

## DESENVOLVIMENTO DE ORGANISMOS MULTICELULARES

Animais e plantas iniciam a sua vida como uma célula única – um óvulo fertilizado, ou zigoto. Durante o desenvolvimento, essa célula divide-se repetidamente para produzir diversos tipos de células diferentes, arranjadas em um padrão final de complexidade e precisão espetaculares. O objetivo da biologia celular do desenvolvimento é a compreensão dos mecanismos celulares e moleculares que controlam essas transformações fantásticas. Plantas e animais possuem diferentes estilos de vida e utilizam diferentes estratégias de desenvolvimento; neste texto, vamos nos concentrar nos animais. Quatro processos são fundamentais para o desenvolvimento animal: (1) proliferação celular, com a produção de diversas células a partir de uma única célula inicial; (2) interações célula-célula, que coordenam o comportamento de cada célula com aqueles das suas vizinhas; (3) especialização celular, ou diferenciação, que dá origem a células com diferentes características em localizações distintas; e (4) movimento celular, que rearranja as células, formando tecidos organizados e órgãos (Figura 21-1).

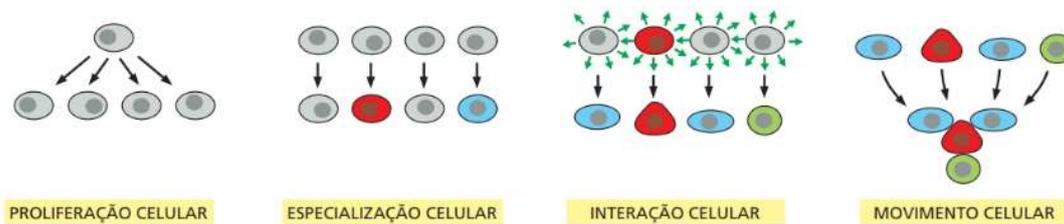


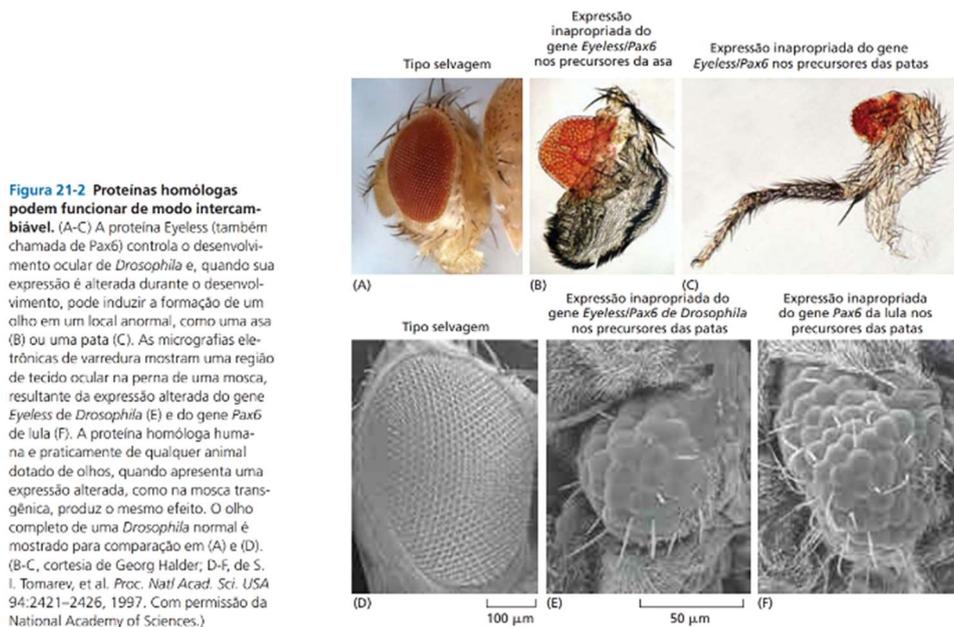
Figura 21-1 Os quatro processos celulares essenciais que possibilitam a construção de um organismo multicelular.

