durante la capacitación.

### **Motilidad hiperactivada**

Los espermatozoides permanecen inmóviles durante su almacenamiento en la cola del epidídimo e inician su movilidad al ser liberados en un medio de cultivo in vitro o en el líquido seminal. Este patrón inicial de motilidad (denominado motilidad «progresiva» o «activada») consiste en curvaturas flagelares relativamente simétricas y de baja amplitud que producen un movimiento espermático lineal y progresivo hacia adelante en medios acuosos. Por el contrario, se observa un tipo diferente de motilidad en los espermatozoides incubados en condiciones de capacitación in vitro, recuperados del oviducto, en estado hiperactivado muestran diversos comportamientos, entre ellos (aunque no exclusivamente) una curvatura flagelar vigorosa, profunda y asimétrica que produce un movimiento celular no progresivo y que se alterna con periodos de motilidad progresiva durante las observaciones en medios de cultivo. o observados a través de oviductos explantados transiluminados después del apareamiento o la inseminación

artificial . Sin embargo, existen diferencias entre especies en los detalles particulares de la curvatura flagelar y en la frecuencia de las transiciones no progresivas/progresivas.



#### *Motilidad progresiva e hiperactivada de los espermatozoides de mamíferos.*

Los patrones de motilidad de los espermatozoides de mamíferos se muestran en dibujos time-lapse. La motilidad activada (o progresiva) es característica de los espermatozoides no capacitados, mientras que la motilidad hiperactivada se observa en espermatozoides incubados en condiciones de capacitación *in vitro* y en espermatozoides recuperados del oviducto. Cabe destacar que los espermatozoides en estado activado presentan curvaturas flagelares de baja amplitud y relativamente simétricas, así como una trayectoria linealmente progresiva de la cabeza del espermatozoide. El modo hiperactivado consiste en transiciones hacia curvaturas flagelares más profundas y menos simétricas, lo que resulta en una trayectoria de la cabeza del espermatozoide menos lineal que la de la motilidad en estado activado.

La fertilidad depende del desarrollo oportuno de la motilidad hiperactivada. Los espermatozoides de hámster que se incubaron en condiciones no capacitantes *in vitro* y que no mostraron motilidad hiperactivada pudieron penetrar en el oviducto desde el útero después de la inseminación artificial, mientras que los espermatozoides que se habían sometido a preincubación en un medio capacitante y que mostraron altos niveles de hiperactivación no lograron ingresar al oviducto en cantidades apreciables. La hiperactivación aumenta el empuje y la fuerza generados por los espermatozoides y se ha sugerido que facilita la liberación de los

espermatozoides de los sitios de almacenamiento del oviducto en el istmo inferior. Además, permite que los espermatozoides se muevan a través de medios viscosos con mayor facilidad. Esto sugiere que el tránsito a través de la unión útero-tubárica hacia el oviducto puede actuar como filtro fisiológico y seleccionar los espermatozoides que no han completado la capacitación prematuramente (ver y puede ser esencial para la progresión a lo largo de la superficie del tracto reproductivo femenino y para la penetración del moco cervical, la matriz del cúmulo oóforo y la zona pelúcida, cada uno de los cuales es una barrera formidable para la fertilización. Finalmente, el cambio de modo entre motilidad hiperactivada y progresiva está vinculado a la quimiotaxis de los espermatozoides in vitro (ver la sección Quimiotaxis de los espermatozoides).

Los espermatozoides con actividad defectuosa de CATSPER no ascienden por el oviducto hasta el sitio de fertilización in vivo <sup>124</sup> ni penetran la zona pelúcida in vitro. <sup>117</sup> Las mutaciones con pérdida de función de cualquiera de las subunidades del canal dan lugar a la pérdida de la fertilidad masculina en modelos de ratón y se han relacionado con casos de infertilidad masculina humana.

El canal está construido a partir de subunidades formadoras de poros que tienen la arquitectura de un canal iónico clásico sensible al voltaje, CATSPER exhibe baja sensibilidad al voltaje. Los espermatozoides con un pH interno ligeramente ácido (pH  $\approx$  7), una característica de los espermatozoides de cola de epidídimo no capacitados, requieren despolarización a potenciales fuertemente positivos para activar la conductancia de CATSPER. No hay evidencia de que los espermatozoides generen potenciales de membrana tan fuertemente positivos, con seis hélices  $\alpha$  transmembrana (S1–S6) que constan de un dominio de sensor de voltaje (S1–S4) con un registro establecido de cargas positivas fijas en la hélice S4 y un dominio de conductancia iónica (S5–S6).

Varios mecanismos pueden contribuir a esta alcalinización interna. Estos incluyen: SLC9A10, un intercambiador de Na específico del espermatozoide de erizo de mar; *regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística* por la anhidrasa carbónica del espermatozoide. En segundo lugar, CATSPER es un canal regulado por ligando que puede ser activado directamente por la progesterona y las prostaglandinas, presentes en el oviducto, y ciertos odorantes y otras moléculas pequeñas.

El modelo emergente es que CATSPER es esencial para la hiperactivación y está diseñado para ser activado por el entorno del oviducto, donde se completa la capacitación. Sin embargo, el lector debe ser cauteloso: CATSPER puede hacer más que simplemente controlar el cambio a la motilidad hiperactivada, como lo indica la lenta motilidad de los espermatozoides de ratones nulíligotos y algunos aspectos del comportamiento de los espermatozoides humanos , por lo que todos los aspectos del fenotipo de los ratones nulíligotos CATSPER podrían no reflejar una falla en la hiperactivación. Alternativamente, los ligandos que activan CATSPER también podrían tener mecanismos de acción adicionales, independientes de CATSPER.

### **Quimioatracción de espermatozoides**

Que los gametos masculinos orienten la motilidad en gradientes de factores liberados por los óvulos o por el tracto reproductivo femenino es un fenómeno ampliamente conservado. El primer informe en plantas fue en 1884 para el caso del espermatozoide de helecho bracken , *Arbacia punctulate* , y un gusano poliqueto . Sin embargo, la naturaleza química de los atrayentes en los taxones examinados hasta la fecha varía e incluye proteínas, péptidos, aminoácidos , olefinas y otros lípidos , y gases; por lo tanto, es probable que el proceso de quimioatracción haya evolucionado independientemente en múltiples ocasiones. El enfoque aquí está en los eventos en mamíferos y su relación con la capacitación. Los eventos en otros taxones y los mecanismos celulares por los cuales los espermatozoides reciben señales atrayentes y responden a esas señales se detallan en otra parte.

La quimiotaxis de los espermatozoides de mamíferos se describió por primera vez en 1958 en un estudio con espermatozoides humanos y (entre otros atrayentes) líquido folicular . El interés en esta área se reavivó tras informes que indicaban que los espermatozoides humanos reorientaban su dirección de nado in vitro hacia fuentes de líquido folicular o medios acondicionados por complejos ovocito-cúmulo, de una manera que se correlacionaba con la capacidad de los ovocitos para ser fecundados in vitro. Los modelos actuales sugieren que los espermatozoides son guiados a través del tracto reproductivo femenino de los mamíferos por varios mecanismos.

### 3.6. APROXIMACIÓN. ADHESIÓN Y REACCIÓN ACROSÓMICA: ERIZO DE MAR Y MAMÍFEROS

Se cree generalmente que la reacción acrosómica del espermatozoide fecundante debe ocurrir en la zona pelúcida o cerca de ella, y que el estímulo natural para este evento puede involucrar moléculas asociadas con el ovocito o sus revestimientos. Dado que las reacciones acrosómicas en otros momentos o lugares pueden infertilizar a los espermatozoides, la estabilidad acrosómica prolongada de los espermatozoides *in vivo* puede garantizar que los espermatozoides que llegan al ovocito sean capaces de fecundar, independientemente de su período de residencia en el tracto urinario femenino.

La reacción del acrosoma puede ocurrir solo después de completarse la capacitación y puede ser inducida *in vitro*. Como resultado de la unión a ZP-3, los receptores de esperma se agregan. En las etapas iniciales (dentro de 1 minuto de la estimulación del esperma), ocurre la entrada de iones de calcio en la célula, y la matriz acrosómica se hincha como preludio a la fusión y vesiculación de la membrana plasmática y la membrana acrosómica externa. A medida que se forman vesículas de membrana, se cree que la matriz acrosómica se filtra del área de la matriz a medida que se forman poros esencialmente entre las áreas de formación de vesículas. En consecuencia, las enzimas acrosómicas y los elementos estructurales se liberan en la vecindad inmediata de la cabeza del espermatozoide anterior y el acrosoma. por una variedad de agentes químicos y biológicos, incluidas las proteínas de la zona pelúcida, los ionóforos de calcio, los glicosaminoglicanos y la progesterona. Una cascada de transducción de señales sigue a la agregación del receptor y puede involucrar una proteína reguladora de nucleótido guanilo (G) y la fosfolipasa C (PLC).

En este modelo derivado de ratón de la reacción del acrosoma, que libera  $\text{Ca}^{2+}$  produce IP<sub>3</sub>, que puede abrir canales de  $\text{Ca}^{2+}$  de membrana dependientes de voltaje. Se cree que el aumento de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular /  $\text{H}^+$  que eleva el pH intraacrosómico. Otros modelos sugieren que las interacciones receptor-ligando abren los canales iónicos de la membrana del esperma para el  $\text{Ca}^{2+}$ . Se desconoce el mecanismo de inducción de las reacciones acrosómicas por la progesterona y la zona pelúcida en el esperma de semental; sin embargo, en el esperma porcino y humano, el efecto de la progesterona se ha atribuido a un canal iónico de cloruro del esperma/receptor de ácido gamma-aminobutírico (GABA). <sup>5</sup>El PLC actúa sobre el fosfatidil

inositol difosfato de membrana (PIP) para producir inositol trifosfato (IP y diacilglicerol (DAG). Se sabe que el DAG promueve las fosforilaciones de proteínas. Se cree que la fosforilación de IP facilita la fusión de la membrana mediante la promoción de la transición de fase y la separación del fosfolípido de membrana. La proteína G activada puede actuar sobre el fosfolípido de membrana para producir lípidos fusogénicos como la lisofosfatidilcolina, el ácido araquidónico y el ácido fosfatídico. El calcio también puede actuar a través de la vía de la adenilato ciclasa para elevar el monofosfato de adenosina cíclico, que se requiere para la fosforilación de proteínas y el Na o sugieren que la progesterona se une y agrega receptores de esteroides de membrana para permitir el Ca mientras que el efecto zona se ha atribuido en el esperma de semental a una proteína galactosiltransferasa del esperma.

### **3.7. ACTIVACIÓN DEL ÓVULO. CAMBIOS EN LA ORGANIZACIÓN DEL CITOPLASMA DEL HUEVO CAUSADOS POR LA FECUNDACIÓN.**

La activación del óvulo es el conjunto de eventos que ocurren después de la fecundación para iniciar el desarrollo embrionario. Este proceso implica cambios en el citoplasma del huevo, incluyendo la finalización de la meiosis, la fusión de los pronúcleos masculino y femenino, y la activación del metabolismo del huevo.

Cambios en el citoplasma del huevo:

- **Liberación de calcio:**

La entrada del espermatozoide induce un aumento en la concentración de calcio dentro del óvulo, lo que desencadena una cascada de reacciones.

- **Reacción cortical:**

Se liberan el contenido de los gránulos corticales, que se encuentran debajo de la membrana del óvulo, para evitar la entrada de más espermatozoides (bloqueo de la poliespermia).

- **Activación metabólica:**

Se reactiva el metabolismo del huevo, incluyendo la síntesis de ADN y la reanudación de la meiosis.

- **Formación del cigoto:**

El óvulo fecundado, ahora llamado cigoto, comienza a dividirse por mitosis.

### **3.8. SEGMENTACIÓN**

Una vez que el cigoto alcanza la etapa bicelular sufre una serie de divisiones mitóticas que incrementa su número de células. Estas células, que se hacen más pequeñas con cada división de segmentación, se conocen como blastómeras. Hasta la etapa de ocho células conforman un cúmulo con disposición laxa. Después de la tercera segmentación, sin embargo, las blastómeras alcanzan el máximo contacto entre sí y forman una esfera celular compacta que se mantiene unida por medio de uniones estrechas.

Este proceso, la compactación, segrega a las células internas, que tienen una comunicación extensa mediada por uniones nexos, de las externas. Alrededor de 3 días después de la fecundación las células del embrión compactado se dividen de nuevo para formar la mórula de 16 células. Las células al interior de la mórula constituyen la masa celular interna, y las células circundantes forman la masa celular externa.

La masa celular interna origina en sí los tejidos del embrión, en tanto la masa celular externa constituye el trofoblasto, que contribuye después a la formación de la placenta.

### **3.9. CARACTERÍSTICAS GENERALES.**

#### **FORMACIÓN DEL BLASTOCISTO**

Más o menos al tiempo que la mórula ingresa a la cavidad uterina, a través de la zona pelúcida comienza a penetrar líquido hacia los espacios intercelulares de la masa celular interna. De manera gradual, estos espacios confluyen y por último forman una sola cavidad, el blastocele. En ese momento el embrión se denomina blastocisto.

Las células de la masa celular interna, denominadas ahora embrioblasto, se ubican en un polo, en tanto la masa de células externas, o trofoblasto, se aplanan y constituyen la pared epitelial del blastocisto. La zona pelúcida desaparece, lo que permite el inicio de la implantación.

En el humano las células trofoblásticas ubicadas sobre el polo embrioblástico comienzan a penetrar entre las células epiteliales de la mucosa uterina alrededor del sexto día. Estudios nuevos sugieren que la L-selectina en las células trofoblásticas y sus receptores de carbohidratos en el epitelio uterino median el anclaje inicial del blastocisto al útero. Las selectinas son proteínas de unión a carbohidratos que participan en las interacciones entre los leucocitos y las células endoteliales que permiten la “captura” de leucocitos a partir de la sangre que fluye.

Un mecanismo similar se propone ahora para la “captura” del blastocisto en el epitelio uterino, a partir de la cavidad uterina. Tras la captura mediada por selectinas, la fijación adicional y la invasión del trofoblasto implica a las integrinas que expresa el trofoblasto, y a las moléculas de la matriz extracelular laminina y fibronectina. Los receptores de integrinas para la laminina promueven la fijación, en tanto los de la fibronectina estimulan la migración.

Estas moléculas también interactúan con vías de traducción de señales para regular la diferenciación del trofoblasto, de tal modo que la implantación es consecuencia de una acción conjunta del trofoblasto y el endometrio. Así, al final de la primera semana del desarrollo el cigoto humano ha pasado por las fases de mórula y blastocisto, y ha comenzado su implantación en la mucosa uterina.

## **EPIBLASTO, HIPOBLASTO Y FORMACIÓN DEL EJE**

Por la influencia de los factores de crecimiento fibroblásticos y en una etapa temprana del blastocisto, las células del embrioblasto se diferencian en células del epiblasto y del hipoblasto. Al inicio estas células se encuentran diseminadas en el embrioblasto, pero al acercarse el momento de la implantación se segregan según su determinación para convertirse en una capa dorsal de células epiblasticas y una capa ventral de células hipoblasticas adyacente a la cavidad del blastocisto (blastocelo).

Así, se establece en el embrión la polaridad dorsoventral. Además, algunas células del hipoblasto están determinadas para constituir el endodermo visceral anterior (EVA), y estas células migran hacia lo que se convertirá en el extremo craneal del embrión.

Las células EVA se clasifican como endodermo (al igual que el hipoblasto en su totalidad) y son responsables de secretar antagonistas de la proteína/molécula nodal, como cerberus y lefty1, que actúan sobre las células adyacentes del epiblasto para determinar el extremo craneal del embrión.

En ausencia de estos inhibidores, nodal establece la estría primitiva en el extremo caudal del embrión. De este modo, el eje cráneo-caudal embrionario se establece cerca del momento de la implantación (días 5.5 a 6).

## **EL ÚTERO EN EL MOMENTO DE LA IMPLANTACIÓN**

La pared del útero está constituida por tres capas:

1. Endometrio o recubrimiento mucoso de su pared interna
2. Miometrio, una capa gruesa de músculo liso
3. Perimetrio, una capa peritoneal que cubre su pared externa.

Desde la pubertad (11 a 13 años) hasta la menopausia (45 a 50 años) el endometrio experimenta cambios en un ciclo de alrededor de 28 días, bajo el control hormonal de los ovarios. Durante este ciclo menstrual el endometrio uterino pasa por tres fases:

1. Fase folicular o proliferativa
2. Fase secretoria o progestacional
3. Fase menstrual.

La fase proliferativa inicia al final de la fase menstrual, se encuentra bajo la influencia del estrógeno y ocurre en paralelo al crecimiento de los folículos ováricos. La fase secretoria comienza cerca de 2 a 3 días después de la ovulación, en respuesta a la progesterona producida por el cuerpo lúteo. Si no tiene lugar la fecundación, el desprendimiento del endometrio (capas compacta y esponjosa) marca el inicio de la fase menstrual.

Si hay fecundación, el endometrio facilita la implantación y contribuye a la formación de la placenta. Más adelante, durante la gestación, la placenta asume la tarea de la síntesis hormonal y el cuerpo lúteo se degenera.

En el momento de la implantación la mucosa del útero se encuentra en la fase secretora, durante la cual las glándulas y las arterias uterinas se vuelven tortuosas, y el tejido se ingurgita. Como consecuencia pueden reconocerse tres capas distintas en el endometrio: una capa compacta superficial, una capa esponjosa intermedia y una capa basal delgada.

