

GENÉTICA DO DESENVOLVIMENTO E EVOLUÇÃO DOS GRANDES GRUPOS DE ANIMAIS

Klaus Hartfelder

Departamento de Biologia Celular e Molecular e Bioagentes Patogênicos

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo

Avenida Bandeirantes 3900, 14049-900 Ribeirão Preto, SP

email: khartfel@rge.fmrp.usp.br

Resumo

A compreensão dos processos e mecanismos macroevolutivos que levaram ao surgimento dos grandes grupos de organismos multicelulares fica difícil quando vista como mera extensão de processos microevolutivos. Muitos destes problemas foram resolvidos nas últimas décadas com os avanços das pesquisas em Biologia e Genética do Desenvolvimento. A análise de diferentes genes reguladores na embriogênese de *Drosophila melanogaster* e de camundongos mostrou grande número de genes homólogos, não apenas pela sua similaridade na seqüência de nucleotídeos, mas também na sua função. Muitos destes genes, como os genes *Hox*, são genes reguladores-mestres que integram complexas redes gênicas. Assim definem a identidade de segmentos ao longo do eixo ântero-posterior do corpo, ou, no caso de *Pax6*, induzem a formação de estruturas altamente complexas, tais como as dos olhos. A conservação observada na estrutura e função da maioria dos genes reguladores da embriogênese dos metazoários e o fato de que todos os filões deste grupo surgiram em curto espaço de tempo, de poucos milhões de anos, no início do Cambriano, sugerem uma base comum na “bagagem genética” ou “ferramentas genéticas” que regulam os processos de desenvolvimento. Outrossim, pequenas mutações nas regiões cisregulatórias destes genes podem alterar os seus domínios de expressão e assim gerar uma grande variedade nos planos do corpo dos metazoários.

Palavras chave: eixos embrionários / homeobox / plano do corpo / ontogênese / filogênese

1. Introdução

Entender a interação recíproca dos mecanismos do desenvolvimento e a evolução dos grandes grupos é um velho sonho de biólogos, desde as vívidas discussões da *Academie Française* do final do século 18, que emergiram com o surgimento de idéias evolucionistas. Essas discussões se intensificaram ainda mais com a publicação da “Origem das Espécies” de Charles Darwin e a provocativa formulação da *lei biogenética (ontogênese é a recapitulação da filogênese)* por Ernst Haeckel, contemporâneo e grande defensor de Darwin. Em poucas palavras, o sonho é entender os mecanismos da macroevolução, isto é, quais mecanismos e fatores regem não só a conservação como também a transformação dos planos do corpo no reino animal.

De forma mais precisa, é necessário responder às seguintes perguntas: Como se definem geneticamente os planos do corpo? Quais são as redes gênicas garantidoras de que um organismo multicelular forme-se corretamente a partir de um óvulo? Como evoluíram estes mecanismos? Qual é o potencial evolutivo destes mecanismos, ou, como surgiram, a partir de formas mais simples e em processos de ramificação evolutiva, os diferentes planos do corpo dos atuais 35 filões do reino animal?

Nos últimos 25 anos, a identificação e caracterização de genes que regulam processos de desenvolvimento em organismos-modelo, tais como *Drosophila melanogaster* e o nematódeo *Caenorhabditis elegans*, bem como a comparação destes genes com os seus homólogos presentes em outros organismos têm contribuído muito e modificado significativamente a maneira de se pensar sobre a interação e dependência mútua entre desenvolvimento de um organismo (ontogênese) e a evolução de grupos de organismos (filogênese).

2. Embriologia – a descrição das fases e processos de desenvolvimento

Cada organismo multicelular do reino animal, das mais simples esponjas até os mais complexos artrópodos e vertebrados, surge a partir de um óvulo. O óvulo é sempre uma estrutura de geometria aparentemente simples, redonda ou elipsóide. Por inferências baseadas em observações meticolosas dos processos de desenvolvimento chegou-se à conclusão de que os eixos embrionários ântero-posterior, dorso-ventral, e, conseqüentemente, o eixo direito-esquerdo são estabelecidos logo no início do desenvolvimento por quebra de simetria. Na maioria dos casos, isto ocorre no zigoto, que é o produto imediato da fusão dos gametas masculinos e femininos, na reprodução sexual. Nos anfíbios, por exemplo, é o ponto de contato do espermatozóide com o óvulo que determina o eixo dorso-ventral do embrião. Já nos insetos, os eixos embrionários são definidos ainda mais cedo, durante a ovogênese.

O primeiro passo no desenvolvimento embrionário, após a formação do zigoto, é a sua subdivisão por mitoses rápidas em um processo denominado clivagem. Estas divisões mitóticas têm como resultado uma blástula, que é aproximadamente do tamanho do óvulo, pois as divisões de clivagem ocorrem sem crescimento das respectivas células, os blastômeros, quando a blástula atinge um número alto de células (geralmente entre 500 e 5.000) e formou-se um espaço oco no seu interior, a blastocele. Neste momento, algumas células posicionadas em regiões específicas da blástula deslocam-se da camada externa e começam a ingressar na blastocele. Através deste processo, denominado gastrulação, formam-se os três folhetos embrionários, o ectoderma (que gerará a epiderme e sistema nervoso), o mesoderma (a futura musculatura, sistema cardiovascular e sistema urogenital) e o endoderma (futuro trato gastro-intestinal). A maioria dos metazoários tem três folhetos embrionários, sendo portanto denominados triblásticos, o que os distingue dos grupos mais primitivos dos metazoários, as esponjas e cnidários que são diblásticos, isto é, sem mesoderma (a questão do mesoderma, em relação aos cnidários, está atualmente em discussão).

