

LA BIOLOGIA DEL DESENVOLUPAMENT

JORDI GARCIA-FERNÁNDEZ

Departament de Genètica. Universitat de Barcelona

Adreça per a la correspondència: J. Garcia-Fernández. Departament de Genètica. Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona. Diagonal 645. 08028 Barcelona.
Telèfon: 34-93-402 15 02. Fax: 34-93-411 09 69. Adreça electrònica: jgarcia@bio.ub.es

UNA REFLEXIÓ PERSONAL

El principal objectiu de la biologia del desenvolupament és entendre com, a partir d'una única cèl·lula ou, indiferenciada, es forma el patró d'estructures tridimensionals d'un organisme adult. Aquesta planera definició amaga una història curta, però intensa, d'una branca de la biologia que fins no fa massa anys era més coneguda amb el títol d'embriologia. Quan als anys vuitanta era estudiant de llicenciatura a la Universitat de Barcelona, i em consta que per a molts estudiants encara és així, el nom *Embriologia* feia certa recança, i de fet no vaig cursar l'assignatura optativa així anomenada aleshores. Per què? Segurament perquè l'embriologia que havíem estudiat al BUP o a les primeres assignatures de la carrera era un llistat (interminable) de noms que ens sonaven estranys: blàstula, gàstrula, blastopor, mesoderma, celoma, telolecític, i molts d'altres, que ens eren definits i explicats sobre dibuixos (sovint amb colors) a la pissarra.

Molts dies acabaves la classe amb un munt de fulls plens de dibuixos de presumptes embrions de granota en diferents estadis del desenvolupament. Cada dibuix estava envoltat d'unes quantes d'aquestes noves paraules estranyes, d'on sortien fletxes que amb més o menys fortuna apuntaven estructures, línies, o fins i tot espais buits. Una setmana abans de l'examen corresponent intentaves trobar algú que hagués pres aquells mateixos apunts, però amb colors, i així esbrinaves que allò groc era l'ectoderma, el taronja l'endoderma, i el verd que apareixia en els darrers esquemes, el mesoderma. Desafortunadament, en fer les fotocòpies perdies la valuosa informació dels colors. També podies consultar llibres d'embriologia (el de moda era un de petit amb cobertes platejades) on, malauradament, es feia servir el blau per a l'ectoderma, el vermell per a l'endoderma, i el verd (aquest sí) per al mesoderma. Finalment acabaves per intentar fer una fotografia mental d'uns quants dels esquemes, memoritzar el mà-

xim nombre possible de noms de capes, estructures, i cavitats, i desitjar que el tema de l'examen no fos quelcom com «gastrulació» o, pitjor encara, «celoma».

Una vegada superat el primer cicle de biologia, i absolutament decidit a no cursar l'assignatura optativa d'embriologia, vaig matricular-me de la resta d'assignatures impartides pel departament de genètica, ja que sempre havia cregut que aquesta era la branca de la biologia que més m'atreia. Així n'hi havia una que es deia *Epigenètica*, i que no estava gaire clar de què anava. Ara s'anomena *Genètica i Biologia Molecular del Desenvolupament*, nom més clar però molt llarg, i que sovint s'escurça a *Epi*. L'*Epi* va ser una assignatura diferent. Es tractava (també!), d'embriologia, però hi havia diferències substancials, que la feien encara més difícil: 1) se'ns insistia que els embrions tenien tres dimensions 2) un estadi venia, en el temps, darrera de l'altre, 3) els moviments dins l'embrió eren molt importants. És a dir, el desenvolupament embrionari s'havia de veure com un procés en quatre dimensions. Si la tercera dimensió era difícil d'imaginar, la quarta, el temps, o com d'un estadi es passava dinàmicament a un altre, va ser (i és), el més complicat d'entendre. I finalment, per primera vegada, se'ns va dir que hi havia gens que controlaven el desenvolupament embrionari, els anomenats *gens del desenvolupament*, que activant-se en diferents llocs de l'embrió i en diferents temps del desenvolupament, controlaven el desenvolupament i la formació de l'organisme. Interessat, però no encara convençut que quelcom relacionat amb *embriologia* fes per a mi, vaig començar a fer la tesi doctoral al grup d'*Epi*, no per què m'interessés especialment el desenvolupament, sinó perquè aleshores era un dels pocs grups a Catalunya que començaven a emprar les *modernes* tècniques de genètica molecular. Com que el que de fet volia era clonar gens, seqüenciar, i utilit-

zar tota aquesta colla de tècniques aleshores tan capdaverteres, m'hi vaig ficar. A més, el treball tenia cert caire evolutiu que trobava molt interessant, ja que intentava esbrinar si animals primitius tenien també aquests famosos *gens del desenvolupament*, el que podia implicar que el mateix tipus de gens era responsable de fer animals molt diferents, i evolutivament molt distants.

