

LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN NOTCH Y EL DESARROLLO EMBRIONARIO ANIMAL*

Alejandro Bravo Patiño y Víctor M. Baizabal Aguirre

RESUMEN

El desarrollo y mantenimiento de las funciones en un metazoario son procesos regulados por las vías de transducción de señales. Se ha demostrado que la vía de transducción de señales Notch, presente en insectos y mamíferos, es fundamental porque participa en la generación de los distintos linajes celulares, regulando con ello el desarrollo embrionario. Además, se encarga de mantener un funcionamiento correcto de las células diferenciadas, tanto en la etapa de feto como en la de adulto. El objetivo de esta revisión es describir la estructura de las principales proteínas que constituyen la vía Notch, el mecanismo de transducción y su participación en el desarrollo de un organismo pluricelular.

PALABRAS CLAVE: Vía Notch, diferenciación celular, desarrollo embrionario, somitas.

ABSTRACT

The development and function maintenance in metazoarian are process regulated by signal transduction pathways. It has been demonstrated that Notch signaling transduction pathway, present in mammals as well as in insects, is fundamental for regulating the embryo development because of its participation in the generation of the different cell lineages. Furthermore, this signaling transduction pathway is involved in the appropriate physiological function of differentiated cells from fetus to adult. This review describes the molecular structure of proteins involved in the Notch pathway, the signaling mechanism, and how this pathway is involved in the development of a pluricellular organism.

KEY WORDS: Notch pathway, cellular differentiation, embryo development, somites.

INTRODUCCIÓN

Las vías de transducción de señales regulan las actividades de las diversas células que constituyen un organismo multicelular. La transducción de señales es un proceso complicado, en el cual participan una variedad de proteínas que forman uno o más complejos multiproteicos o transduccisomas (1). Estas vías se activan ya sea cuando un agente estimulante (ligando) se une a receptores localizados en la membrana plasmática de la célula o

cuando el ligando penetra al citoplasma y se une a receptores intracelulares. Los complejos ligando-receptor formados transfieren el estímulo inicial por medio de una serie de eventos finamente controlados y acoplados que generan una respuesta, tanto en el metabolismo como en la expresión de genes en la célula estimulada.

El desarrollo de un organismo pluricelular después de la fusión de los gametos y de la aparición de las tres capas germinales del embrión, está

controlado por la vía de transducción de señales Notch, la cual se encuentra evolutivamente conservada en los metazoarios. La activación de esta vía se inicia cuando ciertas proteínas de membrana de dos células adyacentes interactúan. Se ha demostrado que esta interacción coordina una amplia variedad de procesos durante el desarrollo temprano y tardío del embrión, principalmente en la citodiferenciación y la organogénesis (2), tales procesos dan origen a un organismo complejo

*Recibido: 5 de octubre de 2005 Aceptado: 22 de noviembre de 2005

Centro Multidisciplinario de Estudios en Biotecnología (CMEB) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Posta Veterinaria, Km. 9.5 Carretera Morelia-Zinapécuaro. Apdo. Postal 53, Admón. Chapultepec. C. P. 58262 Morelia, Mich. Teléfono y Fax: (443) 295-80-29. Correo E: abravo@zeus.umich.mx

y funcional con células altamente especializadas. Además, Notch participa en el funcionamiento fisiológico adecuado del organismo, desde la etapa de feto hasta la de adulto (3, 4), coordinando las funciones de las células diferenciadas. Esto sugiere que la respuesta celular mediada por Notch depende del entorno celular en que se recibe el estímulo (5).

Esta revisión describe la vía Notch y su importancia en la regulación de la diferenciación celular del embrión. En la primera parte se presentan los elementos que la constituyen, mientras que la segunda parte está dedicada a describir la vía y su participación durante el desarrollo embrionario con énfasis en el mesodermo.

ELEMENTOS DE LA VÍA DE DIFERENCIACIÓN CELULAR NOTCH

Las proteínas que componen la vía Notch se pueden separar en dos grupos (Tabla I). En el primero, se ubica a las proteínas que funcionan como ligandos, receptores, represores, co-represores y factores de la transcripción, las cuales constituyen el núcleo de la vía y son las que transducen la señal. En el segundo grupo, se incluye a las proteínas reguladoras que modulan la respuesta celular e influyen en la duración de la señal recibida, modificando de manera directa a las proteínas integrantes del primer grupo por medio de las actividades de las enzimas glucosiltransferasa, proteasa, metaloproteasa y ubiquitina-ligasa (5, 6). A continuación, se describe la estructura y función de las proteínas más importantes de ambos grupos.

Familia Delta-Serrate-Lag-2. Las proteínas de este grupo se caracterizan por tener un solo cruce transmembranal, localizarse en células de decisión primaria y funcionar como ligandos, es decir son las encargadas de transmitir el estímulo a las

TABLA I
GENES INVOLUCRADOS EN LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN NOTCH

Gen	Organismo	Proteína	Homólogo en mamíferos
Grupo I			
A. Ligandos			
<i>apx-1</i>	<i>C. elegans</i>	Familia DSL (<u>D</u> elta- <u>S</u> errate- <u>L</u> ag-2)	Delta 1, 2, 3 ⁽⁸⁾ Jagged 1, 2
<i>lag-2</i>	<i>C. elegans</i>		
<i>Delta</i>	<i>Drosophila</i>		
<i>Serrate</i>	<i>Drosophila</i>		
B. Receptores			
<i>lin-12</i>	<i>C. elegans</i>	Familia LIN-12/Notch	Notch1, 2, 3, 4
<i>Notch</i>	<i>Drosophila</i>		
<i>glp-1</i>	<i>C. elegans</i>		
C. Represores y co-represores.			
<i>Hairless</i>	<i>Drosophila</i>	Enlaza a Su(H)	TLE
<i>Groucho</i>	<i>Drosophila</i>	Co-represor	
<i>CtBP</i>	<i>Drosophila</i>	Co-represor	
D. Factores de la transcripción.			
<i>Suppressor of Hairless</i>	<i>Drosophila</i>	Factor de transcripción	CBF1 (RBPJκ)
<i>lag-1</i>	<i>C. elegans</i>	Relacionada a la proteína de control de la cromatina en levadura.	D79984
<i>emb-5</i>	<i>C. elegans</i>		
Complejo <i>E(spl)</i>	<i>Drosophila</i>	Factores de transcripción	Hairy/ <i>E(spl)</i> (HES)
Complejo <i>a-c</i>	<i>Drosophila</i>	bHLH	MASH
<i>CBF1</i>	<i>Xenopus</i>	Factores de transcripción bHLH	
		Factor de transcripción	
Grupo II			
A. Glucosiltransferasas.			
<i>fringe</i>	<i>Drosophila</i>	Glucosiltransferasa ⁽⁸⁾	Manic, Radical, Lunatic, Fringe
<i>O-Fuct-1</i> ⁽⁸⁾	<i>Drosophila</i>	Glucosiltransferasa ⁽⁸⁾	POFUT1 ⁽⁸⁾
<i>C15C7.1</i> ⁽⁸⁾	<i>C. elegans</i>	Glucosiltransferasa	
B. Proteasas y metaloproteasas.			
<i>Nrarp</i>	<i>Xenopus</i> ⁽⁵⁾	Proteasa ⁽⁵⁾	ADAM10 (TACE) ⁽⁶⁾
<i>kuz</i>	<i>Drosophila</i>	Metaloproteasa	
<i>sip-17</i>	<i>C. elegans</i>	Proteína transmembranal de paso múltiple <i>Drosophila</i>	Presenilina 1,2
<i>sel-12</i>	<i>C. elegans</i>		
<i>hop-1</i>	<i>C. elegans</i>		
C. Ubiquitinligasas.			
<i>sel-1</i>	<i>C. elegans</i>	Similar a HRD3 en levadura	IBD2
<i>sel-10</i>	<i>C. elegans</i>	Caja F/repetido WD40	SEL-10
<i>neuralized</i>	<i>Drosophila</i> ⁽⁵⁾	Ubiquitinligasa clase E3 ⁽⁵⁾	
<i>deltex</i>	<i>Drosophila</i> ⁽⁵⁾	Ubiquitinligasa clase E3 ⁽⁵⁾	
<i>Suppressor of deltex</i>	<i>Drosophila</i>	Ubiquitinligasa clase E3	Itch