Nos séculos 18 e 19, embriologistas mostraram, em análises meticolosas, que a gastrulação não se inicia em posição aleatória sobre blástula. No caso dos equinodermas, tendo os ouriços-do-mar como modelo embriológico e dos cordados (incluindo os peixes, anfíbios, répteis, aves e mamíferos), a gastrulação, e assim a formação do arquêntero (intestino primordial), inicia-se no pólo posterior (região anal presumível) do futuro intestino. Conseqüentemente, estes dois filios foram agrupados no clade dos Deuterostômios. Na maioria dos outros filios (anelídeos, moluscos, artrópodos, platelmintos) a gastrulação inicia-se no pólo anterior (região bucal presumível) do futuro intestino, recebendo assim, a denominação de Protostômios para estes filios.

Após a gastrulação, as células que compõem os folhetos embrionários passam por processos de diferenciação que dependem da sua respectiva posição no corpo. Assim se formam, em processo chamado organogênese, os órgãos característicos para cada filo, sendo, no caso dos vertebrados, o tubo neural com as vesículas cefálicas e as suas respectivas estruturas sensoriais (nariz, olho, ouvido), a musculatura segmentar a partir dos somitos, as extremidades (nadadeiras, pernas ou asas), o coração na região ventral do corpo, e os arcos branqueais na região bucal.

3. O plano do corpo e a fase filotípica

As características já mencionadas são apresentadas por todos os vertebrados durante uma determinada fase da organogênese e é nesta fase, portanto, que um embrião de peixe é muito parecido com um embrião de galinha ou porco. Nos vertebrados esta fase foi denominada *faríngula*. Esta fase, que caracteriza o filo como um todo, é considerada a fase filotípica. Posterior a esta fase, a diferenciação dos órgãos progride e os embriões dos diferentes vertebrados gradualmente exibem as suas características de família, gênero e espécie. Vista desta forma, a fase filotípica de qualquer grupo do reino animal pode ser interpretado como o gargalo de uma ampulheta pelo qual os embriões de um filo devem passar.

Esta imagem comparativa é bastante ilustrativa pois implica que os embriões dos respectivos grupos podem exibir diferenças consideráveis não somente após a fase filotípica, mas também antes de sua passagem por ela. Estas fases iniciais da embriogênese são, na maioria dos casos, determinadas pelo tamanho e estrutura do óvulo. No caso de alguns vertebrados, por exemplo, o óvulo dos répteis e aves, devido à grande quantidade de vitelo, não sofre uma clivagem total e, ao longo do eixo dorso-ventral, pode-se detectar a formação do sistema segmentar dos gânglios do sistema nervoso central. O intestino está em fase de formação, o lado dorsal está em processo de fechamento e tem início a formação do coração.

Obviamente, em termos puramente descritivos, pelo simples fato de a diferenciação espécie-específica iniciar-se mais cedo nos artrópodos do que nos vertebrados, a fase filotípica dos artrópodos representa uma fase da organogênese bem mais inicial do que a *faríngula* dos vertebrados. Mesmo assim podem ser comparados diretamente os dois grupos quando se consideram os genes expressos durante esta fase filotípica. Os genes que têm relevância, nesta comparação, não são genes estruturais, que, geralmente, são genes codificadores de enzimas metabólicas ou de actina, tubulina, canais de sódio e outros, mas sim genes que definem o destino de segmentos inteiros do corpo, portanto, genes reguladores, cuja função é desencadear cascatas de outros genes nos processos de diferenciação.

4 Genes reguladores do desenvolvimento

Até poucos anos, os únicos organismos-modelo, abrangentes no que diz respeito a cascatas ou redes de expressão gênica durante o desenvolvimento embrionário, eram a mosca das frutas, *Drosophila melanogaster* - que continua a ser a campeã nestas pesquisas - e o nematódeo *Caenorhabditis elegans*. Mais recentemente, os estudos de genética do desenvolvimento e expressão estenderam-se para dois modelos em vertebrados, o peixe *Danio rerio* (o paulistinha dos nossos aquários) e o camundongo, *Mus musculus*. O rastreamento extenso para genes reguladores de processos do desenvolvimento embrionário foi realizado através da saturação dos seus cromossomos por mutações induzidas, seguida pela análise em milhares de embriões dos fenótipos resultantes. Uma vez mapeados, os respectivos genes e as suas regiões reguladoras podiam ser seqüenciados. Desta forma conseguiu-se distinguir duas grandes classes de genes, a primeira correspondente aos genes codificadores de fatores maternos e, a segunda, aos genes zigóticos.

Genes codificadores de fatores maternos são transcritos durante a formação do ovócito, isto é, antes que o óvulo seja fecundado. Os seus respectivos mRNAs são posicionados em determinadas regiões do ovócito. Minutos após a fecundação, estes mRNAs são traduzidos em proteínas que ocuparão o mesmo lugar no zigoto. Por exemplo, o eixo ântero-posterior do embrião de *Drosophila melanogaster* é definido pelo posicionamento das proteínas Bicoid (anterior) e Nanos (posterior).