De ordinario, el blastocisto humano se implanta en el endometrio a lo largo de la cara anterior o posterior del cuerpo del útero, donde queda incluido entre los orificios glandulares. Si el ovocito no es fecundado, las vénulas y los espacios sinusoidales se saturan de manera gradual de células hemáticas y se aprecia una diapédesis intensa de estos elementos hacia el tejido.

Cuando inicia la fase menstrual, la sangre escapa de las arterias superficiales y trozos pequeños de estroma y glándulas se desprenden. Durante los siguientes 3 o 4 días las capas compacta y esponjosa son expulsadas del útero y la capa basal es la única parte del endometrio que se retiene. Esta estructura, que es irrigada por sus propias arterias, las arterias basales, funge como capa regenerativa para la reconstrucción de glándulas y arterias en la fase proliferativa.

Con cada ciclo ovárico varios folículos primarios comienzan a crecer, pero por lo general sólo uno alcanza la madurez completa y es expulsado al momento de la ovulación. Al ocurrir la ovulación, el ovocito se encuentra en la metafase de la segunda división meiótica y está circundado por la zona pelúcida y algunas células de la granulosa.

La acción de barrido de las fimbrias ováricas conduce al ovocito hacia el interior de las tubas uterinas. Antes de que el espermatozoide pueda fecundar al ovocito debe experimentar:

Capacitación, durante la cual se retira una capa de glucoproteínas y proteínas del plasma seminal a partir de su cabeza.

2. Reacción acrosómica, en la que se liberan sustancias similares a la acrosina y la tripsina, para permitir la penetración de la zona pelúcida.

Durante la fecundación el espermatozoide debe penetrar: 1. La corona radiada 2. La zona pelúcida 3. La membrana celular del ovocito. Tan pronto como el espermatozocito ingresa al ovocito: 1. Este termina su segunda división meiótica y forma el pronúcleo femenino. 2. La zona pelúcida se vuelve impenetrable para otros espermatozoides. 3. La cabeza del espermatozoide se separa de su cola, se dilata y forma el pronúcleo masculino.

Una vez que el ADN de los dos pronúcleos se duplica, los cromosomas paternos y maternos se entremezclan, se separan en sentido longitudinal y pasan por una división mitótica, lo que da origen a la etapa bicelular.

Los resultados de la fecundación son los siguientes:

1. Recuperación del número diploide de cromosomas
2. Determinación del sexo cromosómico
3. Inicio de la segmentación La infertilidad es un problema que afecta a entre 15 y 30% de las parejas, y puede resolverse mediante tecnología de reproducción asistida (TRA). La fecundación in vitro (FIV) implica la fecundación de óvulos en un medio de cultivo y su introducción al útero en la etapa de ocho células.

En algunos casos los óvulos se fecundan mediante inyección intracitoplásmica de espermatozoides (IICE), en que un solo espermatozoide es introducido al citoplasma del óvulo. Estas técnicas in vitro se relacionan con un aumento del riesgo de defectos congénitos, prematuridad, peso bajo al nacer y gestaciones múltiples. Alrededor de 1 a 2% de todos los nacidos vivos de Estados Unidos se concibe mediante TRA. La segmentación consiste en una serie de divisiones mitóticas que dan origen a un incremento del número de células, las blastómeras, que se vuelven cada vez más pequeñas con cada división.

Después de tres divisiones las blastómeras experimentan compactación, para quedar estrechamente agrupadas en una esfera celular con capas interna y externa.

Las blastómeras compactadas se dividen para constituir la mórula de 16 células. Al tiempo que la mórula ingresa al útero entre el tercer y el cuarto día tras la fecundación, comienza a aparecer en ella una cavidad y se forma el blastocisto.

La masa celular interna, que se forma en el momento de la compactación y se convierte en el embrión mismo, se ubica en un polo del blastocisto. La masa celular externa, que rodea a las células internas y al blastocelo, formará el trofoblasto. En el momento de la implantación, el útero se encuentra en la fase secretora y el blastocisto se implanta en el endometrio de su pared anterior o posterior.

Si no ocurre la fecundación, entonces inicia la fase menstrual y se eliminan las capas esponjosa y compacta del endometrio. La capa basal se conserva para regenerar las otras capas durante el ciclo siguiente.

### **3.10. TIPOS Y EJEMPLOS. LOS NÚCLEOS DE LOS BLASTÓMEROS ¿SON EQUIVALENTES ENTRE SÍ?**

No, los núcleos de los blastómeros de un mismo embrión no son todos equivalentes entre sí, ya que en estadios más avanzados del desarrollo embrionario (como la etapa de 8 a 16 células), los nucleolos presentan un aspecto granular y menos compacto, lo que indica actividad genómica y diferenciación celular que no es uniforme en todas las células. Aunque al principio los blastómeros son similares, su material genético puede activarse de forma desigual a medida que el embrión progresa y se inicia la diferenciación celular. La presencia de múltiples núcleos o la fragmentación nuclear pueden indicar problemas en la división celular y afectan la viabilidad del embrión.

#### Anomalías del núcleo de las blastómeras

- **Binucleación o multinucleación:** La presencia de dos o más núcleos en una blastómera se considera una alteración y está asociada a errores en la división celular.
- **Fragmentación:** Pequeños fragmentos de citoplasma que provienen de divisiones celulares anormales pueden estar presentes en las blastómeras y se asocian con problemas en el desarrollo embrionario.
- **Anomalías cromosómicas (Aneuploidías):** Errores en los cromosomas que afectan la viabilidad del embrión.

#### Clasificación de la calidad embrionaria (que se refleja en la blastómera y su núcleo)

- En algunos contextos de reproducción asistida, los embriones pueden ser clasificados según la calidad de sus blastómeras, y esto también influye en la calidad general del embrión.
- Se puede evaluar el número de núcleos (debe ser uno), el tamaño y la simetría de las blastómeras.

#### Importancia de la evaluación de los núcleos

- La evaluación de los núcleos, junto con otros factores como la fragmentación, puede ser utilizada en el diagnóstico genético preimplantacional para evaluar la viabilidad del embrión y su potencial para dar lugar a un embarazo.

### 3.11. IMPORTANCIA DEL CITOPLASMA EN LA SEGMENTACIÓN.

El citoplasma es vital en la segmentación porque distribuye el contenido del cigoto en las células hijas (blastómeros), sin aumentar su volumen total, y proporciona las moléculas reguladoras que determinan el destino de cada nueva célula mediante la expresión génica y el establecimiento de la estructura celular. Además, el citoplasma, a través de su citoesqueleto, organiza y dirige la división celular, un proceso rápido y continuo que transforma el cigoto unicelular en un embrión multicelular.

Distribución de moléculas y determinación celular:

- Reparto equitativo:

Durante la segmentación, el citoplasma original del cigoto se divide en células cada vez más pequeñas, lo que asegura la distribución del contenido citoplasmático y de moléculas reguladoras importantes entre los blastómeros.

- Control genético:

Estas moléculas distribuidas en el citoplasma influyen directamente en la expresión de genes, dirigiendo así el destino y la especificación de cada célula resultante, lo que es fundamental para el desarrollo embrionario posterior.

Organización del citoesqueleto y movimiento celular:

- Soporte y movimiento:

El citoesqueleto dentro del citoplasma es una red de filamentos proteicos que proporciona soporte estructural, permite la forma de la célula y dirige el movimiento de los orgánulos y vesículas dentro de la célula, facilitando el transporte de sustancias.

- Dirección del proceso:

Este movimiento y reorganización del citoplasma, impulsado por el citoesqueleto, es esencial para la correcta realización de las divisiones mitóticas rápidas que caracterizan la segmentación.

Transformación del cigoto:

- De unicelular a multicelular:

La segmentación es un proceso de divisiones mitóticas rápidas que convierten un único cigoto en un embrión compuesto por muchas células (blastómeros).

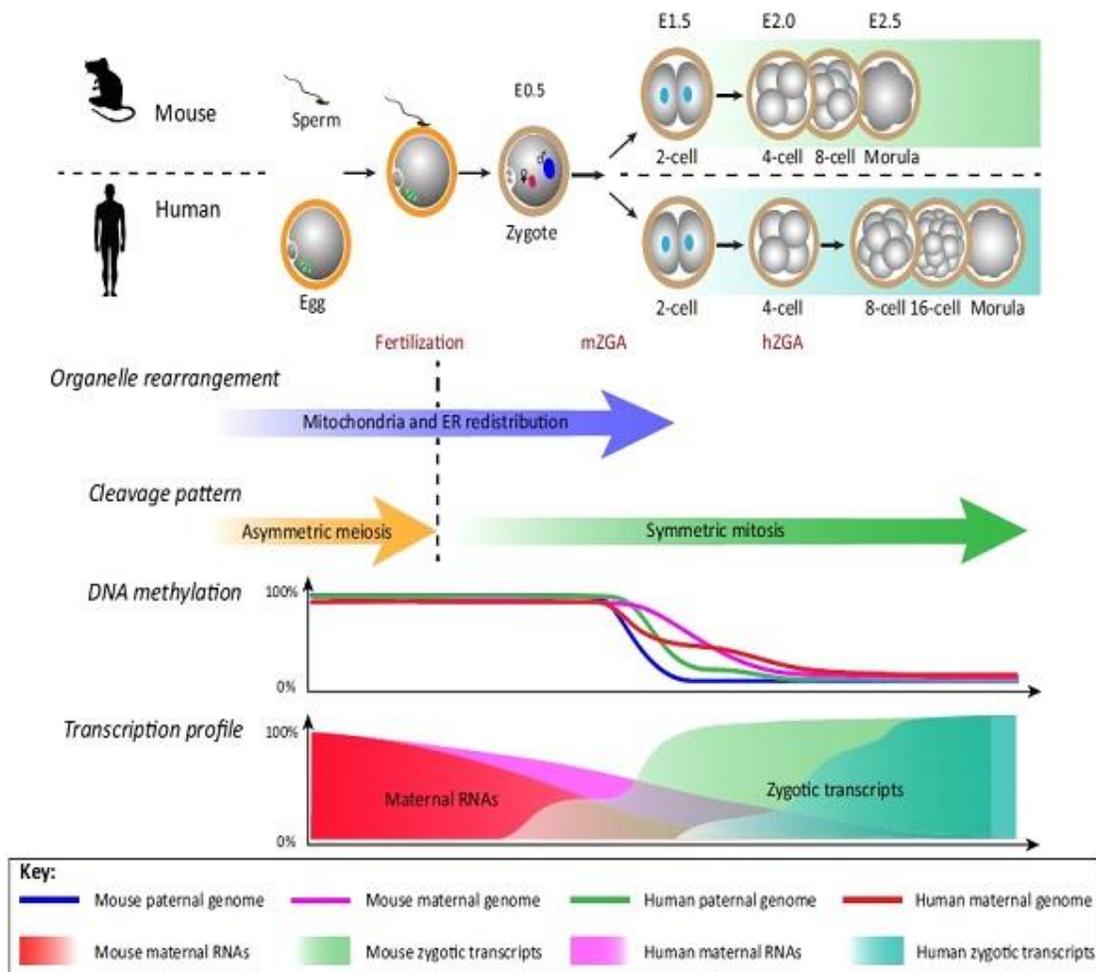
- Sin crecimiento del volumen:

Es un proceso en el que el volumen total del citoplasma no aumenta, sino que se divide y se reparte en un número cada vez mayor de células hijas.

### **3.12. MANIFESTACIÓN DE LOS GENES MATERNOS DURANTE LAS PRIMERAS FASES DEL DESARROLLO**

Durante las primeras divisiones embrionarias, los transcritos de origen materno irán desapareciendo gradualmente, comenzando así la transición materno-cigótica. Este evento de degradación del 90% de los transcritos maternos, ocurre fundamentalmente en el estadio de 2 células en ratones, en el estadio de 4 células en humanos y en el estadio de 8 a 16 células en ganado. El resultado de esta transición es la expresión de los genes del embrión. El pico de máxima expresión ocurre en la etapa de 8 células, lo cual señala la activación del genoma del cigoto.

La transición materno-cigótica es esencial para el desarrollo embrionario ya que coordina la división celular y la activación de genes del cigoto con el objetivo de preparar al embrión para la diferenciación celular y el posterior desarrollo, proveyendo de los sustratos moleculares necesarios para iniciar la gastrulación y especificación en determinadas capas y líneas celulares (endodermo, ectodermo y mesodermo)



Tras la fecundación, los genes con efecto materno se encargan del procesamiento del genoma masculino, cuya participación es necesaria para la embriogénesis. A continuación, eliminan los RNA y proteínas maternas y seguidamente activan el genoma embrionario, lo cual es esencial para el desarrollo embrionario más allá del tercer ciclo celular.

Durante el crecimiento de los ovocitos de ratón, el diámetro de estos aumenta de  $\sim 10 \mu\text{m}$  a  $80 \mu\text{m}$ . El genoma materno se transcribe y estos transcritos se acumulan ( $\sim 100 \text{pg}$ ) hasta que los ovocitos alcanzan un diámetro de  $\sim 65 \mu\text{m}$ . La mayoría de los transcritos se traducen directamente en proteínas, muchas de las cuales han sido catalogadas. Sin embargo, otros transcritos permanecen en estado latente, y se activan más adelante en la ovogénesis mediante un proceso de poliadenilación.

Dentro de los principales procesos donde se encuentran implicados estos genes con efectos maternos encontramos el bloqueo de la poliespermia, la remodelación de histonas, el complejo materno subcortical, la degradación del transcrito, la activación del genoma del cigoto y la transcriptómica del embrión. Por ello, podemos decir que la calidad del ovocito es un factor crítico que limita la eficacia y el éxito del embarazo. Esto se debe a la participación de los factores maternos acumulados en el ovocito en diversos procesos del desarrollo embrionario temprano incluyendo bloqueo de la polispermia, remodelación de histonas, control del huso, formación del RE, distribución de orgánulo, activación de genes embrionarios, establecimiento de linaje y degradación de mRNA maternos. Sin embargo, a pesar de que diferentes estudios han demostrado la asociación entre perfiles de expresión génica y producción de embriones de calidad, la regulación de la calidad de los ovocitos sigue siendo poco conocida.

### **3.13. GASTRULACIÓN.**

El evento más relevante en la tercera semana de la gestación es la gastrulación, el proceso en el que se establecen las tres capas germinales (ectodermo, mesodermo y endodermo) en el embrión. La gastrulación comienza con la formación de la línea primitiva en la superficie del epiblasto. Al inicio, la línea está poco definida, pero en el embrión de 15 a 16 días puede observarse con claridad un surco angosto con regiones un tanto abultadas a cada lado. En el extremo cefálico de la línea, el nodo primitivo, consiste en una zona con elevación discreta a la que circunda la pequeña fosita primitiva. Las células del epiblasto migran hacia la línea primitiva.

Al llegar a la región de la línea, adquieren configuración en forma de matraz, se desprenden del epiblasto y se deslizan bajo él. Este movimiento de hundimiento se conoce como invaginación. La migración y la determinación de las células están controladas por el factor de crecimiento de fibroblastos 8 (fibroblast growth factor 8, FGF8), que sintetizan las propias células de la línea. Este factor de crecimiento controla el desplazamiento celular mediante la pérdida de la E-cadherina, una proteína de unión celular que, normalmente, mantiene unidas a las células del epiblasto.

La proteína FGF8 controla la especificación/determinación celular del mesodermo mediante la producción del factor de transcripción BRACHYURY. Tras invaginarse, algunas de estas células desplazan al hipoblasto, lo que da origen al endodermo embrionario, en tanto que otras se sitúan entre el epiblasto y el endodermo recién creado para constituir el mesodermo. Las

células que permanecen en el epiblasto constituyen el ectodermo. Así, el epiblasto, mediante el proceso de gastrulación, es la fuente de todas las capas germinales, y las células en estas capas darán origen al resto de tejidos y órganos del embrión. Al tiempo que las células se desplazan entre las capas epiblastica e hipoblastica, se extienden en sentido lateral y craneal.

De manera gradual, migran más allá del borde del disco y establecen contacto con el mesodermo extraembrionario que cubre el saco vitelino y el amnios. En dirección cefálica, avanzan a cada lado de la placa precordial. Esta placa se forma entre el extremo de la notocorda y la membrana orofaríngea, proviene de las primeras células que migran por el nodo primitivo y se desplazan en dirección cefálica.

Más tarde, la placa precordial será relevante para la inducción del prosencéfalo. La membrana orofaríngea, en el extremo craneal del disco, es a una región pequeña formada por células ectodérmicas y endodérmicas en unión estrecha, que corresponde al sitio en donde se formará la cavidad oral.

### **3.14. CARACTERÍSTICAS GENERALES.**

#### **FORMACIÓN DE LA NOTOCORDA**

Al invaginarse las células que formarán la notocorda, las células prenotocordales a través del nodo primitivo se desplazan en dirección craneal por la línea media hasta alcanzar la placa precordial. Estas células prenotocordales se intercalan en el hipoblasto, de tal modo que por un periodo breve la línea media del embrión está constituida por dos capas celulares que forman la placa notocordal. Al tiempo que el hipoblasto es sustituido por células del endodermo que se invaginan a través de la línea primitiva, las células de la placa notocordal proliferan y se desprenden del endodermo.

