

## Aspectos celulares y moleculares involucrados en la evolución de estructuras craneofaciales\*

### Cellular and molecular aspects involved in the evolution of craniofacial structures

*Belfran Alcides Carbonell Medina*

#### ABSTRACT

The head of vertebrates has been considered a major innovation in the evolutionary process of vertebrates. Many craniofacial structures such as teeth (pulp and dentin), jaws, cartilage, skeletal craniofacial and sensory organs are derived from neural crest cells (NCC), these cells contributed to a large extent the pattern for the evolution and development of the craniofacial complex. The evolution of these structures was carried out mainly by the very evolution of NCC and duplication of several genes involved in delamination and migration of this group of cells. The following review aims to address the different aspects involved in cellular and molecular evolution of craniofacial structures.

**Keywords** Cranial Neural Crest, gene duplication, ectodermal placodes and craniofacial evolution.

#### RESUMEN

La cabeza de los vertebrados ha sido considerada como una de las principales innovaciones en el proceso evolutivo de los vertebrados y de su distinción craneofacial con el resto de cordados no vertebrados. Muchas estructuras craneofaciales como dientes (pulpa y dentina), maxilares, cartílagos, esqueleto craneofacial y órganos sensoriales son derivadas de las células de la cresta neural (CCN); estas células aportaron en gran medida el patronamiento para la evolución y el desarrollo del complejo craneofacial. La evolución de estas estructuras se llevó a cabo principalmente por la evolución misma de las células de la cresta neural y la duplicación de varios genes involucrados en la delaminación y migración de este grupo de células. La siguiente revisión fue realizada con el objetivo de profundizar en los diferentes aspectos celulares y moleculares involucrados en la evolución de las estructuras craneofaciales.

**Palabras clave** Cresta Neural craneal, duplicación génica, evolución craneofacial y plácodos ectodérmicas.

\* Artículo producto del seminario de Investigación contemplado en el programa curricular de la Maestría en Odontología

† Odontólogo. Especialista en Docencia Universitaria, Universidad del Magdalena. Estudiante de Maestría en Odontología, Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia. Correspondencia: Carrera 30 n° 45-83, Bogotá, Colombia. e-mail: bacarbonellm@unal.edu.co, cel: 3114130358.

## INTRODUCCIÓN

Los Cordados están constituidos por animales que poseen en algún momento de su desarrollo características como: notocorda, cordón nervioso dorsal, hendiduras faríngeas (branquiales), cola pos-anal y bloques laterales de músculo llamados miómeros (1). Tradicionalmente este phylum se ha dividido en los subfilums: Urochordados (tunicados o ascidios), Cefalocordados (Anfioxo = Branchiosotoma) y los Vertebrados que se dividen en agnatos y gnastostomados (2) (Figura 1).

Las innovaciones de los vertebrados, como subgrupo del filum cordado, incluyen: crestas neurales (CN) y sus derivados, arcos branquiales musculares y cartilaginosos, endoesqueleto mineralizado y/o cartilaginoso, plácotas neurogénicas, cerebro segmentado y elaborado, órganos sensoriales pareados e hipómero muscularizado (3). A nivel craneofacial, la presencia de las células de la cresta neural craneal (CCNC) es considerada como una de las innovaciones más significativas dentro del proceso evolutivo de esta área, dada su contribución para la aparición de mesénquima de los arcos branquiales y sus derivados (mandíbulas, maxilar, mesénquima de las prominencias faciales, ganglios espinales y nervios craneales, odontoblastos, esqueleto del viscerocráneo y parte anterior de la base craneal, entre otros. El desarrollo y la aparición gradual de estas características en los vertebrados, sucedió, entre otras cosas, a consecuencia de la duplicación de genes o incluso de genomas completos, cambios en la regulación de éstos y de los patrones de desarrollo que permitieron la aparición de las CCNC (3,4).