Los superíndices entre paréntesis indican las referencias. (Modificada de referencia 12).

células receptoras, las cuales responden siguiendo un destino celular alterno (Fig. 1 A). Estos ligandos poseen un péptido señal hacia la región N-terminal necesario para su transporte a través de la membrana citoplásmica, seguido de un dominio extracelular (NT) de 100-165 aminoácidos (aa). En seguida, se encuentra el dominio común a los miembros de esta familia, por lo que su nombre es dominio DSL (Delta-Serrate-Lag-2), de ~45 aa homólogo al factor de crecimiento epidérmico (EGF), excepto por la ausen-

cia de los seis residuos de cisteína que caracterizan a EGF. Los dominios NT y DSL conforman el dominio de enlace con el motivo EGF de Notch (EBD), cuya función es interactuar con el receptor Notch e iniciar el proceso de especialización celular que conduce a la célula receptora estimulada a un destino celular determinado (5, 7). Se han identificado de 2 a 16 dominios EGF completos adyacentes a DSL, un dominio transmembranal y un domino intracelular poco conservado en estas proteínas. En algunos

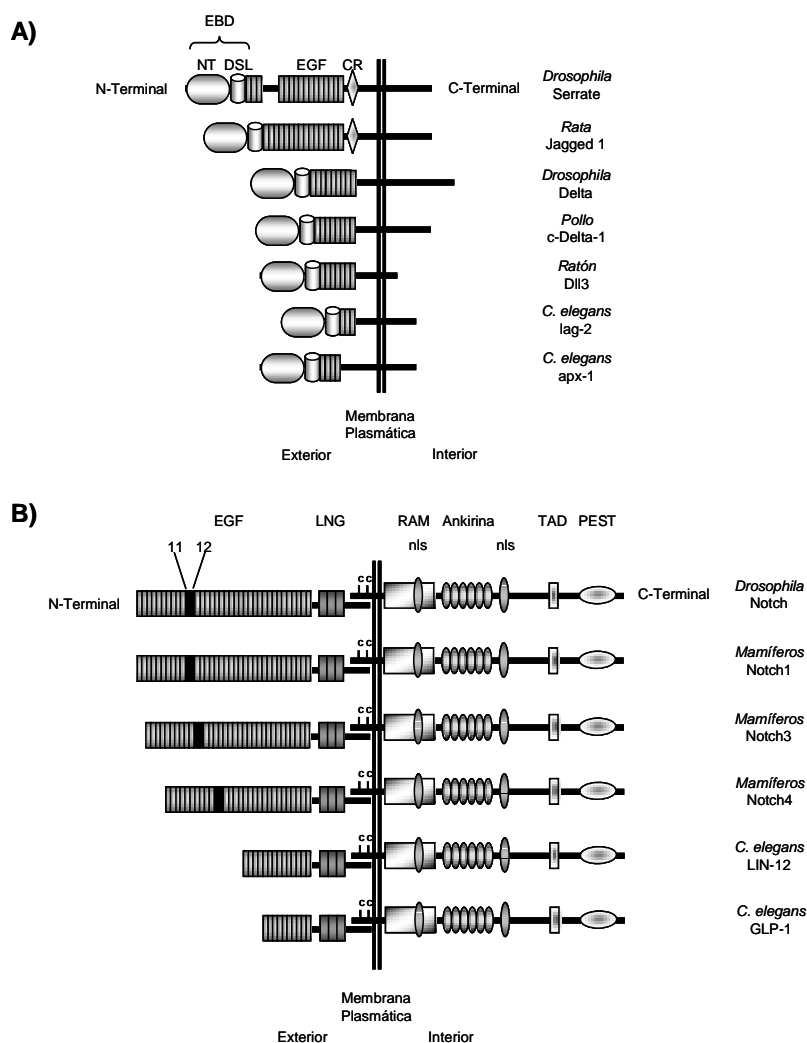


Figura 1. Representación esquemática de los elementos estructurales que caracterizan a los ligandos y receptores transmembranales de la vía Notch. **A)** Ligandos de la familia Delta-Serrate-Lag-2. **B)** Receptores de la familia LIN-12/Notch. EBD, dominio de enlace a EGF; NT, dominio extracelular; DSL, dominio modificado común en los miembros de la familia Delta-Serrate-Lag-2; EGF, factor epidérmico de crecimiento; CR, región rica en cisteína; LNG, zonas CR de los receptores; C, residuo de cisteína; RAM, región de interacción con factores transcripcionales; nls, señal de localización nuclear; TAD, dominio activador de la transcripción; PEST, región rica en prolina, glutamato, serina y treonina. Los EGF en posición 11 y 12 (color blanco) constituyen la región de interacción con los ligandos. (Modificada de referencias 4 y 7).

casos se puede identificar una región rica en cisteína (CR), localizada entre los elementos repetidos EGF y el dominio transmembranal (Fig. 1 A) (7).