EMBRIOLOGIA I DESENVOLUPAMENT

Crec que aquesta petita experiència personal reflecteix en certa mesura el passat i apunta el present i el futur de la biologia del desenvolupament. El segle XIX i el principi del segle XX van ser dominats per l'embriologia descriptiva. D'aquesta època daten la majoria de treballs exhaustius de descripció morfològica del desenvolupament embrionari de molts organismes. No és infreqüent veure en articles científics, sobretot de models animals no majoritàriament emprats, referències a articles de principis de segle. Aquells metòdics treballs d'histologia i microscòpia no han estat repetits encara, emprant tècniques més avançades, i els laboratoris que treballen amb animals que no són *de llibre* fan servir com a referència els esquemes dibuixats en aquests articles, sovint escrits en alemany.

Dels estudis d'embriologia descriptiva prové la classificació en etapes del desenvolupament de la majoria d'animals:

1) Segmentació. La cèl·lula ou o zigot es divideix ràpidament donant lloc a un nombre determinat de cèl·lules anomenades blastòmers. Normalment al final de la segmentació l'embrió té forma d'esfera buida, anomenada blàstula.

2) Gastrulació. Els blastòmers experimenten complexos i variats moviments dins l'embrió, sovint les cèl·lules més externes es

mouen cap a dins de l'embrió, i en general el final de la gastrulació marca dos fets importants: l'aparició dels tres fulls embrionaris típics (ectoderma, endoderma i mesoderma), i l'establiment dels eixos corporals (antero-posterior, dorso-ventral i lateral). Si bé avui en dia sabem que no és del tot cert, en general cadascun dels fulls embrionaris produirà tota una colla d'estructures finals en l'embrió; entre d'altres l'ectoderma donarà lloc a la pell i el sistema nerviós, l'endoderma al tub digestiu, i el mesoderm als teixits ossis, els músculs, el cor o el ronyó.

3) Organogènesi. Les cèl·lules de les diferents capes embrionàries interaccionen entre elles i es diferencien per formar els diferents òrgans de l'organisme adult.

Poc després de la descripció morfològica del desenvolupament varen venir els que avui en dia són els estudis clàssics d'embriologia experimental. Ja no es tractava d'observar com es desenvolupa l'embrió, sinó de manipular-lo experimentalment. Molts dels treballs es basaven en ablacions de parts de l'embrió, o de trasplantaments de petites parts. Un dels més famosos el feren Hans Spemann i Hilde Mangold, quan el 1924 trasplantaren el llavi dorsal del blastopor (la invaginació que s'inicia en la part dorsal de l'embrió a l'inici de la gastrulació) d'un embrió d'axolot a un altre, en una posició ventral. L'embrió receptor desenvolupava, en el lloc on havia rebut l'empelt, un segon embrió, al menys parcialment. Així definiren que el llavi dorsal del blastopor era un *organitzador* de l'embrió, i que podia dirigir la formació d'un nou eix corporal mitjançant un fenomen d'inducció.

Al meu parer hi ha dues conclusions bàsiques de l'embriologia experimental, que han resistit fins i tot *l'atac* de la biologia molecular: 1) el desenvolupament és eminentment un fenomen cel·lular i 2) el desenvolupament embrionari és eminentment progressiu.

La divisió, migració, mort i diferenciació cel·lulars són crítiques en el desenvolupament, junt amb la formació del patró, terme que es refereix a l'ordenació espacial correcta de les cèl·lules, per exemple que els dits es desenvolupin a l'extrem de la mà, o els ulls al cap. Entendre el desenvolupament d'un organisme no és més (ni menys) que entendre perquè una cèl·lula es divideix en un moment concret del desenvolupament, migra cap a un lloc determinat, canvia de forma, interacciona amb les cèl·lules del voltant, es diferencia o mor.

Les decisions durant el desenvolupament són eminentment graduals. En general en un embrió es prenen primer *grans* decisions: què donarà lloc a la part anterior, què a la posterior, o quina a l'ectoderma i quina a l'endoderma. El patró corporal de la majoria d'animals és bàsicament bilateral, i així s'han de definir ben aviat els tres grans eixos corporals: anterior-posterior (què serà cap i què cua), dorso-ventral (esquena i panxa), i esquerra-dreta. L'eix pròximo-distal dels apèndixs i extremitats es definirà més tard en el desenvolupament. Gradualment les cèl·lules de cada regió o territori aniran especificant el seu destí, cada vegada més finament, fins a diferenciar-se en un tipus cel·lular particular en un lloc determinat. Així el destí de cada cèl·lula es va refinant cada vegada més. Al mateix temps que va restringint el seu destí, sovint perd la capacitat de *tirar enrera*. El concepte de determinació cel·lular és difícil, però implica que una cèl·lula ja té el seu destí fixat, i que nomès podrà donar lloc al tipus cel·lular o al territori per al qual està destinada. Un grup de cèl·lules determinades a ser cèl·lules d'ull, en ser trasplantades en un altre lloc de l'embrió, no podran adquirir el mateix destí que les cèl·lules que envolten l'empelt, i es diferenciaran, amb més o menys èxit, en cèl·lules d'ull. Si l'empelt s'ha fet emprant cèl·lules destinades normalment a

donar ull, però encara no determinades, les cèl·lules de l'empelt canviaran el seu destí, i adquiriran el del territori on s'han empeltat.

