

LA FORMACIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO EN LA MOSCA DE LA FRUTA, DROSOPHILA MELANOGASTER

*Miguel Ángel Mendoza Ortiz, María Teresa Peña Rangel y
Juan Rafael Riesgo Escovar
Instituto de Neurobiología. Campus UNAM-UAQ*

La formación del sistema nervioso en la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*

Resumen

La formación del sistema nervioso embrionario en la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, es un proceso muy estudiado. El sistema nervioso central embrionario de este insecto consta de un ganglio cerebroide o cerebro alojado en la parte anterior de la futura larva, conectado a una cadena ganglionar ventral. Se forma a partir de células precursoras independientes que se separan del ectodermo, la capa germinal más externa del embrión. Estas células proliferan y migran para conjuntarse y dar origen al sistema nervioso central. Este proceso básicamente consta de tres etapas principales: la formación del neuroectodermo y mesectodermo y la delaminación de los precursores neurales, los neuroblastos y las células de la línea media, como primera etapa; la generación, por medio de divisiones asimétricas de las células madre ganglionares, diferenciadas éstas a su vez a partir de neuroblastos, de neuronas y glía, como segunda etapa y, finalmente, la diferenciación de las neuronas y células gliales. Esto ocurre a la par con la condensación y la diferenciación de este sistema en sus partes constitutivas (cerebro, cadena ganglionar ventral). Los mecanismos moleculares y las vías de señalización intercelulares involucrados en este proceso, están evolutivamente conservados, por lo que también el estudio de la formación del sistema nervioso ha servido como modelo para entender mecanismos moleculares de procesos semejantes en otros organismos.

Palabras Clave: sistema nervioso, neurogénesis, *Drosophila melanogaster*

The fruit fly *Drosophila melanogaster* nervous system formation

Abstract

Drosophila melanogaster embryonic nervous system formation is a well studied process. The central nervous system in this insect consists of an anteriorly located brain, and an attached ventral nerve cord. Individual precursor cells, separated independently from the ectoderm, the most external embryonic germ layer, proliferate and differentiate to give rise to the nervous system. After invagination, these cells also migrate to coalesce and form mature nervous system structures. The process can be subdivided basically in three phases: formation of neuroectoderm and mesectoderm, tissues derived from the ectoderm, and individual delamination of neuroblasts and medial cord cells, as the first phase. Differentiation of neuroblasts to ganglion mother cells and these, in turn, to neurons and glia, as the second phase, and finally, differentiation of these last into mature neurons and glia. This happens at the same time that condensation and differentiation of the system as a whole gives rise to its constituent parts (brain, ventral nerve cord). Molecular mechanisms and signaling pathways involved in nervous system formation are evolutionarily conserved, so study of *Drosophila* embryonic nervous system formation has also served to further our understanding of these molecular mechanisms in general.

Keywords: nervous system, neurogenesis, *Drosophila melanogaster*

Introducción

El sistema nervioso es un tejido estructuralmente muy complejo y de una gran diversidad celular. El estudio de los mecanismos que dirigen el desarrollo de este tejido es objeto de estudio de la biología del desarrollo. Esta disciplina cuenta con un amplio rango de herramientas genéticas, celulares y moleculares, lo que ha redundado en un avance importante en nuestra comprensión de la neurogénesis a fechas recientes.

En particular, es en organismos modelo como la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, idealmente dispuesta para estos menesteres (es el organismo pluricelular mejor conocido, con un gran acervo de herramientas genéticas, celulares y moleculares) en la se han investigado y dilucidado muchos de los mecanismos y principios generales que gobiernan el desarrollo embrionario. Estos principios y mecanismos están evolutivamente conservados, de manera que las bases del desarrollo del sistema nervioso de *Drosophila* son muy semejantes a lo que ocurre con la neurogénesis en otros organismos como los vertebrados. Una parte medular de este proceso lo constituye la proliferación y la diferenciación paulatina de células precursoras.