É no quarto processo que o desenvolvimento de plantas difere radicalmente: as células vegetais não são capazes de migrar ou de se mover de forma independente no embrião, pois cada célula está contida em uma parede celular, por meio da qual está conectada às células adjacentes. Em um embrião animal em desenvolvimento, os quatro processos fundamentais ocorrem em uma diversidade caudoscópica de modos enquanto dão origem às diferentes partes do organismo. Assim como os membros de uma orquestra, as células de um embrião devem desempenhar seus papéis individuais de maneira altamente coordenada. No entanto, não há um regente no desenvolvimento embrionário – nenhuma autoridade central – controlando o processo. Ao contrário, o desenvolvimento é um processo de organização própria, onde as células, conforme crescem e proliferam, organizam-se em estruturas de complexidade crescente. Cada uma das milhões de células deve tomar a decisão de como se comportar, utilizando de modo seletivo as instruções genéticas contidas em seus cromossomos.

Em cada etapa do seu desenvolvimento, as células encontram um conjunto limitado de opções, de modo que sua via de desenvolvimento se ramifica repetidas vezes, refletindo um grande conjunto de escolhas sequenciais. Assim como as decisões que tomamos em nossas vidas, as escolhas feitas pelas células são baseadas em suas condições internas – que refletem a sua história – e na influência recebida de outras células, sobretudo as que se localizam próximas. Para compreender o desenvolvimento, precisamos saber como cada escolha é controlada, e isso depende das escolhas feitas previamente. Além disso, precisamos compreender como tais escolhas, uma vez feitas, influenciam a química e o comportamento da célula, e como o comportamento de diferentes células atua de modo sinérgico para determinar a estrutura e função do corpo. Conforme as células se tornam especializadas, elas alteram não apenas a sua química, mas também sua forma e conexão com outras células e com a matriz extracelular. Elas se deslocam e se organizam, dando origem à arquitetura complexa do corpo, com todos os seus tecidos e órgãos, cada um estruturado de modo preciso e com tamanho definido. Para compreender tal processo de origem da forma, ou morfogênese, devemos considerar as interações mecânicas e bioquímicas entre as células.

À primeira vista, ninguém espera que o verme, a mosca, a águia e a lula-gigante tenham sido gerados pelos mesmos mecanismos de desenvolvimento, assim como não se espera que os mesmos

métodos tenham sido usados para fazer um sapato e um avião. De forma surpreendente, no entanto, pesquisas realizadas nos últimos 30 anos relevam que grande parte da maquinaria básica do desenvolvimento é essencialmente a mesma em todos os animais – não apenas nos vertebrados, mas também em todos os principais filos de invertebrados. As moléculas reconhecidamente semelhantes e evolutivamente relacionadas definem os tipos de células animais especializadas, marcam as diferenças entre as regiões do corpo e ajudam a criar o padrão corporal animal. As proteínas homólogas são, com frequência, funcionalmente intercambiáveis entre espécies muito diferentes. Dessa forma, uma proteína humana produzida artificialmente em uma mosca, por exemplo, pode desempenhar a mesma função que a versão dessa proteína produzida normalmente pela mosca (Figura 21-2).



**Figura 21-2** Proteínas homólogas podem funcionar de modo intercambiável. (A-C) A proteína Eyeless (também chamada de Pax6) controla o desenvolvimento ocular de *Drosophila* e, quando sua expressão é alterada durante o desenvolvimento, pode induzir a formação de um olho em um local anormal, como uma asa (B) ou uma pata (C). As micrografias eletrônicas de varredura mostram uma região de tecido ocular na perna de uma mosca, resultante da expressão alterada do gene *Eyeless* de *Drosophila* (E) e do gene *Pax6* de lula (F). A proteína homóloga humana e praticamente de qualquer animal dotado de olhos, quando apresenta uma expressão alterada, como na mosca transgênica, produz o mesmo efeito. O olho completo de uma *Drosophila* normal é mostrado para comparação em (A) e (D). (B-C, cortesia de Georg Halder; D-F, de S. I. Tomarev, et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:2421–2426, 1997. Com permissão da National Academy of Sciences.)