Familia LIN-12/Notch. Está constituida por una familia de proteínas conservadas de ~300 kilodaltones (kDa) que atraviesan una sola vez la membrana citoplásmica (Fig. 1 B) y que tienen la función de servir como re-

ceptores de los ligandos (i.e. Delta). La región extracelular contiene de 10 a 36 elementos repetidos EGF, que presentan mayor identidad entre elementos repetidos en posiciones equivalentes de moléculas homólogas que entre elementos repetidos en una misma molécula. Esto ha servido para determinar que los elementos repetidos EGF en posiciones 11 y 12 de Notch en *Drosophila* y mamíferos constitu-

yen el núcleo primario de interacción con el ligando. Además, la *O*-glucosilación de los elementos repetidos EGF en posiciones 24, 25 y 26 (Fig. 1 B) confiere niveles de regulación adicionales tejido-específicos, es decir, la activación de la vía puede generar señales intracelulares diferentes que determinen el uso preferencial de cualquiera de los mecanismos, mediante los cuales se establece la ruta de diferenciación (5, 6, 8). LIN-12 y GLP-1 de *Caenorhabditis elegans* no contienen los elementos repetidos EGF en las posiciones 11 y 12, lo cual sugiere que la interacción ligando-receptor es diferente en este nemátodo. Los otros elementos repetidos EGF se encargan de modificar la actividad de Notch, potenciando o inhibiendo la interacción con los ligandos, así como de estabilizar la estructura del receptor. Adyacentes a estos elementos repetidos hay tres zonas CR conocidas como secuencias repetidas LNG (por estar conservadas en las proteínas LIN-12, Notch y GLP-1), esenciales para la estabilidad y la correcta conformación del dominio extracelular. Entre las secuencias repetidas LNG y el dominio transmembranal, existen dos residuos de cisteína importantes para el ensamble de la forma de estas proteínas (7).

El dominio intracelular de todas las proteínas de la familia LIN-12/Notch está evolutivamente conservado (Fig. 1 B). Cerca del dominio transmembranal y hacia el N-terminal de un residuo de valina ocurre el procesamiento proteolítico, el cual permite la liberación de Notch intracelular activo (N^{IC}). Los seis elementos repetidos de anquirina se encuentran flanqueados por la región de interacción con factores transcripcionales (RAM), mediante la cual N^{IC} interactúa con los factores activadores de la transcripción CBF1, Supresor de Hairless [Su(H)] y Lag-1 (grupo CSL, Tabla I), que le sirve de

punteo a N^{IC} para interactuar con el ADN (Fig. 3). Además, RAM y los elementos repetidos de anquirina de N^{IC} regulan la expresión de proteínas que presentan una estructura común de hélice-lazo-hélice (proteínas bHLH), las cuales actúan como factores transcripcionales para la expresión de los genes cuyos productos dirigirán a la célula a un destino celular diferente al de la célula que emitió el estímulo (5, 6). Hacia la región C-terminal de los elementos repetidos de anquirina, se encuentra el dominio activador de la transcripción (TAD), cuya función es reclutar acetilasas de histonas para generar una conformación abierta de la cromatina en la doble cadena del ADN. Cerca de TAD se encuentra una región rica en prolina (P), glutamato (E), serina (S) y treonina (T) (PEST), que es esencial para la degradación, previa ubiquitinación, de N^{IC}. Finalmente, existen dos señales de localización nuclear (nls), una dentro del dominio RAM y la otra entre los elementos repetidos de anquirina y el dominio TAD, que le permiten a N^{IC} entrar al núcleo de la célula (2, 7).

Proteasas. La actividad biológica del receptor Notch depende del procesamiento proteolítico secuencial, catalizado por tres proteasas diferentes en sitios específicos (Fig. 2). Sobre el sitio S1 actúa una convertasa, generando dos fragmentos de 120 y 180 kDa (dominios intra y extracelular, respectivamente) que permanecen unidos de forma no covalente; ambos fragmentos atraviesan la membrana plásmica y estructuran al receptor funcional (6). La exposición del sitio S2 en Notch se produce después de su interacción con el ligando. En este sitio actúa alguna de las metaloproteasas Kuzbanian (Kuz), dependiendo del tipo celular y de cuánto tiempo necesita durar el estímulo (9). Finalmente, ocurre un proceso llamado proteólisis

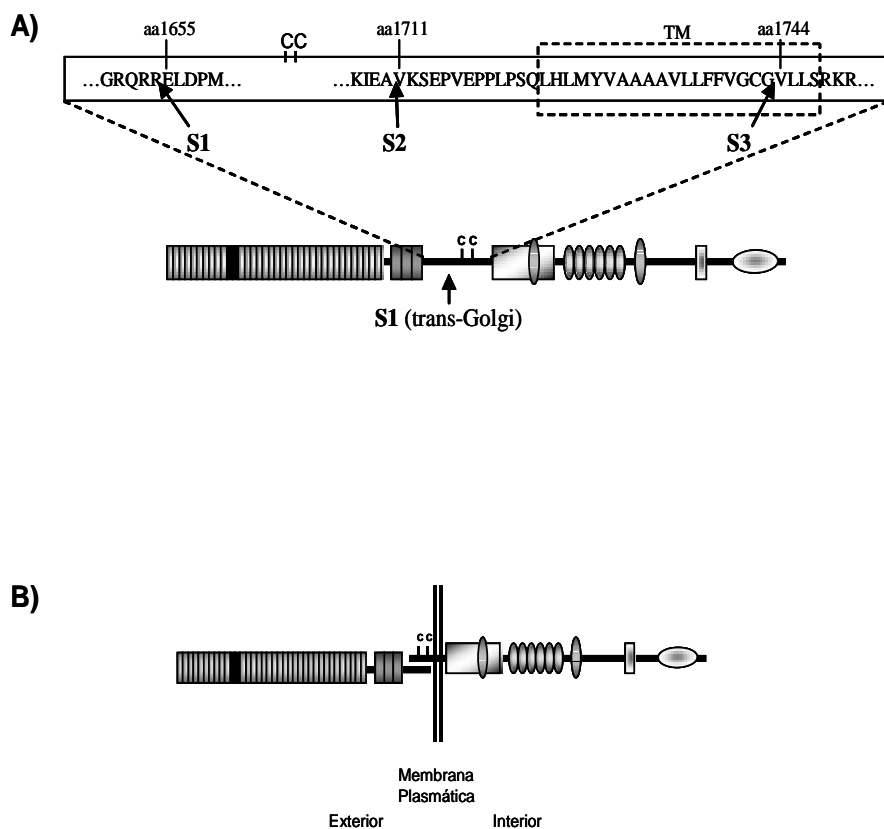


Figura 2. Procesamiento proteolítico de Notch1 de ratón. **A)** Notch inactivo. El rectángulo con línea continua muestra la secuencia de aminoácidos de la región donde ocurre el proceso proteolítico de Notch. Se señalan con flechas los tres sitios de corte, S1, S2 y S3. El rectángulo con línea discontinua indica la zona transmembranal (TM) de la proteína. El corte en el sitio S1 ocurre en la cisterna trans del complejo de Golgi para generar la forma activa de la proteína. **B)** Notch transmembranal maduro. Los cortes en S2 y S3 se producen de manera secuencial cuando un ligando interactúa con Notch. Los elementos estructurales están descritos en la figura 1. (Modificada de referencia 4).

regulada intramembranalmente (RIP, por sus siglas en inglés) en el sitio S3 catalizado por la γ -secretasa presenilina; esta última reacción libera N^{IC}, el cual se dirige al núcleo de la célula receptora (Fig. 2) (4, 6). En ciertos casos puede ocurrir una regulación negativa por ubiquitinación y degradación de la presenilina, lo que evita que N^{IC} sea liberado (5).