Establecen entonces un cordón sólido de células, la notocorda definitiva, que subyace al tubo neural y es el centro de señalización para la inducción del esqueleto axial. Debido a que la elongación de la notocorda es un proceso dinámico, primero se forma el extremo craneal y se agregan regiones caudales al tiempo que la posición de la línea primitiva se desplaza en esa misma dirección. Las células de la notocorda y prenotocordales se extienden en sentido craneal hacia la placa precordial (una zona ubicada justo en un sitio caudal a la membrana orofaríngea) y en dirección caudal hacia la foseta primitiva. En el punto en que la foseta produce una muesca

en el epiblasto, el conducto neuroentérico conecta temporalmente las cavidades amnióticas y del saco vitelino.

La membrana cloacal se forma en el extremo caudal del disco embrionario. Esta membrana, cuya estructura es similar a la de la membrana orofaríngea, está conformada por células ectodérmicas y endodérmicas en unión estrecha, sin que exista mesodermo.

Cuando se establece la membrana cloacal, la pared posterior del saco vitelino forma un divertículo pequeño que se extiende hacia el interior del pedículo de fijación.

Este divertículo, el divertículo alantoentérico o alantoides, aparece alrededor del día 16 del desarrollo. Si bien en algunos vertebrados inferiores el alantoides funge como reservorio para los productos de excreción del sistema renal, en el humano persiste en estado rudimentario, no obstante, puede estar implicado en anomalías del desarrollo vesical.

## **ESTABLECIMIENTO DE LOS EJES CORPORALES**

El establecimiento de los ejes corporales anteroposterior (A-P; cráneo caudal), dorsoventral (D-V) e izquierda-derecha (I-D) ocurre en una fase temprana de la embriogénesis y quizá inicie en fases tardías de la mórula o el blastocisto, de los ejes A-P y D-V antes que la del eje I-D.

En la etapa del blastocisto el eje A-P ya queda establecido y las células destinadas a formar el endodermo visceral anterior (EVA) en el extremo craneal de la capa endodérmica del disco bilaminar migran hacia lo que se convertirá en la región cefálica. En esta etapa de disco bilaminar las células del EVA expresan genes esenciales para la formación de la cabeza, entre ellos los factores de transcripción OTX2, LIM1 y HESX1, y los factores secretados cerberus y lefty (miembros de la familia del factor de crecimiento transformante beta [TGF- $\beta$ ]) que inhiben la actividad del factor nodal (miembro de la misma familia), con lo que definen el extremo craneal del embrión.

La ausencia de cerberus y lefty tipo I (lefty1) en el extremo caudal del embrión permite que persista la expresión del gen nodal, y esta señal establece y mantiene la línea primitiva. Una vez que se forma la línea, NODAL genera una regulación positiva de varios genes responsables de la formación del mesodermo dorsal y ventral, así como de estructuras de eje cráneo-caudal.

Otro miembro de la familia del TGF- $\beta$ , la proteína morfogenética ósea 4 (bone morphogenetic protein 4, BMP4) se secreta en todo el disco embrionario.

En presencia de esta proteína y de FGF, el mesodermo se ventraliza para contribuir a la formación de los riñones (mesodermo intermedio), la sangre y el mesodermo de la pared corporal (mesodermo de la placa lateral). De hecho, todo el mesodermo se ventricularía de no ser por la inhibición de la actividad de la BMP4 inducida por otros genes que se expresan en el nodo primitivo. Por esta razón, el nodo se considera el organizador.

Esta designación la recibió de Hans Spemann, que describió por primera vez esta actividad en el labio dorsal del blastoporo, una estructura análoga al nodo en embriones *Xenopus*. Así, los factores chordina (CHRD) (activado por el factor de transcripción goosecoid, [GSC]), noggina (NOG) y folistatina antagonizan la actividad de la BMP4. Como consecuencia, el mesodermo craneal se dorsaliza para formar la notocorda, las somitas y las somitómeras. Más adelante, los genes de estos últimos tres factores se expresan en la notocorda y son importantes para la inducción neural en la región craneal.

Como se mencionó, Nodal participa en la formación y el mantenimiento de la línea primitiva. De manera similar, el factor nuclear de hepatocitos 3 $\beta$  (hepatocyte nuclear factor-3 $\beta$ , HNF-3 $\beta$ ) mantiene el nodo e induce más tarde las regiones del prosencéfalo y el mesencéfalo. Sin HNF-3 $\beta$  los embriones no desarrollan una gastrulación apropiada y carecen de estructuras prosencefálicas y mesencefálicas. Como ya se mencionó, el GSC permite la activación de inhibidores de la BMP4 y contribuye a la regulación del desarrollo de la cabeza. La expresión excesiva y subóptima de este gen en animales de laboratorio determina malformaciones graves en la región de la cabeza, entre ellas duplicaciones, con malformaciones similares a las propias de ciertos tipos de gemelos unidos.

La regulación de la formación del mesodermo dorsal en las regiones central y caudal está controlada por el gen TBXT que se expresa en el nódulo, las células precursoras de la notocorda y la notocorda. Este gen es esencial para la migración celular a través de la línea primitiva. TBXT codifica una proteína de unión a un ADN de secuencia específica que actúa como factor de transcripción. El dominio de unión al ADN se denomina T-box (caja T) y en su familia existen más de 20 genes.

De este modo, la formación del mesodermo en esas regiones depende del producto de este gen y su ausencia da origen al acortamiento del eje embrionario (disgenesia caudal).

El grado de acortamiento depende del momento en el que se presenta la deficiencia de la proteína. La lateralidad (determinación I-D) también se establece en una fase temprana del desarrollo. Comúnmente, muchos órganos muestran asimetría, entre ellos corazón, pulmones, intestino, bazo, estómago, hígado y otros.

La posición de estos órganos y la definición de su asimetría son orquestadas por una cascada de moléculas y genes de señalización. Cuando aparece la línea primitiva, las células del nodo y de la línea primitiva secretan FGF8, y este factor de crecimiento induce la expresión de NODAL. La expresión de NODAL queda restringida entonces al lado izquierdo del embrión por la acumulación de serotonina (5-HT) en esa región.

Las concentraciones altas de 5-HT en el lado izquierdo activan la expresión del factor de transcripción MAD3, que restringe la expresión de NODAL al lado izquierdo del nodo primitivo. Genes de la línea media como Sonic hedgehog (SHH), LEFTY1 y ZIC3 no sólo están implicados en la determinación de la línea media, sino también en la prevención de la extensión de la expresión de NODAL al lado derecho. Por último, la proteína Nodal en el mesodermo de la placa lateral izquierda desencadena una cascada de señalización que incluye al factor LEFTY2 para generar una regulación positiva de PITX2. El gen PITX2 codifica para un factor de transcripción que contiene una caja homeótica (homeobox).

Es el “gen maestro” responsable de determinar el lado izquierdo, y su expresión se repite en el lado izquierdo del corazón, el estómago y el primordio intestinal al tiempo que estos órganos asumen su posición asimétrica normal en el cuerpo. Si el gen muestra expresión ectópica (esto es, en el lado derecho), esa expresión anómala da origen a defectos de la lateralidad, entre ellos situs inversus y dextrocardia (orientación del ápice del corazón hacia el lado derecho).

Obsérvese que el neurotransmisor 5-HT también desempeña un papel crítico en esta cascada de señalización que establece la lateralidad. La 5-HT se concentra en el lado izquierdo, lo que activa a MAD3 y restringe la señalización de Nodal al lado izquierdo.

Estudios en animales demuestran que la alteración de la señalización de 5-HT puede dar origen a situs inversus, dextrocardia, malformaciones cardíacas y heterotaxia, que implica diversos defectos congénitos relacionados con la lateralidad, en tanto estudios epidemiológicos revelan que en humanos ocurren malformaciones similares cuando la señalización de 5-HT se altera por el uso de agentes farmacológicos (véase “Correlaciones clínicas”, p. 66). Los genes que regulan el desarrollo del lado derecho no están bien identificados, si bien la expresión del factor de transcripción SNAIL está restringida al mesodermo de la placa lateral derecha y quizá regule a genes efectores responsables de determinar el lado derecho.

La razón por la cual la cascada inicia en el lado izquierdo aún es un misterio, pero el mecanismo pudiera implicar la presencia de cilios en las células del nodo, que se agitan para crear un gradiente del factor nodal hacia el lado izquierdo, o por un gradiente de señalización establecido mediante uniones gap (uniones en hendidura o uniones comunicantes) y transporte de iones pequeños.

## **CRECIMIENTO DEL DISCO EMBRIONARIO**

El disco embrionario, en un principio plano y casi redondo, se elonga en forma gradual y adquiere un extremo craneal ancho y uno caudal angosto. La expansión del disco embrionario ocurre ante todo en la región craneal; la región de la línea primitiva conserva en mayor o menor medida el mismo tamaño. El crecimiento y la elongación de la porción craneal del disco derivan de una migración continua de células a partir de la región de la línea primitiva en dirección cefálica. La invaginación de las células superficiales por la línea primitiva y su migración subsecuente en dirección anterior y lateral continúa hasta el final de la cuarta semana. En esta fase, la línea primitiva muestra cambios propios de la regresión, pierde tamaño con rapidez y pronto desaparece.

El hecho de que la línea primitiva en el extremo caudal del disco siga aportando células nuevas hasta el final de la cuarta semana tiene un impacto importante sobre el desarrollo del embrión. En la región cefálica las capas germinales comienzan a presentar una diferenciación específica a la mitad de la tercera semana, en tanto que en la porción caudal la diferenciación comienza al final de la cuarta semana.

Así, la gastrulación, o formación de las capas germinales, continúa en los segmentos caudales al tiempo que las estructuras craneales se están diferenciando, lo que hace que el embrión se desarrolle en sentido cefalocaudal.

## **DESARROLLO POSTERIOR DEL TROFOBLASTO**

Al inicio de la tercera semana, el trofoblasto se caracteriza por la presencia de vellosidades primarias constituidas por un núcleo citotrofoblástico cubierto por una capa sincitial. En su desarrollo posterior, células mesodérmicas invaden el núcleo de las vellosidades primarias y crecen hacia la decidua. La estructura recién formada se conoce como vellosidad secundaria. Al final de la tercera semana, las células mesodérmicas en el centro de la vellosidad comienzan a diferenciarse en células sanguíneas y vasos sanguíneos pequeños, y dan origen al sistema capilar veloso. La vellosidad se denomina entonces vellosidad terciaria o vellosidad placentaria definitiva. Los capilares dentro de la vellosidad terciaria establecen contacto con los capilares en desarrollo en el mesodermo de la placa coriónica y el pedículo de fijación. Estos vasos sanguíneos, a su vez, hacen contacto con el sistema circulatorio intraembrionario, de modo que conectan a la placenta y al embrión. Así, cuando el corazón comienza a latir en la cuarta semana de desarrollo, el sistema de vellosidades está listo para dar al embrión una provisión apropiada de nutrientes esenciales y oxígeno. A la par de estos cambios, las células del citotrofoblasto presentes en las vellosidades penetran progresivamente al sincicio suprayacente hasta alcanzar el endometrio materno. Ahí establecen contacto con extensiones similares de los troncos nerviosos vecinos para formar una cápsula citotrofoblástica externa delgada. Esta capa circunda de manera gradual al trofoblasto en su totalidad y fija con firmeza el saco coriónico al tejido endometrial materno. Las vellosidades que se extienden desde la placa coriónica hasta la decidua basal (placa decidual: región del endometrio en que se formará la placenta; se denominan vellosidades troncales o de anclaje. Las que se ramifican de las paredes laterales de las vellosidades troncales se denominan vellosidades libres (terminales), y a través de ellas se intercambiarán los nutrientes y otros elementos. Por su parte, la cavidad coriónica crece, y para el día 19 o 20 el embrión está unido a su cápsula trofoblástica por un pedículo de fijación delgado. El pedículo de fijación se convierte más adelante en el cordón umbilical, que forma la conexión entre la placenta y el embrión.

### **3.15. TIPOS Y EJEMPLOS: ERIZO DE MAR, ANFIBIOS, AVES (ANEXOS EMBRIONARIOS)**

La gastrulación es la formación de las tres capas germinales (ectodermo, mesodermo y endodermo) y puede ocurrir por invaginación (erizo de mar), epibolia (aves) o una combinación de procesos (anfibios) que incluyen la migración y diferenciación celular para formar los tejidos del embrión, mientras que los anexos embrionarios (como el amnios, saco vitelino, alantoides y corion) proveen protección y nutrición al embrión.

#### Tipos de Gástrulacion y Ejemplos

- **Invaginación (Embolia):** El proceso es una envoltura de una capa de células en el interior de otra, o la formación de una estructura que se interna, como se observa en el erizo de mar, donde las células migran hacia el interior para formar las capas germinales.
- **Epibolia:** En este tipo de gastrulación, la capa más superficial de células se expande para rodear y envolver a las capas celulares más profundas, como sucede en las aves.
- **Ingresión:** Algunas células individuales migran hacia el interior del embrión sin un plegamiento o invaginación de la masa celular, como ocurre en algunos vertebrados.
- **Delaminación:** En este caso, la masa celular se separa en capas sin movimientos complejos, siendo una forma de segregación celular para formar las capas germinales.
- **Involución:** Un grupo de células en la superficie del embrión se pliega y se mueve hacia el interior, formando una capa de mesodermo en el interior, proceso que ocurre en algunos vertebrados.

Algunos ejemplos específicos de gastrulación son los siguientes:

- **Erizo de Mar:** Presenta una gastrulación por invaginación, donde una parte del blastodermo, en el polo vegetativo, se interna formando el arquenterón (tubo digestivo primitivo) y las capas germinales internas.
- **Anfibios (como ranas):** La gastrulación en anfibios es un proceso más complejo que involucra múltiples movimientos, incluyendo epibolia (para envolver la gran masa de vitelo) e involución (para la formación del mesodermo y el endodermo), además de la formación de un blastoporo dorsal.

- **Aves:** La gastrulación en aves ocurre en la superficie del disco embrionario, donde las células forman una lámina de células llamada epiblasto, la cual se divide para formar tres capas germinales. La principal característica es la epibolia, donde las células se extienden sobre las capas más profundas para formar el disco germinal.

Además podemos encontrar anexos embrionarios que tienen una importancia debido a la función que realizan.

- **Saco Vitelino:** Es la estructura que envuelve al vitelo (reserva nutritiva).
- **Amnios:** Es una membrana que envuelve y protege al embrión, formando una cavidad llena de líquido amniótico.
- **Alantoides:** Una bolsa de tejido que se encarga del almacenamiento de residuos metabólicos.
- **Corion:** Es una membrana que rodea a las otras membranas y al embrión, actuando como una estructura protectora.

### **3.16. MAMÍFEROS (DESARROLLO EMBRIONARIO PRECOZ. PLACENTA: FUNCIONES Y TIPOS)**

Los mamíferos placentarios, o euterios, son un grupo diverso de mamíferos que se caracterizan por un sistema reproductivo único donde el embrión se desarrolla dentro del útero materno, conectado por la placenta. Este órgano permite el intercambio de nutrientes y desechos entre la madre y el feto en desarrollo, lo que facilita una gestación más prolongada en comparación con otros grupos de mamíferos. A diferencia de los monotremas, que ponen huevos, y los marsupiales, que dan a luz crías poco desarrolladas que continúan creciendo en una bolsa, los mamíferos placentarios suelen dar a luz crías más desarrolladas.

La placenta presenta diversos tipos estructurales y cumple funciones esenciales, como la producción de hormonas para favorecer el embarazo y el desarrollo fetal. El período de gestación varía considerablemente entre especies, desde unas pocas semanas en mamíferos más pequeños como los ratones hasta casi dos años en los elefantes. Los factores que influyen en la duración de la gestación y el tamaño de la camada incluyen el tamaño de la especie, las condiciones ambientales y la salud de la madre. Esta adaptabilidad en las estrategias reproductivas contribuye al éxito de los mamíferos placentarios en diversos hábitats, tanto

terrestres como acuáticos. En general, los mamíferos placentarios abarcan una amplia gama de especies, como humanos, primates, roedores y ballenas, lo que refleja su éxito evolutivo.

En mamíferos, el desarrollo embrionario precoz se caracteriza por la formación de la placenta, un órgano temporal que nutre, protege y regula al feto, además de producir hormonas esenciales para el embarazo. Las funciones de la placenta incluyen el intercambio de nutrientes y gases, la excreción de desechos, la protección inmunológica y la producción hormonal, con tipos que varían según la especie y el tipo de unión con el útero. La importancia de la placenta, es que es un órgano vital que se forma durante el embarazo, compuesto por tejidos fetales (como el corion y el alantoides) y maternos, y es crucial para el crecimiento y la supervivencia del feto en mamíferos placentarios.

#### Funciones de la placenta

- **Nutrición y respiración:** Suministra oxígeno, agua y nutrientes esenciales al feto, y elimina el dióxido de carbono y productos de desecho.
- **Protección inmunológica:** Protege al feto del rechazo inmune de la madre, actuando como una barrera.
- **Función endocrina:** Produce hormonas fundamentales como la gonadotropina coriónica humana (hCG), estrógenos y progesterona, que mantienen el embarazo y regulan el desarrollo fetal.

#### Tipos de placenta

- **Placenta coriovitelina:** Se forma por la fusión del corion (una membrana fetal) con el saco vitelino, y es un tipo de placenta transitorio que se encuentra en algunas especies, como los marsupiales y roedores. A diferencia de la placenta corioalantoidea (la placenta definitiva en mamíferos superiores y humanos), la coriovitelina es menos eficiente para el intercambio materno-fetal y se involuciona rápidamente a medida que el saco vitelino disminuye de tamaño.
- **Placenta corioalantoidea:** Es una placenta formada por la fusión del corion y la alantoides, y se encuentra en la mayoría de los mamíferos placentarios, incluidos los humanos, y también en ciertos reptiles y lagartos. Esta placenta especializada permite el intercambio de oxígeno y

nutrientes entre la madre y el feto, funcionando como pulmones, riñones e hígado durante la gestación.