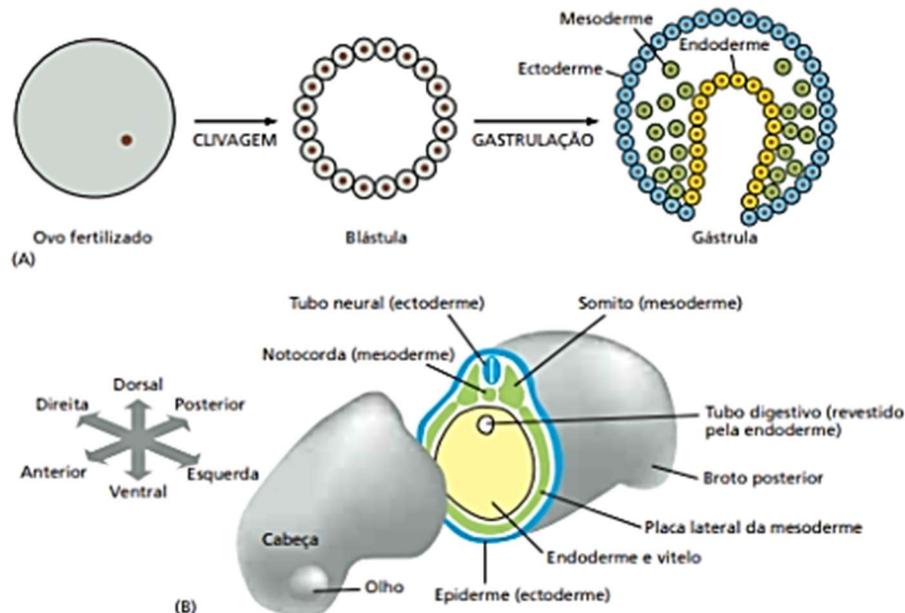
Graças à unidade subjacente dos mecanismos, pesquisadores do desenvolvimento celular têm feito grandes avanços em direção a um entendimento coerente do desenvolvimento animal. Iniciaremos este capítulo com uma visão geral dos mecanismos básicos do desenvolvimento animal. Em seguida discutiremos como as células do embrião se diferenciam para dar origem a padrões espaciais, como a sequência de eventos do desenvolvimento é controlada, como os movimentos celulares contribuem para a morfogênese e como o tamanho dos animais é controlado. Encerraremos com o aspecto mais desafiador do desenvolvimento – os mecanismos que permitem a formação do sistema nervoso altamente complexo.

## VISÃO GERAL DO DESENVOLVIMENTO

Os animais sobrevivem pela ingestão de outros organismos. Portanto, animais tão notavelmente distintos, como vermes, moluscos, insetos e vertebrados, compartilham características anatômicas que são essenciais a essa forma de vida. As células epidérmicas formam uma camada externa protetora; as células do trato digestivo absorvem nutrientes do alimento ingerido; as células musculares promovem o movimento; e os neurônios e células sensoriais controlam o comportamento. Esses diferentes tipos celulares estão organizados em tecidos e órgãos, formando a superfície da pele que reveste a porção externa, a boca para alimentação e o trato digestivo interno para a digestão de alimentos com músculos, nervos e outros tecidos organizados no espaço entre a pele e o trato digestivo. Diversos animais apresentam um eixo definido – um eixo anteroposterior, com a boca e o cérebro na região anterior e com o ânus na região posterior; um eixo dorsoventral, com a região das costas na porção dorsal e o abdômen na região ventral; e ainda um eixo dextrogiro-levógiro. Nesta seção, discutiremos os mecanismos fundamentais responsáveis pelo desenvolvimento animal, iniciando com o estabelecimento do plano corporal básico.

## Mecanismos conservados estabelecem o plano corporal básico

Características anatômicas compartilhadas de animais se desenvolvem por meio de mecanismos conservados. Após a fertilização, o zigoto costuma se desenvolver rapidamente ou passa por clivagens, dando origem a diversas células menores. Durante tais divisões, o embrião, que ainda não se alimenta, não aumenta em tamanho. Essa fase do desenvolvimento é, a princípio, completamente regulada e controlada pelo material genético materno depositado no ovo. O genoma do embrião se mantém inativo até o momento em que o mRNA e as proteínas maternas passam a ser abruptamente degradados. O genoma do embrião é ativado, e as células se unem para formar a blástula, em geral uma esfera sólida de células ou uma esfera oca de células preenchida por líquido. Um processo complexo de rearranjo celular, chamado de gastrulação (do grego, gaster, “ventre”), transforma a blástula em uma estrutura com múltiplas camadas contendo um trato digestivo rudimentar (Figura 21-3).