Além do eixo ântero-posterior, os fatores maternos também definem o eixo dorso-ventral, marcado pela expressão de uma bateria de genes (incluindo, em *Drosophila*, os genes *pipe*, *easter*, *spätzle*). As proteínas codificadas por estes mRNAs têm uma meia vida muito curta e o seu papel principal é o de controlar a expressão de genes do próprio embrião. Estes, subseqüentemente, refinam esta informação posicional. No caso do eixo dorso-ventral, a presença da proteína Spätzle, no lado ventral do embrião de *Drosophila*, tem como consequência a expressão de genes marcadores do lado ventral (*twist* e *snail*, por exemplo) nas células ventrais do embrião e são justamente estas células que posteriormente iniciam o processo da gastrulação. A ausência do fator Spätzle, no lado dorsal do ovo, por sua vez, permite que neste lado do embrião seja expresso o gene *decapentaplegic*.

Ao longo do eixo ântero-posterior, o estabelecimento da organização segmentar do corpo e a especificação de cada segmento requerem uma cascata reguladora mais complexa para que o segmento antenal, por exemplo, torne-se diferente do mandibular, este do maxilar, e assim por diante, até o último segmento abdominal. Os fatores maternos supramencionados, Bicoid e Nanos, têm a função de ativar (ou inibir) a expressão de um grupo de genes zigóticos iniciais (dos quais os principais são os genes *hunchback*, *Krüppel* e *knirps*) que

definem domínios grandes ao longo do eixo ântero-posterior. Estes genes controlam então a expressão de genes que, por sua vez, definem elementos repetitivos correspondentes a módulos de dois segmentos. Por isto, estes genes receberam o nome “genes regra de pares” (*even skipped*, *hairy*, *paired*, *fushi tarazu*, etc.). Por fim, estes “genes regra de pares” estabelecem o padrão segmentar do corpo e, em combinação com os produtos dos genes *hunchback*, *Krüppel* e *knirps*, informam cada segmento sobre a sua posição relativa ao longo do eixo ântero-posterior do embrião. A expressão de todos estes genes é transitória e, em *Drosophila*, inicia-se e também termina dentro das primeiras duas horas da embriogênese, sendo esta a fase de clivagem.

No final da clivagem, as células que passaram por todos estes passos de expressão gênica já receberam a informação necessária sobre a sua posição e, logo após estas, começam a expressar um conjunto de genes homeóticos que permitem que os segmentos do corpo mantenham a sua identidade e expressem adequadamente as suas características. Estes genes homeóticos, que são também conhecidos como genes *Hox* devido a um elemento característico na sua seqüência de nucleotídeos, a homeobox, são genes de grande importância pois cada um destes controla a expressão de milhares de outros genes. Os genes *Hox* são verdadeiros genes-mestres na construção do corpo e mutações nestes genes, geralmente, acarretam consequências gravíssimas. Um exemplo clássico é ilustrado na Figura 1, uma *Drosophila* mutante em um gene homeótico (*Ultrabithorax*). Esta sofreu uma transformação completa do terceiro segmento do tórax, passando a ter todas as características de um segmento mesotorácico (o segundo segmento do tórax).

A descoberta destes genes-mestres da organização do corpo da *Drosophila*, e o fato de que a organização segmentar do corpo, com elementos característicos em cada segmento, pode ser observada em muitos grupos de animais, inclusive nos mamíferos, possibilitou pesquisas sobre genes com funções parecidas nos demais animais pertencentes à clade Bilateria. A resposta era tanto chocante quanto de grande beleza, pois se demonstrou não somente a existência de genes homólogos aos *Hox* de *Drosophila* em todos os Bilateria, como também a conservação do seu padrão de expressão ao longo do eixo ântero-posterior. Mais surpreendente ainda foi a descoberta de que não somente existem homólogos destes genes homeóticos em quase todos os grupos de animais, mas que também a sua organização gênica foi mantida ao longo da evolução dos grupos. Nos genomas de todos os grupos, os genes *Hox* ficam agrupados em clusters, e o gene que ocupa a primeira posição no cluster quase sempre é o gene que é expresso em uma posição mais anterior no eixo do corpo; o segundo gene do cluster aparece em seguida no corpo, e assim por diante. Chama-se este fenômeno de colinearidade entre a posição cromossômica

dos genes *Hox* e os seus respectivos domínios de expressão ao longo eixo ântero-posterior do corpo.