### **3.17. DESARROLLO TEMPRANO DE LOS VERTEBRADOS (HISTOGÉNESIS).**

Durante el desarrollo del embrión se van formando las capas germinales que darán lugar, con el tiempo y tras la diferenciación celular de miles o millones de células a diferentes tejidos que formarán órganos. Este proceso mediante el cual las células indiferenciadas dan lugar a tejidos específicos se denomina histogénesis. El primer paso de la histogénesis es la formación de las 3 capas germinales, cada una de estas capas dará lugar a diferentes tejidos, algunos de ellos mantendrán su posición relativa dentro del individuo y otros migraran durante su diferenciación hasta colocarse en su órgano de destino. En general el ectodermo, la capa más exterior del embrión dará lugar a los epitelios, no solo al epitelio exterior sino también a los epitelios que recubren los órganos internos como el epitelio estomacal o intestinal (aunque teóricamente esos espacios se encuentran fuera del cuerpo), así como las glándulas de estos órganos, como las glándulas sudoríparas o el páncreas. Además, a partir del ectodermo se formarán las capas regiones cerebrales más primitivas, como el rombencefalo o el mesencélafo. El ectodermo interviene en la formación del sistema nervioso gracias a que forma un surco en su superficie que después será invaginado para formar parte de la notocorda.

Por su parte el mesodermo dará lugar a la musculatura, el sistema circulatorio y a la sangre, los tejidos que consumen y transportan oxígeno. Además, el mesodermo formara algunas de las vísceras, los huesos, el aparato reproductor y el urinario. Finalmente, a partir del endodermo se generarán todo el sistema nervioso periférico, el sistema gastrointestinal y el respiratorio.

Dependiendo de la complejidad evolutiva de los seres vivos pueden tener solo 2 capas germinativas, en cnidarios y esponjas, o 3 en los animales más avanzados. El origen de las capas germinales se forma a partir de la mórula, cuando el cigoto se divide a partir de 2 células llega un momento en el que se forma una cavidad hueca en su interior. Mientras sigue aumentando el número de células se forma una introgresión de una parte de la esfera, formando así dos capas una externa y otra interna unidas a través de las células del poro. Dependiendo de la especie este proceso pasará entre la primera y la tercera semana de desarrollo del embrión.

Durante todo este proceso de división celular en el que el embrión aumenta de tamaño las células van cambiando su expresión génica debido a las señales que les llegan de las células

vecinas y de su entorno. Gracias a esto se van estableciendo diferentes programas de expresión de proteínas que darán lugar a líneas celulares. Por ejemplo, todas las células del tejido muscular provienen del mismo tipo de célula indiferenciada pero debido a las señales que les llegan de las otras capas germinativas se desarrollan en tejido muscular estriado, liso o cardíaco.

El estudio de la formación de los tejidos durante el desarrollo del embrión es una herramienta de gran utilidad para entender diversas enfermedades derivadas de problemas en la señalización y el desarrollo de líneas celulares.

### **3.18. Derivados ectodérmicos, mesodérmicos y endodérmicos.**

Las capas germinales primarias, ectodermo, mesodermo y endodermo, son los bloques de construcción de todos los tejidos y órganos del cuerpo humano. El ectodermo da origen a la piel y el sistema nervioso, el mesodermo forma el sistema musculoesquelético, el corazón, los riñones y los órganos reproductivos, mientras que el endodermo produce el revestimiento del tracto digestivo y respiratorio, así como el hígado y el páncreas.

Ectodermo:

- Es la capa más externa del embrión trilaminar.
- Se diferencia en dos linajes principales: el ectodermo superficial y el neuroectodermo.
- Ectodermo superficial: Origina la epidermis (piel), el pelo, las uñas, el esmalte dental, el revestimiento de la boca, ano y fosas nasales, y las glándulas sudoríparas.
- Neuroectodermo: Se divide en cresta neural y tubo neural.
  - Cresta neural: Da lugar a los nervios periféricos, células de pigmento, hueso y cartílago de la cabeza, y estructuras del oído medio y externo.
  - Tubo neural: Forma el cerebro, la médula espinal y la retina.

Mesodermo:

- Es la capa intermedia entre el ectodermo y el endodermo.
- Se divide en tres regiones: paraxial, intermedio y lateral.
- Mesodermo paraxial: Forma los somitas, que se diferencian en vértebras, costillas, músculos de la espalda, pared corporal y extremidades, y dermis dorsal.

- Mesodermo intermedio: Origina los riñones y las gónadas.
- Mesodermo lateral: Se divide en dos hojas:
  - Hoja parietal: Forma la capa parietal de la pleura, peritoneo y pericardio, huesos y dermis de las extremidades, y la capa muscular de la pared corporal.
  - Hoja visceral: Forma la capa visceral de la pleura, peritoneo y pericardio, y el corazón.
- También da lugar al sistema circulatorio, sistema linfático y células sanguíneas.

#### Endodermo:

- Es la capa más interna del embrión trilaminar.
- Origina el revestimiento interno del tracto gastrointestinal, incluyendo el estómago, intestino delgado y grueso, así como el revestimiento del tracto respiratorio (tráquea, bronquios y pulmones).
- También forma el hígado, páncreas y la mayoría de las glándulas endocrinas.

En resumen, las tres capas germinales son la base para la formación de todos los órganos y tejidos del cuerpo humano, cada una con su función y destino específico en el desarrollo embrionario.

## **UNIDAD IV BIOLOGÍA CELULAR DEL DESARROLLO**

### **4.1. INTRODUCCIÓN A LA BIOLOGÍA CELULAR DEL DESARROLLO.**

Por lo general, las células son muy pequeñas para observarlas a simple vista. Fue gracias a la invención del microscopio en el siglo XVII que se les pudo observar. A partir de este momento y durante cientos de años, todo lo que se supo sobre las células se descubrió con este instrumento. La invención del microscopio óptico dependió de los avances en la producción y perfeccionamiento de las lentes de cristal.

Las células fueron descritas por primera vez en 1665 por el científico inglés Robert Hooke, en su libro *Micrographia*. Utilizando un microscopio que el mismo fabricó, observó un delgado corte de un trozo de corcho, dibujó y describió lo observado. Hooke eligió el término célula porque el tejido le recordaba las pequeñas habitaciones (celdas) en las que viven los monjes. Curiosamente lo que Hooke observó no eran realmente células vivas, sino las paredes celulares que quedaron después de que murieran las células vegetales del corcho. La palabra célula propuesta por Hooke desaparece en el tiempo inmediato y es redescubierta por Stefano G. Gallini y Jacob Fidelis Ackermann entre 1792 y 1793, es decir, después de más de un siglo. Paralelamente a Robert Hooke, hubo otros investigadores que querían conocer todo lo que el microscopio podía revelar. Entre ellos Marcelo Malpighi y Nehemiah Grew en 1671, por separado, estudiaron la estructura de los órganos vegetales encontrando pequeñas cavidades que llamaron utrículos o vesículas para referirse a lo que Hooke llamó células. Mucho más tarde, los científicos reconocieron que el contenido que encierran las paredes celulares es la parte más importante de las células vivas. Por aquellos mismos años, el naturalista holandés Anton Van Leeuwenhoek examinó células vivas con unas pequeñas lentes que había fabricado, ya que era un experto en el pulido de lentes y fue capaz de ampliar imágenes poco más de 200 veces. Entre sus descubrimientos más importantes están las bacterias, protistas, células de la sangre y espermatozoides. Leeuwenhoek era un comerciante y no estaba formalmente preparado como científico. Sin embargo, su habilidad, curiosidad y diligencia a la hora de compartir sus descubrimientos con los científicos de la Sociedad Real de Londres, dio a conocer la vida microscópica a los científicos de todo el mundo. Desafortunadamente, Leeuwenhoek no compartió las técnicas y por eso fue que hasta 100 años después, a finales del siglo XIX, cuando

los microscopios se desarrollaron lo suficiente como para que los biólogos centraran seriamente su atención en el estudio de las células. Casi durante 200 años, el microscopio óptico sería un instrumento exótico, accesible sólo para pocas personas con recursos económicos. En el siglo XIX comenzó a ser ampliamente utilizado para la observación de las células. La aparición de la biología celular como una ciencia independiente fué un proceso gradual al que contribuyeron muchos investigadores.

La biología del desarrollo integra el conocimiento de diferentes áreas de la biología que incluyen entre otras la bioquímica, la biología celular, la genética, la genómica, la biología molecular y la biología evolutiva, con el fin de explicar cómo se generan y organizan los diversos tipos celulares para dar como resultado estructuras funcionales en animales y plantas. El estudio de los mecanismos involucrados en la comunicación célula-célula, el plegamiento y tráfico de proteínas, el metabolismo del ARN, el transporte intracelular y la transducción de señales resulta indispensable para entender el desarrollo normal de distintos organismos.

#### **4.2. PROLIFERACIÓN CELULAR. DIFERENCIACIÓN Y REORDENACIÓN ESPACIAL.**

El ciclo celular se describe como la secuencia general de acontecimientos que se producen durante la vida de una célula eucariota y se divide en cuatro fases diferenciadas: 1) La mitosis o fase M, corresponde a la fase de división celular. 2) Luego viene la fase G1 (del término gap o intervalo) que ocupa la mayor parte del ciclo. 3) Le sigue la fase S, o fase de síntesis de ADN. 4) Durante la fase G2 se prepara la mitosis con una célula tetraploide que entra en la fase M y en el comienzo de un nuevo ciclo celular.

La duración temporal del ciclo es variable, y aunque en un cultivo de laboratorio, es de 16 a 24 horas, en las células de un organismo pluricelular puede ir de 8 horas a más de 100 días. Algunas células muy diferenciadas como las neuronas o las células musculares nunca se dividen y asumen un estado quiescente conocido como fase G0. El arranque y desarrollo del ciclo es regulado por, señales tanto internas como externas, y dispone de varios puntos de control que determinan su progreso y si el estado de la célula es correcto, deteniéndole si no se desarrolla de manera exacta. Las proteínas que regulan estos procesos reciben el nombre de ciclinas y proteincinasas dependientes de ciclinas. Se sintetizan durante una fase del ciclo y se degradan

por completo en la fase siguiente. Una ciclina se une específicamente a su o sus proteinasas dependientes y fosforilan proteínas nucleares como las histonas para reorganizar el material nuclear y el citoesqueleto y permitir que la fase se desarrolle. Hay también inhibidores de las cinasas dependientes de ciclina que detienen el ciclo celular en respuesta a señales contrarias a la proliferación, como el contacto con otras células, el daño del DNA, la diferenciación terminal y la senescencia (o detención definitiva).

La diferenciación celular es el proceso por el cual una célula cambia su estructura de manera que pueda realizar una función específica. Las células bien diferenciadas son células maduras, completamente relacionadas que están listas para cumplir con su función particular. Cada tipo celular tiene características, funciones, y lapsos de vida específicos, aunque todos se han diferenciado de la célula original o cigoto. Las primeras células de un ser humano procedentes del cigoto son denominadas células totipotenciales, por ser capaces de diferenciarse en todo tipo de células especializadas; proceso que comienza a los 4 días de desarrollo. De una célula totipotencial se puede obtener un organismo funcional. A medida que se diferencian restringen su potencial y se convierten en células pluripotenciales, que pueden desarrollarse en varios, pero ya no en todos los tipos celulares. De estas células ya no es posible obtener un organismo. A medida que avanza la diferenciación se van desarrollando los distintos tipos de tejidos del cuerpo. Con la especialización y la maduración muchas células pierden la capacidad de reproducción. En cambio, otras denominadas células troncales o células madre conservan la capacidad de división. En los adultos estas células sólo, pueden diferenciarse en un tipo concreto de célula especializada (ej.: las células sanguíneas). A estas células troncales indiferenciadas de un tejido que pueden desarrollarse a células especializadas de dicho tejido se las denomina multipotenciales. (Ej. Las de la médula ósea que darán lugar a células sanguíneas). Patrones de desarrollo Están mediados por los genes de los cuales hay varios grupos: a) Genes de efecto materno: que definen la polaridad del embrión, es decir sus ejes anteroposteriores y dorsoventrales. b) Genes de segmentación: que definen el número correcto y la polaridad de los segmentos corporales del embrión c) Genes selectores homeóticos: que especifican la identidad de los segmentos, las mutaciones de estos transforman una parte del cuerpo en otra. Algunos de estos se conocen en conjunto como genes Hox y codifican factores de transcripción.

Los factores de crecimiento estimulan la mitosis y la diferenciación celular. Si una célula necesita ser reemplazada (a causa de daño, apoptosis natural, o alguna otra razón), segregará factores de crecimiento que estimulan que la célula se someta a mitosis o se diferencie. La inhibición del contacto hace que las células dejen de proliferarse. Normalmente, las células individuales mantienen una pequeña cantidad de "espacio personal". Bajo ciertas condiciones, las células que se vuelven atestadas y comienzan a tocarse entre sí, simplemente dejarán de crecer. Exactamente cómo funciona la inhibición de contacto todavía se desconoce. Sin embargo, los científicos creen que el contacto entre las células estimula la liberación de los factores inhibitorios del crecimiento. A diferencia de los factores de crecimiento, los factores de inhibición de crecimiento les dicen a las células que dejen de dividirse.

## CONTROL DEL CRECIMIENTO CELULAR

El estudio de los genes ha permitido conocer el control del crecimiento. Cuando se descubrió que ciertos virus podían provocar cáncer se llegó a la conclusión de que el origen del mismo dependía de determinados genes que se denominaron oncogenes. Estos son mutantes de genes que participan en el control del crecimiento celular. En muchos casos la mutación permite a los productos del gen eludir los mecanismos de control que normalmente regulan su actividad, de manera que se encuentran activados permanentemente. En consecuencia, provocan un crecimiento sin restricciones, es decir, de naturaleza tumoral. El estudio de los oncogenes ha servido para descubrir mucha información sobre el control del crecimiento celular, así como las vías a través de las cuáles se lleva a cabo. En una situación normal el crecimiento celular está sometido a un estricto control debido fundamentalmente a la inhibición por contacto. Las células cancerosas se caracterizan por no estar sujetas a este tipo de inhibición. En este tipo de control intervienen señales de comunicación celular.

## REMODELACIÓN TISULAR

El crecimiento es un proceso que parece asociarse al periodo que se extiende desde el nacimiento hasta alcanzar el estado adulto. Sin embargo, las células nacen, se desarrollan y mueren permanentemente durante la vida de una persona. Los tejidos corporales constantemente cambian sus células reemplazándolas a medida que mueren. La muerte celular puede producirse de dos formas; una desordenada y otra ordenada: necrosis y apoptosis

respectivamente. En la necrosis las células mueren por acción de un traumatismo físico, toxinas, falta de oxígeno, etc. Las células necróticas se hinchan, a medida que el agua entra a través de sus membranas dañadas, y liberan enzimas que degradan el contenido celular hasta que la célula explota liberando su contenido. Dentro de éste están las enzimas que dañan las células adyacentes desencadenando una respuesta inflamatoria.

Por el contrario, las células que experimentan la muerte celular programada o apoptosis, no alteran a las células vecinas cuando mueren. La apoptosis, también llamada suicidio celular, es un proceso complejo regulado por múltiples señales químicas. Algunas señales impiden que se produzca la apoptosis, mientras que otras inducen a la célula a que se destruya. Cuando prevalecen las señales de suicidio, la cromatina se condensa en la región periférica del núcleo, se disuelve la membrana nuclear, se desestructura el citoesqueleto, la célula se encoge alejándose de las células vecinas, y, por último, se rompe dentro de ordenadas burbujas rodeadas por membranas (cuerpos apoptóticos) que son engullidas por las células adyacentes o por células errantes del sistema inmunitario sin derramar su contenido y por tanto sin generar respuesta inflamatoria.

La apoptosis es un fenómeno normal en la vida de un organismo. Durante el desarrollo fetal se eliminan las células innecesarias, como la mitad de las células del cerebro en desarrollo o las membranas interdigitales entre los dedos de las manos y de los pies. En los adultos, las células sujetas a un fuerte deterioro por exposición al medio ambiente externo viven sólo uno o dos días antes de iniciar el proceso de apoptosis. La apoptosis involucra una familia de proteasas conocidas como caspasas (10 diferentes en humanos), que rompen más de 60 proteínas celulares (del citoesqueleto, ciclinas, factores de transcripción, etc.). La apoptosis de una célula dada puede ser inducida por señales provenientes del entorno en la denominada vía extrínseca (muerte por comisión) o por la ausencia de señales externas que inhiben la apoptosis en la llamada vía intrínseca (muerte por omisión).

Ahora bien, El desarrollo temprano se caracteriza por la rápida proliferación de células embrionarias, que posteriormente se diferencian para producir los numerosos tipos especializados de células que conforman los tejidos y órganos de los animales multicelulares. A medida que las células se diferencian, su tasa de proliferación suele disminuir, y la mayoría de las células en los animales adultos se detienen en la etapa  $G_0$  del ciclo celular. Algunos tipos de

células diferenciadas nunca vuelven a dividirse, pero la mayoría pueden reanudar la proliferación según sea necesario para reemplazar las células perdidas como resultado de una lesión o muerte celular. Además, algunas células se dividen continuamente a lo largo de la vida para reemplazar las células que tienen una alta tasa de recambio en los animales adultos. De este modo, la proliferación celular se equilibra cuidadosamente con la muerte celular para mantener un número constante de células en los tejidos y órganos adultos.