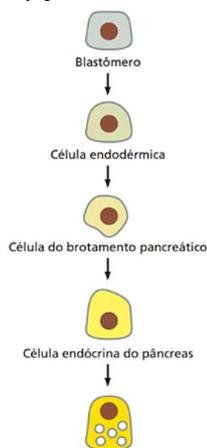
**Figura 21-3 As etapas iniciais do desenvolvimento, exemplificadas em uma rã.** (A) Um ovo fertilizado se divide, dando origem à blástula – uma camada de células epiteliais circundando uma cavidade. Durante a gastrulação, algumas das células se deslocam para o interior, formando a mesoderme (verde) e a endoderme (amarelo). As células da ectoderme (azul) permanecem na face externa. (B) Um corte longitudinal de um embrião de anfíbio mostra o plano corporal animal básico, com uma camada de ectoderme na parte exterior, um tubo de endoderme na parte interna e a mesoderme localizada entre eles. A endoderme forma o revestimento epitelial do intestino, da boca ao ânus. Ela origina não somente a faringe, o esôfago, o estômago e o intestino, mas também muitas estruturas associadas. As glândulas salivares, o fígado, o pâncreas, a traqueia e os pulmões, por exemplo, desenvolvem-se a partir da parede do trato digestivo, multiplicando-se e tornando-se sistemas de tubos ramificados que se conectam ao intestino ou à faringe. A endoderme forma apenas os componentes epiteliais dessas estruturas – o revestimento do intestino e as células secretoras do pâncreas, por exemplo. A musculatura de suporte e os elementos fibrosos se originam da mesoderme. A mesoderme dá origem aos tecidos conectivos – inicialmente ao grupo não coeso de células do embrião, conhecido como mesênquima e, por fim, à cartilagem, aos ossos e ao tecido fibroso, incluindo a derme (a camada mais interna da pele). A mesoderme também forma os músculos, todo o sistema vascular – incluindo o coração, os vasos sanguíneos e as células do sangue – e os túbulos, os ductos e os tecidos de suporte dos rins e das gônadas. A notocorda se forma a partir da mesoderme e formará a parte central do futuro sistema esquelético, e fonte dos sinais que coordenam o desenvolvimento dos tecidos adjacentes. A ectoderme formará a epiderme (a camada epitelial mais externa da pele) e as estruturas acessórias da epiderme, como cabelos, glândulas sudoríparas e glândulas mamárias. Ela também originará todo o sistema nervoso, central e periférico, incluindo não apenas os neurônios e a glia, mas também as células sensoriais do nariz, dos ouvidos, dos olhos e de outros órgãos sensoriais. (B, de T. Mohun et al., Cell 22:9–15, 1980. Com permissão de Elsevier.)

Algumas células da blástula permanecem na face externa, formando a ectoderme, que dará origem à epiderme e ao sistema nervoso; outras células são invaginadas, formando a endoderme, que dará origem ao tubo digestivo e seus apêndices, como pulmões, pâncreas e fígado. Outro grupo de células se deslocará para o espaço entre a ectoderme e a endoderme e formará a mesoderme, que dará origem a músculos, tecido conectivo, sangue, rins e vários outros componentes. O deslocamento futuro de células e a consequente diferenciação celular originarão e refinarão a arquitetura embrionária.

A ectoderme, a mesoderme e a endoderme formadas durante a gastrulação constituem as três camadas germinativas do embrião inicial. Diversas transformações posteriores no processo do desenvolvimento darão origem à estrutura elaborada dos órgãos. No entanto, o plano e o eixo corporal básicos estabelecidos na escala reduzida do embrião durante a gastrulação são preservados na vida adulta, quando o organismo é bilhões de vezes maior.