En organismos pluricelulares hay una gran cantidad de células precursoras o troncales que al dividirse dan origen a células comprometidas, mismas que al completar su diferenciación llevan a cabo funciones muy especializadas. Sin embargo, si estas células, al completar la mitosis o división celular, dieran lugar a dos células idénticas entre sí, a la postre esto resultaría en una proliferación sin diferenciación, algo que ciertamente no ocurre.

Una variante durante la mitosis en el ciclo de generación de células precursoras, son las divisiones asimétricas en células que no tienen una composición citoplásmica homogénea, de tal forma que cuando la célula se divide, surgen dos células con la misma información genética pero con distintos determinantes y distinto potencial mitótico. Por lo general una mantiene todas las características de la célula precursora mientras que la otra sigue un camino de diferenciación, una estrategia que genera células hijas con destinos diferentes. (1)

Se les llama células polarizadas a aquellas que claramente tienen una composición citoplásmica y de tipo de proteínas y dominios en su membrana plasmática diferentes en la región apical con respecto a la basal. Los filamentos de actina del citoesqueleto, en respuesta a señales de polaridad, participan en la pérdida de simetría ayudados por los microtúbulos, que estabilizan la polaridad de la célula precursora. Esto ocurre de tal suerte que se mantiene diferenciada la composición de las moléculas responsables del destino celular en la región basal con respecto a la apical. A las células precursoras del sistema nervioso, los neuroblastos, les ocurre esto como parte de la formación y diferenciación del sistema nervioso. (2)

Primer paso: formación de grupos proneurales y neuroblastos

En la mosca de la fruta la formación del sistema nervioso, o neurogénesis, inicia temprano durante el desarrollo embrionario con la especificación del ectodermo neural o neuroectodermo, región localizada en la porción ventral del embrión y el mesectodermo, dorsal a éste. (3) Esto ocurre como resultado de información posicional a lo largo de los ejes antero-posterior (en donde concurren grupos de diferentes genes con efecto en la embriogénesis: los genes denominados de efecto materno, *gap*, de regla de los pares, y de polaridad de segmento) y dorso-ventral (genes

de las vías de señalización de Dorsal y Dpp). (4 y 5)

La expresión de los genes de posición tempranos, aludidos arriba (genes del eje antero-posterior y dorso-ventral) define la posición de los grupos proneurales o de equivalencia neural a lo largo del neuroectodermo, que son grupos de células a lo largo de este epitelio que tienen el potencial de convertirse en precursores de las células del sistema nervioso. (6) Inicialmente cada célula constituyente de estos grupos de células, llamados de equivalencia neural, expresan niveles similares de genes que se requieren para dotarlas de destino neural. Estos genes, llamados proneurales, son necesarios para iniciar el camino a la neurogénesis.

Por otro lado, estas células de los grupos de equivalencia neural también expresan inicialmente niveles semejantes de otro grupo de genes, llamados genes neurogénicos. Este segundo grupo de genes, los genes neurogénicos, inhiben el destino neural y promueven el destino celular alternativo que es el destino epidérmico, o formador del tegumento o piel del organismo. Como regla general, el sistema nervioso siempre se diferencia a partir de células que se encuentran en la superficie de los embriones, y que pertenecen a la capa germinal más externa del embrión, el ectodermo.

De cada grupo de equivalencia proneural, solo una célula servirá como precursor del sistema nervioso. Esa célula será aquella que alcance el nivel de expresión más alto de los genes proneurales, y además inhibirá a sus vecinas para que no tomen el camino de la neurogénesis. Esto lo realizará expresando también niveles más altos de un gen del grupo de los genes neurogénicos: el ligando *Delta* que activará al receptor de membrana Notch en las células vecinas. Los genes neurogénicos, que conforman la vía de señalización intercelular de *Notch*, regulan interacciones célula-célula que son importantes para determinar el destino celular en una gran variedad de tipos celulares durante el desarrollo, además del neural. (7) Al expresar niveles más altos del ligando se producirá un efecto conocido como inhibición lateral, que activa la expresión de genes neurogénicos en respuesta a la activación de la vía de Notch en las células receptoras de la señal e inhibe el potencial neural de las mismas, dirigiéndolas hacia un destino diferente, como células precursoras de la epidermis o epidermoblastos. (8) Finalmente, además de inhibir el destino neural en las células vecinas, este precursor neural cambiará de comportamiento celular, porque abandonará el epitelio del que hasta entonces formaba parte, separándose de sus células vecinas, por medio de un proceso que se conoce como delaminación. (9)