El professor Antonio García-Bellido, el primer genètic del desenvolupament espanyol, va fer en una xerrada un símil telefònic del procés de determinació durant el desenvolupament que trobo il·lustratiu. Imaginem que la cèl·lula ou o zigot, totipotent, té el número de telèfon 34. Aquest és el prefix d'Espanya, i implica que la cèl·lula ou té la potencialitat de formar tot l'organisme (o trucar a qualsevol número). A mesura que es va dividint, les cèl·lules filles van restringint els números de telèfon o la potencialitat. Per exemple, una o poques cèl·lules tindran el número 34-93. Aquestes cèl·lules estan determinades a ser de la província de Barcelona, o, per exemple, a ser cèl·lules mesodèrmiques. D'altres tindran el prefix 96, que les determina a ser de València, o, per exemple, a ser cèl·lules del cap. Les cèl·lules 34-93-765, descendents de les determinades a mesoderma, ja estaven determinades a ser del mesoderma, però ara del Maresme, o que formaran la musculatura esquelètica: així, gradualment, les cèl·lules embrionàries van determinant-se, perdent potencialitat, fins a quedar determinades al seu destí final: una cèl·lula diferenciada en un lloc determinat, o un número particular de telèfon de nou xifres. Les decisions de determinació rarament són individuals, normalment son en comitè: grups de cèl·lules que interaccionen entre elles i amb les veïnes. En altres paraules, les cèl·lules han de prendre decisions de desenvolupament en el context de les decisions preses per les seves veïnes.

GENÈTICA I DESENVOLUPAMENT

En els estudis clàssics d'embriologia la genètica no hi tenia lloc. De fet, genètics i

embriòlegs varen tenir poc contacte a la primera meitat del segle xx. El pare de la genètica de *Drosophila*, Thomas Hunt Morgan, era embriòleg, però arribà a la conclusió que els gens (presents en el nucli cel·lular), poc tenien a veure en els estadis inicials del desenvolupament, on el citoplasma, especialment els anomenats *determinants citoplasmàtics* tenien un paper fonamental. El divorci va ser definitiu quan els genètics proclamaren que el desenvolupament no havia de ser més que el resultat de l'acció dels gens, mentre els embriòlegs esgrimien que no podia haver-hi una explicació genètica del desenvolupament, quan totes les cèl·lules de l'organisme tenen els mateixos gens (els mateixos cromosomes). No va ser fins al final dels anys quaranta, en descobrir-se que els gens codificaven proteïnes (que estaven en el citoplasma), que els embriòlegs i els genètics iniciaren tímids apropaments. Si les propietats fonamentals d'una cèl·lula eren degudes a les proteïnes, i les proteïnes eren codificades pels gens, aleshores sí era possible imaginar que els gens tinguessin un cert paper en la regulació del desenvolupament embrionari, ja que indirectament podien controlar el comportament cel·lular, clau del desenvolupament.

Avui en dia embriòlegs i genètics han refet les relacions, i són una bona parella. La clau és l'expressió gènica diferencial. En el llibre *Cap on va la biologia moderna* de la Societat Catalana de Biologia del 1971, el desenvolupament es tracta en l'article del professor Antoni Prevosti titulat *La regulació del funcionament dels gens* i la posterior discussió. El Dr. Prevosti ja apunta que a cada cèl·lula només una part dels gens estarien actius, i a diferents nivells. La discussió es centra en com pot tenir lloc aquesta activitat genètica diferencial, i es concreta en els mecanismes aleshores coneguts, bàsicament els operons procariotes, amb proteïnes repressores o activadores de la transcripció

dels gens de l'operó. M'ha sorprès constatar que fa menys de trenta anys es conegués poc, o res, dels mecanismes de regulació gènica en els eucariotes. No intentaré fer-ne un resum, però el concepte d'expressió gènica diferencial (és a dir, els nivells de regulació gènica, dels quals la regulació a nivell transcripcional és només un d'ells), és central per entendre la biologia del desenvolupament d'avui. Molts alumnes de llicenciatura tenen greus problemes per assumir que no és el mateix tenir un gen en una cèl·lula, que tenir el gen o la funció gènica activats. En la concepció actual del desenvolupament embrionari, gran part de la feina està en esbrinar quins gens s'activen en cada moment i en cada territori de l'embrió, les relacions entre ells, i el detall molecular d'aquestes relacions.

