

LABORATÓRIO DE EMBRIOLOGIA MOLECULAR DE VERTEBRADOS
 Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento – ICB-USP

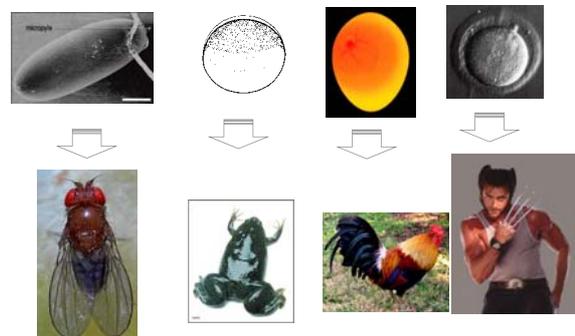
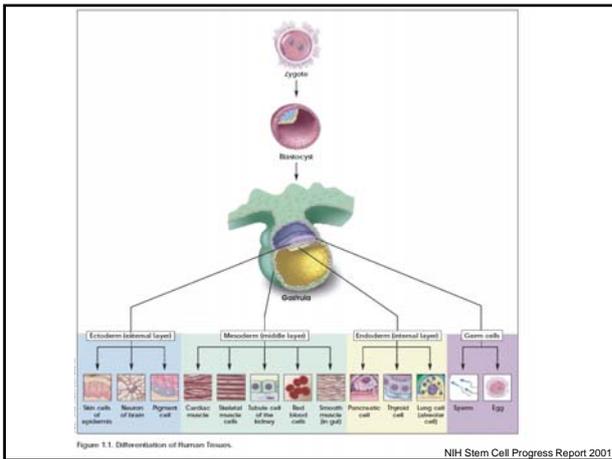
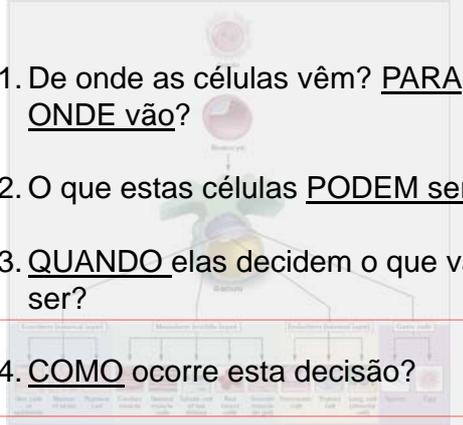


Vias de sinalização em desenvolvimento



Magritte, 1936

Vias de sinalização em desenvolvimento

1. De onde as células vêm? PARA ONDE vão?
2. O que estas células PODEM ser?
3. QUANDO elas decidem o que vão ser?
4. COMO ocorre esta decisão?

Figure 1.1. Differentiation of Human Tissues. NIH Stem Cell Progress Report 2001

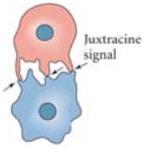
Existem várias modalidades de comunicação intercelular:

Por contato direto

Por difusão de proteínas extracelulares

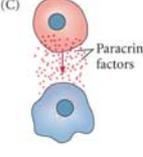
Por matriz extracelular

(B)



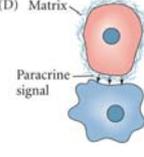
Juxtacrine signal

(C)