Reguladores. La proteína Hairless (H) actúa como un potente antagonista de la vía Notch y se requiere para la especificación de varios destinos celulares (2, 4, 5). El gen *Hairless* ha sido identificado únicamente en tres miembros del orden Díptera: *Drosophila melanogaster*, *D. hydei* y en el mos-

quito *Anopheles gambiae*. A diferencia de los demás integrantes de esta vía, el gen *Hairless* está poco conservado entre estas tres especies: comparte un 63% de identidad entre *D. melanogaster* y *D. Hydei*, y un 33% entre drosofilidos y *Anopheles* (10). La manera tan rápida en que este gen diverge, ha permitido identificar pequeñas zonas conservadas de aminoácidos y que presumiblemente son importantes en su función. Una de estas regiones se localiza en la zona de interacción con la proteína Su(H). Otra región es el motivo YSIXXLLG (donde X es cualquier aa), que se conserva perfectamente en drosofilidos y *Anopheles* y que constituye el sitio de unión de la proteína co-represora Groucho (Gro). La región

C-terminal de H posee el motivo PLNLSKH, el cual también se encuentra conservado y constituye la región de unión a otro co-represor llamado proteína de unión a C-terminal (CtBP). La proteína H de *D. melanogaster* contiene además tres dominios ricos en

alanina, los cuales actúan como represores de la transcripción. Sin embargo, estos dominios contienen un menor número de alaninas o están ausentes en H de *D. hydei* y *A. gambiae*, lo que sugiere que no son esenciales para su función (10). Ade-

más, se han observado dos isoformas de la proteína, H^{p120} y H^{p150}, con una mayor actividad *in vivo* como heterodímeros que en su forma monomérica, lo que implica que ambas son necesarias para su actividad máxima (11).

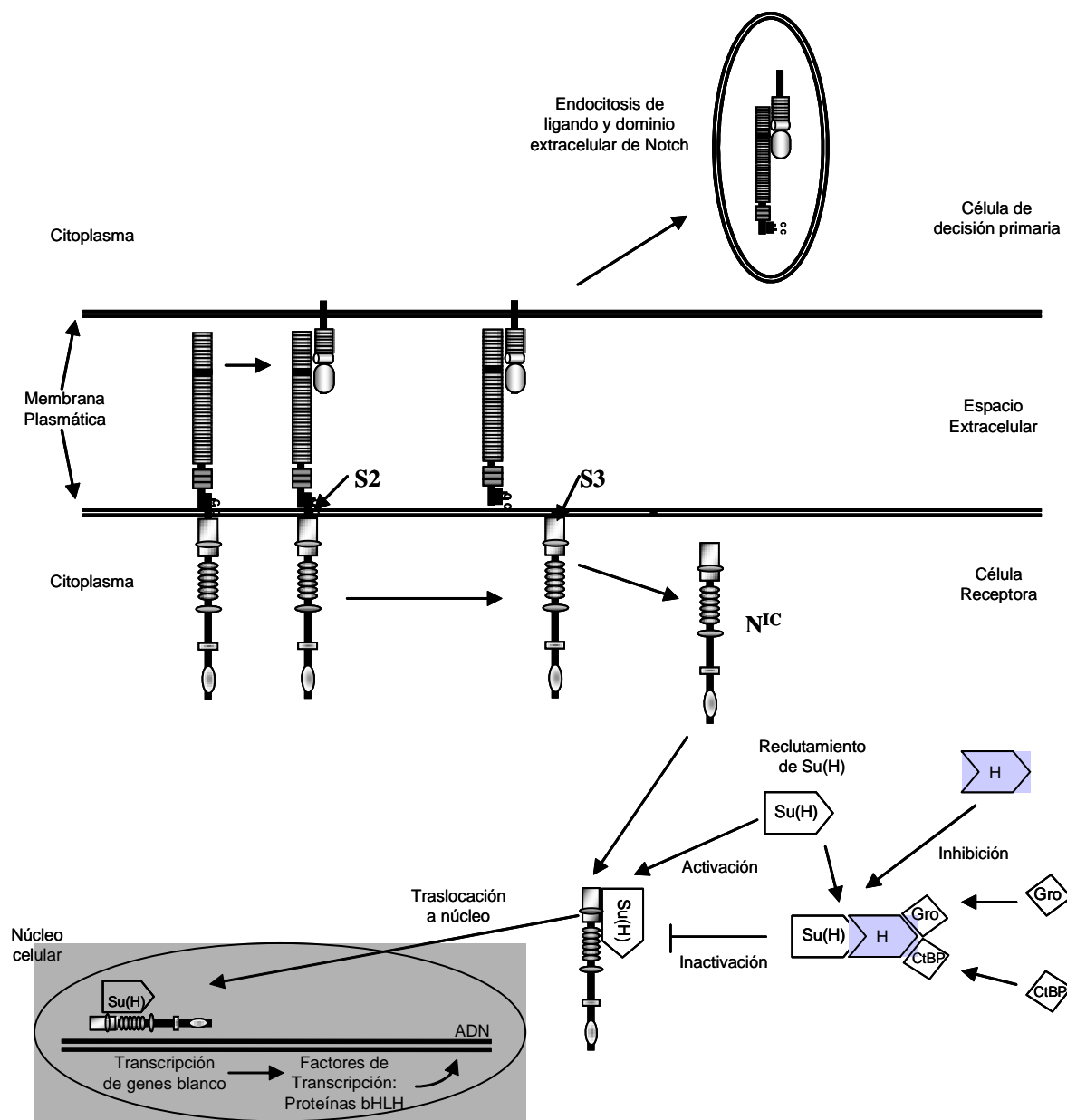


Figura 3. Activación y regulación de la vía Notch. El ligando de la célula de decisión primaria activa a Notch en la célula receptora adyacente lo que induce los cortes secuenciales en S2 y S3 que liberan a N^{IC}. En la célula de decisión primaria se forma una vesícula endocítica que introduce a su interior tanto al ligando como al dominio extracelular de Notch. En la célula receptora N^{IC} forma un complejo con el factor de transcripción Supresor de Hairless (Su(H)), que se transloca al núcleo donde activa la expresión de otros factores transcripcionales (proteínas bHLH). Estos factores inducirán la transcripción de otros genes, cuya función es dirigir a la célula a un destino celular distinto al de la célula que envió el estímulo. La actividad de Notch se bloquea cuando la proteína antagonista Hairless (H), que recluta a los co-represores Groucho (Gro) y la proteína de enlace a C-terminal (CtBP), interactúa con Su(H) impidiendo la formación del complejo N^{IC}-Su(H). Los elementos estructurales están descritos en la figura 1. (Modificada de referencia 8).

