

Universidad de Chile
Facultad de Medicina
Escuela de Postgrado

Role of the Planar Cell Polarity Pathway in the Morphogenesis of the Laterality Organ in Zebrafish

Autor:

Pablo Oteiza Alvarez

Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Biomédicas

Director de Tesis: Prof. Dr. Miguel Concha Nordemann

2009

Texto completo en: www.cybertesis.uchile.cl/tesis/uchile/2009/me-oteiza_p/pdfAmont/me-oteiza_p.pdf

Resumen . .	4
Disponible como texto completo . .	6

Resumen

A pesar de su aparente simetría bilateral, el plan corporal de los vertebrados presenta consistentes asimetrías en localización, estructura y función de diversos órganos internos como el corazón, los intestinos y el cerebro. Los mecanismos mediante los cuales el eje izquierda-derecha se establece durante el desarrollo embrionario han evolucionado desde arreglamientos cito esqueléticos y flujos iónicos tempranos hacia la actividad de estructuras ciliadas transigentes. Se ha propuesto que la actividad de los cilios en estas estructuras (denominadas órganos de lateralidad) genera un flujo extracelular de morfógenos hacia la izquierda de la línea media (el flujo Nodal), el cual determina la lateralidad de cascadas de expresión génica asimétrica y, como consecuencia, de organogénesis asimétrica (revisado en Hamada y cols., 2002; Hirokawa y cols., 2006; Raya e Izpisúa-Belmonte, 2006). Aunque la presencia de estos órganos de lateralidad se encuentra conservada en vertebrados incluyendo mamíferos (Nonaka y cols., 1998; Okada y cols., 2005), anfibios (Schweickert y cols., 2006) y peces teleósteos (Essner y cols., 2005; Okada y cols., 2005), tanto el origen embrionario como los mecanismos mediante los cuales las células ciliadas se organizan en una estructura capaz de inducir un flujo nodal hacia la izquierda son prácticamente desconocidos. En el pez cebra, los precursores de las células ciliadas son un grupo de aproximadamente 20-30 células denominadas Dorsal Forerunner Cells (DFCs). Las DFCs no involucionan sino que migran por delante del blastodermo dorsal durante la gastrulación para dar origen a principios de la somitogénesis a la vesícula de Kupffer (KV), una estructura epithelial ciliada en la cual se genera el flujo nodal del pez cebra (Cooper y D'amico, 1996; Essner y cols., 2005). En esta tesis, hemos utilizado microscopía confocal y de 2-fotones en tiempo extendido para analizar a nivel de célula única el origen, migración y organogénesis de las DFCs. Nuestros resultados demuestran que, inesperadamente, las DFCs se originan de la capa epithelial extraembrionaria del pez cebra. Nuestros análisis muestran que células epitheliales dorsales (Dorsal Epithelial Cells ó DSE) ingresan previo a la gastrulación en un proceso dependiente de la vía de señalización de Nodal/TGF y son cubiertas por las células vecinas de la capa epithelial envolvente (la Enveloping Layer ó EVL) dando origen a las DFCs. Las DFCs entonces se polarizan hacia la EVL y se unen a ella migrando en estrecho contacto con el epithelio externo durante la epibolía. A medida que la epibolía continúa, las DFCs se organizan en sus puntos de contacto con la EVL formando estructuras epitheliales con forma de roseta, las cuales son internalizadas cuando las DFCs y la EVL se separan a fines de la gastrulación. A comienzos de la somitogénesis, estas rosetas internalizadas abren sus puntos centrales y coalescen en una estructura única a partir de la cual el lumen de la KV aparece y se expande. Al mismo tiempo, la zona apical de las rosetas desarrolla cilios móviles que generan un flujo Nodal contra las manecillas del reloj. Nuestros resultados además demuestran que *wnt11* (Heisenberg y cols., 2000) y *prickle 1a* (Veeman y cols., 2003; Carreira-Barbosa y cols., 2003), dos componentes de la vía de señalización no canónica de Wnt o de polaridad celular planar (PCP) participan cooperativamente en la organogénesis de la KV mediante la regulación de la cohesión tisular de las DFCs. En embriones con pérdida de función de *wnt11/pk1a*, las DFCs aparecen como un grupo celular menos compacto, las rosetas epitheliales fallan en coalescer y aparecen claros defectos morfológicos en el lumen de la KV, los cuales van desde una drástica reducción en su volumen hasta una severa fragmentación. Además,

los cilios presentan una fuerte reducción en su longitud, lo que impide la inducción de un flujo nodal efectivo. Estos defectos llevan finalmente a una distribución aleatoria de la expresión génica de *Nodal* y a una lateralidad randomizada de los órganos internos. Con la finalidad de comprender los mecanismos mediante los cuales la vía de Wnt/PCP controla la cohesión del grupo de DFCs, procedimos a medir mediante microscopía de fuerza atómica (AFM) las fuerzas de adhesión entre DFCs aisladas de embriones con pérdida de función de *wnt11/pk1a*. Nuestras mediciones indican que la pérdida de función de la vía de Wnt/PCP induce una marcada reducción en las propiedades de adhesión célula-célula de las DFCs. Además, los defectos en la KV ocasionados por la pérdida de función de *wnt11/pk1a* pueden ser fenocopiados por la pérdida de función de la molécula de adhesión E-cadherina específicamente en las DFCs. En su conjunto, los resultados de la presente tesis entregan novedosos datos sobre el origen y las transformaciones morfogénicas que llevan a la formación de la KV, el órgano de lateralidad del pez cebra; y revelan un rol fundamental de la cohesión tisular mediada por la vía de Wnt/PCP en la coordinación de este proceso.

Disponible como texto completo

Texto completo en: www.cybertesis.uchile.cl/tesis/uchile/2009/me-oteiza_p/pdfAmont/me-oteiza_p.pdf