Além destes genes-mestres da identidade de segmentos, foram descobertos outros genes com características similares, isto é, genes que ocupam o topo da hierar-



Figura 1: Mutação home tica em *Drosophila melanogaster*. Mutação tripla na região cisregulat ria do gene *Ultrabithorax* causou a transforma o completa da identidade do segmento metator cico em uma repeti o do segmento mesotor cico. O resultado   uma mosca com quatro asas anteriores. (Fotografia de E.B. Lewis)

quia em cascatas gênicas, e que assim regulam a expressão de milhares de outros genes reguladores e estruturais. Um destes   o gene *Pax6* que   capaz de induzir a forma o completa de olhos. Como os *Hox*, os genes *Pax* também mostram alto grau de conserva o evolutiva, tanto que foi possível substituir funcionalmente o gene *eyeless* (o homólogo de *Pax6*) em uma *Drosophila* pelo gene *Pax6* de camundongo. Quando tal *Drosophila*, recebeu o gene *Pax6* de camundongo por transforma o gênica para expressão ectópica (expressão gênica fora do lugar normal), podia-se observar a forma o correta de um olho normal (de *Drosophila*,   claro, e não de camundongo) pelo disco imaginal da asa e também da antena. A conclusão tirada a partir destes experimentos, portanto, foi a de que o gene *Pax6*   essencial para ativar uma bateria de genes que, por sua vez, são responsáveis para formar um olho em uma determinada região do corpo. Porém, seria um engano chamar o gene *Pax6* de “gene do olho”, pelo fato de *Pax6* ser expresso também em outros tecidos onde exerce fun es totalmente diferentes. No pâncreas, por exemplo, o mesmo gene, em conjunto com *Pax4*, programa as células endócrinas, nas ilhotas de Langerhans, a se diferenciar e produzir insulina ou glucagona. Portanto, diferentemente dos genes homeóticos, os genes do grupo *Pax* estão envolvidos em uma série de cascatas gênicas que definem o destino e o caminho de diferencia o de células em diferentes locais do corpo.

5. Dorsal em vertebrados   ventral em insetos?

Esta questão não   apenas intrigante mas também bastante antiga – a mesma foi levantada em 1830 durante as debates na *Academie Française* entre Étienne Geoffroy Saint-Hilaire e Georges Cuvier. Por inferência, a partir dos planos básicos de corpo, Saint-Hilaire propôs que a organiza o do eixo dorso-ventral do corpo dos anelídeos e artrópodos pode ser facilmente comparada   dos vertebrados quando se invertem os respectivos eixos. Esta visão também concordava com a respectiva localiza o do blastóporo nestes grupos, isto  , o local onde se inicia o processo da gastrula o. Nos anelídeos e artrópodos, que são membros do grande grupo dos Protostômios, a gastrula o inicia-se no pólo anterior do eixo embrionário e coincide com a futura região bucal. Já nos vertebrados, que pertencem ao grupo dos Deuterost mios, tal processo   iniciado na região posterior do embrião que corresponde   futura região anal. Durante a gastrula o, o mesoderma ingressa e posiciona-se entre o ectoderma e endoderma. O mesoderma dará origem a uma série de tecidos diferentes, entre outros,   musculatura segmentar do corpo, às vértebras, ao sistema cardiovascular, e, em intera o com o endoderma, também originará uma série de órgãos internos do corpo como, por exemplo, os pulmões, o fígado e o pâncreas.

Sem confirma o experimental, esquemas desse tipo eram, por muitas décadas, considerados como simples “biologia de papel e lápis” pela maioria dos pesquisadores interessados em entender mecanisticamente o desenvolvimento animal. A grande surpresa, porém, veio quando foram descobertos e estudados os genes que organizam o eixo dorso-ventral nos diferentes grupos dos Bilateria (Fig.2).

Era realmente surpreendente observar genes, considerados como homólogos (ortólogos) pela sua seq ncia nucleotídica, serem expressos também em locais correspondentes ao longo do eixo dorso-ventral dos dois grupos. Aparentemente, estes genes exercem as mesmas fun es ou, pelo menos, fun es similares nos dois grupos. Por exemplo, *decapentaplegic* dos artrópodos tem *BMP4* como homólogo nos vertebrados e ambos são expressos em posi o similar, no lado oposto ao sistema neural torácico/abdominal. Aliás, em testes verdadeiramente funcionais, realizados em drosófilas transg nicas, foram demonstrados que os respectivos genes dos vertebrados são capazes de substituir os genes correspondentes da mosca. Considerando-se que a separa o entre protost mios e deuterost mios deve ter acontecido já nas fases iniciais da evolu o dos Bilateria, há mais de 500 milhões de anos, durante o Cambriano, este grau de conserva o estrutural e funcional nos genes do eixo dorso-ventral está muito além do que os embriologistas imaginavam vinte anos atrás.

6. A conserva o de módulos de regula o gênica

no desenvolvimento

Na discussão sobre os genes reguladores dos eixos ântero-posterior e dorso-ventral ficou claro que se lida com elementos altamente conservados na evolução dos metazoários, porém trata-se de dois modos diferentes de conservação. No primeiro exemplo, a dos genes homeóticos, trata-se de genes que são expressos de forma persistente ao longo do eixo ântero-posterior a partir da fase filotípica (a banda germinativa segmentada nos artrópodos e a farínghula, nos vertebrados) até a fase adulta. Assim, cada região do corpo ao longo desse eixo recebe, como estampa, um “código Hox”, que é nada mais, nada menos do que a somatória dos genes *Hox* expressos em uma determinada região do corpo (Fig. 3). As proteínas codificadas pelos genes *Hox* funcionam todas como fatores de transcrição que regulam, em cada região do corpo, um grande conjunto de genes estruturais.