Efectivamente, estas células precursoras perderán contacto con las otras células del neuroepitelio, y se colocarán dentro del embrión, por debajo del epitelio del cual se separaron. A este grupo de células se les conoce como células precursoras del sistema nervioso o neuroblastos. Estos neuroblastos se van a localizar a todo lo largo del embrión en su porción ventral (figura 1A).

Los genes proneurales, necesarios para el destino neural, codifican para factores de transcripción, que en este caso son proteínas con un dominio básico y un dominio característico denominado de hélice-vuelta-hélice (bHLH) de unión al ADN. Este grupo de genes se agrupan en el complejo *achaete-scute* (AS-C) y son cuatro: *achaete* (*ac*), *scute* (*sc*), *asense* (*ase*) y *letal of scute* (*l'sc*) (10).

La delaminación de los neuroblastos a partir del neuroectodermo ocurre secuencialmente en aproximadamente 3 horas después de que en el embrión se ha llevado a cabo la gastrulación con la formación de las capas germinales. (11) El comportamiento de estos neuroblastos varía de región en región dentro del embrión, pero en general se delaminan, proliferan y migran hacia el

interior, situándose entre el ectodermo y el mesodermo.

Además de los neuroblastos, y situadas ventralmente al neuroectodermo en el embrión después de la gastrulación, existen dos hileras de células, una a cada lado del embrión, llamadas células del mesectodermo, que también se van a delaminar del exterior del embrión y que van a formar los precursores de las células de la línea media. Estas células son precursoras de un tipo de células gliales llamadas células gliales de la línea media, y de varios linajes de neuronas (9).

Segundo paso: formación de células madre ganglionares

Un neuroblasto es un ejemplo de una célula precursora. Los neuroblastos ya polarizados experimentan divisiones asimétricas, de modo que las células resultantes son distintas entre sí. La célula más grande conserva la identidad de neuroblasto y la más pequeña se define como una célula madre ganglionar (CMG) (figura 1B). Estas CMG serán de las que a su vez surgirán las neuronas y las células gliales, células especializadas del sistema nervioso. (12)

Aunque existe una gran cantidad de células precursoras polarizadas en los organismos y se han estudiado de manera intensa, hay muchas preguntas todavía sobre cómo se origina esa segregación de proteínas y determinantes. Los neuroblastos de embriones de la mosca de la fruta han permitido empezar a entender algunos de estos mecanismos. Se han caracterizado varios genes cuyos productos se requieren para el establecimiento de la polaridad y la división asimétrica. Cuando se generan mutaciones en algunos de estos genes, el resultado es una división simétrica, lo que conduce a un incremento en el número de neuroblastos, algo que se asemeja a la formación de un tumor (13). Al igual que los genes discutidos antes (vía de *Notch*, genes neurogénicos, etcétera), es importante señalar que la mayoría de las proteínas identificadas como clave para realizar las divisiones asimétricas están conservadas evolutivamente y llevan a cabo las mismas funciones en otros organismos, incluyendo los mamíferos.

Todas las células pasan por una fase G1 (de crecimiento), una fase S (de duplicación de ADN), una fase G2 (de crecimiento) y una fase de división o mitosis. En los neuroblastos al final de la fase G2 e inicio de la mitosis, se forma un complejo en la región apical iniciado por la proteína *Bazooka* que se une a lípidos de membrana, y que a su vez recluta a otras proteínas, entre ellas a Par6 y a una proteína cinasa C atípica (aPKC). (14) Las cinasas son proteínas que fosforilan a otras proteínas y son sumamente importantes en vías de señalización en procesos de diferenciación, proliferación y cambios de forma celular. Las fosforilaciones son modificaciones covalentes que inducen cambios de conformación en las proteínas diana lo que generalmente resulta en que las proteínas diana así modificadas, son capaces ahora de interactuar con otras proteínas, activándolas o favoreciendo su movilización al núcleo.