Els conceptes clàssics sovint no han canviat. Una cèl·lula determinada a un destí particular és una cèl·lula on el gen X està expressat, i que iniciarà una xarxa de regulació gènica que donarà lloc a un destí particular; aquest destí final ho és perquè té tota una altra colla de gens actius, els gens de diferenciació terminal Y i Z, precisament activats, directa o indirectament, pel producte del gen X. Una cèl·lula depèn de les veïnes perquè aquestes es comuniquen amb ella mitjançant proteïnes de membrana, o secretades, que interaccionen amb els receptors de membrana corresponents. Una cèl·lula mor perquè rep un senyal apoptòtic, o perquè ha deixat de rebre senyals de la cèl·lula veïna (en forma de contacte cèl·lula-cèl·lula per un efector i un receptor, per exemple), explicació molecular de la romàntica teoria del mascle del colom, on el mascle es mor de pena quan la parella se'n va o mor. Els determinants citoplasmàtics són proteïnes o RNA no traduïts distribuïts irregularment en el citoplasma. Els experiments de transplantaments i induccions són reproduïts, injectant en el mateix lloc no el teixit donador,

sinó la proteïna codificada pel gen W, que per si sol té capacitat inductora.

El punt d'inflexió de la genètica del desenvolupament són al meu parer els experiments de Christiane Nüsslein-Volhard i Erich Wieschaus en el seu famós crivellatge de mutants materns i zigòtics a *Drosophila* (1980), i el descobriment del complex *bithorax* d'Edward Lewis (1978), també a *Drosophila*. Tots tres van ser reconeguts amb el premi Nobel de Medicina el 1995. La producció i anàlisi sistemàtica de mutants d'efecte matern (on els gens de la mare dipositen productes gènics, RNA o proteïnes en l'ou) i zigòtics (on els gens responsables són els del zigot), que afectaven els estadis inicials del desenvolupament, va permetre identificar els principals gens responsables dels estadis primerencs, on es prenen decisions respecte dels eixos principals de l'organisme. Ed Lewis, per la seva banda, va identificar per mètodes genètics un complex de gens, avui anomenat complex Hox, que s'encarrega de la diversificació antero-posterior de l'animal seguint un ordre antero-posterior, que curiosament reflecteix l'ordre en el qual es troben els gens en el complex.

Des d'aleshores el nombre de gens del desenvolupament identificats no ha parat d'augmentar. Quasi tots reben noms impronunciables que reflecteixen en anglès, alemany o japonès, l'aspecte del fenotip mutant. Això sí, també n'hi ha un parell amb noms catalans: *pintallavis* (divertidament pronunciat *paintal-lafis* pels anglosaxons) i *patufet* (l'hi diran *peitiufit?*); un darrer gen *català* serà batejat properament amb el nom de *capicua*, fent competència semàntica al gen «francès» *caracul*.

No és tasca d'aquest escrit entrar en els detalls genètics del desenvolupament de *Drosophila*. Simplement esmentaré que en general hi ha tota una jerarquia de gens que activant-se en llocs determinats donen informació posicional dels eixos antero-poste-

rior i dorso-ventral. Aquesta informació es va refinant cada vegada més. En l'eix antero-posterior té un paper molt important el gen matern *bicoid*, que es distribueix (el seu mRNA) en un gradient antero-posterior en l'òdit (*nanos* es distribueix en un gradient oposat), mentre que en l'eix dorso-ventral es disposa un gradient ventro-dorsal de la proteïna codificada pel gen *dorsal*. Una vegada la informació posicional inicial està establerta, la resta seran decisions de subdivisió i refinament. Per exemple, en l'eix antero-posterior aquest refinament es fa seqüencialment pels gens anomenats *gap* (que divideixen l'embrió en quatre parts), després els *pair-rule* (que el divideixen en catorze regions o segments), i els de polaritat segmental (en vint-i-vuit), mentre que la identitat de cada segment serà responsabilitat dels anomenats gens homeòtics. En general es respecta, ara en termes moleculars i d'activació gènica, el principi de la progressivitat o gradualitat de les decisions, del més general al més particular.

MODELS DEL DESENVOLUPAMENT

Com en tota ciència, la majoria d'investigadors treballen amb animals anomenats model. La majoria de vegades els models han estat triats per motius tècnics, bé sigui per la facilitat d'obtenir embrions, perquè tenen un cicle de vida curt, perquè el cigot és gran, o per motius històrics o antropocèntrics. Presumptament, les respostes obtingudes en un sistema model poden permetre generalitzacions sobre com tenen lloc els processos de desenvolupament. En els vertebrats, els models més clàssics són el pollet i el gripau *Xenopus laevis*, ambdós triats per tenir embrions fàcilment accessibles a la manipulació experimental. Entre els invertebrats el model en majúscules és *Drosophila*. De fet, prop del cent per cent dels gens ma-

jors del desenvolupament s'han identificat inicialment a *Drosophila*. El gran avantatge de *Drosophila* ha estat, i és, que es pot fer anàlisi genètica: des dels anys vint que s'obtenen artificialment mosques mutants amb els més variats fenotips. Algunes d'elles, sobretot després dels experiments de Wieschaus i Nüsslein-Volhard, són mutacions en gens que intervenen en el desenvolupament. Avui en dia, induint mutacions amb elements transpositius, qualsevol laboratori pot fer tot el procés: induir mutacions a l'atzar, analitzar aquells mutants *interessants*, clonar el gen que està mutat i analitzar el seu patró d'expressió durant el desenvolupament embrionari en un organisme normal. Aleshores, donada la gran informació ja disponible, pot mirar d'encruar el seu mutant amb altres soques amb fenotips relacionats, i així anar dissecant la xarxa gènica responsable d'un determinat procés, sigui la formació del cap, l'aparició d'una pota o la separació entre dues venes d'una ala. El nivell de detall molecular amb què es coneixen molts processos, amb multitud de gens implicats, activant-se, inhibint-se, cooperant o competint, és del tot sorprenent.