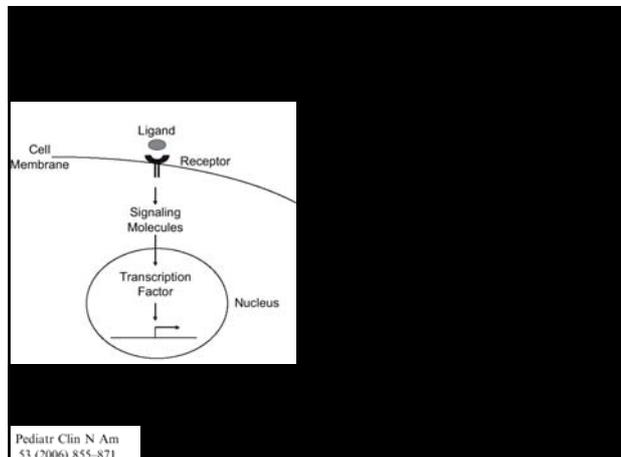


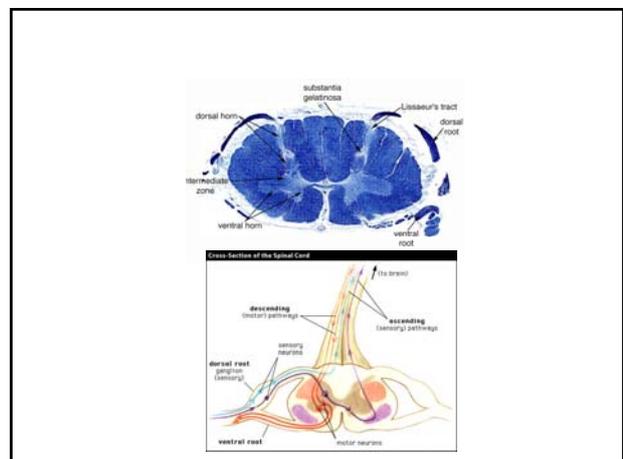
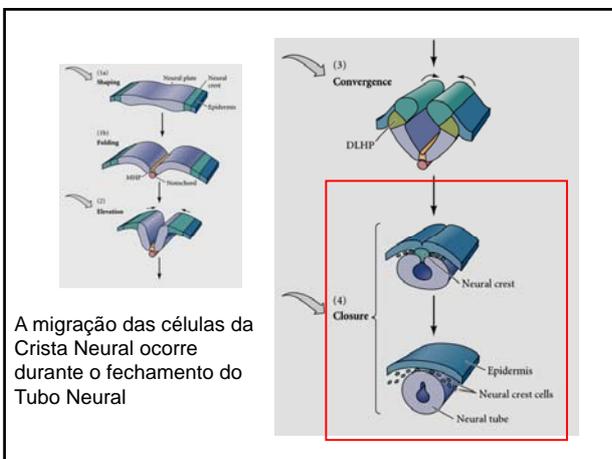
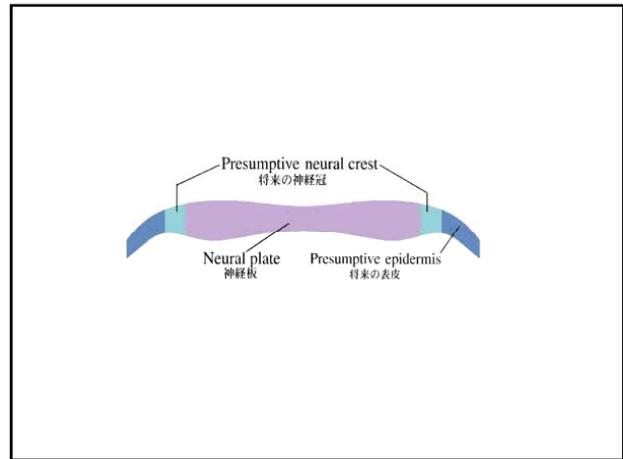
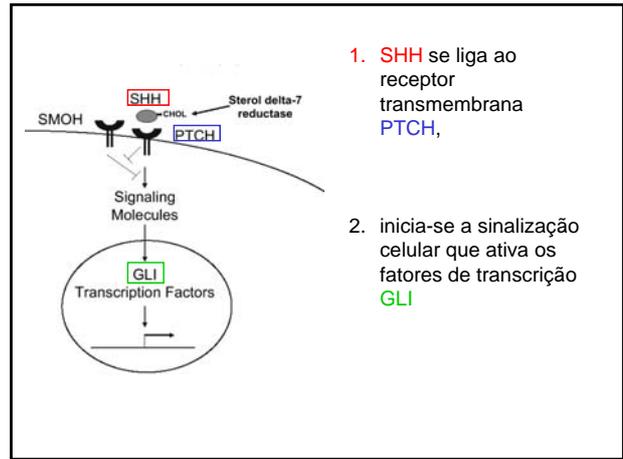
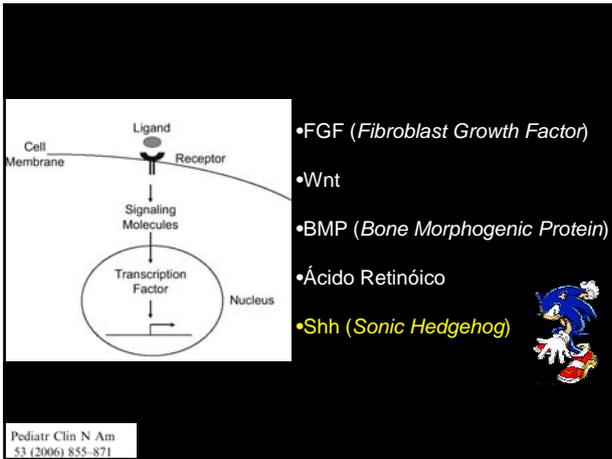
Paracrine factors