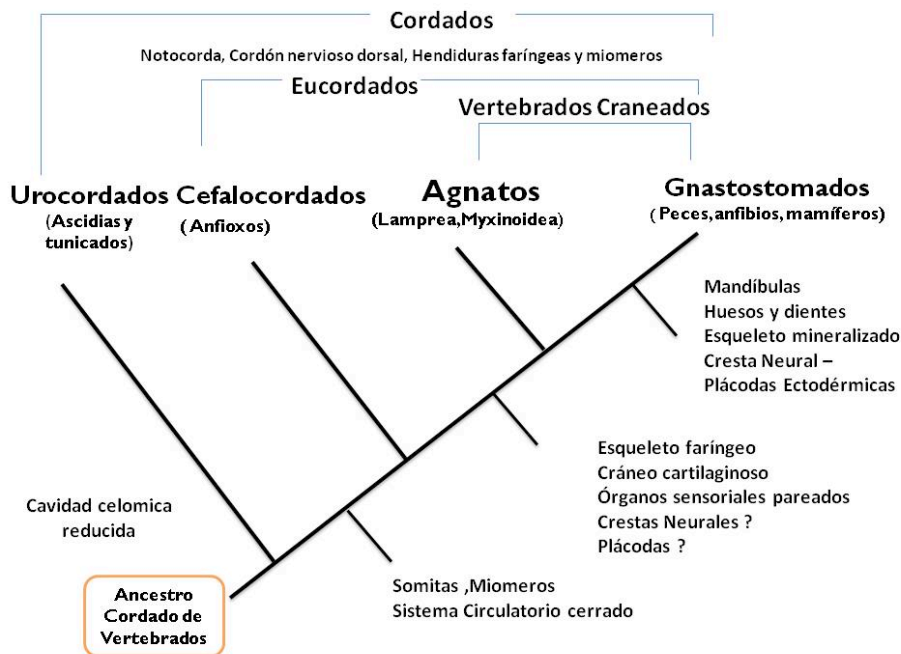


FIGURA 1.

Filum cordado y características relevantes. A diferencia de los otros subfilum cordados, los vertebrados Gnastostomados (mandibulados) presentan mandíbulas, dientes y un esqueleto mineralizado que los caracteriza. Modificado de: Carolina P. Evolución y desarrollo facial: perspectiva molecular. Univ Odontol 2009; 28:75-85.

Varios autores, dentro de estos Gans y Northcutt han resaltado en la hipótesis de la nueva cabeza que la evolución de CN y de las plácotas neurogénicas (PN) ha sido un evento clave en la evolución general de los vertebrados (5). En esta hipótesis se plantea que existe un organismo primitivo cordado, ancestro de los cefalocordados y vertebrados que carecía de músculos en los arcos faríngeos, así como de un cráneo bien definido y de las estructuras características de la región rostral de la cabeza como bulbos olfatorios, vesículas telencefálicas y aparato masticatorio, que posteriormente aparecieron y evolucionaron en los vertebrados más superiores por la activación de la CN y PN (1,5-7) (Figura 1).

La presente revisión pretende mostrar los aspectos celulares y moleculares más relevantes que contribuyeron a la evolución del complejo craneofacial para entender los nuevos rasgos morfológicos distintivos de los vertebrados Agnatos y Gnastostomados.

Aspectos celulares y moleculares involucrados en la evolución de células de la Cresta Neural (CCN): un paso crucial en la evolución craneofacial de vertebrados. Las células de la cresta neural (CCN) son un conjunto de células que durante el desarrollo embriológico de los vertebrados, se desprenden de la zona adyacente al límite entre el neuroectodermo y el ectodermo superficial, más específicamente en los ectómeros definidos como una zona de expresión génica diferencial; durante este proceso dejan de tener una disposición epitelial para adquirir propiedades mesenquimales (8). Este tipo de células poseen dos características muy importantes que contribuyeron sustancialmente en el proceso evolutivo y de desarrollo embriológico de la región craneofacial de los vertebrados como es la capacidad de migración y la pluripotencialidad (9,10).

Los protocordados representados por ascidias y anfioxos, que son los parientes más cercanos de los vertebrados, carecen de células similares. Por lo tanto, las CCN han sido consideradas como características de los vertebrados (11). Además, estas células dan origen a varias estructuras que se consideran propias de los vertebrados, tales como órganos sensoriales y el esqueleto craneofacial específicamente el viscerocráneo y región anterior de la base craneal (12).