És impossible fer una llista de totes les noves tècniques d'anàlisi genètico-molecular disponibles a *Drosophila* actualment. De la visió més simple, en la qual un gen és responsable de la formació de l'estructura o territori que manca en l'individu mutant per aquell gen, s'ha passat a tècniques que permeten, per exemple, activar un gen particular en un lloc particular durant un moment particular del desenvolupament, o al revés, inactivar un gen només en aquell lloc que volem i quan volem, i a més repetint l'experiment sobre mosques que tenen tots uns altres gens, possiblement relacionats, mutats o no.

Després de l'explosió de la genètica molecular, als anys vuitanta, tota una nova colla d'animals model han vist la llum. Tots

ells, de fet tots els éssers vius, poden ser objecte ara de l'anàlisi genètico-molecular del desenvolupament. Dos fets han estat clau: el primer és la possibilitat d'aïllar gens d'un organisme semblants a un gen conegut en un altre, mitjançant la hibridació d'àcids nucleics o, des de fa uns deu anys, mitjançant les tècniques de la PCR. El segon, biològicament més important, és que molts gens importants per al desenvolupament estan força conservats entre animals molt distants. Els *nous* models amb més empenta actualment són, entre els vertebrats, el ratolí i el peix zebra. El ratolí té un clar avantatge antropocèntric: és força semblant a l'home, i per definició, millor model, fins i tot per a estudiar malalties humanes. A més a més, té un avantatge tècnic molt important: és possible fer-hi genètica. Fins fa poc era l'únic vertebrat en el qual es podia *anar al revés*: en lloc d'analitzar un fenotip mutant fins trobar el gen responsable, primer es troba el gen per tècniques moleculars, i després s'obté el ratolí *knock-out*, amb el gen mutat, i se n'observa el fenotip. El peix zebra és un petit peix típic d'aquari, amb un cicle de vida molt curt i molt fàcilment (i econòmicament) cultivable. A més a més, té un embrió gran i transparent, fàcilment observable al microscopi, i amb el qual la majoria de tècniques moleculars funcionen molt bé. També a causa d'una iniciativa de Christiane Nüsslein-Volhard, l'anàlisi genètica, mitjançant induccions de mutacions, està actualment en forta expansió. Entre els invertebrats, el nou model és el nematode *Caenorhabditis elegans*, del qual es coneix quasi tot: és molt petit i té al voltant de mil cèl·lules, de les quals es coneix perfectament el llinatge cel·lular (quina prové de quina en el desenvolupament). Recentment, el seu genoma ha estat completament seqüenciat, cosa que el fa el primer animal del qual es coneix tot (o quasi tot) el bagatge genètic, tots els seus gens.

En conclusió, avui en dia es coneixen detalls impensables fa pocs anys dels gens i les xarxes de regulació gènica que intervenen en moltes de les decisions del desenvolupament, des de les més generals, com l'establiment dels eixos corporals, fins a processos de morfogènesi molt particular, com la formació de l'ull. Moltes d'aquestes xarxes gèniques són molt complexes, i sovint poc lògiques (per la lògica humana). Per exemple, un gen n'activa un altre que n'inhibeix un altre que n'inhibeix un altre. Sembla una pèrdua d'energia i temps i seria molt més fàcil que el primer gen activés directament el darrer. Les xarxes, però, no han de ser lògiques, sinó que són com són per la història evolutiva que porten al darrere. La meua visió del desenvolupament és que moltes de les funcions clau són responsabilitat de xarxes gèniques, que m'agrada anomenar *kits* genètics, que s'han anat acoblant durant l'evolució, i que s'encarreguen d'una funció particular. La funció pot ser l'establiment d'un eix, la formació d'una estructura, la interacció entre dues capes de cèl·lules, una inducció local, un comportament cel·lular o moltes altres. El nombre d'aquests *kits* és limitat, m'atreveria a insinuar un nombre de tres xifres, i un mateix *kit* pot ser emprat en diferents llocs de l'embrió, o en diferents temps, per fer estructures diferents. La màgia del desenvolupament és, segons el meu parer, com s'han originat aquests *kits*, i com la coordinació de tots els *kits* fan un organisme complet.

L'EVO-DEVO (LA NOVA SÍNTESI?)