Em contraste, os genes do grupo *Pax* e os genes apresentados como elementos organizadores do eixo dorso-ventral são expressos apenas transitoriamente durante determinados períodos da organogênese. Muitos destes genes codificam proteínas sinalizadoras e os seus respectivos receptores e, assim, representam módulos integrados que constituem verdadeiras redes de sinalização inter e intracelular. Exemplos interessantes são as proteínas morfogenéticas dos ossos (*bone morphogenetic proteins*, as BMPs). Esta família de proteínas tem funções muito além das de regular o crescimento ósseo, onde foram primeiramente descritas. Um membro destas BMPs, a BMP4, já foi mencionado como fator importante na organização do eixo dorso-ventral. Funcionalmente, BMP4, quando secretada, liga-se ao seu receptor (tipo tirosinaquinase, RTK) nas células vizinhas e lá inicia uma cascata de reações intracelulares através de proteínas sinalizadoras (Smads). Este módulo sinalizador é empre-

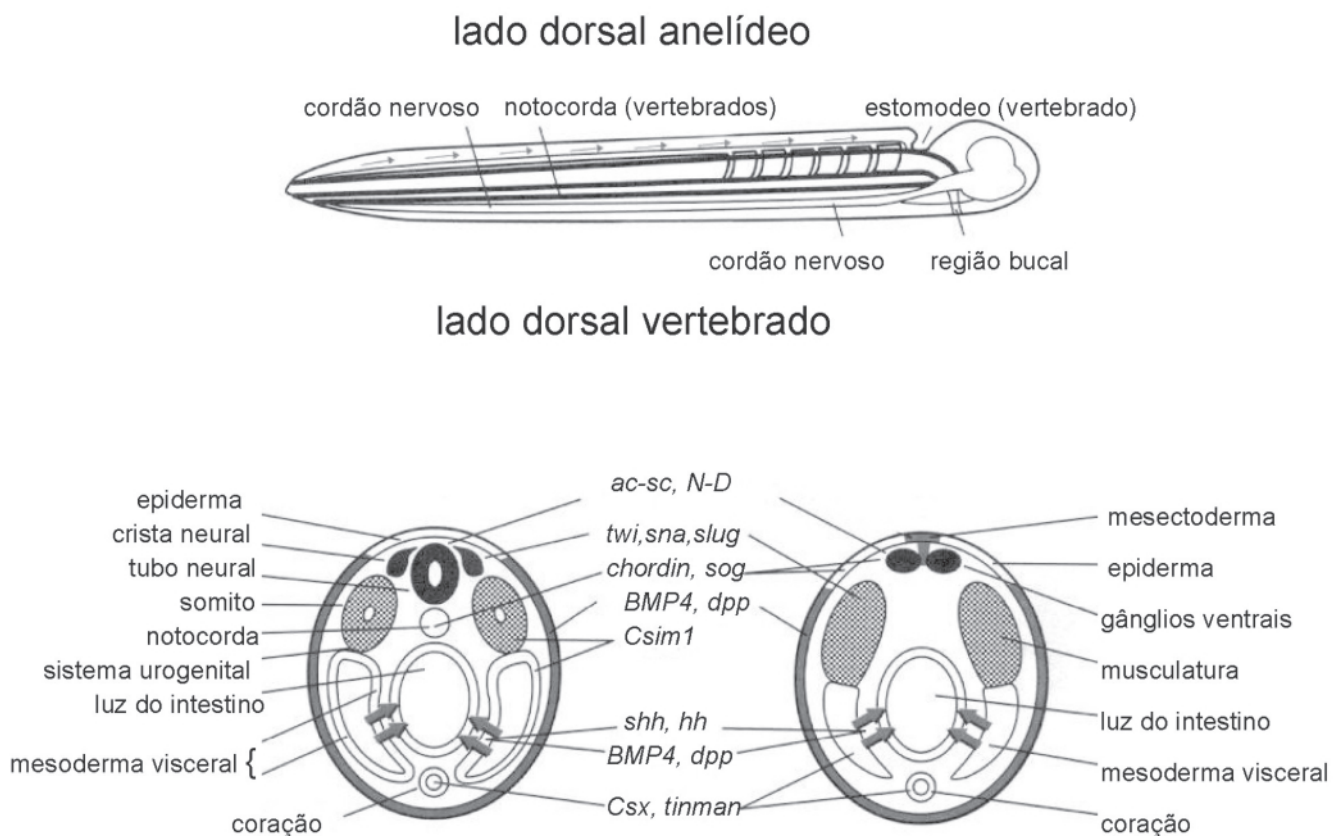


Figura 2: Similaridade e paralelos na organização do eixo dorsoventral em vertebrados e invertebrados (por exemplo, anelídeo). A similaridade fica aparente quando são invertidas as posições dorsal e ventral, respectivamente, já foi notada nos séculos dezoito e dezenove, principalmente pelos morfologistas franceses (painel superior). Interessantemente, tal similaridade não é apenas um produto virtual, abstraído de formas reais pelos biólogos, mas tem uma base genética na organização dos domínios de expressão de vários genes reguladores ao longo do eixo dorsoventral (painel inferior). Entre os genes homólogos nos vertebrados e invertebrados destacam-se o complexo achaete-scute (as-sc) e o sistema Notch-Delta (N-D), envolvidos na determinação do sistema neural. Os genes BMP4 e decapentaplegic (dpp) estão envolvidos na diferenciação de estruturas latero-dorsais e de estruturas derivadas da interação ectoderma-mesoderma. Desta interação também participam os genes sonic hedgehog (shh) e hedgehog (hh). No mesoderma ventral, os genes *Csx* e *tinman* determinam a diferenciação do sistema cardiovascular nos vertebrados e invertebrados, respectivamente (modificado de Gerhart e Kirschner, 1997, *Development, Genes and Evolution*, Blackwell - copyright).