Analizando los cambios moleculares evolutivos en la aparición de las CCN, encontramos que durante los procesos de desarrollo de estas células más específicamente, inducción, especificación, transformación epitelio mesénquima, delaminación, migración y diferenciación, encontramos una serie de genes que caracterizan cada etapa y que evolutivamente sufrieron un proceso de duplicación génica, aun no tan claro, como si por mecanismos de poliploidia, duplicaciones múltiples génicas o ambas (4). Dentro de estos genes de especificación tenemos: Pax3/7, MSX, Zic, DLx, Hox, Snail/Slug, Sox8, 9 y 10, AP-2 (a, b y g) y FoxD (4,13-24). La especificación de este grupo de células pudo ocurrir tanto antes como después de la duplicación génica por estos genes.

Tres parálogos de SoxE (Sox8, 9 y 10) son expresados en la cresta neural de vertebrados. Tanto ascidias como anfioxos poseen un solo tipo de gen ancestral SoxE (25, 26). Por lo tanto, aunque no se ha examinado la expresión de estos genes en ascidias durante la formación del tubo neural, es probable que estos genes hubieran contribuido en la especificación de la cresta neural antes de la duplicación del genoma (4). Con respecto a los genes FoxD, los vertebrados poseen 5 parálogos FoxD1- D5. Las ascidias y los anfioxos poseen expresión de esta familia de genes en el tubo neural, notocorda y endodermo (27, 28). Estudios moleculares filogenéticos apoyan la hipótesis que las duplicaciones de genes dieron origen a estos 5 parálogos de FoxD (28). A diferencia de los genes mencionados, sólo uno de los parálogos de FoxD, FoxD3, está involucrado en la especificación de las células de la cresta neural (23,24).

Por lo tanto, los genes FoxD3 se han involucrado en la especificación de estas células después de la duplicación de los genes, sin embargo, no se puede descartar la posibilidad que esa especificación por este gen se diera antes de la duplicación y que el paralogo resultante FoxD3 hubiese heredado esta función especificadora de la CN para que de esta forma se diera origen a los derivados craneofaciales de CCNC (4).

Otras de las moléculas involucradas en el proceso de delaminación de las células de la cresta neural y que su duplicación génica aportó inmensamente al desarrollo de la cresta neural, son las caderinas (29); dentro de estas la N-caderina y Caderina-6 expresadas en células premigratorias neurales y la caderina 7 y 11 en células posmigratorias (23,24). Los vertebrados poseen alrededor de 7 tipos de caderinas (E, N, P y R-Caderinas y caderina 6,7 y 11, pertenecientes a los grupos Tipo I y II respectivamente), mientras que los invertebrados, tipo ascidias y anfibios, solo poseen dos caderinas (25,26,30). Así, la evolución de la maquinaria molecular usada por estas caderinas para el proceso de delaminación de la cresta neural en vertebrados, pudo haber ocurrido posterior a la duplicación de genes, por lo que sin la duplicación de genes, los vertebrados ancestrales no tenían un repertorio adecuado de estas moléculas específicas para las etapas pre y posmigratoria neurales y por consiguiente la inexistencia de células mesenquimales y sus derivados craneofaciales que hoy caracterizan a los vertebrados gnastostomados. De forma interesante FoxD3, como gen especificador de la cresta neural, está implicado en la regulación de la caderina- 7 (31).

Otros de los genes que sufrieron el proceso de duplicación génica durante el proceso evolutivo de las células de CCN, son los genes que codifican para la familia de proteínas Rho GTP asas, implicadas en la delaminación y motilidad de las células de la cresta neural, originándose de esta manera 3 tipos de genes Rho en vertebrados (RhoA-C), al parecer provenientes de un gen Rho ancestral de tunicados (Halocynthia) (32,33).