(D)

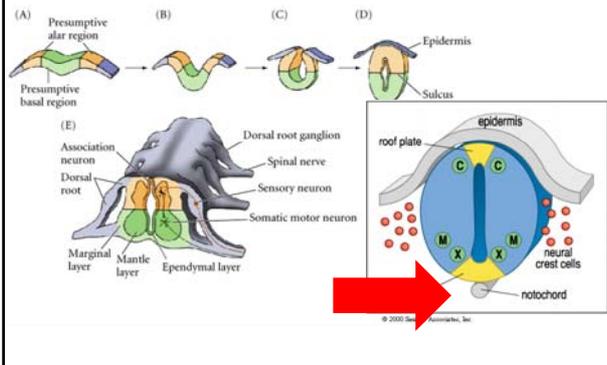


Matrix
Paracrine signal



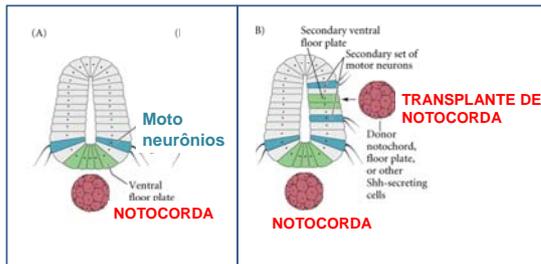


Na região da medula espinhal, os motoneurônios ficam próximos da NOTOCORDA.



SERÁ QUE A NOTOCORDA DETERMINA ONDE SERÃO FORMADOS OS MOTONEURÔNIOS?

Comprovação: Transplante de notocorda na região lateral induz motoneurônios



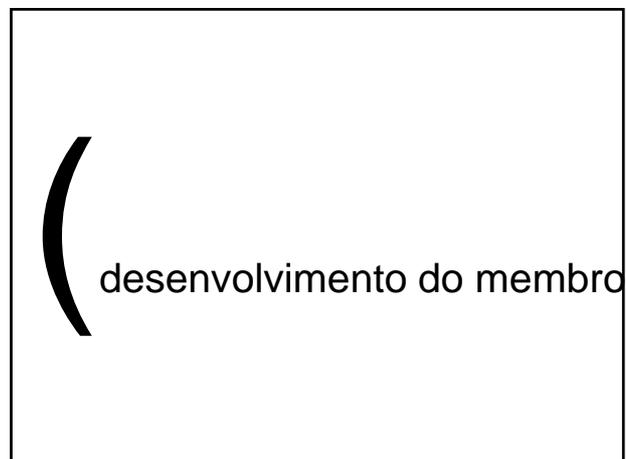
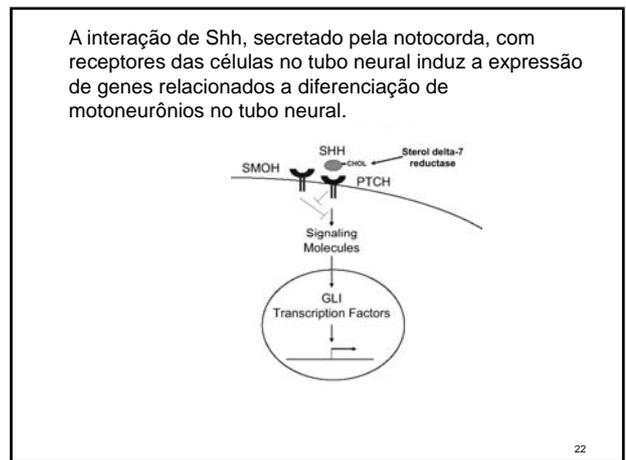
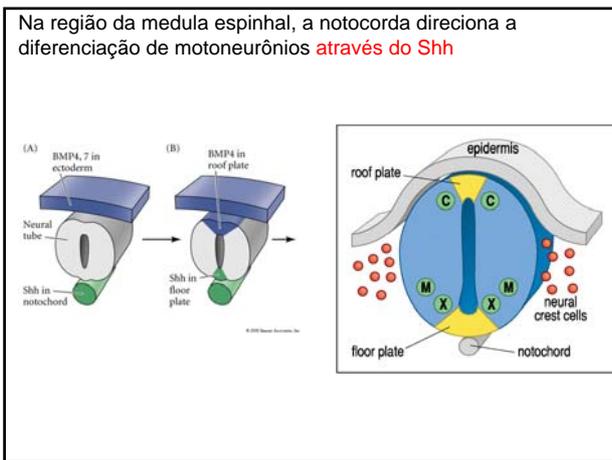
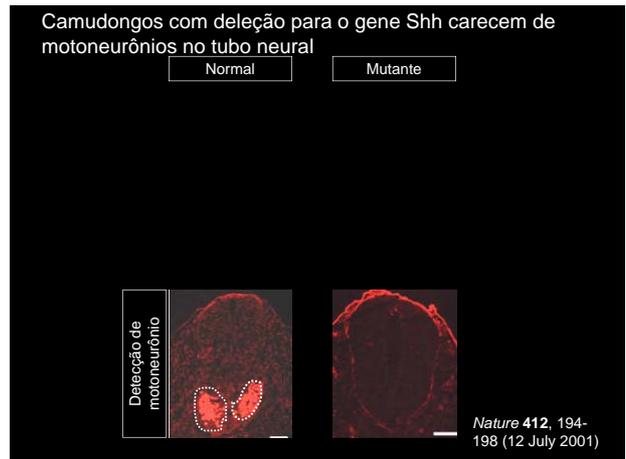
COMO que a notocorda determina onde serão formados os motoneurônios?