## O potencial de desenvolvimento das células se torna progressivamente restrito.

De modo concomitante com o refinamento do plano corporal, as células individuais se tornam progressivamente restritas no seu potencial de desenvolvimento. Durante os estágios de blástula, as células em geral são totipotentes, ou pluripotentes – elas têm o potencial de dar origem a todos, ou quase todos, os tipos de células de um organismo adulto. A pluripotência é perdida durante a gastrulação: uma célula localizada na camada germinativa da endoderme, por exemplo, pode dar origem aos tipos celulares que irão revestir o trato digestivo, ou formar órgãos derivados do trato digestivo, como o fígado ou pâncreas, mas não tem mais o potencial de formar estruturas derivadas da mesoderme, como o esqueleto, coração ou rins. Diz-se que essas células são determinadas para a linhagem endodérmica. Portanto, a determinação das células inicia cedo no desenvolvimento e progressivamente diminui as opções possíveis conforme a célula passa por uma série programada de etapas intermediárias – controlada em cada etapa pelo seu genoma, seu histórico e suas interações com as células adjacentes. Tal processo atinge seu limite quando a célula passa pela sua diferenciação terminal, originando um tipo celular altamente especializado no organismo adulto (Figura 21-4). Apesar de alguns tipos celulares do organismo adulto manterem certo grau de pluripotência, sua gama de opções costuma ser pequena.



**Figura 21-4 Via de desenvolvimento do blastômero até um tipo celular diferenciado.** À medida que o desenvolvimento progride, as células tornam-se cada vez mais especializadas. Os blastômeros têm potencial de originar a maior parte dos tipos celulares. Sob a influência de moléculas de sinalização e de fatores reguladores genéticos, as células adotam destinos mais restritos até que se diferenciem em tipos celulares altamente especializados, como as células b das ilhotas pancreáticas que secretam o hormônio insulina.

## Diversos organismos-modelo foram essenciais para a compreensão do desenvolvimento

As características anatômicas que os animais compartilham sofreram modificações extremas no decorrer da evolução. Como resultado, as diferenças entre as espécies são mais visíveis aos nossos olhos humanos do que as similaridades. No entanto, no nível dos mecanismos moleculares subjacentes, e das macromoléculas que os medeiam, o inverso é verdadeiro: as similaridades entre os animais são profundas e extensas. Ao longo de mais de meio bilhão de anos de divergência evolutiva, todos os animais mantiveram o conjunto inequivocamente similar de genes e proteínas que são responsáveis pelo estabelecimento do plano corporal e pela formação de células especializadas e órgãos.

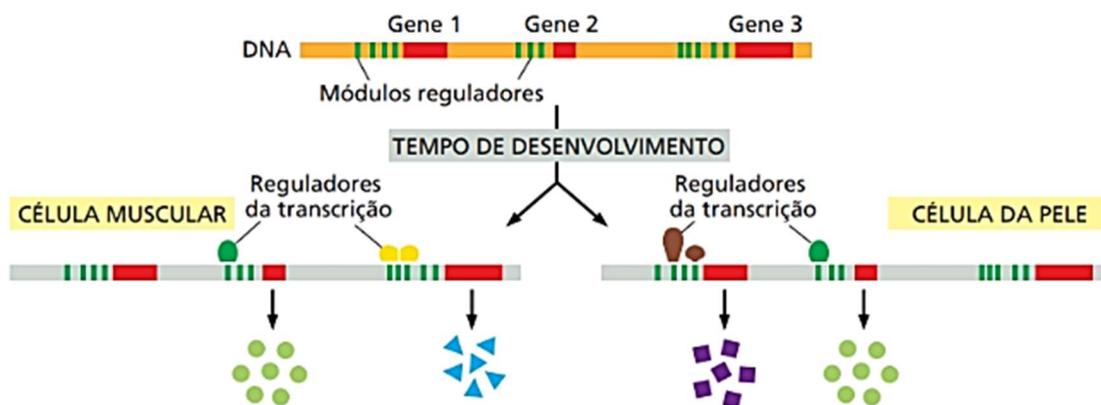
Esse notável grau de conservação evolutiva não foi descoberto a partir de um grande levantamento da diversidade animal, mas pelo estudo detalhado de um pequeno número de espécies representativas – os organismos-modelo. Para a biologia do desenvolvimento animal, os organismos-modelo mais importantes são a mosca *Drosophila melanogaster*, a rã *Xenopus laevis*, o verme cilíndrico *Caenorhabditis elegans*, o camundongo *Mus musculus* e o peixe-zebra *Danio rerio*. Durante a discussão dos mecanismos do desenvolvimento, utilizaremos exemplos extraídos principalmente dessas poucas espécies.