De acuerdo con estos hallazgos podemos decir que estas duplicaciones le permitieron a CCN tener la capacidad de delaminar y migrar a los diferentes sitios de destino como arcos faríngeos, áreas cefálicas embrionarias y contribuir sustancialmente al desarrollo de estructuras como: mesénquima de los arcos branquiales y sus derivados (mandíbulas y maxilar por ejemplo), mesénquima de las prominencias faciales, ganglios espinales y nervios craneales, células de Schwann, partes de las meninges (piamadre y aracnoides), odontoblastos, buena parte del hueso, cartílago y tejidos conectivos de las estructuras craneofaciales (viscerocráneo y parte anterior de la base craneal) cápsulas sensoriales y armadura cefálica (12, 34-37) (Figura 2).

Parece ser que los anfibios y tunicados podrían poseer células precursoras de la cresta neural craneal dado que existen genes de desarrollo expresados en células de la cresta neural craneal en vertebrados que se expresan en algunos protocordados, como el gen AmfiFoxD en anfibios que es Homologo de FoxD3 en vertebrados (8). Sin embargo, no hay evidencia que alguna de las células que expresan esos genes se diferencien en células de la cresta neural. La única excepción es que en las larvas de ascidias hay unas células que migran del tubo neural y forman células pigmentarias (38). De acuerdo a los anteriores hallazgos, se puede afirmar que si no se comprueba la presencia de rudimentos de CCN en ascidias o que las ascidias pudieron evolucionar independientemente, y tampoco se comprueban evidencias en cefalocordados, entonces se concluye que posiblemente la ascidia evolucionó independientemente y que estas no son los ancestros comunes de los vertebrados que aportaron células de la cresta neural para el desarrollo de las estructuras craneofaciales que caracterizan a estos últimos.

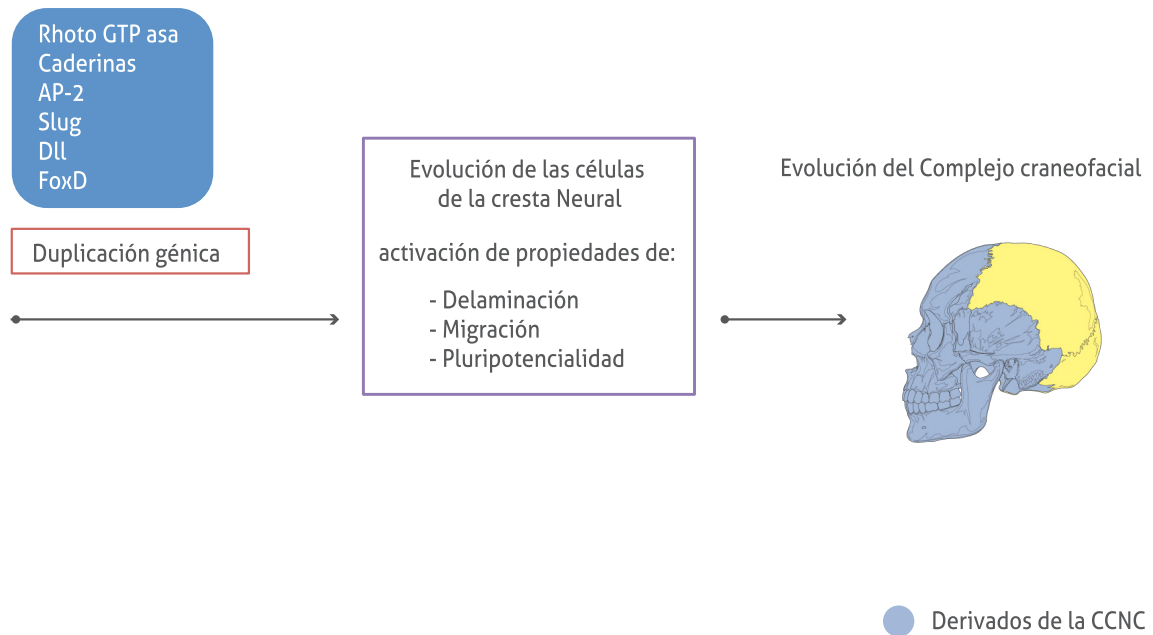


FIGURA 2.