gado em uma série de funções que especificam o desenvolvimento de células embrionárias em diferentes contextos, e conforme disso, o padrão de expressão de BMP4 muda de local ao longo da embriogênese,

Tais exemplos de conservacionismo no desenvolvimento embrionário dos proto- e deuterostômios servem para ilustrar como módulos funcionais de regulação gênica e da comunicação entre células podem ser utilizados em diversos contextos. Portanto, em termos evolutivos, este conservacionismo, além de refletir uma descendência comum nos grandes grupos, também pode ser visto como a maneira mais econômica e segura (pois evolutivamente já testada) para os metazoários estarem organizados em seu desenvolvimento ontogenético.

7. Flexibilidade em processos de desenvolvimento e evolução de espécies

Então, com tanta conservação, como foi possível gerar tanta biodiversidade e modos diferentes de desenvolvimento? A resposta foi dada de forma bastante clara por Eric Davidson, um dos pesquisadores atualmente mais

influentes na área de biologia do desenvolvimento. Este pesquisador considera como fundamental a estrutura cis-regulatória das redes de genes do desenvolvimento. Elemento chave neste modelo é o entendimento da arquitetura da região controladora de cada gene, sendo esta um domínio de DNA localizado geralmente antes de um gene. Tal região contém uma série de seqüências nucleotídicas onde proteínas reguladores (por exemplo, fatores de transcrição) podem se ligar ao sítios específicos no DNA. Dependendo da arquitetura desta região, tais proteínas reguladoras podem estimular ou reprimir a expressão do gene em consideração. Um exemplo interessante foi encontrado recentemente quando se comparou a arquitetura reguladora, cis, do gene *Ultrabithorax (Ubx)*, um gene homeótico que está envolvido na definição dos segmentos portadores de pernas em insetos e crustáceos. O gene é extremamente conservado entre insetos e crustáceos, mas uma pequena diferença na sua região controladora restringe a expressão de *Ubx* aos segmentos torácicos nos insetos, assim impedindo a formação de pernas nos demais segmentos, enquanto nos crustáceos a expressão de *Ubx* é “permitida” em regiões mais posteriores, garantindo a formação de apêndices também nos segmentos abdominais.

Além desta flexibilidade genética evolutiva nas regiões controladoras de genes relevantes ao desenvolvimento podem também ser citados exemplos de flexibilidade epigenética. O exemplo mais informativo encontra-se provavelmente na formação dos vasos sanguíneos dos vertebrados. No processo da vasculogênese apenas a posição dos grandes vasos, como a aorta dorsal, é geneticamente especificada, enquanto os vasos periféricos ramificam-se de forma quase aleatória, bastando para isto verificar os percursos das veias nos braços, esquerdo e direito. Os vasos ramificam-se conforme as necessidades de oxigenação dos tecidos pelos quais passam. Os tecidos liberam fatores angiogênicos que induzem divisão