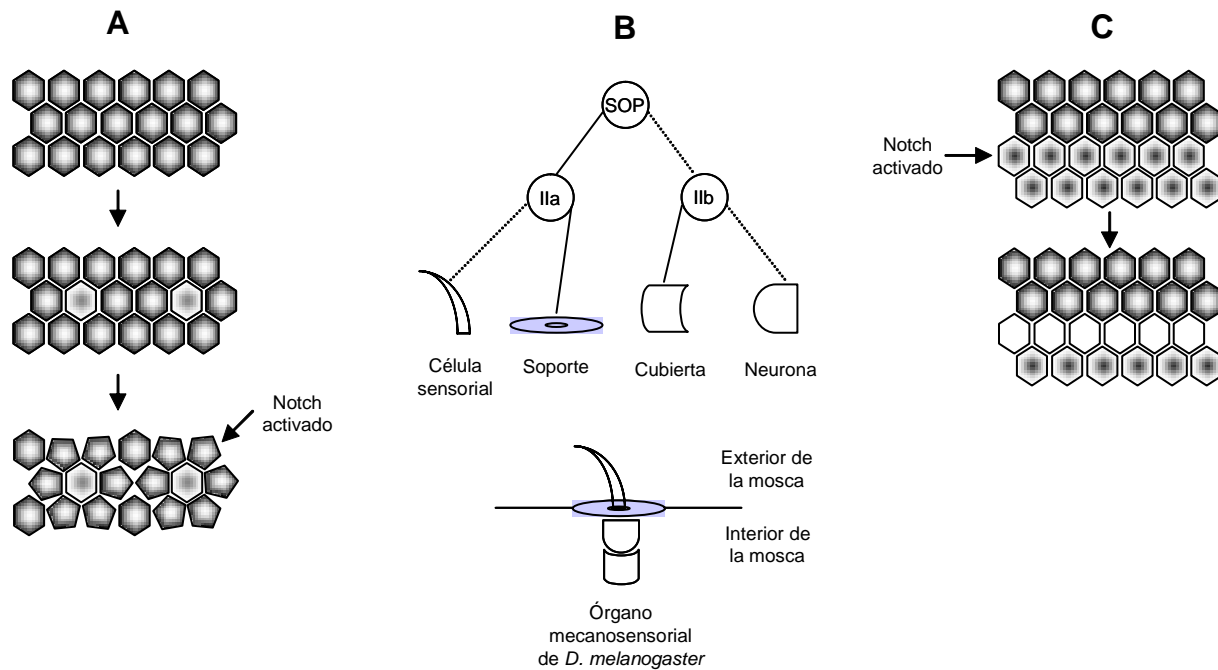


Figura 4. Mecanismos de diferenciación celular mediados por Notch. **A)** Inhibición lateral: en un grupo de células precursoras con estados de diferenciación equivalentes (hexágonos oscuros), dos de ellas (hexágonos claros) activan al receptor Notch localizado en las células vecinas con lo que evitan que tomen el mismo destino celular y, por tanto, adquieren un destino celular diferente (pentágonos oscuros). **B)** División asimétrica o decisión de linaje: Notch se activa en las dos células hijas después de cada división celular; sin embargo, en una de estas células (líneas discontinuas), N^{IC} es atrapado en vesículas, evitando que llegue al núcleo. Esto trae como consecuencia los destinos celulares diferentes. SOP, célula precursora de órganos sensoriales. **C)** Señalización inductiva: un grupo de células (hexágonos oscuros) induce a las células vecinas (hexágonos claros) a diferenciarse para crear una interfase entre ambas (hexágonos blancos). (Modificado de referencias 3 y 8).

MECANISMO DE LA VÍA DE DIFERENCIACIÓN CELULAR NOTCH

La activación de la vía Notch se esquematiza en la figura 3 y puede describirse de la siguiente manera: el ligando presente en una célula de decisión primaria activa al receptor transmembranal Notch de la célula receptora adyacente. Después de la interacción del ligando (i.e. Dll3) en la célula de decisión primaria con el receptor Notch en la célula receptora, se forma una vesícula endocítica que atrapa en su interior al dominio extracelular de Notch (por acción directa de una proteína llamada dinamina) en la célula de decisión primaria (Fig. 3). Como consecuencia de esta interacción, se libera N^{IC} y se forma un heterodímero con el factor de transcripción Su(H). Este complejo migra hacia el núcleo donde convier-

te un complejo represor de la transcripción en uno activador, con lo cual se induce la expresión de genes específicos primarios en la célula receptora estimulada. Los factores de transcripción bHLH producidos por la expresión de estos genes primarios activan a su vez la expresión de genes cuya función es dirigir a la célula receptora estimulada a una diferenciación distinta a la de la célula de decisión primaria (2, 4). Cuando H se encuentra presente, recluta a los co-represores Gro y CtBP; el complejo resultante atrapa a Su(H), causando una represión transcripcional de los genes inducidos por Notch. Esta vía controla el destino de las células que se encuentran en proceso de diferenciación mediante tres mecanismos diferentes:

1) *Inhibición lateral*. Una célula ubicada dentro de un grupo de células en estados de desarrollo y especiali-

zación equivalentes y con una localización específica, actúa como célula de decisión primaria y evita que sus vecinas sigan la misma ruta de diferenciación (Fig. 4 A). Un ejemplo de esta inhibición lo presentan las células ordenadas en líneas muy delgadas y localizadas en posiciones precisas a lo largo del ala en formación de *Drosophila*, las cuales se diferencian en células formadoras de las venas de las alas. Las células que las rodean siguen proliferando para organizar la estructura del ala de la mosca (8, 12, 13).