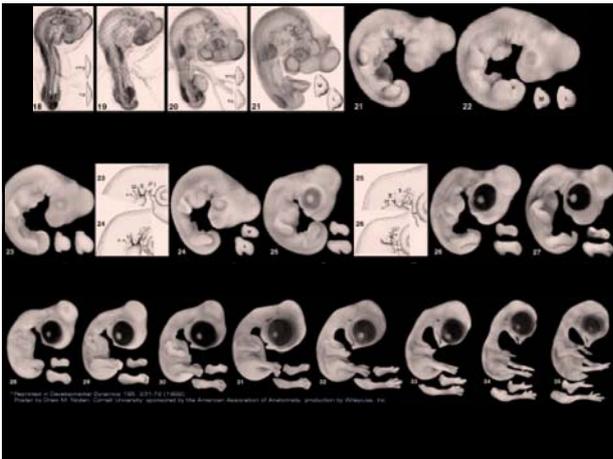
COMO que a notocorda determina onde serão formados os motoneurônios?

- a) Proteína nuclear?
- b) Proteína citoplasmática?
- c) Proteína de membrana?
- d) Proteína secretada?

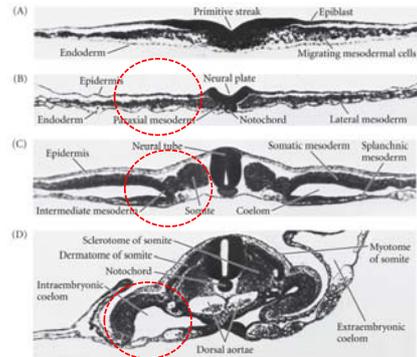
COMO que a notocorda determina onde serão formados os motoneurônios?

- a) Proteína nuclear?
- b) Proteína citoplasmática?
- c) Proteína de membrana?
- d) Proteína secretada?

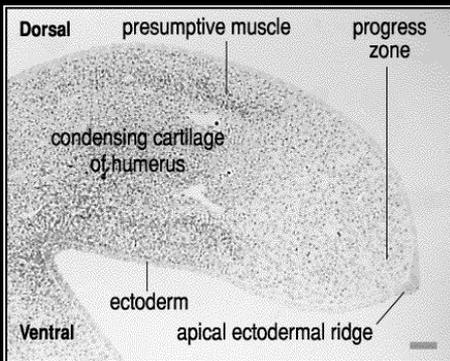




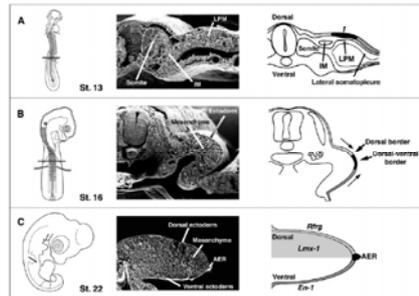
O broto do membro é composto de ectoderma e mesoderma



Em aves e mamíferos existe um espessamento distal da ectoderme do broto do membro: a PREGA ECTODÉRMICA APICAL (AER)



As fases desenvolvimento do broto do membro :

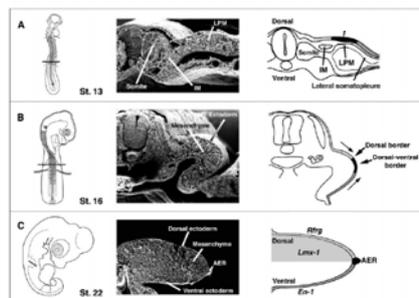


1. Definição do campo do membro
2. Crescimento do broto
3. Definição dos eixos

Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 2001. 17:87-132



As fases desenvolvimento do broto do membro :