**Genes envolvidos na comunicação entre as células e no controle da transcrição são especialmente importantes para o desenvolvimento animal**

Quais são os genes que os animais compartilham entre si, mas não com os demais reinos? Espera-se que esse conjunto inclua os genes especificamente necessários para o desenvolvimento animal, mas dispensáveis para a existência unicelular. A comparação dos genomas de animais com o genoma da levedura – um eucarioto unicelular – sugere que três classes de genes têm especial importância para a organização multicelular. A primeira classe inclui genes que codificam proteínas utilizadas na adesão entre células e na sinalização celular; centenas de genes humanos codificam proteínas de sinalização, receptores de superfície celular, proteínas de adesão celular, ou canais iônicos ausentes na levedura ou presentes em número bastante reduzido. A segunda classe inclui genes que codificam proteínas que regulam a transcrição e a estrutura da cromatina: mais de mil genes humanos codificam reguladores transcricionais, mas apenas cerca de 250 genes o fazem em leveduras. Conforme veremos, o desenvolvimento animal é controlado por interações célula-célula e pela expressão diferencial de genes. A terceira classe de RNAs não codificadores possui características mais incertas: essa classe inclui genes que codificam micro-RNAs (miRNAs), correspondendo a pelo menos 500 genes em humanos. Em conjunto com as proteínas reguladoras, essas moléculas são responsáveis por parte significativa do controle da expressão gênica durante o desenvolvimento animal, mas a extensão da sua importância ainda não é clara. A perda de genes específicos de miRNAs em *C. elegans*, onde a função dessas moléculas foi bem estudada, raramente resulta em fenótipos óbvios, sugerindo que o papel dos miRNAs durante o desenvolvimento animal é em muitos casos sutil, atuando na regulação fina da maquinaria de desenvolvimento, e não na formação de estruturas essenciais.

### *O DNA regulador parece ser o principal responsável pelas diferenças entre as espécies animais*

Cada gene em um organismo multicelular está associado a centenas de milhares de nucleotídeos de DNA não codificador que contém elementos reguladores. Esses elementos reguladores determinam quando, onde e com que intensidade um gene será expresso, de acordo com os reguladores de transcrição e estruturas da cromatina presentes em uma célula específica (Figura 21-5). Como consequência, uma alteração no DNA regulador, mesmo na ausência de alterações no DNA codificador, pode modificar a lógica de regulação gênica e o resultado final do processo de desenvolvimento.

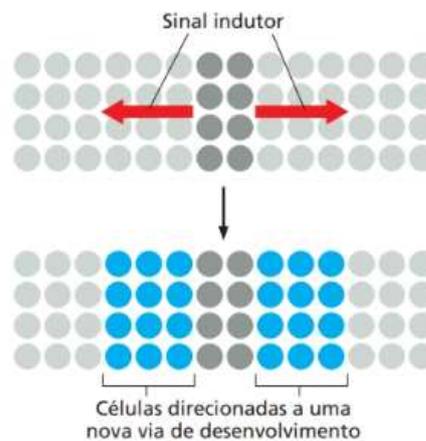


**Figura 21-5** O DNA regulador define padrões de expressão gênica durante o desenvolvimento. O genoma é o mesmo nas células musculares e da pele, mas diferentes genes são ativados devido à expressão de diferentes reguladores da transcrição, que se ligam aos elementos de regulação dos genes. Por exemplo, os reguladores da transcrição das células da pele reconhecem os elementos de regulação do gene 1, induzindo a sua ativação, enquanto um conjunto diferente de reguladores está presente nas células musculares, ligando-se e ativando o gene 3. Reguladores da transcrição que ativam a expressão do gene 2 estão presentes nos dois tipos celulares.