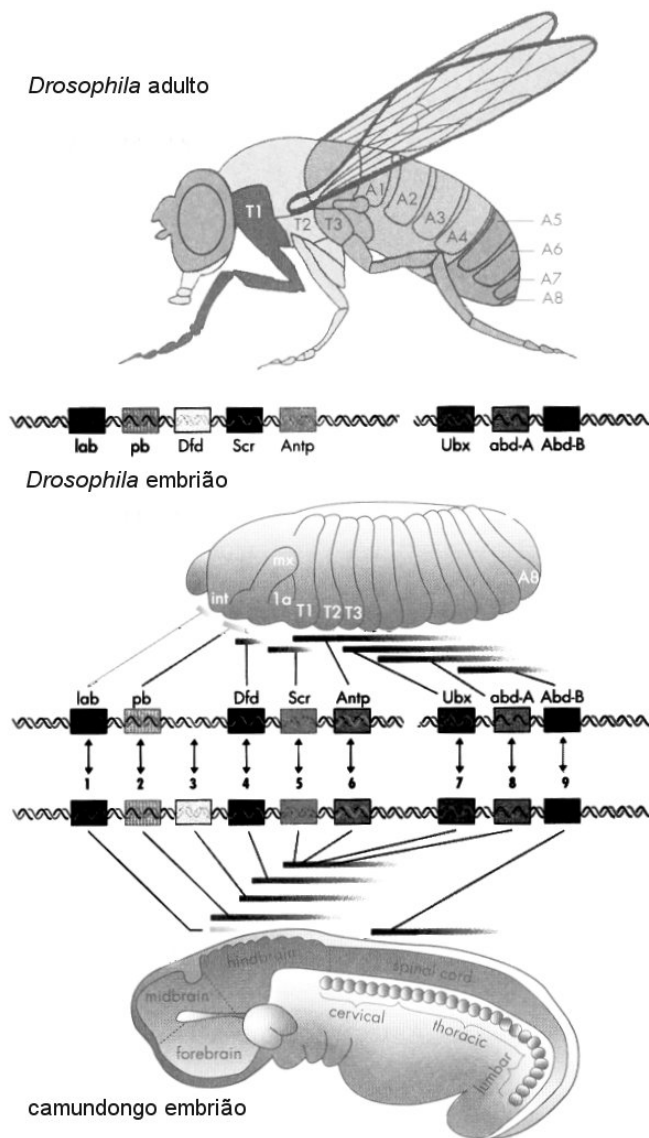


Figura 3: Domínios espaciais da expressão de genes homeóticos (*Hox*) em artrópodos (*Drosophila melanogaster*) e vertebrados (*camundongo*). O painel superior mostra a relação entre os genes homeóticos dos clusters *Antennapedia* e *Bithorax* com os respectivos segmentos. No painel médio pode ser observada a colinearidade na expressão dos genes homeóticos (os respectivos domínios de expressão estão marcados por barras) com a arquitetura cromossômica. O mesmo princípio, de colinearidade na expressão e arranjo cromossômico dos genes, encontrado nos artrópodos, ficou preservado também nos vertebrados. Nestes, o padrão ântero-posterior dos domínios *Hox* pode ser observado com mais clareza no tubo neural. Além disso, os vertebrados apresentam quatro conjuntos quase completos de genes *Hox* (*HoxA*, *HoxB*, *HoxC*, *HoxD*), cada cluster com até 13 genes (modificado de Gerhart e Kirschner, 1997, *Development, Genes and Evolution*, Blackwell - copyright).

localizada nas células endoteliais e desta forma atraem vasos que possam providenciar oxigênio e nutrientes aos respectivos tecidos em desenvolvimento.

Um outro exemplo de flexibilidade encontramos no crescimento axonal, isto é, no estabelecimento das projeções neuronais. Os cones de crescimento nos terminais axonais contêm múltiplos receptores para fatores de crescimento neural. Estes fatores encontram-se na lâmina basal das células sobre as quais os axônios migram. Tais sinais, porém, são apresentados apenas durante um tempo restrito, assim restringindo, em tempo e espaço, as possibilidades do crescimento das projeções neuronais.

Sem dúvida, o exemplo mais ilustrativo da flexibilidade no desenvolvimento, é a crista neural dos vertebrados. As células da crista neural, localizadas inicialmente nas bordas das pregas neurais, tornam-se células migratórias e saem do contexto epitelial quando o tubo neural se fecha. No tórax, as células da crista neural podem seguir duas rotas principais. Na primeira, as células da crista neural atravessam as unidades segmentares do corpo, os somitos enquanto, na segunda, as mesmas migram mais periféricamente entre o ectoderma e o dermomiótomo. Conforme a rota migratória, as células da crista neural têm destinos diferentes e contribuem para o desenvolvimento de uma série de tecidos, desde estruturas ósseas, musculares e nervos do viscerocrânio, elementos dos arcos branquiais, inclusive dentes, partes do timo, cartilagem do ouvido interno, até os gânglios dorsais e simpáticos, a medula adrenal, gânglios parassimpáticos intestinais e, por fim, até os melanócitos e alguns elementos cardíacos. Devido a este grande potencial de flexibilidade ontogenética, a crista neural é capaz de produzir fenótipos bastante diferenciados nos vertebrados como, por exemplo, nas raças de cães, que são resultantes da seleção humana sobre certas características faciais e de coloração. Essencialmente, todos estes fenótipos dos caninos puderam ser selecionados devido a variabilidade genotípica no número e nos padrões migratórios das células da crista neural.

8. A “explosão cambriana”

Voltando às observações sobre o conservacionismo nos padrões de desenvolvimento embrionário e nos genes envolvidos, pode-se refletir agora sobre as possíveis origens destes padrões. Ao se tentar relacionar os diferentes padrões de desenvolvimento à história fóssil, é possível notar que a evolução destes padrões de desenvolvimento não pode ter seguido um percurso gradual, com lenta transição de um padrão para outro, uma vez que a evolução de todos os grandes grupos dos Bilateria aparentemente ocorreu em apenas 35 a 40 milhões de anos, na transição da época proterozóica (Vendiano) para o Cambriano, entre 560 e 520 milhões de anos. A fauna de metazoários vendianos de 580 milhões de anos era composta quase exclusivamente de animais diblásticos, isto é,

de organismos estruturalmente similares aos cnidários. Já nos principais depósitos fossilíferos do cambriano, datados entre 530 a 520 milhões de anos, encontram-se representantes de todos os atuais filos triblásticos, além de exemplares cujo plano do corpo não se adequou a nenhum dos filos atuais. A fauna presente no início do cambriano, que era exclusivamente marinha, aparentemente sofreu uma radiação explosiva, devido a condições favoráveis (temperatura e conteúdo de oxigênio nas encostas marinhas rasas), gerando todos os planos corporais atuais, além de outros “experimentais” que aparentemente não passaram pelo teste da seleção natural.