L'eminent Lewis Wolpert inicia el seu llibre de text *Principles of Development* amb la frase «El desenvolupament dels organismes multicel·lulars a partir d'una única cèl·lula, l'ou fertilitzat, és un brillant triomf de l'evolució». El darrer capítol del llibre l'inicia

amb «Ha estat suggerit que res en biologia té sentit a no ser que es vegi des del punt de vista de l'evolució». Vorejant el canvi de mil·leni ha aparegut una nova branca de la ciència batejada com a Evolució del Desenvolupament (la versió reduïda *Evo-Devo* té detractors i partidaris, entre els darrers dels quals em compto per simplicitat). Que està de moda no hi ha dubte, si més no pel nombre d'articles i llibres que se'n publiquen i pel nombre de congressos que s'organitzen. L'Evo-Devo intenta ser una nova síntesi de l'evolució, des del punt de vista dels mecanismes del desenvolupament. L'evolució dels organismes és el canvi en la forma, en el patró corporal, i aquest està controlat pels gens del desenvolupament. Els canvis en els gens del desenvolupament canvien la forma, i per tant, són la base de l'evolució morfològica. L'Evo-Devo intenta reunir en aquesta teoria sintètica la biologia del segle XIX, sense genètica però amb molta anatomia i embriologia comparades, i la del segle XX, amb un paper central de les teories evolutives i la genètica.

L'Evo-Devo intenta explicar l'evolució i diversitat morfològica dels éssers vius com a conseqüència de canvis en els programes de desenvolupament embrionari. Un dels resultats més sorprenents de la introducció de les tècniques moleculars és que s'han aïllat molt ràpidament gens homòlegs d'aquells descoberts a *Drosophila* a pràcticament tots els altres animals en què s'han buscat, des del nematode fins a l'home. Des que es descobreix un nou gen a *Drosophila* fins que es publica l'homòleg o homòlegs de ratolí passa ben poc temps. Viceversa, quan s'aïlla un gen humà responsable d'una malaltia, de seguida es busca a *Drosophila*, o es mira al banc de dades si *C. elegans* en té un de semblant. Molt sovint, a més, el gen té un paper important en el desenvolupament. La norma general és que els gens estan conservats entre els diferents filums, i realitzen

funcions molt semblants durant el desenvolupament. Sovint es conserven xarxes gèniques (*kits*) completes que determinen processos de desenvolupament, una estructura morfològica, o una característica cel·lular. La gran conservació dels components genètics ha fet postular la *universalitat* dels mecanismes de desenvolupament, i grans esforços científics es centren en confirmar aquesta universalitat o en esbrinar si és veritat que els mateixos gens fan una mosca, un cuc o un home. La paradoxa és que la base de l'evolució és precisament el canvi, pel que l'Evo-Devo s'està enfrontant al gran repte d'intentar entendre els processos del canvi morfològic, de la innovació evolutiva, utilitzant uns elements, els gens del desenvolupament, que semblen estar molt conservats en estructura i funció, fins i tot en filums molt distants. L'Evo-Devo s'enfronta a l'excitant enigma d'explicar les bases moleculars i genètiques del canvi, la diversitat i la innovació morfològica patents en el regne animal. Per exemple, un resultat espectacular de l'Evo-Devo ha estat demostrar que els gens encarregats de l'eix dorso-ventral en els artròpodes estan conservats en els vertebrats. Això no seria gaire impactant de no ser que, com succeeix, els gens siguin els mateixos, però actuïn en l'ordre invers: el gen que a *Drosophila* fa ventral, fa dorsal a vertebrats, i al contrari. D'aquí s'ha extret que en la separació entre els artròpodes (protòstoms) i els vertebrats (deuteròstoms), l'eix dorsiventral s'ha invertit, o que el que per a la mosca és l'esquena, per a nosaltres és la panxa.

Amb l'Evo-Devo han aparegut tota una nova sèrie d'animals model, triats aquesta vegada no per motius tècnics, sinó per criteris biològics o evolutius. Alguns d'aquests models són totalment nous, altres s'han rescatat després de cent anys d'oblit. Molts són animals considerats primitius, per simples, i exemples d'estadis inicials o clau de l'evolu-

ció d'un filum particular. El que l'anatomia i embriologia comparades de fa cent anys varen proposar en termes d'homologia, divergència o innovacions, és ara reavaluat amb eines moleculars per determinar la funció (o si més no l'expressió) de gens del desenvolupament. Per exemple, l'estudi dels gens responsables de la formació de les ales a *Drosophila* en tota una colla d'artròpodes ha permès fer noves hipòtesis de com, en l'evolució, s'originaren les diferències en el patró corporal de les diferents classes d'insectes. Un altre animal que s'ha fet un lloc rellevant en l'Evo-Devo és l'amfiox, un cefalocordat, presumpte descendent viu del més immediat avantpassat dels vertebrats. El seu aspecte s'ha definit com el d'un trist filet d'anxova, i està en els llibres de text d'«invertebrats» en el darrer capítol, o en el primer dels de «vertebrats», o en cap dels dos. Té un patró corporal bàsic típic d'un vertebrat, però molt més senzill. L'anàlisi dels seus gens *Hox* feu postular la hipòtesi, de la qual sóc un xic culpable, que els vertebrats s'originaren per duplicació gènica a gran escala, posterior divergència dels gens duplicats i adquisició (invenció) de tota una colla de noves funcions i estructures (com un cervell molt desenvolupat) que ens fan ser tan complexos en relació amb els nostres avantpassats. Aquesta teoria de la duplicació gènica ha donat en certa manera una empenya a l'estudi de l'anàlisi del genoma en els vertebrats, i al concepte de grups de paralògia (grans regions duplicades en el genoma) i la seva importància en l'organització del genoma.