1. Definição do campo do membro
2. Crescimento do broto
3. Definição dos eixos

Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 2001. 17:87-132

- O membro tem 3 eixos:
- 1) antero-posterior = dedão- mindinho
 - 2) Dorso-ventral = costas-palma
 - 3) Proximo-distal= ombro-mão

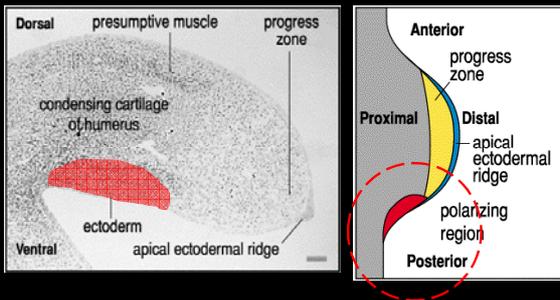


Eixo Antero-posterior

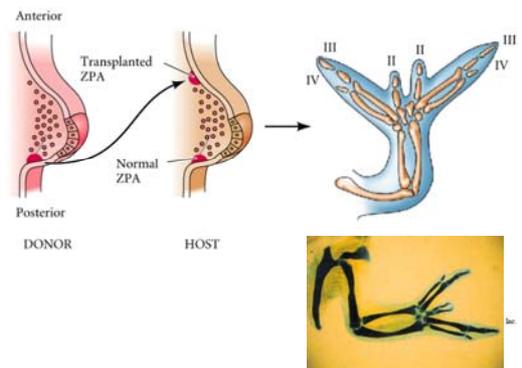
(ordem dos dígitos)



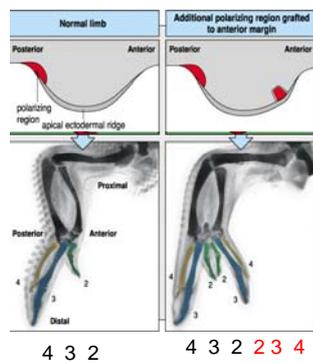
Existe uma região no broto de membro que é responsável pela definição do eixo Antero-Posterior: a Zona Polarizadora



Duplicação da Zona Polarizadora por transplante resulta em **duplicação especular** dos dígitos

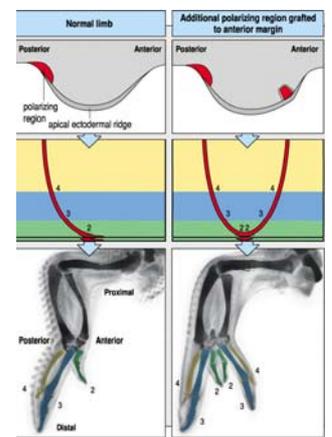


Duplicação da Zona Polarizadora por transplante resulta em **duplicação especular** dos dígitos



Concentrações altas de X induzem a formação de dígitos mais posteriores

Que tipo de molécula é X?



O Shh (Sonic Hedgehog) é expresso na Zona Polarizadora

Shh: Proteína secretada no meio extracelular

O Shh (Sonic Hedgehog) é expresso na Zona Polarizadora

Shh: Proteína secretada no meio extracelular

O Shh (Sonic Hedgehog) é expresso na Zona Polarizadora de TODOS os membros

O Shh (Sonic Hedgehog) é expresso na Zona Polarizadora de TODOS os membros

Shh: Proteína secretada no meio extracelular

SERÁ QUE O SHH É RESPONSÁVEL PELA ATIVIDADE DA ZONA POLARIZADORA??

OU SEJA, SERÁ QUE O SHH DETERMINA A ORDEM DOS DÍGITOS?

A implantação de vírus que secretam Shh no primórdio do membro tem o mesmo efeito que o transplante da região polarizadora

A superexpressão de Shh nos membros causa polidactilia

Maas e Falon, 2005

SERÁ QUE O SHH É RESPONSÁVEL PELA ATIVIDADE DA ZONA POLARIZADORA??

OU SEJA, SERÁ QUE O SHH DETERMINA A ORDEM DOS DÍGITOS?