Obviamente, tais formas novas não podem ter surgido do nada e, portanto, as pesquisas que tentam elucidar o surgimento dos metazoários triblásticos concentram-se sobre duas perguntas. A primeira é se os módulos reguladores, nos quais as diferentes ontogêneses dos triblásticos estão baseados, podem ser encontrados também nos diblásticos. A segunda pergunta reflete sobre as possíveis formas ancestrais dos triblásticos no pré-cambriano. Para responder a primeira pergunta é necessário entender a evolução dos genes reguladores supramencionados presentes nos representantes atuais dos diblásticos e triblásticos primitivos. Genes tipo *Hox* e *Pax* foram encontrados também nos hidrozóários onde exercem aparentemente as mesmas funções na organização dos eixos do corpo e na formação de fotorreceptores, o que faz crer que estes módulos da regulação gênica são elementos realmente antigos, possivelmente até herdados dos protozoários. Nos triblásticos, porém, estes módulos diversificaram-se e os seus diferentes membros foram organizados em complexas redes gênicas capazes de gerar uma grande variedade de planos corporais.

A segunda pergunta supramencionada foi respondida pelos paleontólogos, uma vez que entre os poucos fósseis do Vendiano não foram encontrados triblásticos. As pesquisas sobre o fato concentraram-se sobre os chamados fósseis-traço, sendo estes as “pegadas fósseis” que, para os paleontólogos, têm o mesmo significado que as pegadas de uma onça têm para o biólogo estudioso da fauna atual. Entre os fósseis-traço do pré-cambriano destacam-se pequenos túneis escavados no sedimento marinho. Estes túneis, que ganham em complexidade durante o pré-cambriano, não poderiam ser produzidos por diblásticos pois estes jamais vivem enterrados nos sedimentos. Acredita-se que estes fósseis-traço foram produzidos pela atividade escavadora de vermes que possuíam um celoma, sendo este a cavidade corpórea secundária encontrada na grande maioria dos triblásticos. Supostamente, estes vermes cavadores do pré-cambriano podem representar triblásticos ancestrais que passaram por uma radiação explosiva em planos de corpo na primeira metade do cambriano. Também, acredita-se que os eixos corporais destes Bilateria ancestrais já teriam sido organizados por genes *Hox*, no eixo ântero-posterior, e por

genes tipo *decapentaplegic/BMP4* no eixo dorso-ventral, além de possuírem genes tipo *Pax6*, responsáveis pela organização de fotorreceptores.

9. Conclusões

O casamento entre as disciplinas Biologia Evolutiva e Biologia de Desenvolvimento, que (re) iniciou-se há cerca de 25 anos promoveu um novo impulso na biologia, uma vez que conseguiu abrir caminhos para responder às grandes perguntas e dúvidas formuladas pelos biólogos, especialmente os evolucionistas dos séculos dezoito e dezenove, como Etienne Geoffroy Saint Hilaire, Jean Baptiste Lamarck, Charles Darwin, Arthur Wallace, Ernst Haeckel e outros, sobre a evolução dos organismos. A “Síntese Moderna da Biologia Evolutiva” formulada nos anos trinta do século vinte (Ronald A. Fisher, John B.S. Haldane, Sewall Wright e outros) conseguiu explicar de forma matemática os processos evolutivos atuando nas populações das espécies, que são processos considerados como microevolutivos. Estes ocorrem por alterações em frequências gênicas em populações, especialmente quando as mesmas passam por períodos de isolamento. A macroevolução, isto é, surgimento dos grandes filós, caracterizados por estruturas complexas e sem aparentes fases de transição, permaneceu um enigma. Um exemplo clássico deste problema macroevolutivo eram as longas e pouco construtivas discussões sobre a evolução dos olhos dos vertebrados. Por décadas, a teoria evolutiva darwiniana não era capaz de explicar, de forma contundente e mecanística, como estruturas tão complexas podem surgir sem que estas passem por longas “fases intermediárias” quando tais olhos ainda seriam pouco úteis, devido às próprias imperfeições.

A genética do desenvolvimento, elaborada a partir de *Drosophila*, mostrou claramente que pequenas alterações na expressão tempo-espacial de poucos genes reguladores, como os da família *Hox* e o *Pax6*, podem levar a modificações dramáticas na organização do plano do corpo que podem ser rapidamente selecionados. Uma vez evoluídos, tais módulos de redes gênicas podiam ser utilizados em contextos diferentes como, por exemplo, os genes pró-neurais *achaete-scute* de moscas-da-fruta, que definem o tamanho do sistema neural nas fases iniciais do desenvolvimento e que, posteriormente, são implicadas na determinação das cerdas sensoriais do corpo das drosófilas. A posição e o número de tais cerdas são utilizados pelos taxonomistas para distinguir as espécies de drosofilídeos. Pode-se concluir que, quando considerado do ponto de vista de regulação gênica, a aparentemente grande diferença entre macro- e microevolução simplesmente desaparece. A grande contribuição da genética do desenvolvimento para a biologia evolutiva portanto foi a de permitir explicações contundentes sobre a macroevolução de estruturas e dos grandes grupos de animais e plantas.

Sugestões para leitura

Wolpert L., Bedington, R., Brockes, J., Jessell, T., Lawrence, P., Meyerowitz, E. (1998) Princípios de Biologia de Desenvolvimento. Artmed, Porto Alegre

Gilbert S.F. (2006) Developmental Biology. 8a edição, Sinauer, Sunderland, MA, EUA

Gerhart, J., Kirschner M. (1997) Cells, Embryos and Evolution. Blackwell, Malden, MA, EUA

Carroll, S., Grenier, J., Weatherbee, S. (2004) From DNA to Diversity: Molecular Genetics and the Evolution of Animal Design (2a ed. Blackwell, Malden, MA, EUA