Proteínas que forman parte de otro complejo que incluye a Miranda, una proteína adaptadora, y a Prospero, un factor de transcripción que regula la expresión de genes de destino neural, se localizan inicialmente en la región apical del neuroblasto al igual que aPKC. aPKC unida a Par6 es inactiva, pero al fosforilarse Par6, se separa de aPKC, dejando libre y activa a aPKC. aPKC fosforila directamente a Miranda y a Prospero. Estas fosforilaciones son suficientes para la movilización de Miranda y Prospero de la región apical a la región basal en cuestión de minutos durante la primera etapa de la mitosis. (15) Este mecanismo de activación por medio de fosforilación de aPKC también ocurre en otras células de *Drosophila* durante el desarrollo y en otros organismos.

El neuroblasto así polarizado completará la mitosis, dando lugar al nacimiento de dos células: una célula madre ganglionar que contiene los complejos de la región basal descritos, y una segunda célula con el contenido de la región apical responsable de la renovación de neuroblastos. Las células madre ganglionares, después de una o varias rondas de división, generarán las neuronas y glía del sistema nervioso.

Tercer paso: Diferenciación de neuronas y glía

Como consecuencia de la proliferación de neuroblastos y células madre ganglionares, en etapas subsecuentes del desarrollo, se localizan por arriba de esos tipos celulares grupos de neuronas y de glía en diferenciación (figura 1C). Las neuronas empiezan a enviar axones hacia sus dianas, y tanto neuronas como glía empiezan a expresar marcadores específicos, como el antígeno que reconoce el anticuerpo monoclonal 22c10 (figura 1D), que marca predominantemente axones (9).

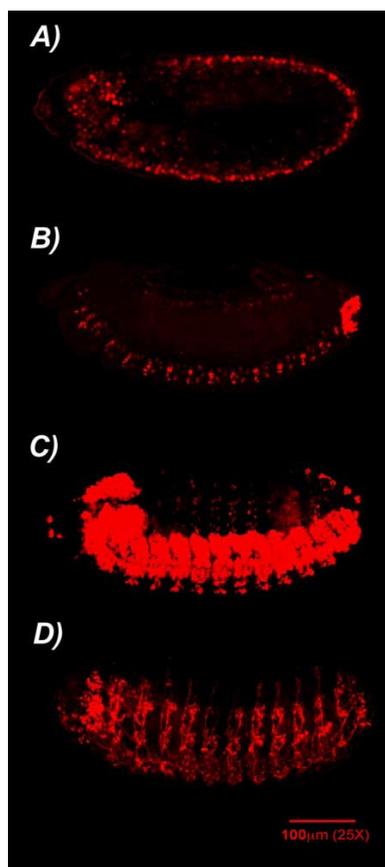


Figura 1. Marcadores del sistema nervioso en formación de la mosca de la fruta. En todos los paneles, dorsal es hacia arriba y anterior a la izquierda. Se observan imágenes tomadas en un microscopio confocal de apilados de embriones de *Drosophila* teñidos con los siguientes anticuerpos: A), anti-Deadpan, que marca neuroblastos; B) anti-Even skipped, que marca células madre ganglionares; C) anti-Elav, que marca somas o cuerpos de neuronas, y D) 22c10, que marca axones de neuronas del sistema nervioso central. En A), C) y D), la mayor densidad de marca evidencia el cerebro en formación, mientras que en todos los paneles la marca localizada ventralmente en el embrión señala la cadena ganglionar ventral en formación.