2) *División asimétrica o decisión de linaje*. Este mecanismo se caracteriza porque después de cada división celular, cada una de las dos células hijas es inducida a adquirir una especialización diferente (Fig. 4 B). Esto ocurre porque N^{IC} es funcional sólo en una de ellas. En la otra célula, N^{IC} es capturado en vesículas, evitando que

llegue al núcleo y active la transcripción de proteínas bHLH. Por ejemplo, las células precursoras de órganos sensoriales (SOP) de *Drosophila*, que conforman su sistema nervioso periférico, experimentan un primer proceso de división para dar origen a los tipos celulares IIa (N^{IC} activo) y IIb (N^{IC} inactivo). A su vez, IIa da origen a la célula sensorial (N^{IC} inactivo) y soporte (N^{IC} activo), mientras que IIb da origen al par celular neurona (N^{IC} inactivo) y cubierta (N^{IC} activo) (2, 12).

3) *Señalización inductiva*. Cuando dos poblaciones celulares diferenciadas coexisten, se necesita la formación de una interfase entre ellas que permita separarlas y distinguirlas (Fig. 4 C). Por ejemplo, en las alas de *Drosophila* en desarrollo, las células del compartimiento dorsal estimulan al receptor Notch en las células adyacentes del compartimiento ventral mediante el ligando Serrate (Tabla I). Esta interacción causa que las células ventrales sinteticen los ligandos Delta o Serrate, que estimulan al receptor Notch localizado en las células dorsales. Como resultado, las células que existen entre la zona ventral y dorsal se diferencian y forman una interfase que funciona como un centro organizador director del crecimiento y posición correcta de las células estructurales de un ala madura funcional (2, 5, 13).

IMPORTANCIA DE LA VÍA NOTCH EN EL DESARROLLO DEL EMBRIÓN

La vía de diferenciación celular Notch tiene un papel importante en el desarrollo del embrión porque coordina una amplia variedad de procesos que dan lugar también a la organogénesis, así como al funcionamiento fisiológico, tanto del feto como de los organismos jóvenes y adultos (2, 4). Después de la formación del cigoto por la fusión del ovocito y espermatozoide, se inicia una serie de divisiones celulares que dan como resultado la estruc-

tura denominada mórula (16 células o blastómeros). En la etapa de mórula, el embrión se deposita en la cavidad uterina. El primer evento de diferenciación ocurre cuando la mórula se convierte en blástula, resultando dos grupos celulares definidos: los embrioblastos, que conformarán la masa celular interna (MCI) y los trofoblastos, que son las células que rodean al blastocele (una cavidad en el blastocisto) y cuya función es asegurar la implantación del embrión en el útero (Fig. 5 A).

El segundo evento de diferenciación ocurre en la transición de blástula a gástrula y se caracteriza porque al proseguir la división de los blastómeros y su reacomodo espacial, aparecen dos capas celulares superpuestas conocidas como epiblasto e hipoblasto en la MCI. La primera de ellas da origen al epiblasto embrionario y al ectodermo amniótico, en tanto que la segunda origina al endodermo extraembrionario y al saco embrionario (Fig. 5 B).

De manera simultánea, en el epiblasto embrionario ocurren varias especializaciones celulares que dan origen a una bicapa celular compuesta por el ectodermo y la línea celular primigenia, la cual a su vez origina al mesodermo y endodermo. Con este proceso se completa la aparición de las tres capas germinales del embrión, precursoras de los diferentes tipos celulares altamente especializados con que se estructura un organismo multicelular (Fig. 5 B).

A partir de la aparición de las tres capas germinales del embrión, éste tiene un desarrollo casi exponencial, siendo el sistema nervioso el primer tejido que se define. El sistema nervioso deriva del ectodermo, mediante la estructuración del surco neural (SN), seguido de la organización por pares de los somitas (condensaciones de células del mesodermo) que se alinean sobre el eje antero-posterior (AP) del

SN (Fig. 5 C). Esto da inicio a procesos de diferenciación celular, donde la vía de señalización Notch es fundamental para que las capas germinales den origen a los tejidos que constituyen un organismo multicelular (14, 15).

Un ejemplo sobre la participación de la vía de señalización Notch lo constituye la segmentación diferencial del mesodermo en los metazoarios. Se ha observado que en los embriones de peces, reptiles, aves y mamíferos, existe una zona de crecimiento generadora de células que entran al mesodermo pre-somítico (MPS). Después, estas células se dirigen a la parte anterior del MPS y se produce la segmentación, mediante la adhesión y compactación de las células del MPS. Posteriormente, estas células son recubiertas con epitelio y separadas por divisiones individuales, con el fin de formar las somitas. Esto implica que la formación de los pares ordenados de somitas se caracteriza porque aparecen en una orientación rostro-caudal en un número y tiempo característicos para cada especie y porque su aparición se encuentra acoplada de manera espacial y temporal con otros procesos durante la morfogénesis del embrión (16).

Con el fin de explicar la regulación de la segmentación del mesodermo, Cooke y Zeeman (citados en (14)) propusieron el modelo de "reloj y oleada" (Figura 6), en el cual plantean la existencia de un reloj u oscilador bioquímico dentro de las células del MPS. Este reloj tiene la función de coordinar y preparar a las células para que respondan a la oleada de señales de cambio celular, que proviene de la parte anterior del MPS. En este contexto, se sabe que Notch es la vía de transducción de señales encargada de dirigir la diferenciación y especialización celular en un organismo en formación. Sin embargo, Notch se activa por la acción combinada de dos vías de transducción: la vía Wnt (llamada