Filum cordado y características relevantes. A diferencia de los otros subfilum cordados, los vertebrados Gnastostomados (mandibulados) presentan mandíbulas, dientes y un esqueleto mineralizado que los caracteriza. Modificado de: Carolina P. Evolución y desarrollo facial: perspectiva molecular. Univ Odontol 2009; 28:75-85.

Tradicionalmente, la cresta neural cefálica (CNC) ha sido considerada como una estructura exclusiva de los vertebrados, tanto que muchos animales extintos, como los conodontos (cámbrico al triásico) por ejemplo, han sido clasificados como vertebrados, entre otras pruebas, por la presencia de dentina en su aparato conodonto, ya que esto indica la presencia de odontoblastos, que son derivados de las células de dicha cresta (39).

Familias de genes, proteínas propias y/o inductores de la formación de crestas neurales, que están presentes en éstas o en el ectodermo adyacente en los vertebrados, incluyen a Bmp-4, Msx, slug/ snail, Zic, Pax-3/ 7, (3). De éstos, BMP-2/4, Msx, slug/snail, distalles, Dll y Pax 3/ 7 entre otros, se expresan con patrones diferentes en el ectodermo y en el neuro-ectodermo de embriones, bien sea de amphioxus y/o ascidias (3,11); todo esto sugiere que el potencial para la formación de las crestas neurales ya se encontraba presente en los cordados ancestros de los vertebrados (13).

Estos hallazgos moleculares suministran suficiente información para decir que es probable que varios de estos organismos como ascidias y anfibios poseían células precursoras de la cresta neural, sin embargo, estas no estaban altamente especificadas y además carecían de capacidad migratoria, delaminación y sobre todo no eran pluripotentes para diferenciarse en los distintos tipos de células y así originar las estructuras craneofaciales de los vertebrados, de esta manera, podríamos afirmar que como tal, las células de la cresta neural no deberían considerarse como una innovación total de los vertebrados, sino más bien resaltar las propiedades de delaminación migración y pluripotencialidad como características nuevas adquiridas por las CCN que permitieron el desarrollo de las estructuras del complejo craneofacial que caracterizan a los vertebrados, principalmente a los Gnastostomados.

### EVOLUCIÓN DE PLÁCODAS ECTODÉRMICAS Y SU CONTRIBUCIÓN AL DESARROLLO CRANEOFACIAL

Otra de las estructuras consideradas como innovaciones de los vertebrados, son las plácodas ectodérmicas que contribuyeron sustancialmente al desarrollo de estructuras craneales, promoviendo así cambios evolutivos claves en la cabeza de los vertebrados (3). Estas estructuras se originan de engrosamientos pareados ectodérmicos localizados por la elongación apico-basal de células cúbicas en la capa interna del ectodermo en la cabeza de embriones vertebrados (2,40). Las plácodas ectodérmicas se dividen en dos grandes grupos: las sensoriales que dan origen a ojos, oídos, sistema acústico-lateral y órganos olfatorios y las neurogénicas que producen neuronas sensitivas de los ganglios craneales y una plácoda adicional impar o hipofisaria (41). Probablemente estas estructuras derivan evolutivamente de una plácoda ancestral común que tenían cordados menos desarrollados como ascidias o anfioxos, sin embargo aún se plantea la posibilidad que pudieron evolucionar independientemente. Estudios en cefalocordados no han podido demostrar la presencia de plácodas neurogénicas o derivados a excepción de receptores olfatorios y al parecer células precursoras adenohipofisarias.

El anfioxo no tiene olfato pero si fibras que entran al cerebro a través de nervios rostrales. Sin embargo, no se ha demostrado que estas fibras sean una estructura homóloga del olfato en los vertebrados (5). Cabe decir que el anfioxo tiene células homologas a las de la adenohipofisis que forman una invaginación llamada fosa de Hastschek topográficamente comparable a la bolsa de Rathke y ambos expresan el gen Pix, específico de la hipófisis. Entonces es posible que una plácoda adenohipofisaria haya surgido en un principio de la evolución de este cordado (5).