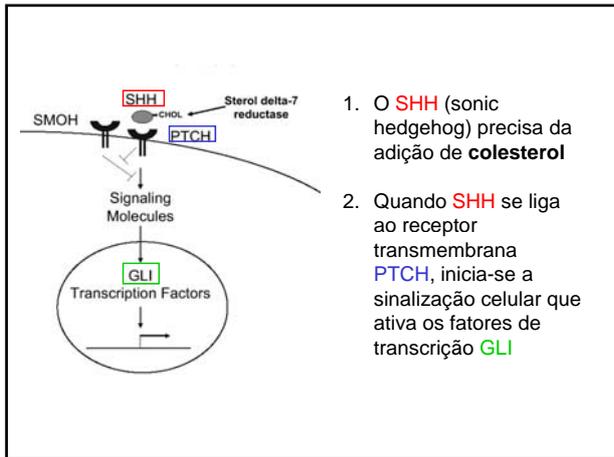
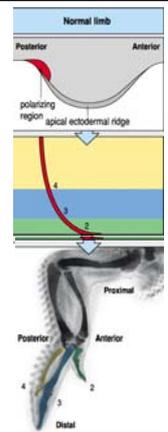


Concentrações altas de X induzem a formação de dígitos mais posteriores
Que tipo de molécula é X?

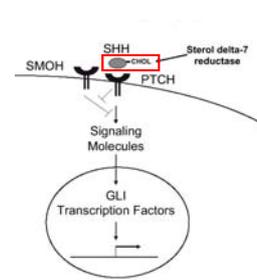
O Shh é transcrito e traduzido pela Zona Polarizadora e secretado no meio extracelular

Altas concentração de Shh = posterior= dedo mindinho

Baixas concentração de Shh= anterior= polegar

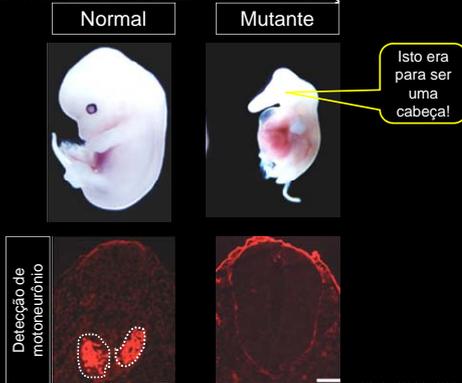


Efeito teratogênico de inibidores da via metabólica do colesterol



Ciclopia

Camundongos com deleção para o gene Shh carecem de motoneurônios E TEM DEFEITOS NA CABEÇA

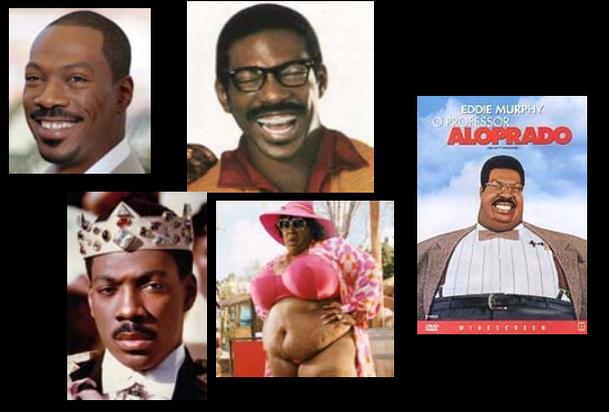


Gene mutated	Disease	Inheritance	Manifestations
SHH	Holoprosencephaly	AD	Variable midline defects (single maxillary incisor, hypotelorism, holoprosencephaly, cyclopia)
sterol delta-7-reductase	Smith-Lemli-Opitz	AR	Syndactyly, polydactyly, upturned nose, ptosis, cryptorchidism, CNS hypoplasia, holoprosencephaly
PTCH-1	Gorlin syndrome	AD	Dysmorphic features (short metacarpals, rib defects, broad face, dental abnormalities), cancer predisposition (rhabdomyosarcoma, medulloblastoma)
PTCH-1 or -2	Tumor suppressors	Somatic	Basal cell carcinomas, medulloblastomas
SMOH	Oncogene	Somatic	Basal cell carcinomas, medulloblastomas
GLI1	Oncogene	Somatic	Glioblastoma, osteosarcoma, rhabdomyosarcoma, B cell lymphomas
GLI3	Greig syndrome	AD	Hypertelorism, syndactyly, preaxial polydactyly, broad thumbs and great toes
	Pallister-Hall syndrome	AD	Postaxial polydactyly, syndactyly, hypothalamic hamartomas, imperforate anus
	Postaxial polydactyly A	AD	
	Preaxial polydactyly IV	AD	

Abbreviations: AD, autosomal dominant; AR, autosomal recessive.