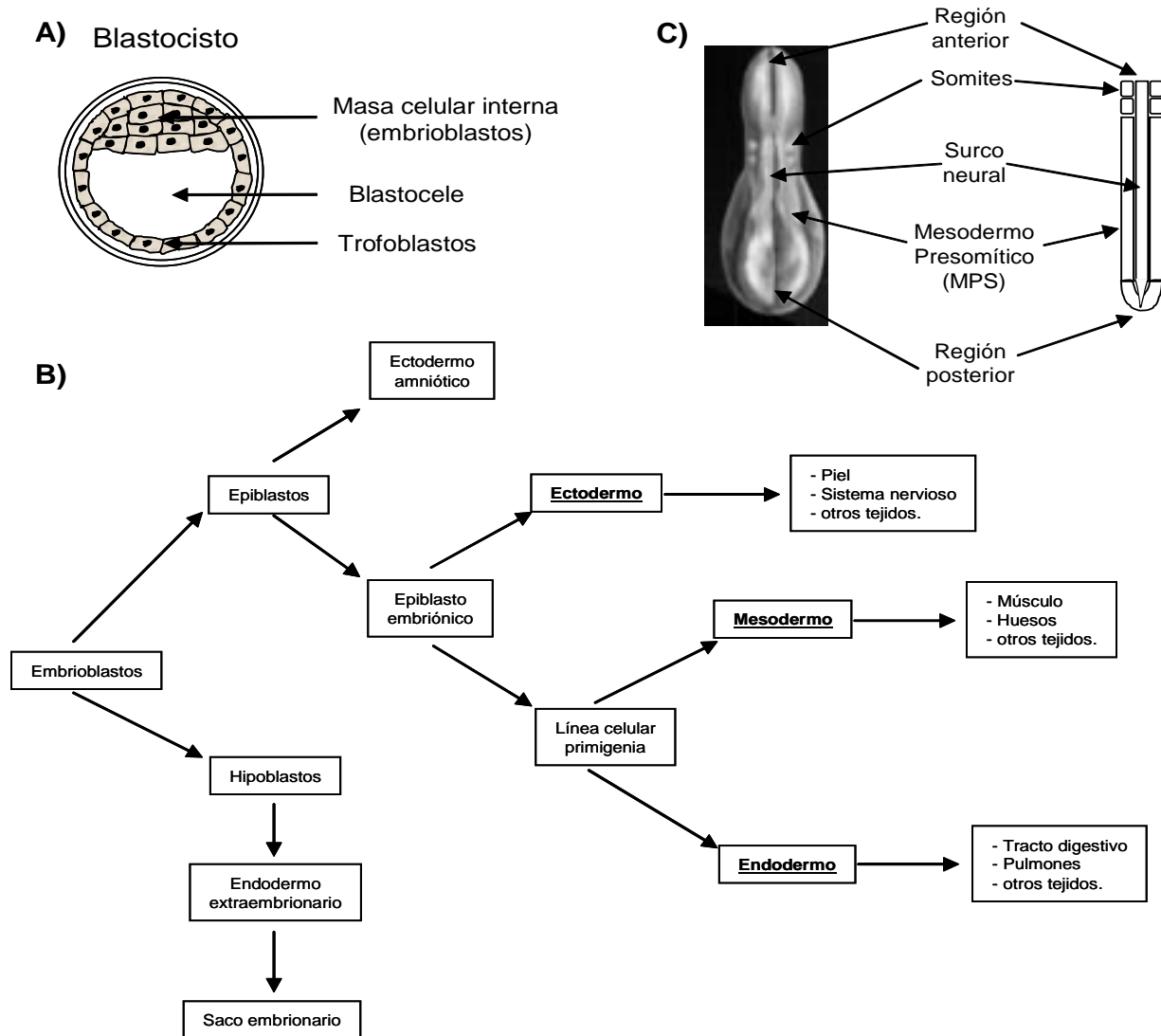


Figura 5. Organización celular del blastocisto y el origen de los linajes celulares. **A)** Corte transversal de un blastocisto donde se muestran las partes que lo componen. **B)** Especialización celular durante el desarrollo de un embrión, a partir de los embrioblastos. Se indica el origen de los diferentes linajes celulares altamente especializados, a partir de las tres capas de células germinales del embrión (en negritas y subrayadas), que estructuran los tejidos de un organismo maduro y funcional. **C)** Embrión de humano a los 19-21 días post-ovulación visto desde arriba y una representación esquemática a la derecha, donde se indican sus componentes principales (17).

así por ser la contracción de *Wingless*, una mutante sin alas de *Drosophila* e *Int* una línea celular de ratón transformada con el virus Maloney) que emplea a la β -catenina como intermediario clave y la vía FGF (factor de crecimiento fibroblástico), constituida por polipéptidos que se unen de manera específica a los receptores con función de tirosina-cinasa.

Wnt se ve involucrado porque el gen *Axin2* codifica una proteína cinasa que regula de manera ectópica y ne-

gativa al gen *Lunatic fringe* (*Lfng*) (Tabla I). Por su parte, FGF activa a la familia de genes T-box (*Tbx*) que codifican factores reguladores de la transcripción. Un ejemplo es el factor *Tbx6*, que ejerce una regulación positiva sobre el gen *Dll-1* e induce una expresión adecuada del ligando Delta-1. Además, *Tbx24* es esencial para determinar los límites de cada somite, con lo que se logra su maduración (14, 15). Las células organizadas en los dominios anteriores y posteriores de

los somitas expresan grupos específicos de proteínas bHLH para localizar y precisar grupos celulares que darán origen a diversos linajes celulares altamente especializados (14, 15).

La naturaleza propia de todo reloj u oscilador bioquímico implica que éste regrese al punto de equilibrio de donde partió. En el caso del reloj de segmentación, la coordinación de la activación periódica de la vía Notch durante las rondas sucesivas de la formación de somitas ocurre por el