Las células de los animales adultos pueden agruparse en tres categorías generales en cuanto a su proliferación celular. Algunos tipos de células diferenciadas, como las células musculares cardíacas en humanos, ya no pueden dividirse. Estas células se producen durante el desarrollo embrionario, se diferencian y se conservan durante toda la vida del organismo. Si se pierden debido a una lesión (p. ej., la muerte de células musculares cardíacas durante un infarto), nunca podrán ser reemplazadas.

En contraste, la mayoría de las células en animales adultos entran en la etapa  $G_0$  del ciclo celular, pero reanudan la proliferación según sea necesario para reemplazar las células que han sido dañadas o han muerto. Las células de este tipo incluyen fibroblastos de la piel, células musculares lisas, las células endoteliales que recubren los vasos sanguíneos y las células epiteliales de la mayoría de los órganos internos, como el hígado, el páncreas, el riñón, el pulmón, la próstata y la mama. Un ejemplo de la proliferación controlada de estas células, discutido anteriormente en este capítulo, es la rápida proliferación de fibroblastos de la piel para reparar el daño resultante de un corte o herida. Otro ejemplo sorprendente es proporcionado por las células hepáticas, que normalmente se dividen solo en raras ocasiones. Sin embargo, si se pierde un gran número de células hepáticas (p. ej., por la extirpación quirúrgica de una parte del hígado), las células restantes son estimuladas a proliferar para reemplazar el tejido faltante. Por ejemplo, la extirpación quirúrgica de dos tercios del hígado de una rata es seguida por una rápida proliferación celular, lo que lleva a la regeneración de todo el hígado en pocos días.

### 4.3. EQUIVALENCIA GENÓMICA Y EXPRESIÓN GÉNICA DIFERENCIAL

La equivalencia genómica se refiere al hecho de que, si bien todas las células de un organismo tienen el mismo genoma, la expresión génica diferencial explica cómo esas células se vuelven distintas y cumplen funciones específicas. Este proceso implica activar y silenciar genes para producir diferentes cantidades de ARN y proteínas, permitiendo que un solo genoma genere la diversidad celular necesaria para el desarrollo y la función del organismo. El análisis de esta expresión diferencial permite identificar qué genes están activos y cómo cambian sus niveles en distintas condiciones, lo cual es clave para entender enfermedades y desarrollar nuevos tratamientos.

¿Qué es la Expresión Génica Diferencial?

- Es el proceso mediante el cual la información de un gen se utiliza para crear moléculas de ARN y proteínas.
- La expresión génica diferencial mide y compara estos niveles en distintas muestras o condiciones (por ejemplo, células sanas vs. enfermas) para identificar variaciones en la actividad de los genes.
- No todos los genes se expresan en todo momento; la expresión diferencial es la variación de estos niveles de actividad en diferentes circunstancias.

¿Cómo funciona?

- Regulación:

La expresión génica está finamente regulada por mecanismos como la unión de factores de transcripción a secuencias de ADN específicas (promotores y potenciadores).

- Control de cantidad:

La expresión génica actúa como un "interruptor" y un "control de volumen", determinando cuándo, dónde y en qué cantidad se producen las moléculas de ARN y proteínas.

- Diferenciación celular:

Este proceso es crucial para el desarrollo de organismos complejos, como un ser humano multicelular, que necesita diferentes tipos de células (hígado, nerviosas, etc.).

¿Por qué es importante la Expresión Génica Diferencial?

- Desarrollo y función celular:

Permite a las células especializarse y mantener su función específica, activando los genes necesarios para su fenotipo y silenciando los demás.

- Comprensión de enfermedades:

Los patrones de expresión génica diferencial pueden revelar los mecanismos moleculares detrás de enfermedades como el cáncer y son fundamentales para la medicina personalizada.

- Descubrimiento de biomarcadores:

La identificación de genes de expresión diferencial (GED) ayuda a descubrir biomarcadores para el diagnóstico, pronóstico y desarrollo de nuevos fármacos.

La expresión génica diferencial, por lo tanto, es importante porque permite que las células madre no especializadas se transformen en células somáticas especializadas, como las hepáticas, las cutáneas y las cerebrales. Sin la expresión génica diferencial, no podrían existir los tejidos y órganos especializados.

#### **4.4. EVIDENCIAS DE LA EQUIVALENCIA GENÓMICA: METAPLASIA Y CLONAJE.**

La existencia de esta equivalencia genómica no estaba tan probada como asumida (ya que cada célula es la descendiente mitótica del óvulo fecundado), por lo que uno de los primeros problemas de la genética del desarrollo fue determinar si cada célula de un organismo poseía efectivamente el mismo conjunto de genes, o genoma, que todas las demás células.

La metaplasia es un cambio reversible en el que un tipo de célula madura se transforma en otro tipo de célula madura, generalmente en respuesta a un estímulo o irritación crónica. Este cambio no es normal para el tipo de célula que lo experimenta, pero no es necesariamente canceroso en sí mismo. Algunas características son:

- **Células diferenciadas:** La metaplasia ocurre cuando un tipo de célula diferenciada (es decir, una célula con una función específica) es reemplazada por otro tipo de célula diferenciada.
- **Respuesta adaptativa:** Se considera una respuesta adaptativa a condiciones adversas, como inflamación crónica o irritación.
- **Reversible:** A diferencia de la displasia o neoplasia, la metaplasia es generalmente reversible si se elimina la causa subyacente.
- **Posible progresión:** Aunque no es cancerosa por sí misma, la metaplasia puede aumentar el riesgo de desarrollar displasia o neoplasia si la causa subyacente no se trata.

Dentro de los ejemplos comunes de metaplasia encontramos:

- **Metaplasia escamosa:** El epitelio de las vías respiratorias se transforma en un epitelio escamoso (similar a la piel) en respuesta al humo del cigarrillo u otras irritaciones crónicas.
- **Metaplasia intestinal:** El epitelio del estómago cambia a un epitelio similar al del intestino delgado, a menudo asociado con la infección por *Helicobacter pylori* y la gastritis crónica.
- **Metaplasia ósea:** En el tejido endometrial, puede ocurrir un crecimiento óseo anormal.

Por otra parte, la clonación es el proceso de crear copias genéticamente idénticas de un organismo, célula, tejido o molécula. Existen diferentes tipos de clonación, incluyendo la clonación génica, la clonación reproductiva y la clonación terapéutica. La clonación también ocurre naturalmente en algunas plantas y organismos unicelulares. Podemos clasificarlas en:

- **Clonación génica:** Se refiere a la producción de copias de genes o segmentos de ADN.
- **Clonación reproductiva:** Consiste en la creación de un organismo completo genéticamente idéntico a otro.
- **Clonación terapéutica:** Se enfoca en la producción de células madre embrionarias para investigación y tratamientos médicos.

Clonación en la naturaleza:

La clonación natural ocurre en la reproducción asexual, donde un organismo se reproduce sin la necesidad de la unión de gametos. Los gemelos idénticos en humanos también son un ejemplo de clonación natural.

Clonación artificial: La clonación artificial se realiza a través de técnicas como la transferencia nuclear de células somáticas, donde se toma el núcleo de una célula somática y se introduce en un óvulo al que se le ha extraído su propio núcleo. La oveja Dolly fue un ejemplo famoso de clonación reproductiva artificial.

Consideraciones éticas: La clonación humana, especialmente la reproductiva, plantea importantes dilemas éticos, como la alteración de la identidad, el riesgo de malformaciones y la instrumentalización de los individuos clonados.

#### **4.5. CAUSAS POR LAS CUALES NO EXISTE EQUIVALENCIA GENÓMICA: PERDIDA DE DNA**

La equivalencia genómica, como hemos visto es la idea de que todas las células de un organismo tienen la misma información genética. Sin embargo, la pérdida de ADN o pérdida genómica que es la eliminación de genes funcionales o de su expresión, se refiere a la eliminación de material genético (ADN) de un organismo o célula. Este fenómeno, aunque pueda parecer perjudicial, juega un papel importante en la evolución y adaptación de los seres vivos, y puede darse por diversas razones.

algunas Causas de la pérdida de ADN son:

- Errores de replicación y daño al ADN: Durante la replicación del ADN, pueden ocurrir errores que no se corrigen, llevando a mutaciones y, en algunos casos, a la pérdida de segmentos de ADN.
- Adaptación evolutiva: La pérdida de genes puede ocurrir en respuesta a cambios ambientales o a nuevas condiciones, y en algunos casos puede conferir ventajas evolutivas, como resistencia a enfermedades.
- Enfermedades genéticas: Algunas enfermedades genéticas son causadas por deleciones o pérdidas de regiones cromosómicas.

- **Cáncer:** Las células cancerosas a menudo presentan alteraciones genómicas, incluyendo pérdidas de ADN, que contribuyen al crecimiento y diseminación del tumor.

Importancia de la pérdida de ADN:

- **Evolución:** La pérdida de genes puede ser un motor evolutivo, permitiendo la adaptación a nuevos entornos y la diversificación de especies.
- **Adaptación:** La pérdida de ciertos genes puede conferir resistencia a enfermedades, como en el caso de la resistencia a la malaria en individuos con ciertas mutaciones.
- **Diagnóstico:** La identificación de pérdidas de ADN es crucial para el diagnóstico de enfermedades genéticas y ciertos tipos de cáncer.
- **Terapia:** Comprender los mecanismos de pérdida de ADN es importante para el desarrollo de nuevas terapias génicas.

#### **4.6. AMPLIFICACIÓN DEL GENOMA Y REESTRUCTURACIÓN DEL DNA.**

La amplificación génica se refiere a un aumento del número de copias de un gen en un genoma. Las células cancerosas, por ejemplo, a veces producen varias copias de uno o más genes en respuesta a señales de otras células o del entorno

La amplificación del genoma, en el contexto de la biología del desarrollo, implica la multiplicación de copias de genes específicos en ciertas células durante el desarrollo embrionario. Este proceso no es una copia completa del genoma, sino que se enfoca en secuencias de ADN relevantes para el desarrollo en un momento específico.

¿Cómo funciona la amplificación del genoma en biología del desarrollo?

- **Regulación de la expresión génica:**

La amplificación génica permite que las células produzcan cantidades mayores de ciertas proteínas, lo que puede ser necesario para procesos de desarrollo complejos como la formación de órganos.

- **Señalización y diferenciación:**

Las proteínas amplificadas pueden actuar como señales que guían a las células a diferenciarse en tipos específicos, como células musculares, nerviosas o epiteliales.

- Patrones de desarrollo:

La amplificación del genoma ayuda a establecer patrones de desarrollo espacial y temporal, asegurando que los órganos y estructuras se formen en los lugares correctos y en el momento adecuado.

Ejemplos de amplificación del genoma en biología del desarrollo:

- Desarrollo embrionario temprano:

La amplificación génica puede ser importante en las primeras etapas del desarrollo embrionario para establecer el plan corporal básico.

- Formación de extremidades:

En el desarrollo de las extremidades, la amplificación de ciertos genes puede ser necesaria para la formación de los huesos, músculos y tejidos conectivos.

- Desarrollo del sistema nervioso:

La amplificación de genes específicos puede ser esencial para la formación de neuronas y la organización del sistema nervioso.

Importancia de la amplificación del genoma en la investigación:

- Comprender el desarrollo:

Estudiar la amplificación génica ayuda a los científicos a comprender mejor los mecanismos moleculares que controlan el desarrollo embrionario y la diferenciación celular.

- Diagnóstico y tratamiento de enfermedades:

La amplificación génica también puede estar involucrada en el desarrollo de enfermedades, como el cáncer, por lo que su estudio es crucial para desarrollar nuevas terapias.

#### **4.7. BASE CELULAR DE LA MORFOGÉNESIS.**

Es el proceso por el cual un grupo de embriones determinan el desarrollo de los órganos, tejidos o células individuales del organismo de los seres vivos, como también las características y funciones particulares de cada uno de esos componentes.

El proceso de morfogénesis constituye uno de los tres conceptos básicos de la biología, sumado al crecimiento celular. La morfogénesis también estudia la forma de los tejidos y de los órganos, con el fin de esclarecer el mecanismo por el que la distribución en espacio de las células, se produce de forma organizada durante el proceso del desarrollo embrionario y es son el causante de la forma que adquirirán los seres vivos.

Son muchos los componentes de marcada importancia en los procesos de morfogénesis, pero uno de los principales son los morfogenes, que son una clase específica e moléculas sensibles a transportar los mensajes que controlan las decisiones que provocan las diferencias celulares de la concentración de material en estado químico. Las razones por las cuales cada ser vivo presenta diferente apariencia y forma, es a causa del proceso de morfogénesis.

Por un lado, tiene el fin de estudiar y analizar las características fundamentales del crecimiento y el desarrollo vegetal. En segundo término, intenta entender los distintos mecanismos morfogénicos, que son quienes llevan al desarrollo, la evolución, el crecimiento y las esencia que hace a la distinción de cada ser vivo de otro. Por último, otro de los objetivos de la morfogénesis es relacionar su desarrollo con el medio ambiente en que crece.

Dentro de las bases celulares es la Muestra de clasificación de células con un cultivo de células de un carcinoma embrionario P19. Las células vivas fueron teñidas con Dil (rojo) o Dio (verde). Las células rojas estaban genéticamente alteradas y expresaron niveles mayores de E-cadherina en comparación con las células verdes. Después del etiquetado las dos poblaciones fueron mezcladas y cultivadas juntas, permitiendo que las células formaran grandes agregados multi-celulares. Las células individuales tenían un diámetro menor a 10 micrómetros. La imagen fue capturada por un microscopio con focal de escaneo. La morfogénesis surge debido a cambios en la estructura celular o a como las células interactúan en los tejidos. Ciertos tipos de células “clasificadas”. “La clasificación” de células significa que cuando las células interactúan físicamente se mueven con el fin de formar grupos que maximicen el contacto entre las células del mismo

tipo. Hay dos tipos de células bien estudiadas que se clasifican células epiteliales y células mesenquimales. La habilidad de las células para realizar esto surge a raíz de la adhesión celular diferencial. Durante el desarrollo embrionario ocurren algunos eventos de diferenciación celular en los que las células mesenquimales se transforman en epiteliales y en otras ocasiones, y de manera inversa las células epiteliales se transforman en mesenquimales (ver Transición Epitelio Mesénquima). Siguiendo la transición epitelial-mesenquimal, las células pueden migrar lejos del epitelio y luego asociarse con otras células similares en una nueva locación.

Por otra parte, Diversos tipos de moléculas son particularmente importantes durante la morfogénesis. Los morfógenos son moléculas solubles que se pueden difundir y llevar las señales que controlan las decisiones en la diferenciación celular en un modo dependiente de la concentración. Los morfógenos típicamente actúan al unirse a receptores proteicos específicos. Una importante clase de moléculas involucradas en la morfogénesis son los factores de transcripción, que son proteínas que determinan el destino de las células al interactuar con enzimas que transcriben el ADN. Estas pueden ser codificadas por genes regulatorios principales y, o bien pueden activar o desactivar la transcripción de otros genes; a su vez, estos productos secundarios de los genes inclusive pueden regular la expresión de otros genes en una cascada regulatoria. Idealmente debe ser 1) una molécula de señalización que esté en el lugar correcto y en el momento exacto del desarrollo 2) Debe ser producida por una fuente localizada, 3) Formar un gradiente de concentración dependiente de la distancia, 4) Provocar una respuesta celular directa, es decir que la célula que se encuentra en el gradiente de concentración debe responder directamente al morfógeno mediante receptores para él. 5) La respuesta debe ser dosis-dependiente, un aumento en el gradiente hará que todas las células experimenten una concentración de morfógeno elevada, y que se cambie su respuesta a un nivel más alto. Del mismo modo, la subexposición al morfógeno debe hacer que las células respondan de manera progresivamente más baja en la escala de respuestas a su disposición. 6) Las células en la ruta del morfógeno deberían mostrar dos o más tipos de respuesta, por ejemplo, la expresión de diferentes genes, además de su destino por defecto.

Otra clase de moléculas involucradas en la morfogénesis son aquellas que controlan la adhesión celular. Por ejemplo, durante la gastrulación, grupos de células madre desconectan sus uniones intercelulares, se vuelven migratorias y toman nuevas posiciones dentro del embrión, donde

vuelven a activar proteínas de unión (adhesión celular) específicas y forman nuevos tejidos y órganos. Diversos ejemplos que ilustran los papeles de los morfógenos, son los factores de transcripción.

#### **4.8. AFINIDAD CELULAR DIFERENCIAL.**

La diferenciación celular es el proceso por el cual las células cambian de un tipo celular (morfología) a otro, generalmente un tipo más especializado. Para esta diferenciación la célula atraviesa un proceso de morfogénesis, donde hay modificaciones en su expresión génica, que la llevan a adquirir la morfología y las funciones de un tipo celular específico y diferente al resto de los tipos celulares del organismo.<sup>[1]</sup>

A cualquier célula que presente un nivel de Potencia celular o capacidad de diferenciación, es lo que se denomina célula madre. Estas pueden clasificarse según su capacidad de diferenciación en totipotentes, pluripotentes, multipotentes y unipotentes.

La diferenciación ocurre múltiples veces durante el desarrollo de un organismo multicelular, a medida que cambia de un cigoto simple a un complejo de tejidos y órganos especializados.