Quando comparamos o genoma de diferentes espécies de animais, observamos que o processo evolutivo alterou o DNA codificador e o DNA regulador de modos distintos. O DNA codificador, em sua maioria, é altamente conservado, e o DNA regulador não codificador nem tanto. As alterações no DNA regulador são amplamente responsáveis pelas diferenças notáveis entre as classes de animais. Podemos considerar os produtos proteicos das sequências codificadoras como um conjunto comum conservado de componentes moleculares, e o DNA regulador como as instruções para a montagem desses componentes: com instruções diferentes, o mesmo conjunto de componentes pode ser utilizado para gerar uma ampla variedade de estruturas corporais.

## **Um pequeno número de vias de sinalização célula-célula conservadas coordena a formação de padrões espaciais**

A formação de padrões espaciais em um animal em desenvolvimento requer a diferenciação de células de acordo com a sua posição no embrião, ou seja, as células devem responder a sinais extracelulares gerados por outras células, sobretudo células adjacentes. Em um processo que é, provavelmente, o modo mais comum de formação espacial de padrões, um grupo de células possui o mesmo potencial de desenvolvimento, e sinais recebidos de células não pertencentes a esse grupo induzem alterações nas características de um ou mais membros do grupo. Esse processo é denominado sinalização indutiva. Em geral, a sinalização indutiva é limitada no tempo e no espaço, de modo que apenas um subconjunto de células – as células mais próximas à fonte do sinal – responde ao sinal e adquire o caráter induzido (Figura 21-6). Alguns sinais indutivos dependem do contato entre as células; outros são capazes de atuar em um raio maior, e tal sinalização é mediada por moléculas que se difundem pelo meio extracelular, ou que são transportadas pela circulação sanguínea.



**Figura 21-6** Sinalização indutiva.

Muitos dos eventos de indução conhecidos no desenvolvimento animal são mediados por um pequeno número de vias de sinalização altamente conservadas, incluindo as vias do fator de crescimento transformador b (TGFB), Wnt, Hedgehog, Notch e receptores tirosina-cinase (RTK) (discutidos no Capítulo 15). A descoberta, ao longo dos últimos 25 anos, do número limitado de vias de sinalização no desenvolvimento celular utilizadas para a comunicação entre as células é uma das principais características simplificadoras da biologia do desenvolvimento.

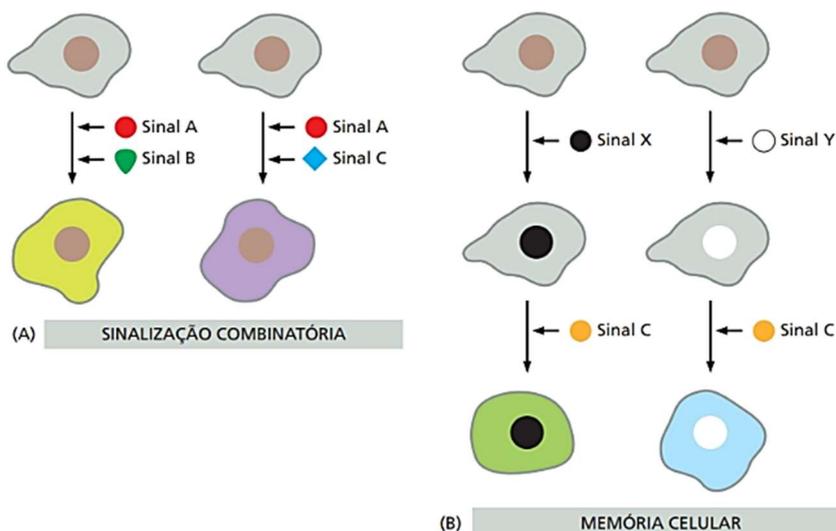
## **Sinais simples dão origem a padrões complexos por meio do controle combinatório e da memória celular**