En un principio, la mayoría de las neuronas envían axones cortos hacia la parte dorsal del sistema nervioso en formación, pero muy pronto, la continua proliferación y diferenciación de neuroblastos y de CMG hace que los cuerpos o somas de las neuronas en diferenciación, empujados desde abajo, invadan las zonas lateral y dorsal de axones, generando una región envolvente continua de somas neurales o cortex alrededor de una región central de fibras, o neurópilo.

Una minoría de las neuronas envían axones largos, formando tractos que sirven también de tractos pioneros para otros grupos de axones. En particular, para cada segmento del cuerpo del embrión se forman un par de tractos o comisuras que van de izquierda a derecha, y que conectan ambos lados del embrión. Se conocen como las comisuras anterior y posterior. Se sabe que la navegación de estos axones requiere de vías de señalización y moléculas clave como las netrinas, que son expresadas por glía de la línea media, y que interactúan con un receptor en los axones llamado Frazzled. Además, existen tractos longitudinales que conectan los diferentes segmentos del cuerpo, y también tractos axonales que unen la periferia con el sistema nervioso central, algunos en dirección ventral-dorsal, y otros hacia el interior del embrión.

Existen muchas otras moléculas señalizadoras, como las semaforinas, que conforman una familia de ligandos reconocidos por los receptores plexinas, y la proteína Commisureless; las moléculas Robo, requeridas en los tractos longitudinales, que al interactuar con la proteína secretada Slit, mantiene a los axones de los tractos longitudinales sin cruzar la línea media del embrión, etcétera. Al igual que en los casos anteriores, todas estas moléculas señalizadoras están conservadas evolutivamente. Una vez que llegan a sus blancos o dianas, estos axones establecen contactos sinápticos con ellos, ya sean otras neuronas o bien células musculares.

Al tiempo que ocurre la diferenciación de las neuronas, se establecen también distintos tipos de células gliales. Éstas se han clasificado en tres tipos principales: aquellas asociadas con la superficie del sistema nervioso en formación, aquellas asociadas con el cortex y aquellas asociadas con el neurópilo. De las asociadas a la superficie y al neurópilo existen varios subtipos. Además de estas células gliales derivadas de los neuroblastos, existen las células gliales derivadas de las células del mesectodermo o de la línea media, que son críticas para la formación de las comisuras anterior y posterior en cada segmento. Estas células gliales de gran tamaño terminan englobando estos tractos axonales hacia el final del desarrollo embrionario.

Las células gliales cumplen un sinfín de funciones dentro del sistema nervioso; entre otras, como guía de axones (en vertebrados es conocido el caso de la glía radial de Bergmann), como células coadyuvantes en la transmisión nerviosa, como apoyo metabólico y sostén de las neuronas, etcétera. Existen marcadores, como el gen *repo*, que marca a todas las células gliales de la mosca, lo que facilita su identificación y estudio.

La mosca de la fruta es un insecto holometábolo. Esto quiere decir que sufrirá una metamorfosis completa hacia el final de la vida larvaria. Sin embargo, y a diferencia de la mayoría de los tejidos larvarios, el sistema nervioso no se digierá o histolizará. Al contrario: poco antes del inicio de la metamorfosis grupos de neuroblastos que se habían delaminado desde la etapa embrionaria descrita arriba y que se encontraban quiescentes, empezarán a proliferar de nuevo, para generar nuevos neuroblastos, CMG y nuevas neuronas y glía durante la metamorfosis. De esta suerte, a las neuronas y glía de origen embrionario se les adicionarán nuevas neuronas y glía diferenciadas durante la metamorfosis, lo que hace que el sistema nervioso de la mosca

adulto sea más complejo y dé un mayor número de células que el inicialmente formado durante la embriogénesis. Hasta donde se sabe, los mismos mecanismos moleculares operan en esta segunda etapa de proliferación y diferenciación del sistema nervioso.