La diferenciación altera de manera drástica el tamaño de la célula, su forma, potencial de membrana y capacidad metabólica y la responsividad de señales.

En las células en desarrollo existen diferentes niveles de potencia celular, es decir, la habilidad de la célula de diferenciarse en otros tipos celulares. Una mayor potencia implica una mayor cantidad de linajes celulares que puede producir.

Una célula capaz de producir la totalidad de tipos celulares, incluyendo los tejidos extra-embrionarios o placentarios se le denomina una célula totipotente. En mamíferos, solo el cigoto y los blastómeros subsecuentes son totipotentes.

Si la célula solo puede diferenciarse en linajes celulares presentes en el adulto se denomina una célula pluripotente. Estas células se denominan meristomáticas en plantas, y células madres embrionarias en animales.

Una célula multipotente solo puede diferenciarse en pocos tipos celulares, generalmente del mismo linaje celular. Por ejemplo, en la hematopoyesis se producen diferentes tipos de células, pero todas del mismo linaje, el sanguíneo.

Finalmente, cuando la célula solo puede producir un único tipo de célula, se le denomina unipotente. Al hablar de célula madre, estas no se van a diferenciar, ya que cumplen la *asimetría unicelular*. Un claro ejemplo de este linaje son las células madre que producen los espermatozoides

En los organismos cada tipo celular especializado expresa un conjunto de la totalidad de genes presentes en el genoma, son estos procesos de regulación de la expresión génica lo que caracteriza al linaje celular. Al hablar de diferenciación, hablamos de un cambio del patrón de expresión y de toda la red de regulación que produjo esa célula. El control epigenético, si bien la diferencia en los patrones de expresión génica se da en su mayoría por elementos reguladores *cis* y *trans* (promotores y enhancers) hay mecanismos para que estos patrones de expresión se mantengan durante muchas generaciones de división celular. En este punto los mecanismos epigenéticos juegan un papel fundamental, ya que las modificaciones sobre la cromatina (metilación, fosforilación, acetilación, etc.), ADN (metilaciones, etc.) o la interacción de ARN no codificantes, cambia los patrones de expresión y represión de los genes.

La metilación de DNA, es uno de los mecanismos más frecuentes para la regulación de la expresión es la metilación del ADN. En este proceso, las enzimas metiltransferasas añaden un grupo metilo sobre los residuos de Citosina ubicado en las islas CpG, evitando el acceso al ADN.

En células embrionarias la mayoría de estas islas CpG están sin metilación y asociadas a nucleosomas con un trimetilación en la lisina 4 de la histona H3 (H3K4me3). En el proceso de diferenciación solo hay pocos genes como *Oct4* y *Nanog* que presentan metilación temprana, esto para disminuir su expresión a medida que se cumple la diferenciación. Células con deficiencias en su metilación entran en procesos de apoptosis rápidamente.

Además, los factores pioneros como *Oct4*, *Sox2* y *Nanog*, estos tres factores de transcripción están altamente expresados en células embrionarias indiferenciadas y son importantes para el mantenimiento de la pluripotencia. Se ha demostrado que la importancia

de estos factores radica en su capacidad de modificar la cromatina, modificando las histonas y metilando el ADN; para permitir o restringir la transcripción de genes.

Si bien estos genes son altamente expresados, su capacidad de mantener la pluripotencia requiere un balance cuidadoso, ya que se ha visto que una perturbación puede conducir a diferentes linajes celulares. Una regulación diferencial entre *Oct4* y *Sox2* conducen a destinos de línea germinal. Del mismo modo, niveles elevados de *Oct4* y reducidos de *Sox2* promueve destinos mesodermiales, ya que *Oct4* bloquea destinos neuroectodermiales; si aumenta *Sox2* y disminuye *Oct4* se derivan destinos ectodermicos. *Nanog*, por su parte no permite la diferenciación, por lo que su supresión es requisito para cualquier cambio de linaje.

#### 4.9. MOLÉCULAS DE ADHESIÓN

Durante el desarrollo embrionario, las células están restringidas a diferentes capas debido a afinidades diferenciales.

La **adherencia celular** o **adhesión celular** es la capacidad que tienen las células pluricelulares de unirse a elementos del medio externo o a otras células. La adhesión celular se produce tanto por fuerzas electrostáticas y otras interacciones inespecíficas como por moléculas de adhesión celular, que son específicas.

La adhesión celular se produce a partir de las interacciones entre moléculas de adhesión celular (CAM por sus siglas en inglés), proteínas transmembrana situadas en la superficie celular. La adhesión celular une a las células de diferentes maneras y puede estar implicada en la transducción de señales para que las células detecten y respondan a cambios en el entorno.<sup>1</sup>

<sup>[3]</sup> Otros procesos celulares regulados por la adhesión celular incluyen la migración celular y el desarrollo de tejidos en organismos multicelulares<sup>1</sup> Las alteraciones en la adhesión celular pueden interrumpir procesos celulares importantes y provocar diversas enfermedades, como cáncer y artritis.<sup>1</sup> La adhesión celular también es esencial para que organismos infecciosos, como bacterias o virus, causen enfermedades.

La adherencia celular está relacionada con múltiples funciones celulares como son:

- El desarrollo embrionario.
- La migración celular.

- La comunicación celular.
- La diferenciación celular.
- El desarrollo del cáncer.

Entre las uniones celulares de vertebrados destacan: los desmosomas, las uniones adherentes, uniones estrechas y uniones gap.

Una de las formas en que esto puede ocurrir, es cuando las células comparten las mismas adhesiones moleculares célula-a-célula. Por ejemplo, una adhesión celular homotípica puede mantener los límites entre los grupos de células con diferentes moléculas de adhesión. Además, las células se pueden ordenar en base a diferencias en la adhesión entre las células, por lo que incluso dos poblaciones de células con distintos niveles de la misma molécula de adhesión pueden clasificarse. En un cultivo celular las células que tengan la mayor adhesión se mueven hacia el centro de una mezcla de células agregadas. Las moléculas responsables de la adherencia son llamadas moléculas de adhesión celular (CAM)s. Se conocen diversos tipos de moléculas de adhesión celular y una clase importante de estas moléculas son cadherinas. Hay docenas de diferentes cadherinas que se expresan en diferentes tipos celulares. Las cadherinas se unen a otras cadherinas de modo similar, de modo: E-cadherina (se encuentra en muchas células epiteliales) se une preferentemente a otras moléculas de E-cadherina. Mientras que las células mesenquimales suelen expresar otros tipos de cadherina como la N-cadherina.

Las CAM se clasifican en cuatro grandes familias: integrinas, superfamilia de inmunoglobulinas (Ig), cadherinas y selectinas. Las **cadherinas** y las **IgSF** son CAM homófilas, ya que se unen directamente al mismo tipo de CAM en otra célula, mientras que las **integrinas** y las **selectinas** son CAM heterofílicas que se unen a diferentes tipos de CAM. Cada una de estas moléculas de adhesión tiene una función diferente y reconoce diferentes ligandos. Los defectos en la adhesión celular suelen atribuirse a defectos en la expresión de las CAM.

En los organismos pluricelulares, las uniones entre las CAM permiten que las células se adhieran entre sí y crean estructuras denominadas uniones celulares. Según sus funciones, las uniones celulares pueden clasificarse en:

- Uniones de anclaje (uniones adherentes, desmosomas y hemidesmosomas), que mantienen unidas a las células y refuerzan el contacto entre ellas.
- Uniones oclusivas (uniones estrechas), que sellan los huecos entre las células a través del contacto célula-célula, creando una barrera impermeable para la difusión.
- Uniones formadoras de canales (gap junctions), que unen el citoplasma de células adyacentes permitiendo el transporte de moléculas entre las células.
- Uniones de transmisión de señales, que pueden ser sinapsis en el sistema nervioso.

Alternativamente, las uniones celulares pueden clasificarse en dos tipos principales en función de lo que interactúa con la célula: uniones célula-célula, mediadas principalmente por cadherinas, y uniones célula-matriz, mediadas principalmente por integrinas.

Los desmosomas son estructuralmente similares a las uniones adherentes, pero están formados por componentes diferentes. En lugar de las cadherinas clásicas, actúan como moléculas de adhesión cadherinas no clásicas como las desmogleínas y las desmocolinas, que están unidas a filamentos intermedios en lugar de a filamentos de actina. En los desmosomas no hay catenina, ya que los dominios intracelulares de las cadherinas desmosómicas interactúan con las proteínas de la placa desmosómica, que forman las gruesas placas citoplasmáticas de los desmosomas y unen las cadherinas a los filamentos intermedios. Los desmosomas proporcionan fuerza y resistencia a la tensión mecánica descargando fuerzas sobre los filamentos intermedios flexibles pero resistentes, algo que no puede ocurrir con los filamentos rígidos de actina. Esto hace que los desmosomas sean importantes en los tejidos que se enfrentan a altos niveles de estrés mecánico, como el músculo cardíaco y los epitelios, y explica por qué aparece con frecuencia en este tipo de tejidos.

Las uniones estrechas están normalmente presentes en los tejidos epiteliales y endoteliales, donde sellan huecos y regulan el transporte paracelular de solutos y fluidos extracelulares en estos tejidos que funcionan como barreras. Las uniones estrechas están formadas por proteínas transmembrana, como claudinas, ocludinas y tricelulinas, que se unen estrechamente entre sí en membranas adyacentes de forma homofílica.

De forma similar a las uniones de anclaje, los dominios intracelulares de estas proteínas de la unión estrecha se unen a proteínas de andamiaje que mantienen estas proteínas en grupos y las unen a filamentos de actina para mantener la estructura de la unión estrecha. Las claudinas, esenciales para la formación de las uniones estrechas, forman poros paracelulares que permiten el paso selectivo de iones específicos a través de las uniones estrechas, haciendo que la barrera sea selectivamente permeable.<sup>[1]</sup>

Las uniones gap están formadas por canales denominados conexonas, que consisten en proteínas transmembrana denominadas anexinas agrupadas en grupos de seis.<sup>[1]</sup> Las conexonas de células adyacentes forman canales continuos cuando entran en contacto y se alinean entre sí. Estos canales permiten el transporte de iones y pequeñas moléculas entre el citoplasma de dos células adyacentes, además de mantener las células unidas y proporcionar estabilidad estructural como las uniones de anclaje o uniones estrechas. Los canales de las uniones gap son selectivamente permeables a iones específicos dependiendo de qué conexinas formen las conexonas, lo que permite que las uniones gap participen en la señalización celular regulando la transferencia de moléculas implicadas en las cascadas de señalización. Los canales pueden responder a muchos estímulos diferentes y se regulan dinámicamente mediante mecanismos rápidos, como la compuerta de voltaje, o lentos, como la alteración del número de canales presentes en las uniones gap.

Las selectinas son una familia de CAM especializadas que intervienen en la adhesión transitoria célula-célula que se produce en el sistema circulatorio. Median principalmente el movimiento de los glóbulos blancos (leucocitos) en el torrente sanguíneo al permitir que los glóbulos blancos "rueden" sobre las células endoteliales mediante uniones reversibles de selectinas. Las selectinas sufren uniones heterofílicas, ya que su dominio extracelular se une a los carbohidratos de las células adyacentes en lugar de a otras selectinas, mientras que también requieren iones  $Ca^{2+}$  para funcionar, al igual que las cadherinas. La adhesión celular de los leucocitos a las células endoteliales es importante para las respuestas inmunitarias, ya que los leucocitos pueden desplazarse a los focos de infección o lesión a través de este mecanismo. En estos lugares, las integrinas de los leucocitos rodantes se activan y se unen firmemente a las células endoteliales locales, lo que permite que los leucocitos dejen de migrar y se desplacen a través de la barrera endotelial

#### 4.10. MIGRACIÓN.

La migración celular es un proceso importante en el desarrollo y el mantenimiento de los organismos pluricelulares. La formación de tejido durante el desarrollo embrionario, la cicatrización y la respuesta inmune requieren de movimientos celulares sincronizados en una dirección particular y hacia sitios específicos. Los errores durante este proceso tienen consecuencias serias, incluyendo retraso mental, enfermedades cardiovasculares y formación de tumores y metástasis. Un entendimiento del mecanismo por el cual las células migran podría permitir el desarrollo de estrategias terapéuticas novedosas para controlar, por ejemplo, las células tumorales invasivas. A menudo las células migran en respuesta hacia señales exteriores específicas; este proceso se llama quimiotaxis.

Sin embargo, ya que todas las células de los mamíferos (excepto los espermatozoides) presentan varias características en común en sus desplazamientos, se cree que los procesos involucrados son similares. Las dos características principales son:

1. El comportamiento de la parte delantera.
2. El movimiento observable de cualquier fragmento en la superficie dorsal de la célula hacia atrás sobre la superficie celular y hacia el extremo que se arrastra.

La última característica puede ser fácilmente observada cuando los agregados de una molécula superficial son reticulados con un anticuerpo fluorescente o cuando pequeñas partículas se unen artificialmente a la parte frontal de la célula.

Además de las células mamíferas, muchas otras células eucariotas parecen moverse de forma similar. Una de las criaturas modelo más valiosas para estudiar el desplazamiento y la quimiotaxis es la ameba *Dictyostelium discoideum*, porque se mueve más rápido que cualquier célula mamífera cultivada en el laboratorio y hace quimiotaxis hacia el AMP cíclico. Igualmente, cuenta con un genoma haploide, lo cual ayuda al entendimiento del rol de un producto genético particular en el movimiento.

Las células migratorias tienen polaridad: una parte delantera y otra trasera. Si no fuera así, ellas se moverían en todas las direcciones al mismo tiempo o se extenderían. Se desconoce de qué manera la dirección del movimiento se determina a niveles moleculares. En una célula que se

desplaza de manera aleatoria, la parte delantera puede pasar a un estado pasivo mientras otra región de la célula forma un nuevo frente. En células quimiotácticas, la estabilidad de la parte delantera parece ser reforzada a medida que la célula avanza hacia un mayor nivel de concentración del químico estimulante. Esta polaridad se refleja a nivel molecular por la restricción de ciertas moléculas a regiones particulares de la superficie interna de la célula: por lo tanto, el fosfolípido PIP3, las GTPasas Rac activadas y CDC42 se encuentran en la parte frontal de la célula, mientras que la GTPasa Rho y las moléculas PTEN se encuentran hacia la parte trasera de la célula.

Se cree que los microtúbulos y filamentos de actina son importantes para el establecimiento y el mantenimiento de la polaridad celular. Por lo tanto, los químicos que destruyen los microtúbulos interrumpen la polaridad de muchas células: si la célula está adherida a un sustrato, usualmente se vuelven redondas y planas. Los químicos que destruyen los filamentos de actina tienen efectos múltiples y complejos, lo cual refleja el amplio espectro de acción que los filamentos de actina tienen en los procesos celulares. Es posible que, dentro del proceso de desplazamiento, las vesículas membranales sean transportadas a lo largo de estos filamentos hacia la parte frontal de la célula.

En células quimiotácticas, el incremento constante de la migración hacia un destino puede ser el resultado de una mayor estabilidad de las estructuras filamentosas al interior de la célula además de determinar su polaridad celular. A su vez, estas estructuras filamentosas pueden arreglarse dentro de la célula de acuerdo a cómo las moléculas PIP3 y PTEN, entre otras, estén arregladas en la superficie interna de la célula. Parece que su localización está determinada por las señales quimioatrayentes a medida que estas inciden en los receptores específicos localizados en la superficie externa de la célula.

#### **4.11. ESPECIFICACIÓN DEL DESTINO CELULAR.**

Se sabe que el desarrollo de tipos de células especializadas se conoce como diferenciación. Sin embargo, este desarrollo no ocurre inmediatamente, sino que antes hay un proceso en el que cambios en bioquímica y función resultan en un compromiso de la célula a ser de cierto tipo. En este punto, aunque las células no difieren fenotípicamente, su destino de desarrollo ya está restringido. El proceso del compromiso se puede dividir en dos pasos. El primer paso es la

especificación. Sin embargo, a este punto el compromiso aún es reversible. El segundo paso del compromiso celular es la determinación. Se dice que una célula o tejido está determinado cuando esta es capaz de diferenciarse autónomamente incluso cuando es puesta en otra región del embrión. Si es capaz de diferenciarse de acuerdo a su destino original incluso bajo estas circunstancias, se asume que el compromiso es irreversible.

Hay tres tipos de especificación celular:

El primero se llama especificación autónoma. En este caso, si se remueve un blastómero particular de un embrión en su desarrollo temprano, ese blastómero producirá el mismo tipo de células que hubiera producido si aún formara parte del embrión. Además, el embrión de donde se tomó el blastómero no tendrá esas células que hubiera producido ese blastómero. La especificación autónoma da origen a un patrón de embriogénesis conocido como desarrollo en mosaico, puesto que parece que el embrión es construido como un mosaico de partes independientes, auto diferenciables. Embriones de invertebrados, especialmente los de moluscos, anélidos, y tunicados, tienen especificación autónoma para determinar el destino de sus células. En estos embriones, los determinantes morfogénicos (proteínas o RNAmensajeros) son puestos en diferentes regiones del citoplasma del óvulo y son porcionados en las diferentes células mientras el embrión se divide.