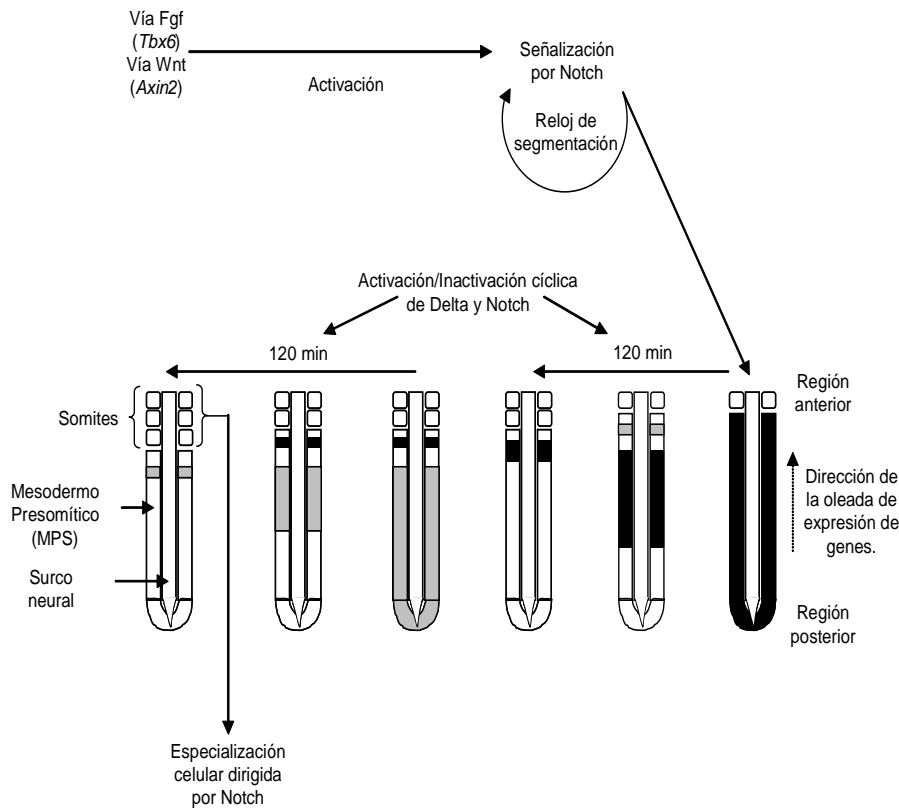


Figura 6. Funcionamiento del reloj de segmentación en el mesodermo presomítico (MPS) del embrión de ratón. La acción combinada de las vías Wnt y Fgt activa la vía Notch, lo cual propicia que en las células receptoras estimuladas se inicie la expresión de factores de transcripción específicos. Estos factores llevarán a las células a un destino celular determinado, por medio de cualquiera de los tres mecanismos por los que funciona la vía descritos en la figura 4. La especialización celular está dirigida por la expresión continua y en oleadas de estos factores de transcripción, lo cual ocurre desde la región posterior del MPS. La señal se debilita conforme alcanza la región anterior del MPS (representado en negro y gris). La expresión cíclica causa la formación de los somites con una periodicidad aproximada de dos horas (13).

mecanismo de retroalimentación transcripcional negativa, el cual funciona de la manera siguiente: el complejo N^{IC} -Su(H), con la ayuda del co-represor Gro, induce la expresión de reguladores transcripcionales necesarios para que el gen *Delta* se exprese y alcance concentraciones relativamente altas (6, 16). En este punto, la ubiquitinación de N^{IC} y la autoinhibición de los reguladores transcripcionales, causa la inhibición de la expresión de *Delta*. En ratón la oscilación en los niveles del ligando ocurre cada dos horas, lo cual coincide con el tiempo de formación de los somites en este mamífero (Fig. 6) (15).

En aves y mamíferos se ha observado que N^{IC} se une al grupo de facto-

res transcripcionales CSL para potenciar la expresión de la proteína reguladora Lfng (Tabla I), que al glucosilar directamente a Notch, regula de manera negativa la separación de N^{IC} de la membrana plasmática de la célula receptora. Se ha observado que la disminución de la concentración de Lfng resulta en un incremento de la actividad de N^{IC} (15). Esta activación-inhibición cíclica de Notch coincide con la del ligando Delta, lo cual ayuda a sincronizar adecuadamente todos los eventos de especialización que ocurren en la formación de cada somite (Fig. 6). Se ha reportado también que la actividad de Lfng promueve el mecanismo de señalización inductiva

(Fig. 4), lo cual resulta lógico porque este proceso es necesario para que aparezcan límites precisos entre grupos de células que ya han definido su linaje (2, 5, 8, 15).

CONSIDERACIONES FINALES

El desarrollo de los metazoarios depende de la actividad reiterada de la vía de diferenciación celular Notch, de tal manera que la célula sea capaz de responder adecuadamente a la variedad de señales, amplificando y adquiriendo la actividad genética y molecular que determina su destino. La capacidad que tiene esta vía de influir sobre un número importante de aspectos específicos del desarrollo, predice que la adecuada manipulación de los elementos que la componen resultaría en aplicaciones médicas, por medio de terapias celulares y/o génicas.

Con la modulación de la vía Notch en puntos específicos, empleando modelos tanto *in vitro*, originando líneas celulares específicas, como *in vivo*, produciendo animales “knock out”, se lograría una mejor comprensión de los aspectos moleculares de la biología del desarrollo y de ciertas enfermedades. La regulación de la vía Notch ofrece específicamente puntos susceptibles de intervención con fines terapéuticos, puesto que al actuar como un controlador maestro del destino celular, de la proliferación, diferenciación y muerte, implica que su conocimiento integral ayudaría a comprender mejor algunos aspectos de la inmunología, la neurobiología y la biología tumoral.

Agradecimientos. Los autores agradecen al Dr. Carlos Cervantes Vega por sus comentarios, a la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH y a PROMEP por el apoyo para realizar este trabajo mediante los proyectos 14.13-2004 y PTC-49.

REFERENCIAS

1. Zentella-Dehesa A y Alcántara-Hernández R (2003) Importancia de los dominios de interacción proteica en la formación de complejos en los sistemas de transducción. *REB* 22:117-129.
2. Artavanis-Tsakonas S, Rand M D y Lake R J (1999) Notch signaling: cell fate control and signal integration in development. *Science* 284:770-776.
3. Gerhart J (1999) Signaling pathways in development. *Teratology* 60:226-239.
4. Mumm J S y Kopan R (2000) Notch signaling: from the outside in. *Dev Biol* 228:151-165.
5. Baron M, Aslam H, Flaszka M, Fostier M, Higgs J E, Mazaleyrat S L y Wilkin M B (2002) Multiple levels of Notch signal regulation. *Molec Membrane Biol* 19:27-38.
6. Baron M (2003) An overview of the Notch signaling pathway. *Sem Cell Devel Biol* 14:113-119.
7. Fleming R J (1998) Structural conservation of Notch receptors and ligands. *Sem Cell Devel Biol* 9:599-607.
8. Haines N e Irvine K D (2003) Glycosylation regulates Notch signalling. *Nature Rev Molec Cell Biol* 4:786-797.
9. Lieber T, Kidd S y Young M W (2002) Kuzbanian-mediated cleavage of *Drosophila* Notch. *Genes Devel* 16:209-221.
10. Barolo S, Stone T, Bang A G y Posakony J W (2002) Default repression and Notch signaling: Hairless acts as an adaptor to recruit the corepressors Groucho and dCtBP to Suppressor of Hairless. *Genes Devel* 16:1964-1976.
11. Maier D, Nagel A C y Preiss A (2002) Two isoforms of the Notch antagonist Hairless are produced by differential translation initiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 15480–15485.
12. Greenwald I (1998) LIN-12/Notch signaling: lessons from worms and flies. *Genes Devel* 12:1751-1762.
13. De Celis, J F, Bray S y Garcia Bellido A (1997) Notch signaling regulates veinlet expression and establishes boundaries between veins and interveins in the *Drosophila* wing. *Development* 124:1919-1928.
14. Pourquie O (2001) Vertebrate somitogenesis. *Ann Rev Cell Dev Biol* 17:311-350.
15. Rida P C G, Minh N L y Jiang Y J (2003) A Notch feeling of somite segmentation and beyond. *Develop Biol* 265:2-22.
16. Dale J K, Maroto M, Dequeant M L, Malapert P, McGrew M y Pourquie O (2003) Periodic Notch inhibition by Lunatic Fringe underlies the chick segmentation clock. *Nature* 421:275-278.
17. www.visembryo.com/baby/stage9.html