Pediatr Clin N Am 53 (2006) 855-871

Síndromes = Efeito Eddie Murphy



Cell Membrane

Ligand

Receptor

Signaling Molecules

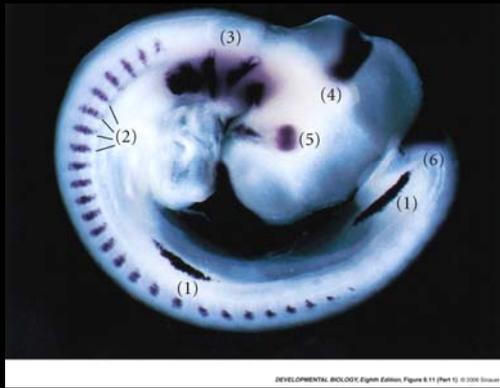
Transcription Factor

Nucleus

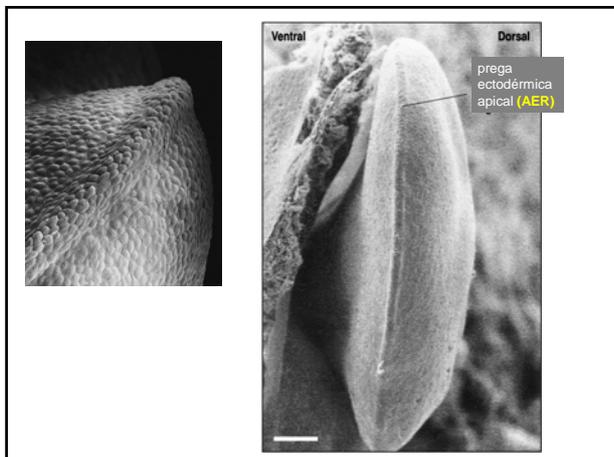
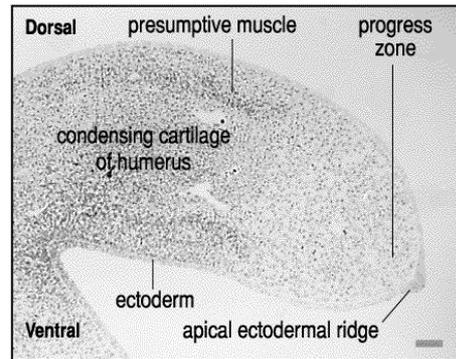
- FGF (*Fibroblast Growth Factor*)
- Wnt
- BMP (*Bone Morphogenic Protein*)
- Ácido Retinóico
- Shh (*Sonic Hedgehog*)

Pediatr Clin N Am
53 (2006) 855-871

FGF8 é produzido pelos arcos branquiais, somitos, istmo, olhos e broto do membro



Em aves e mamíferos existe um espessamento distal da ectoderme do broto do membro: a PREGA ECTODÉRMICA APICAL (AER)

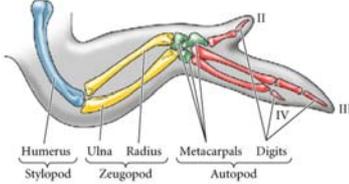


Eixo Proximo-distal

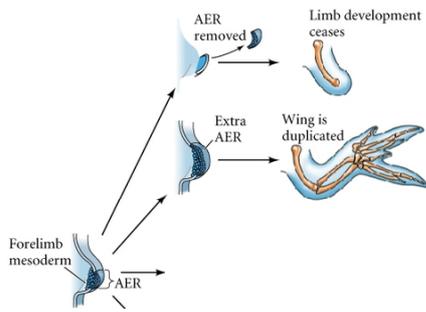
(braço, antebraço e mão)



Na sequência próximo-distal, o membro é subdividido em:
Estilópodo -> Zeugópodo -> Autópodo



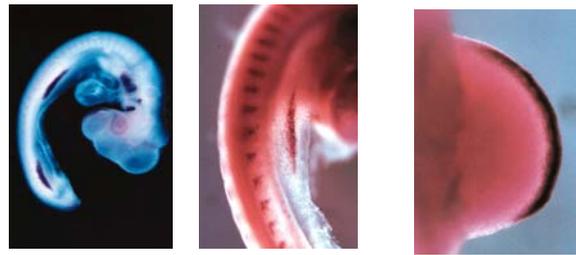
O esqueleto do membro desenvolve-se no sentido próximo-distal, i.e. estruturas mais proximais surgem primeiro.



A prega ectodérmica apical (AER) define o crescimento do membro

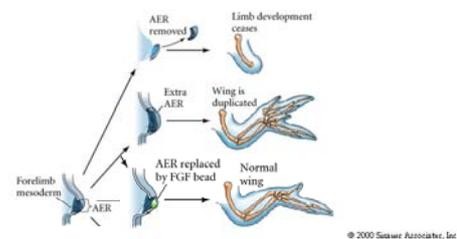
O FGF8 é expresso na prega ectodérmica apical

FGF: Proteína extracelular secretada



Hipótese:

O FGF8 no Prega Ectodérmica Apical é responsável pelo crescimento do broto do membro.