Un segundo, La especificación sincitial es donde muchos insectos se basan para comprometer las células a su destino. En embriones tempranos de estos insectos, la división celular no ocurre en su totalidad. El núcleo se divide en el citoplasma del óvulo, creando muchos núcleos dentro de una célula grande. Un citoplasma que tiene muchos núcleos se conoce como sincitio. Sin embargo, el citoplasma del óvulo no es uniforme, pues la parte anterior del citoplasma es marcadamente diferente de la posterior. Aquí, las interacciones de especificación sincitial no ocurren entre células, sino entre las diferentes partes de la misma célula. El caso más conocido de especificación sincitial es el de *Drosophila*. Experimentos han demostrado que cada núcleo de *Drosophila* tiene información posicional (si va formar parte del lado anterior, posterior o mitad del cuerpo) que es dada por proteínas llamadas morfógenos. Los morfógenos son producidos en sitios específicos del embrión, y pueden difundirse a grandes distancias creando gradientes de concentración, donde la mayor concentración es el punto de síntesis y se hace más baja a medida que el morfógeno difunde y degrada con el tiempo.

La concentración de morfógenos específicos en un sitio en particular les dice a las células donde están en relación con el sitio de síntesis de estos. La parte más anterior del embrión de *Drosophila* produce una proteína morfogenética llamada Bicoid, y la parte más posterior produce una proteína llamada Nanos. La concentración de Bicoid es mayor en el lado anterior y disminuye en el posterior, mientras que la proteína Nanos es mayor en el lado posterior y decrece en el anterior. Los núcleos en el citoplasma sincitial de *Drosophila* serán guiados entonces por la tasa Bicoid:Nanos. Los que se encuentren en regiones con mucho Bicoid y poco Nanos activarán los genes necesarios para producir la cabeza, los que estén en regiones con poco Nanos y poco Bicoid activarán los genes para generar el tórax, y los que se localicen en regiones con poco Bicoid y mucho Nanos formarán las estructuras de la parte abdominal.

Este tipo de especificación requiere interacciones entre las células vecinas. Todas las células de la fase inicial del desarrollo son capaces de diferenciarse en cualquier tipo de célula; se denomina condicional porque el destino de las células depende de las condiciones en las que se encuentra la célula. En el caso de aislar un blastomero del embrión, este es capaz de producir el organismo completo, compensando la falta de la célula eliminada. Este mecanismo se observa en patrones de desarrollo regulador, el cual se ha descrito mayormente en vertebrados.

#### **4.12. ESPECIFICACIÓN AUTÓNOMA O CITOPLASMÁTICA.**

La especificación autónoma del destino celular es una forma de especificación embrionaria en la que una célula en desarrollo puede diferenciarse (convertirse en una célula que realiza una función especializada) sin recibir señales externas. Esta propiedad es posible gracias a los determinantes citoplasmáticos (factores reguladores citoplasmáticos necesarios para la especificación) que se depositan en diferentes regiones del óvulo durante la ovogénesis. Estos determinantes citoplasmáticos se reparten en células individuales durante la segmentación embrionaria y, por lo tanto, dotan a estas células de la capacidad de formar tipos celulares específicos. Si una célula con especificación autónoma se extrae del embrión durante el desarrollo temprano y se cultiva de forma aislada, esa célula producirá los descendientes que normalmente habría producido en el embrión intacto. Con frecuencia, el embrión del que se extrajo la célula carece de las estructuras que normalmente produce la célula faltante. La especificación autónoma del destino celular se utiliza a menudo durante la formación de

patrones de embriones de invertebrados como ctenóforos, anélidos, moluscos, equinodermos y tunicados.

#### **4.13. ESPECIFICACIÓN CONDICIONAL O POR INTERACCIONES CELULARES**

En este tipo de especificación, cada célula tiene originalmente la capacidad de convertirse en cualquiera de muchos tipos de células. Sin embargo, las interacciones de una célula con otras células restringen el destino de una o más de las participantes. Este modo de compromiso se llama especificación condicional porque el destino de una célula depende de las condiciones en las que esta se encuentre. Si un blastómero se remueve de un embrión temprano que tenga especificación condicional, las células embrionarias que quedan alteran su destino y compensan los roles de las células removidas. El blastómero aislado puede también dar origen a una variedad de tipos de células. Por lo tanto, la especificación condicional da origen a un patrón de embriogénesis llamado desarrollo regulativo. Este patrón es visto en la mayoría de embriones de vertebrados, y es crítico en el desarrollo de gemelos idénticos. En la formación de estos gemelos, las células en estado de clivaje de un solo embrión se dividen en dos grupos, y cada grupo de células produce un individuo completamente desarrollado.

#### **4.14. ORGANOGÉNESIS.**

La organogénesis es el conjunto de cambios que permiten que las capas embrionarias (ectodermo, mesodermo y endodermo) se transformen en los diferentes órganos que conforman un organismo.

La embriología humana define como organogénesis el período comprendido entre la tercera y la octava semana de desarrollo. En esta etapa (3.<sup>a</sup> semana), primero se produce el paso de embrión bilaminar a trilaminar (gastrulación); dando lugar al ectodermo, el mesodermo y el endodermo embrionario. Estos a su vez, en las siguientes semanas, se diferenciarán y especializarán dando lugar a los diferentes órganos del cuerpo, cuyos esbozos quedarán conformados antes del tercer mes de gestación (período fetal).

El período de organogénesis corresponde a la etapa más delicada y en el que las influencias externas van a producir mayores consecuencias adversas, al condicionar el buen desarrollo de los diversos órganos del cuerpo humano.

El ectodermo (del griego ecto, "externo" y derma, "piel") una de las tres capas germinales del embrión, y la primera en formarse. Se forma durante la fase de blástula. De él surgirán el endodermo y el mesodermo durante la gastrulación.

Emerge primero del epiblasto durante la gastrulación y forma la capa externa de las capas germinativas.

De forma general, el ectodermo se diferencia para formar el sistema nervioso (médula espinal, nervios periféricos y cerebro), el esmalte dental y la epidermis (las partes externas del integumento). También forma el revestimiento de la boca, ano, fosas nasales, glándulas sudoríparas, pelo, uñas y algo más.

En los vertebrados, el ectodermo puede formarse por invaginación (formación del repliegue de una membrana, capa de tejido u hoja blastodérmica que se dirige hacia el interior de una pared intestinal) o epibolia (los micrómeros o pequeños blastómeros se multiplican rápidamente y se sitúan rodeando a los macrómeros o blastómeros grandes) y se divide en tres partes: ectodermo externo (o ectodermo superficial), cresta neural y tubo neural. Las dos últimas también se conocen como neuroectodermo.

El ectodermo externo se diferencia en los tejidos epiteliales:

- Pelos.
- Uñas.
- Plumas.
- Cuernos.
- Pezuñas.
- Boca y epitelio de la cavidad nasal.
- Córnea.
- Glándulas de la piel.
- Glándulas mamarias.

y las glándulas anexas a ésta (por ejemplo: las sudoríparas) así como las mucosas de las aberturas naturales del cuerpo (cavidad bucal, fosas nasales, etc).

También forma el epitelio de revestimiento y glandular de: tubo digestivo, hígados, vías biliares y páncreas; vías respiratorias; vesícula, uretra y próstata; tiroides, paratiroides y timo.

A partir de la cresta neural se forman los melanocitos, el sistema nervioso periférico, el cartílago facial y los dientes, y las células de las líneas germinales de ovocitos y espermatozoides.

A partir de la cresta neural se forman los melanocitos, el sistema nervioso periférico, el cartílago facial y los dientes, y las células de las líneas germinales de ovocitos y espermatozoides.

El mesodermo es una de las tres hojas embrionarias o capas celulares que constituyen el embrión. Su formación puede realizarse por enterocelia o esquizocelia a partir de un blastocisto en el proceso denominado gastrulación.

El endodermo es la capa de tejido fetal más interna y delgada de las tres capas en las que se divide los tejidos del embrión animal (o capas germinativas).

Dependiendo de grupo animal, las células embrionarias se pueden diferenciar en dos (animales diblásticos) o en tres (triblásticos) capas germinativas.

A lo largo del proceso de la organogénesis la forma de las células que forman el endodermo van variando. Inicialmente observamos una forma aplanada, mientras que hacia el final del proceso las células adquieren forma columnal.

Al tratarse de una de las capas con más antigüedad evolutiva en la diferenciación embrionaria de los seres vivos, de ella provienen muchos de los órganos más importantes para la supervivencia del organismo.

Del endodermo derivan, entre otros:

- El tubo digestivo y sus glándulas anexas.
- El revestimiento interior de algunos órganos, como los pulmones.

- Tejido nervioso; epidermis y sus derivados (pelo, cabello, uñas, esmalte dental).
- Glándulas del tracto gastrointestinal y órganos gastrointestinales asociados como el hígado, la vesícula biliar y el páncreas.
- Epitelio o tejido conectivo que rodea: las amígdalas, la faringe, la laringe, la tráquea, los pulmones, y el tracto gastrointestinal (menos la boca, el ano, y parte de la faringe y el recto; que provienen del ectodermo).
- También forma el epitelio de la trompa de Eustaquio y la cavidad timpánica (en el oído), la vagina y la uretra.
- Vejiga urinaria.
- Saco vitelino.
- Alantoides.

En el inicio de la organogénesis, la diferenciación entre el embrión y el líquido exterior divide el endodermo en dos partes: el endodermo embrionario y extraembrionario.

#### Endodermo embrionario

Como indica su nombre, esta parte del endodermo es precursora de las estructuras en el interior del embrión.

Entre sus funciones más importantes tenemos que, junto con el mesodermo, se encargan de la formación de la notocorda. Esta determina los ejes del embrión, pero también induce el plegamiento del endodermo. El surco intestinal se invagina y acabará formando el tubo intestinal.

#### Endodermo extraembrionario

Corresponde a la parte del endodermo que se queda fuera del embrión y que conforma el saco vitelino.

El desarrollo de las extremidades se da en tres procesos: la morfogénesis, el crecimiento y el patterning. Cada extremidad tiene polaridad para diferenciar a los ejes de crecimiento (PD, AP, DV).

Las extremidades en los seres humanos se empiezan a desarrollar los 4 días de gestación en primordios.

El patterning de las extremidades depende de interacciones célula - célula y es posible distinguir dos regiones organizadoras cruciales:

- El Apical ectodermo Ridge (AER): Permite la regionalización del eje Medio - Distal (PD).
- La Zone of Polarizing Activity (ZPA): Permite la regionalización del eje Antero - Posterior (AP).

Los genes homeóticos, también conocidos como genes Hox tienen una gran importancia en la organogénesis, ya que especifican dónde se originaron las extremidades. Estos genes confieren identidad y instruyen en el mesodermo la formación del primordio. El ácido retinoico tiene un papel muy importante en la expresión de los genes Hox, y el bloqueo de este inhibe la formación de las extremidades. Cuando los genes Hox se encuentran sobreactivados o inactivados por mutaciones, es posible que lleguen a desarrollarse estructuras corporales en el lugar erróneo.

Una vez reconocido el territorio, FGF10 se secreta en el mesodermo lateral e induce la formación del primordio de las extremidades. La identidad de las extremidades viene dada por la expresión de TBX (Tbx5 por el ala, en el caso de la mosca, y Tbx4 por la pata).

#### **4.15. SECUNDARIA: INTERACCIONES EPITELIO-MESENQUIMA.**

La transición epitelio-mesénquima (*en inglés EMT*) es el proceso morfogenético mediante el cual las células de características epiteliales se transforman en células mesenquimales. Las células epiteliales deben perder su polaridad y su adherencia con otras células y ganar capacidades migratorias e invasivas. El proceso inverso es la Transición mesénquima-epitelio (MET).

La EMT es esencial para diversos procesos del Desarrollo como la formación del mesodermo, neurulación, cicatrización, fibrosis e incluso metástasis del cáncer. Y según este contexto biológico se clasifican en tres tipos: Tipo I, para el desarrollo; Tipo II, para la fibrosis y cicatrización y Tipo III para las relacionadas con cáncer.

Las células epiteliales están estrechamente conectadas en un tejido por uniones estrechas, Gap o adherentes; poseen una polaridad celular mediada por actina y componentes

del citoesqueleto y están unidas a la lámina basal de la matriz extracelular. En contraposición, las células mesenquimales carecen de polarización, poseen una morfología irregular e interactúan solo a través de uniones focales temporales, adicionalmente remodelan activamente la matriz extracelular al producir fibronectina y vimentina.

Como factores que pueden inducir la EMT encontramos: Factores de crecimiento transformantes (TGF), Factor de crecimiento fibroblástico (FGF), Factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), la vía Wnt/b-catenina, Notch, hipoxia, Ras-MAPK y Hedgehog, incluso factores ambientales como la hipoxia.

De los primeros cambios que ocurren es el mecanismo de adhesión celular que encontramos, más específicamente, la modificación en las cadherinas expresadas. En estado epitelial se mantienen expresadas E-cadherinas, pero al cambiar a estado mesenquimal se cambia la proteína de unión por N-Cadherinas.

Muchos factores de transcripción generan este cambio de cadherinas al reprimir, por ejemplo, la E-cadherina. Algunos de los más relevantes son *SNAIL1/Snail1* y *SNAIL2/Snail2*, dedos de zinc (*ZEB1*, *ZEB2*), *TCF3* y *KLF8*; estos pueden unirse al promotor de la E-cadherina y reprimir su transcripción. Adicionalmente estos factores pueden reprimir la transcripción de proteínas de unión como claudinas y desmosomas. Otros factores como *Twist*, *Gooseoid*, *TCF4*, la proteína homeótica *SIX1* y *FOXC2* reprimen la E-Cadherina indirectamente.<sup>[5]</sup> Los factores *Snail* y *Slug* pueden iniciar la disrupción desmosomal, la dispersión celular y la eliminación de límites intercelulares, llevando al primer paso de la EMT.<sup>[6]</sup>

Dentro de los reguladores de SNAIL encontramos la ruta de señalización Wnt –vía que también regula la vimentina– y que al estar activada genera una peor prognosis en pacientes de cáncer, al asociarse con metástasis. Esta vía cumple un papel importante en la EMT de la gastrulación, la formación de la válvula cardiaca y el cáncer.

Del mismo modo, los TGF activan la expresión de SNAIL y ZEB en desarrollo cardiaco y palatogénesis. La metástasis de cáncer de mama a hueso tiene señalizaciones de esta vía que contribuyen a la generación de estas lesiones

La motilidad celular, la pérdida de la expresión de citoqueratinas y la expresión de vimentinas son importantes para adquirir las habilidades migratorias e invasivas típicas de una célula mesenquimal.

Se ha visto que estos cambios pueden estar regulados por factores p63 y sus isoformas, ya que alteraciones de la expresión de este factor generan un menor adhesión célula-célula y un aumento de la capacidad migratoria de las células cancerosas, afectando directamente la expresión de citoqueratinas. El factor p63 también es regulado por *Snail/Slug*. También la PI3K, la ruta de señal Hedgehog y el factor nuclear KappaB han mostrado tener un efecto directo sobre la EMT

El proceso inverso de la EMT es la Transición mesénquima-epitelio (MET). En la cual células con elevada motilidad y de características mesenquimales se ordenan en forma epitelial, con mayor interacción celular y una polaridad marcada. Los procesos para la MET son inversos a los de la EMT.

Las células que hacen la MET expresan marcadores como la Vimentina, Fibronectina, N-Cadherina, Twist & Snail. Algunos factores de transcripción como *GRHL2* (Grainyhead-like protein), *ELF3* y *ELF5* al ser sobreexpresados pueden iniciar procesos de MET.

Desde estadios tempranos de la embriogénesis, como la implantación en la placenta, muchos procesos involucran la EMT y la MET como procesos complementarios. En este ejemplo, el trofoectodermo sufre una EMT para facilitar la invasión del endometrio, garantizando la correcta formación del embrión y por ende el transporte de gases y nutrientes entre la madre y el embrión.

Posteriormente, durante la gastrulación la EMT permite que las células crucen a través de la línea primitiva (en amniotas) o el pliegue ventral (en insectos). Las células de estos tejidos expresarán las E-cadherinas y tendrán una fuerte polaridad apico-basal. Al ser tan rápida la gastrulación, la E-cadherina se debe reprimir transcripcionalmente (*Twist*, *SNAIL* y *p38*). Esta línea primitiva, mediante invaginación, generará el mesoendodermo y posteriormente el mesodermo y endodermo a través de la EMT. Por el proceso inverso (MET) se desarrollará el tubo neural, la notocorda, la cresta neural y las somitas.

En vertebrados, la cresta neural es generada por la EMT desde células epiteliales del neuroectodermo. Estas células se disocian desde los pliegues neurales, ganan motilidad y se diseminan a varias partes del embrión.

Asimismo, el mesénquima craneofacial, que forma el tejido conectivo de cabeza y rostro, es formado desde el epitelio del tubo neural por EMT.

La EMT ayuda a la construcción de la columna vertebral a partir de la matriz extracelular, sintetizada a partir de fibroblastos y osteoblastos que rodean el tubo neural. Estas células provienen del esclerotomo y el mesénquima somático, así como la línea primitiva. La morfología mesenquimal permite a las células viajar a zonas determinadas en el embrión, donde se diferencian o inducen diferenciación por otras células.

Durante la cicatrización los queratinocitos de borde realizan la EMT y posteriormente se re-epitelizan (MET) cuando la herida se cierra. La expresión de Snail2 en el frente migratorio estimula este estado, y su sobre-expresión acelera la cicatrización. Del mismo modo, en el ciclo menstrual, la superficie de los ovarios pasa por una EMT en la cicatrización post-ovulatoria.<sup>1</sup>

El inicio de la metástasis requiere invasión, permitida mediante la EMT. Las células cancerosas de los tumores primarios pierden sus adhesiones intercelulares por una represión de E-cadherinas y la ruptura de la membrana basal, incrementando así las propiedades invasivas y permitiendo el ingreso al flujo sanguíneo por intravasación. Después, cuando estas células tumorales circulantes (CTCs) se salen de los vasos sanguíneos y forman micro-metástasis, pasan por la MET y crecimiento clonal en zonas metastáticas. Se puede apreciar entonces que la EMT y la MET están al inicio y al final del proceso de metástasis.