Como é possível que um pequeno número de vias de sinalização seja capaz de dar origem à imensa diversidade de células e padrões de organização? Três tipos de mecanismos são responsáveis. Primeiro, mediante duplicação gênica, os componentes básicos de uma via muitas vezes são codificados por pequenas famílias de genes homólogos relacionados. Isso confere diversidade à operação da via, de acordo com o membro dessa família que é utilizado em uma dada situação. A sinalização Notch, por exemplo, pode ser mediada por Notch1 em um tecido, e por seu homólogo, Notch4, em outro. Segundo, a resposta de uma célula a um determinado sinal proteico depende de outros sinais que a célula esteja recebendo simultaneamente (Figura 21-7A). Como resultado, diferentes combinações de sinais podem dar origem a respostas distintas. Terceiro, e mais importante, o efeito da ativação de uma via de sinalização depende das experiências prévias da célula que recebe o sinal: influências pregressas geram efeitos duradouros, registrados na conformação da cromatina e no conjunto de proteínas reguladoras da transcrição e nas moléculas de RNA contidas na célula. Essa memória permite que células com diferentes históricos respondam de modo distinto a um mesmo sinal (Figura 21-7B). Assim, as mesmas poucas vias

de sinalização podem ser utilizadas repetidamente em diferentes momentos e locais, com resultados distintos, gerando padrões de complexidade ilimitada.

**Figura 21-7** Dois mecanismos para a geração de diferentes respostas a partir de um mesmo sinal indutivo.

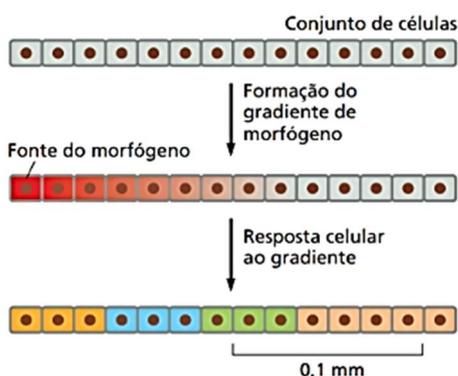
(A) Na sinalização combinatória, o efeito do sinal depende da presença de outros sinais recebidos simultaneamente. (B) A partir da memória celular, sinais prévios (ou eventos) podem causar efeitos duradouros que alteram a resposta à sinalização atual (ver Figura 7-54). O efeito da memória celular é representado aqui pelas cores dos núcleos das células.



### Morfógenos são sinais indutivos de longo alcance que exercem efeitos gradativos

Moléculas de sinalização costumam controlar respostas simples do tipo sim ou não – um efeito quando sua concentração é alta, e outro efeito quando sua concentração é baixa. Em muitos casos, no entanto, as respostas têm um ajuste mais fino: uma alta concentração de uma molécula de sinalização pode, por exemplo, direcionar as células para uma via de desenvolvimento, uma concentração intermediária para outra via, e uma baixa concentração, à outra via ainda.

Uma forma comum de criar essas diferentes concentrações de uma molécula de sinalização é a difusão dessa molécula a partir de uma fonte localizada de sinal, o que origina um gradiente de concentração. As células a diferentes distâncias da fonte são direcionadas a comportarem-se de várias maneiras diferentes, de acordo com a concentração do sinal que elas recebem (Figura 21-8). Assim, uma molécula-sinal que impõe um padrão em um amplo campo de células é chamada de morfógeno. No caso mais simples, um grupo especializado de células produz o morfógeno em uma taxa contínua, e o morfógeno então se difunde a partir desta fonte.



**Figura 21-8** Formação e interpretação do gradiente. Um gradiente se forma pela produção localizada de um indutor – um morfógeno – que se difunde a partir da sua origem. Diferentes concentrações do morfógeno (ou diferentes tempos de exposição) induzem diferentes padrões de expressão gênica e diferentes destinos celulares nas células que respondem ao sinalizador. O transporte por difusão gera gradientes apenas em distâncias curtas, e os morfógenos geralmente atuam em distâncias equivalentes a 1 mm ou menos.

A velocidade de difusão e a meia-vida do morfógeno determinarão juntas o alcance e a extensão do gradiente resultante. Esse mecanismo simples pode ser modificado de diversas maneiras. Receptores na superfície das células ao longo do caminho, por exemplo, podem capturar o morfógeno e promover a sua endocitose e degradação, diminuindo sua meia-vida efetiva. Ou o morfógeno pode se ligar a moléculas da matriz extracelular, como o proteoglicano sulfato de heparana, reduzindo a sua taxa de difusão