Com hi ha poques coses simples en ciència, l'Evo-Devo tampoc té, encara, una resposta simple per explicar com ha tingut lloc l'evolució del regne animal, o el seu sinònim, com s'han generat els diferents patrons de desenvolupament animal. Segurament no n'hi ha cap de simple. Hi ha exemples de la importància del nombre de gens i l'adqui-

sició de noves funcions (com l'esmentat cas de l'origen dels vertebrats); en altres casos grans canvis morfològics són deguts a subtils canvis en el patró d'expressió d'un o pocs gens del desenvolupament; en d'altres el que canvia semblen ser els gens que responen a aquests gens majors, els seus gens diana, o l'afinitat d'una proteïna determinada pel seu cofactor. M'atreviria a suggerir que altres innovacions o modificacions han tingut lloc per canvis no ja dins d'un *kit* genètic particular, sinó de les relacions entre dos o més *kits*. L'Evo-Devo crida de nou al concepte de la macroevolució, enfront dels canvis graduals en les freqüències gèniques responsables de la microevolució. Molts científics estan anant ben avall en l'arbre evolutiu animal, per centrar-se en un punt, l'anomenada explosió càmbrica, durant la qual s'originaren sobtadament tots els filums animals *superiors*, bàsicament els protòstoms (artròpodes, anèl·lids, nematodes, mol·luscs, platihelminths, etc.) i els deuteròstoms (equinoderms, cordats). Es discuteix fins i tot si hi va haver realment una explosió. L'any 1998 vàrem proposar una nova hipòtesi, basant-nos en el descobriment d'un complex gènec, bessó del complex *Hox* i que anomenem ParaHox, segons la qual la duplicació d'un complex gènec hipotètic ancestral, el complex ProtoHox, pot haver estat clau per a l'explosió càmbrica, i per a la gènesi de tots els patrons corporals, els filums, *superiors* (figura 1). El segle XXI ens dirà si aquesta hipòtesi és o no correcta.

I ARA?

Al segle XXI l'anàlisi genèticomolecular del desenvolupament intentarà anar més enllà. En pocs anys es coneixeran tots els gens humans. Els projectes genoma humà i *Drosophila* es completaran ben aviat. Fins i tot s'han seqüenciat ja quinze mil gens dife-

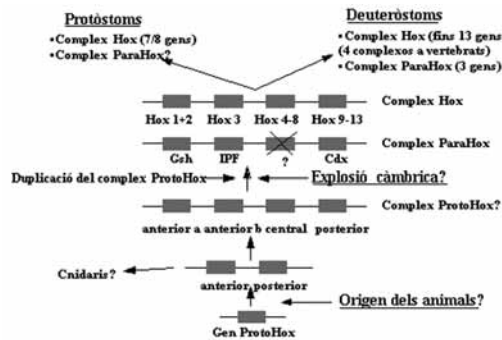


FIGURA 1. Hipòtesi sobre l'origen i evolució dels complexos gènics Hox i ParaHox, involucrats en l'eix antero-posterior animal. La duplicació d'un presumpte complex ProtoHox podria haver coincidit amb l'explosió càmbrica, on es generaren la majoria de filums animals actuals. La duplicació del complex pot haver estat important i crític per a la invenció dels nous patrons corporals. Hipòtesi d'Evo-Devo del 1998 que serà confirmada o refutada al segle XXI.

rents (un 90 % del total) que s'expressen durant el desenvolupament de l'amfiox. Segur que els patrons d'expressió de tots o quasi tots els gens es coneixeran. Aleshores es completarà l'anàlisi de la *morfologia molecular* del desenvolupament i s'haurà d'anar a entendre més en profunditat com es juguen les fitxes, els gens del desenvolupament. Per entendre el joc, fa falta l'anàlisi genètica. Junt a *Drosophila*, aquesta anàlisi s'anirà fent cada vegada més accessible en altres animals model, el peix zebra, el nematode, el ratolí, potser el pollastre, potser d'altres. Sovint, les xarxes gèniques es faran més i més complexes, i cada vegada entendrem més subtils moleculars. Els escriptors de revisions tindran molta feina per sintetitzar i simplificar els coneixements. Un objectiu que veig molt important és el d'omplir el forat entre la funció dels gens del desenvolupament i el comportament cel·lular. Més amunt he insistit que el desenvolupament embrionari és un fenomen eminentment cel·lular. Les cèl·lules es mouen, es comuniquen (parlen), es diferencien, s'entristeixen i moren. Els gens del desenvolupament s'enca-

rreguen precisament d'això, i hem d'entendre bé com ho fan. També començarem a entendre com es relacionen dos o més kits i la sinergia de les xarxes gèniques en el desenvolupament. Descobrirem, una mica frustrats, que tots els animals fan servir unes eines molt semblants. Potser hauré de pensar que els animals, encara que diferents, no són fonamentalment massa diferents, i que sovint qüestions genètiques quasi de detall, provoquen diferències que morfològicament trobem fonamentals: que la guia telefònica d'un zigot amb prefix 33 de França és molt semblant a la del zigot amb el prefix 44 del Regne Unit.