Conclusión

La formación del sistema nervioso de la mosca de la fruta ha servido para estudiar varios aspectos clave: la organización misma del sistema, su génesis, así como los mecanismos moleculares y las vías de señalización requeridos durante el desarrollo del mismo, como las divisiones asimétricas y la diferenciación celular. El hecho de que, aunque complejo, esté compuesto por un número relativamente reducido de células, ha posibilitado que se puedan entender algunos de estos procesos a nivel celular, y que ya se haya publicado un primer atlas del sistema nervioso de *Drosophila* a resolución celular; es decir, incluyendo todas las células que lo conforman. (16) Esta información puede consultarse en una base de datos generada al efecto (Fly Circuit: <http://www.flycircuit.tw/>).

Finalmente, dado lo evolutivamente conservado de los mecanismos de génesis, así como los principios de funcionamiento, es posible extrapolar muchos de los hallazgos en *Drosophila*, a otros organismos. Esto permite utilizar a la mosca como modelo, y facilitar sensiblemente la investigación en la formación del sistema nervioso de otros animales.

Bibliografía

1. Knoblich, J. A. (2008). Mechanism of asymmetric stem cell division. *Cell*: 132: 583-597.
2. Bryant, D. M. y Mostov, K. E. (2008). From cells to organs: building polarized tissue. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 9: 887-901.
3. Wolpert, L. (1998). *Principles of Development*. London Oxford: Current Biology ; Oxford University Press. pp:127-135.
4. Gilbert, S. F., Singer, S. R., Tyler, M. S. y Kozlowski, R. N. (2006). *Developmental biology*, 8th Edition. Sunderland, Mass.: Sinauer Associates.
5. Zhao, G., Wheeler, S. R., y Skeath, J. B. (2007). Genetic control of dorsoventral patterning and neuroblast specification in the *Drosophila* Central Nervous System. *Int. J. Dev. Biol.* 51: 107-115.
6. Gomez-Skarmeta, J. L., Campuzano, S. y Modolell, J. (2003). Half a century of neural pre-patterning: the story of a few bristles and many genes. *Nat. Rev. Neurosci.* 4: 587-598.
7. Yeh, E., Zhou, L., Rudzik, N. y Boulianne, G. L. (2000). Neuralized functions cell autonomously to regulate *Drosophila* sense organ development. *EMBO. J.* 19: 4827-4837.
8. Egger, B., Chell, J. M. y Brand, A. H. (2008). Insights into neural stem cell biology from flies. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 363: 39-56.
9. Campos-Ortega, J. A. y Hartenstein, V. (1997). *The embryonic development of Drosophila*

melanogaster. 2nd ed. Springer Verlag. pp: 233-268.

10. Skeath, J. B., Panganiban, G., Selegue, J., y Carroll, S. B. (1992). Gene regulation in two dimensions: the proneural achaete and scute genes are controlled by combinations of axis-patterning genes through a common intergenic control region. *Genes Dev.* 6: 2606-2619.
11. Technau, G. M., Berger, C., y Urbach, R. (2006). Generation of cell diversity and segmental pattern in the embryonic central nervous system of *Drosophila*. *Dev. Dyn.* 235: 861-869.
12. Doe, C. Q., Chu-LaGraff, Q., Wright, D. M., y Scott, M. P. (1991). The prospero gene specifies cell fates in the *Drosophila* central nervous system. *Cell* 65: 451-464.
13. Bello, R., Reichert, H. y Hirth, F. (2006). The brain tumor gene negatively regulates neural progenitor cell proliferation in the larval central brain of *Drosophila*. *Development* 133: 2639-2648.
14. Sousa-Nunes, R. y Somers, W. G. (2010). Phosphorylation and dephosphorylation events allow for rapid segregation of fate determinants during *Drosophila* neuroblast asymmetric divisions. *Communicative & Integrative Biology* 3: 46-49.
15. Atwood, S. X. y Prehoda, K. E. (2009). aPKC phosphorylates Miranda to polarize fate determinants during neuroblast asymmetric cell division. *Current Biology* 19: 723-729.
16. Chiang y col. (2010). Three-Dimensional Reconstruction of Brain-wide Wiring Networks in *Drosophila* at Single-Cell Resolution. *Current Biology* 21: 1-11.