Además se pensó que algunas células o cuerpos neuronales eran homólogos entre ascidias, cefalocordados y vertebrados. Por ejemplo: Neuronas sensoriales con células de Corollar, dado que estas últimas expresaban genes *Amphie coe* en cefalocordados, las cuales podrían ser precursoras de plácodas dorsolaterales en cordados vertebrados (42), Órganos ciliados en ascidias que eran homólogos a mecanorreceptores en los vertebrados (43) y además que los atrios de ascidias eran homólogos a las vesículas óticas de vertebrados dado que expresaban el gen *Pax* en su desarrollo, pero este gen es encontrado generalmente en componentes no neuronales, por lo tanto serían homólogos si expresaran un complejo considerable de genes homólogos (44).

Las plácodas sensoriales pueden tener contrapartes homólogas en cordados no vertebrados, a juzgar por la similitud morfológica, funcional y a la expresión de algunas proteínas (45). Entre algunos órganos sensoriales de amphioxus (corpúsculo "Quatrefages": órgano olfativo) y de ascidias (cilios sensoriales organizados en cúpulas gelatinosas), parecidas a los receptores acústico-laterales de los vertebrados (16). Entonces, más exactamente, las plácodas neurogénicas (concentraciones focales de producción de neuronas a partir de engrosamientos ectodérmicos), son una de las exclusividades de los vertebrados, mas no las plácodas sensoriales ni la capacidad de formar neuronas a partir del ectodermo (5).

### EVOLUCIÓN DE LA MANDÍBULA: ASPECTOS MORFOLÓGICOS Y MOLECULARES

La cabeza de los embriones vertebrados se caracteriza por tener ectomesénquima derivado de CCNC y arcos faríngeos (AFs), que son principalmente equivalentes a los arcos branquiales. Los elementos esqueléticos en los arcos faríngeos se derivan exclusivamente del ectomesénquima y no del mesodermo (46,47). La mandíbula en gnatostomados (vertebrados

mandibulados) es una de las primeras innovaciones en la evolución de los vertebrados y en los derivados del arco mandibular (AM) (48). La evolución de la mandíbula, por tanto, puede verse como el establecimiento de un programa de desarrollo en el ectomesénquima del arco mandibular para formar un patrón dorso-ventralmente articulado, conformado por los maxilares superior e inferior (48). Sin embargo, el escenario evolutivo de la mandíbula o el historial de cambios en los programas de desarrollo para dar origen a las mandíbulas, sigue siendo en gran medida confuso, aunque se hayan descrito múltiples hallazgos genéticos.

La lamprea, un vertebrado sin mandíbula, se piensa que representa un vertebrado externo que puede sugerir los ancestrales programas de desarrollo compartidos por el ancestro común, así como los cambios introducidos para formar la mandíbula y los distintos linajes de los gnatostomados (49). De acuerdo con el concepto clásico morfológico, la mandíbula en gnatostomados se supone que surgió por la transformación de uno de los arcos faríngeos de un ancestro (50-52). Sin embargo, los registros fósiles no han revelado ningún animal ancestral con una serie indiferenciada de arcos en la faringe. Además, en todos los embriones gnatostomados observados, los arcos faríngeos 1 y 2, pueden ser reconocidos como arcos mandibular (AM) y arco hioideo (AH), respectivamente. Esto también es cierto para la lamprea, un moderno vertebrado sin mandíbula (agnato). En este animal, el AM se diferencia en un velo que conforma el aparato de bombeo, que permite que el agua entre la faringe, así como en un el labio inferior, que se asemeja a la mandíbula inferior de gnatostomados (12).

El hecho que exista un animal ancestral con arcos faríngeos simples sin identidades mandibulares o hioideas es puramente hipotético, sin embargo, se han realizado diversos análisis moleculares de desarrollo que han sugerido un cambio en los programas de desarrollo, que además han complicado este escenario evolutivo, pero que nos acercan a un mejor entendimiento de la evolución de la mandíbula en gnatostomados y de otras estructuras craneofaciales (53).