Per altra banda, la biologia del desenvolupament està i seguirà expandint-se a altres àrees (o es diluirà entre elles), i les interrelacions entre les diferents disciplines es faran cada vegada més paleses. L'organització del genoma humà no pot perdre de vista l'evolució del genoma, i l'evolució del genoma està íntimament lligada als canvis en el desenvolupament; la genètica humana descobrirà, com ja ho està fent, que moltes malalties són produïdes per alteracions dels mecanismes del desenvolupament, ja sigui inicial o terminal (de formació del patró o de diferenciació), que els gens responsables de la malaltia estan força analitzats ja en models de desenvolupament, i que han de fer servir models experimentals que es puguin manipular, o en els quals es pugui fer genètica, premisses bàsiques per als biòlegs del desenvolupament; els biòlegs cel·lulars estudien ja problemes de desenvolupament, i continuaran fent-ho; els biòlegs evolutius s'aproparan a la *síntesi* d'evolució i desenvolupament; els neurobiòlegs també estan estudiant el desenvolupament del sistema nerviós, que no es pot separar conceptualment ni mecanísticament del desenvolupament complet de l'animal. Malauradament, el principal inconvenient de la biologia del desenvolupament a Catalunya

serà la dificultat de crear una massa crítica de biòlegs del desenvolupament, donat que molts hi arribaran indirectament, des d'altres disciplines, i no els serà fàcil dir que, en el fons, són biòlegs del desenvolupament. Esperem que els estaments responsables de la potenciació de la recerca tinguin una visió àmplia i clara i que també entenguin el paper central de la biologia del desenvolupament en la biologia i la biomedicina.

En tota aquesta reflexió no he dedicat un sol mot al desenvolupament de les plantes. En demano disculpes, i voldria destacar que molts mecanismes cel·lulars i moleculars del desenvolupament vegetal s'estan descobrint dia rere dia. Amb cert retard respecte dels animals, tècniques molt semblants s'hi estan fent servir, tant genètiques com moleculars i cel·lulars, i força gens clau han estat aïllats i analitzats. De segur que molts mecanismes fonamentals del desenvolupament són comuns a animals i plantes, i en els propers anys el pes d'aquesta secció en la biologia del desenvolupament anirà creixent.

No voldria acabar aquest escrit sense intentar donar una dada objectiva, que anés més enllà de la visió personal, de segur esbiaixada, de la importància relativa de l'aspecte de la biologia en què un treballa. La revista *Nature* és per a molts considerada la publicació científica més important del món: setmanalment inclou uns vint o trenta

articles de totes les branques científiques, des de l'astronomia fins a la química o la biologia. L'any 1998 es varen publicar en aquesta revista prop de cent articles de biologia i genètica del desenvolupament. Aquesta dada reflecteix, al meu parer, que la biologia del desenvolupament és una de les branques de la biologia amb més empenya avui en dia, i amb un futur més prometedor: fins i tot fa que estudiants que s'engarrifaven sentint la paraula celoma acabin apassionats per la màgia que té una cèl·lula ou en desenvolupar-se.

BIBLIOGRAFIA

- GILBERT, S. F. (1997). *Developmental Biology*. 5a edició. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Assoc. Inc. Existeix una traducció al castellà de la 1a edició anglesa de 1985: Barcelona: Omega, 1988. També hi ha la traducció al castellà de la 5a edició de 1997, Omega, 2000.
- GILBERT, S. F.; A. M. RAUNIO (1997). *Embryology, constructing the organism*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Assoc. Inc.
- GERHART, J. C.; M. W. KIRSCHNER (1997). *Cells, Embryos and Evolution*. Oxford: Blackwell Science. Traducció al castellà, Barcelona: Omega, 1999.
- GRIFFITHS A. J. F.; W. M. GELBART; W. M. MILLER; R. C. LEWONTIN, *Modern Genetic Analysis*. Nova York: W. H. Freeman & Co., cap. 16.
- KLUG, W. S.; M. R. CUMMINGS. *Conceptos de Genética*, 5a ed, Madrid: Prentice Hall Iberia S.R.L., cap. 20.
- WOLPERT, L.; R. BEDDINGTON; J. BROCKES; T. JESSELL; P. LAWRENCE; E. MEYEROWITZ (1998). *Principles of Development*. Nova York: Oxford University Press.