A ausência da prega ectodérmica apical (AER) pode ser compensada por FGF8

Hipótese:

O FGF8 no Prega Ectodérmica Apical é responsável pelo crescimento do broto do membro.

ENTÃO....

Se não tiver FGF8 não tem membro??!!

Camundongos mutantes com deleção genômica para FGF8 são normais !!!!

E AGORA????? Jogo a hipótese no lixo?



Boulet et al, 2004

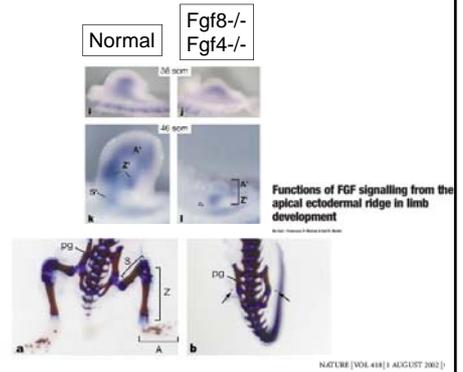
FGF LIGANDS			FGF RECEPTORS							
SUBFAMILY	LIGAND	ALTERNATIVE NAME	FGFR1	FGFR2	FGFR3	FGFR4	FGFR5	FGFR6	FGFR7	
FGF-1	FGF-1	FGF acifis	*	*	*	*	*	*	*	
	FGF-2	FGF basic	*	*	*	*	*	*	*	
FGF-4	FGF-4	h.FGF, hsp-1	*	*	*	*	*	*	*	
	FGF-5	h.FGF-5	*	*	*	*	*	*	*	
FGF-7	FGF-7	h.FGF-7	*	*	*	*	*	*	*	
	FGF-10	h.FGF-10	*	*	*	*	*	*	*	
FGF-17	FGF-17	h.FGF-17	*	*	*	*	*	*	*	
	FGF-18	h.FGF-18	*	*	*	*	*	*	*	
FGF-8	FGF-8	h.FGF-8	*	*	*	*	*	*	*	
	FGF-16	h.FGF-16	*	*	*	*	*	*	*	
FGF-9	FGF-9	h.FGF-9	*	*	*	*	*	*	*	
	FGF-20	h.FGF-20	*	*	*	*	*	*	*	
FGF-11	FGF-11	h.FGF-11	*	*	*	*	*	*	*	
	FGF-12	h.FGF-12	*	*	*	*	*	*	*	
FGF-19	FGF-19	h.FGF-19	*	*	*	*	*	*	*	
	FGF-21	h.FGF-21	*	*	*	*	*	*	*	

R&D systems

Existem outros FGFS além de FGF 8, i.e. os ligantes FGF constituem uma grande família

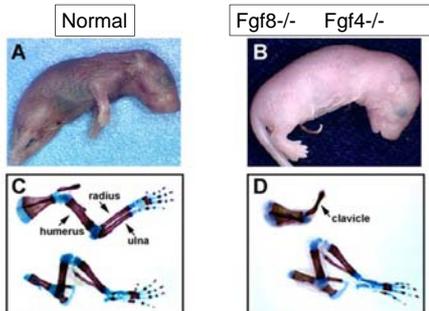


Camundongos com deleção genômica para FGF8 E FGF4 não apresentam membros



NATURE [VOL. 418] | AUGUST 2002

Camundongos com deleção genômica para FGF8 E FGF4 não apresentam membros



Boulet et al, 2004

OU seja, o FGF 4 pode agir como “estepe” do FGF8 quando este está ausente



Isto também quer dizer que normalmente, tanto FGF8 quanto FGF4 cooperam para que o plano final se concretize



RESUMINDO...

Uma única via de sinalização está presente em vários momentos e locais da embriogênese.



A mesma via de sinalização tem **vários membros da família** que agem normalmente em conjunto e podem **compensar** pela ausência de um membro.



Redundância de sinalização é importante!



Cinto e suspensórios

Modificado de S. Gilbert

LABORATÓRIO DE EMBRIOLOGIA MOLECULAR DE VERTEBRADOS
Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento – ICB-USP



Maraysa Melo/ Felipe Viecelli

Estará aula estará disponível no site
<http://www.biocel.icb.usp.br/~ireneyan/index.htm>

a partir da primeira semana de Agosto