Una clase específica de genes que contienen un dominio homeobox, llamados genes Hox, son expresados secuencialmente en todo el eje antero posterior de la faringe embrionaria, constituyendo así un patrón anidado de expresión génica, o lo que es llamado "código Hox" en el ectomesénquima (54). Los genes HOX en amniotas están organizados en cuatro grupos, cada uno de los cuales se encuentra en un cromosoma diferente (55). Por lo tanto, cada uno de los arcos faríngeos lleva un subconjunto diferente y específico de genes Hox transcritos que determina su especificidad en el desarrollo. Los Genes HOX, codifican factores de transcripción, que desempeñan funciones de desarrollo como los genes "homeóticos" proporcionando señales posicionales al ectomesénquima de AFs (55).

Es importante tener en cuenta que no hay ningún gen Hox expresado en el arco mandibular de los pgnatostomados, razón por lo que se cree que parte del programa de desarrollo de la mandíbula en gnatostomados está regulado por esta característica que tiene este arco mandibular de estar libre de expresión Hox, lo que ha quedado demostrado por un gran número de experimentos. Uno de estos experimentos fue hecho por Gendron en 1993, basados en la pérdida y ganancia de función de genes Hox A2, en el cual al ser trasplantados áreas del primer arco faríngeo libre de genes Hox hacia el arco hioideo mas posterior, se desarrolló una duplicación de los derivados del primer arco, mientras que al trasplantar áreas posteriores del arco hioideo en el arco mandibular, se produjo un cambio de identidad de las estructuras anteriores a una identidad posterior (56,57). Un Segundo experimento fue realizado por Couly en 1998, el cual trasplantó células de la cresta neural provenientes del rombómero 4 que están destinadas a migrar al arco faríngeo 1 que serán libres de expresión

Hox, lo que trajo resultados de duplicidad de estructuras derivadas de este primer arco en las áreas donde fue trasplantado (58).

Parece ser que el factor de crecimiento FGF8 (fibroblast growth factor 8), que es producido en los límites mediados del romboencéfalo, esta inhibiendo la expresión de los genes Hox (59). Así, en el proceso de desarrollo de gnatostomados, la diferenciación de la mandíbula a partir de las células de cresta neural rostral es permitida por la ausencia de transcritos Hox (Figura 3 A).

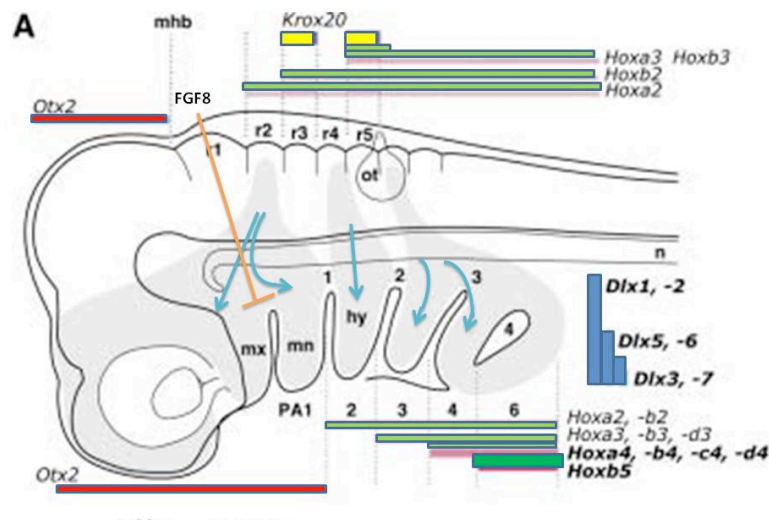


FIGURA 3 A.

Patrones de expresión génica en arcos faríngeos de Gnatostomados. Cada arco faríngeo posee un "código Hox" representado por la combinación de las distintas isoformas de esta familia de genes, sin embargo en el primer arco faríngeo tanto el componente maxilar (mx) y mandibular(mn) son libres de expresión Hox. Se ha planteado que la expresión de FGF8 en el límite Rombo-mesencefálico inhiba la expresión de estos genes lo que permitió la aparición de la mandíbula. A nivel del eje dorso ventral varios genes (Dlx1 – Dlx7) conforman el llamado código Dlx que permite darle una identidad a los arcos faríngeos. Modificada de: Kuratani S. Evolution of the vertebrate jaw: comparative embryology and molecular developmental biology reveal the factors behind evolutionary novelty.