#### Algunos factores asociados

En procesos de metástasis se han asociado factores, como la expresión de PD-L1 en cáncer de pulmón, donde mayores niveles de este gen suprimen el sistema inmunitario y facilitan la diseminación del cáncer.

Se ha visto que la EMT se induce en las terapias de privación de andrógenos en las células metastáticas del cáncer de próstata. La activación de la EMT al inhibirse el eje de andrógenos provee un mecanismo por el cual las células tumorales pueden adaptarse y promover la

progresión y recurrencia de la enfermedad. Factores moleculares como *Brachyury*, *Axl*, *MEK* y la quinasa Aurora A promueven estos procesos de transición y sus inhibidores se encuentran en pruebas clínicas con fines terapéuticos.

De manera similar, TGF puede promover la invasión tumoral y la evasión del sistema inmunitario en estadios avanzados. Si los TGF actúan sobre células epiteliales con activación de Ras, la EMT se estimula y se inhibe la apoptosis. Este proceso se puede revertir con factores que estimulen los estadios epiteliales como GATA-3.

En melanomas el oncogén PKC- $\iota$  puede promover la invasión de células cancerosas al activar la vimentina durante la EMT. Un *knockdown* de PKC- $\iota$  resulta en un incremento de los niveles de E-cadherina y RhoA y la disminución de la vimentina total, la vimentina fosforilada (S39) y *Paró* en las células metastáticas. Esto indica que la PKC- $\iota$  está involucrada en las vías de señalización que regulan la EMT en este tipo de cáncer

También se ha visto relación entre la EMT y la resistencia a medicamentos. En cáncer de ovarios la ganancia de marcadores de EMT se ha asociado a resistencia al Paclitaxel. Del mismo modo, SNAIL genera resistencia a este mismo medicamento y a la adriamicina, radioterapia al inhibir la apoptosis mediada por p53.

Se ha visto que células que pasan por una EMT pueden ganar potencia celular, generando las células madre cancerosas (CSCs). Después de transfecciones al activarse *Ras*, una subpoblación de células adoptan los marcadores: incremento de CD44/ disminución de CD24 junto a la inducción de la EMT. Se ha visto que ZEB1 también puede dar este tipo de propiedades, estrechando la relación entre la EMT y la potencia celular. Por esto y por el aumento de la intrusividad que da a las células cancerosas, la EMT representa una mala prognosis de la enfermedad.

Adicionalmente, la inflamación, factor asociado con la progresión del cáncer y la fibrosis, puede ser inducida por procesos de EMT. También, la EMT provee de resistencia a la senescencia inducida por oncogenes. *Twist1*, *Twist2* y ZEB1 son genes que protegen las células humanas y los fibroblastos de ratón de esta senescencia.

#### **4.16. INTERACCIONES CELULARES A DISTANCIA.**

Ciertas células, como las neuronas o las células endocrinas, reaccionan a estímulos externos o necesidades internas creando y liberando moléculas señalizadoras como neurotransmisores, hormonas o quimiocinas. Estas moléculas actúan como mensajeros para comunicar mensajes a las células vecinas.

Las neuronas, como células primarias que participan en el procesamiento de la información, se presentan en una gran variedad de tipos celulares distintos, diferenciados por su morfología, ubicación, conectividad y propiedades químicas. Las diversas sustancias químicas que transmiten información entre neuronas se conocen como neurotransmisores. Debido al papel central de los neurotransmisores en la función cerebral, los receptores de neurotransmisores, junto con otras proteínas implicadas en la síntesis y desactivación de neurotransmisores, surgen como objetivos críticos en el desarrollo de medicamentos curativos para trastornos mentales y nerviosos, dolor y muchas otras afecciones. Como los neurotransmisores gaseosos, como el óxido nítrico (NO) y el monóxido de carbono (CO), desempeñan un papel regulador en la vasodilatación y la transmisión neuronal. El sistema nervioso normalmente permite que la información se transmita rápidamente entre diferentes regiones del cuerpo.

En contraste, la comunicación hormonal se basa en la síntesis y diseminación de una plétora de hormonas glandulares, junto con su transporte a través del torrente sanguíneo, lo que la hace más adecuada para situaciones que requieren acciones reguladoras más amplias y sostenidas. Estos dos sistemas de comunicación son mutuamente complementarios, con estímulos neuronales capaces de afectar la secreción de ciertas hormonas, y viceversa. Ciertas hormonas están diseñadas para interactuar exclusivamente con un conjunto limitado de células diana, mientras que otras ejercen influencia en un amplio espectro de tipos celulares en todo el organismo. Para preservar la homeostasis y adaptarse eficazmente a las alteraciones ambientales, la biosíntesis y la liberación de hormonas están sujetas a una rigurosa regulación. Este mecanismo regulador se logra mediante una compleja interacción entre múltiples hormonas, que se regulan recíprocamente, en lugar de ser gobernadas por una sola hormona. Las hormonas desempeñan un papel fundamental en la orquestación de una multitud de funciones corporales, que abarcan el crecimiento y el desarrollo, los procesos metabólicos, el equilibrio electrolítico y las funciones reproductivas.

Las citocinas son producidas por células específicas (como células inmunitarias, células endoteliales, etc.) en respuesta a estímulos específicos, como infecciones, lesiones, respuestas inflamatorias o la acción de otras citocinas, y se liberan al entorno extracelular. Las citocinas son capaces de activar diversos tipos celulares dentro de un tejido específico o iniciar vías de señalización diversificadas dentro de un tipo celular específico, ejemplificadas por las interleucinas y los interferones, regulando diversos procesos fisiológicos, que abarcan la inmunidad, el desarrollo, el crecimiento y la reparación tisular. Al actuar como mediadores fundamentales de la comunicación intercelular dentro del sistema inmunitario, la desregulación en la expresión de citocinas o sus vías de señalización intracelular altera la homeostasis inmunitaria, precipitando la aparición de patologías como la inflamación crónica, los síndromes autoinmunes y los tumores malignos.

La producción de moléculas de señalización se inicia con la expresión génica. Estímulos específicos, como señales extracelulares o cambios en los estados internos, desencadenan la transcripción y traducción de genes específicos, lo que lleva a la producción de proteínas o moléculas pequeñas como moléculas de señalización. Antes de la maduración y la activación, estas moléculas de señalización proteica suelen experimentar una secuencia de modificaciones postranscripcionales (como el empalme) y postraduccionales (como la fosforilación y la glicosilación). Mientras tanto, algunas moléculas pequeñas de señalización se sintetizan dentro de la célula mediante vías bioquímicas específicas. Antes de su liberación, las moléculas de señalización se acumulan y se almacenan en orgánulos específicos dentro de la célula. Por ejemplo, los neurotransmisores suelen almacenarse en las vesículas sinápticas de las neuronas presinápticas.

Cuando las células reciben estímulos para liberar moléculas de señalización, como señales eléctricas, químicas o mecánicas, las vesículas que almacenan estas moléculas de señalización se mueven a la proximidad de la membrana celular y se fusionan con ella. A través de la exocitosis, las moléculas de señalización se liberan fuera de la célula, un proceso que es particularmente importante para las proteínas y ciertas moléculas de señalización molecular grande. Por otro lado, algunas moléculas pequeñas y moléculas de señalización lipofílicas pasan directamente a través de la membrana celular para entrar o salir de la célula sin procesos mediados por vesículas. Además del NO y el CO, el sulfuro de hidrógeno es otra molécula de señalización

gaseosa bien reconocida. Estas moléculas gaseosas son únicas en su modo de acción, ya que pueden difundirse libremente a través de las membranas celulares, lo que permite una señalización rápida sin la necesidad de receptores específicos o mecanismos de transporte para su liberación y acción.

#### **4.17. CONTROL HORMONAL**

La señalización paracrina es una forma de señalización celular en la que una célula secreta una molécula de señalización que induce cambios en las células cercanas, alterando el comportamiento o la diferenciación celular de esas células. Las moléculas conocidas como factores paracrinos se difunden sobre distancias relativamente cortas y ejercen su acción sobre células vecinas, a diferencia de los factores endocrinos. Los exosomas como estructuras vesiculares, son portadores de señales moleculares que favorecen la comunicación paracrina intercelular.<sup>[1]</sup>

El efecto de los factores paracrinos en las células circundantes depende del gradiente de su concentración. La distancia exacta que puede viajar un factor paracrino no se conoce con certeza. Entre los ejemplos de moléculas paracrinas se encuentran las citocinas, el factor de la coagulación espermática, el factor de crecimiento, la somatostatina y la histamina, entre otros. Para que los factores paracrinos puedan inducir una respuesta en la célula receptora, esta debe poseer los receptores adecuados en la membrana celular. Las respuestas que presentan las células inducidas tras la unión del factor paracrino a su receptor son de rango diverso. La mayor parte de los factores paracrinos utilizan un grupo relativamente pequeño y conservado de receptores y rutas de señalización, incluso en diferentes órganos y especies.

Para que los factores paracrinos puedan inducir una respuesta en la célula receptora, esta debe poseer los receptores adecuados en la membrana celular. A pesar del rango diverso de respuestas que presentan las células inducidas tras la unión del factor paracrino a su receptor, la mayor parte de los factores paracrinos utilizan un grupo relativamente pequeño y conservado de receptores y rutas de señalización, incluso en diferentes órganos y especies. Las vías y receptores principales pueden ser organizados en cuatro familias principales de acuerdo a la similitud de sus estructuras: la familia del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), la familia Hedgehog, la familia Wnt, y la superfamilia TGF- $\beta$ .

## Factor de crecimiento de fibroblastos (FGF)

Aunque la familia de factores paracrinos FGF tienen un amplio rango de funciones, los mayores descubrimientos soportan la idea de que principalmente estimulan la proliferación y diferenciación celular. Para desempeñar tan diversas funciones, los FGF pueden ser ajustados en forma alternativa, o incluso tener diferentes codones de iniciación, consiguiendo de esta forma crear cientos de diferentes isoformas de FGF.

Una de las funciones más importantes de los receptores para FGF (FGFR) se encuentra en el desarrollo de las extremidades. Esta señalización involucra nueve isoformas diferentes del receptor obtenidos por ajuste diferencial. Los *Fgf8* y *Fgf10* son dos jugadores críticos en el desarrollo de las extremidades. En la iniciación del desarrollo de las extremidades y en el crecimiento de las mismas en ratones, las señales axiales provenientes del mesodermo intermedio producen *Tbx5*, el cual subsecuentemente envía una señal al mesodermo para producir *Fgf10*. El *Fgf10* posteriormente señala al ectodermo que comience la producción de *Fgf8*, el cual además estimula la producción de *Fgf10*. La delección de *Fgf10* provoca ratones sin miembros

La señalización paracrina a través de los factores de crecimiento de fibroblastos (FGF) y sus respectivos receptores (FGFR) hacen uso de la vía de receptores tirosina quinasa. Esta vía de señalización ha sido muy estudiada, utilizando los ojos de *Drosophila* y los cánceres humanos.

La unión de los FGF a los FGFR fosforila a la quinasa inactiva y activa la vía de las RTK. Esta vía comienza en la superficie de la membrana celular, donde un ligando se une a su receptor específico. Los ligandos que se unen a los RTKs incluyen los factores de crecimiento de fibroblastos, factores de crecimiento epidérmico, factores de crecimiento derivados de plaquetas, y factor de células madres.<sup>1</sup> Esto provoca que el receptor transmembrana se dimerice con otro receptor RTK, lo que causa la autofosforilación y el subsecuente cambio conformacional del receptor homodimerizado. Este cambio conformacional activa el sitio quinasa inactivo de cada RTK sobre un residuo de tirosina. Debido al hecho de que el receptor se extiende atravesando la membrana a partir del ambiente extracelular, a través de la bicapa lipídica, y al interior del citoplasma, la unión del receptor al ligando además causa la transfosforilación del dominio citoplasmático del receptor.<sup>1</sup>

Una proteína adaptadora (tal como la SOS) reconoce a la tirosina fosforilada en el receptor. Esta proteína funge como puente que conecta al RTK a una proteína intermedia (tal como la GNRP), comenzando la cascada de señalización intracelular. Mientras tanto, la proteína intermedia estimula a la Ras unida a GDP para formar Ras activa unida a GTP. La GAP finalmente regresa a la Ras a su estado inactivo. La activación de la Ras tiene el potencial de iniciar tres vías de señalización corriente abajo: la vía Ras→Raf→MAP quinasa, la vía de la quinasa PI3, y la vía de la Ral. Cada vía conduce a la activación de factores de transcripción los cuales ingresan al núcleo para alterar la expresión de genes

#### **4.18. FORMACIÓN DEL PATRÓN**

La formación de patrones en biología del desarrollo es el proceso por el cual las células inicialmente equivalentes en un embrión en desarrollo adquieren diferentes identidades y se organizan en estructuras complejas. Este proceso es crucial para la correcta organización espacial de tejidos y órganos, permitiendo el desarrollo de organismos multicelulares complejos.

Conceptos clave en la formación de patrones:

- Gradientes de señalización:

Las células determinan su posición y destino en el embrión gracias a la recepción de señales químicas, como los morfógenos, que crean gradientes de concentración y establecen patrones de expresión génica.

- Interacciones célula-célula:

Las células interactúan entre sí a través de señales químicas y físicas, lo que influye en su diferenciación y en la organización espacial de los tejidos.

- Homeobox genes:

Estos genes codifican factores de transcripción que regulan la expresión de otros genes y desempeñan un papel fundamental en la determinación de la identidad posicional de las células durante el desarrollo.

- Compartimentalización:

El desarrollo del embrión se divide en compartimentos, regiones con límites definidos donde las células comparten una identidad común y tienen restricciones sobre su capacidad de moverse o cambiar su destino.

Importancia de la formación de patrones:

- Desarrollo de órganos y tejidos:

La formación de patrones es esencial para la correcta formación de órganos, tejidos y estructuras corporales complejas.

- Ejes corporales:

La formación de patrones establece los ejes corporales (anterior-posterior, dorsal-ventral, etc.), que son fundamentales para la organización espacial del embrión.

- Desarrollo de la simetría bilateral:

La formación de patrones juega un papel clave en la determinación de la simetría bilateral de los organismos.

#### **4.19. BIOLOGÍA DEL DESARROLLO E INQUIETUDES HUMANAS**

La biología del desarrollo se centra en cómo un organismo pasa de ser una única célula a un individuo complejo, explorando los procesos de crecimiento, diferenciación celular y formación de tejidos. Esta disciplina se relaciona con inquietudes humanas al abordar temas como la salud reproductiva, el desarrollo infantil, la prevención de defectos congénitos y la comprensión de enfermedades relacionadas con el desarrollo.

La Biología del Desarrollo y sus Inquietudes:

- Salud reproductiva:

La biología del desarrollo estudia la formación de gametos, la fertilización y el desarrollo embrionario temprano, lo que es crucial para entender la fertilidad, el embarazo y las posibles complicaciones.

- Desarrollo infantil:

Esta disciplina investiga cómo los niños crecen y maduran, incluyendo el desarrollo físico, cognitivo y social, lo que ayuda a identificar y abordar problemas de desarrollo.

- Defectos congénitos:

La biología del desarrollo es fundamental para comprender las causas de las malformaciones congénitas y desarrollar estrategias para su prevención y tratamiento, así como para el diagnóstico prenatal.

- Enfermedades relacionadas con el desarrollo:

Muchos problemas de salud, como ciertos tipos de cáncer y enfermedades cardíacas, tienen raíces en el desarrollo embrionario. La biología del desarrollo ayuda a investigar estas conexiones y a buscar tratamientos más efectivos.

- Ingeniería de tejidos y medicina regenerativa:

Los principios de la biología del desarrollo son esenciales para la ingeniería de tejidos, que busca crear tejidos y órganos artificiales para trasplantes y tratamientos de enfermedades.

- Consideraciones éticas:

La biología del desarrollo plantea dilemas éticos sobre temas como la reproducción asistida, la manipulación genética y la clonación, que requieren una reflexión cuidadosa sobre el valor de la vida humana.

En resumen, la biología del desarrollo no solo es una ciencia fascinante que estudia el proceso de la vida, sino que también tiene un impacto profundo en la salud humana y en las decisiones que tomamos como sociedad.

## Bibliografía básica y complementaria

- Gilbert, S.F. 2003. Biología del desarrollo. 7ª. Edición. Editorial Medica Panamericana. Universidad de Murcia, España.
- López-Serna, Norberto. 2012. Biología del desarrollo. Cuaderno de trabajo. Editorial McGraw-Hill
- Carlson, Bruce. 2014. Embriología Humana y Biología del Desarrollo. Quinta Edición. Elsevier. Barcelona, España.
- Munkocsy E. y Pickering A. 2021. Handbook of the biology of aging. Model Organisms (Invertebrates). Academic Press. 199-217.
- Su, J., Song, Y., Zhu, Z. et al. Cell–cell communication: new insights and clinical implications. *Sig Transduct Target Ther* **9**, 196 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01888-z>
- Rojas M. Signore I. Mejias R. 2014. Morfógenos durante el Desarrollo embrionario de vertebrados. *Int. J. Morphol.*, 32(1):319-326, 2014. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022014000100051>