J Anat 2004; 205(5):335-47

Surge entonces la siguiente pregunta: ¿Estaba el arco mandibular libre de la expresión de genes Hox al principio de la evolución de gnatostomados, ó estaban presentes estos genes en agnatos como la lamprea, o incluso en cefalocordados (por ejemplo, Anfioxo)?.

Cohn en el 2002 informó que en una especie de lamprea, *Lampetra fluviatilis*, se expresaban uno de los genes Hox, HoxL6, el cual fue observado en todos los arcos faríngeos, lo que implica que la presencia de transcritos Hox en el arco mandibular inhibe la diferenciación de la mandíbula en este grupo animal (60). Por el contrario, recientes análisis realizados por Takio ET AL. en el 2004 no confirmaron este escenario: 11 genes Hox fueron aislados de una especie, *Lethenteron japonicum*, incluyendo los ortólogos de HoxL6, pero ninguno



de los genes se expresó en el AM (61). Esto es coherente con el hallazgo de que *LjFgf8/17* (*Fgf8*) se esté expresando en lampreas en los límites del romboencéfalo como en embriones gnastostomados inhibiendo así, la expresión de genes Hox en el AF 1 (Figura 3B).

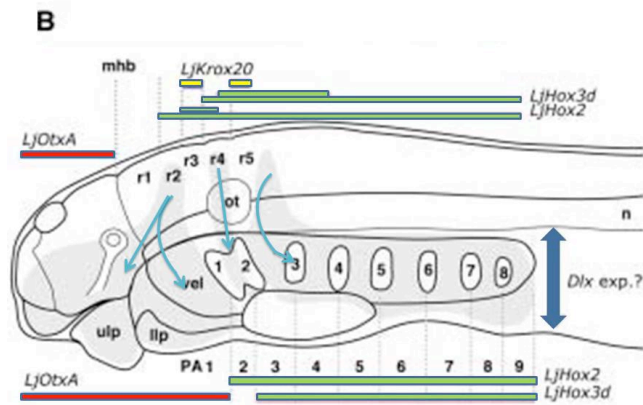


FIGURA 3 B.

Patrones de expresión génica en arcos faríngeos en un embrión de lamprea. Observe que a diferencia de los Gnastostomados los patrones de expresión los genes Hox abarcan todos los arcos faríngeos sin excepción alguna, siendo el AM Hox positivo. De igual forma, el patronamiento Dorso/ventral dado por los genes *Dlx* está ausente en las lampreas. Modificada de: Kuratani S. Evolution of the vertebrate jaw: comparative embryology and molecular developmental biology reveal the factors behind evolutionary novelty. *J Anat.* 2004; 205(5):335-47.

Aunque la diferencia de expresión de genes *Hox6* entre la lamprea *fluviatilis* y *Lethenteron japonicum* tal vez fue debido a una diferencia de especies o de género específico en el mecanismo regulador para *Hox6*, estos hallazgos son un poco inconcebibles, dado que algunos agnatos y gnastostomados comparten el mismo código Hox básico, es decir áreas libres de expresión de genes Hox en AF1, y aun así, unos tienen mandíbulas y otros no.

Parece más probable que este tipo de código de Hox 'primitivo' ya se había establecido en el antepasado común de la lamprea y gnastostomados con AF1 y AF2 diferenciados con identidades distintas morfológicamente. En este sentido, es interesante observar que el animal fósil del Cámbrico *Haikouella* parece haber poseído un aparato oral con estructuras bien definidas que se asemejaban al aparato oral de la larva de amocoete (62). Este escenario además implica que la evolución del programa del desarrollo que forma la mandíbula ha implicado cambios en los mecanismos moleculares regulados a la baja de los códigos Hox compartido en vertebrados ancestrales.

Si bien es cierto, el código Hox en AFs no es el único parámetro para evaluar el proceso de evolución mandibular. Como se mencionó anteriormente, los genes *Dlx* también sufrieron un proceso de duplicación génica que evolutivamente contribuyó en la aparición de la mandíbula en Gnastostomados (4). Si seguimos la línea evolutiva trazada en un cladograma, el anfibio posee un solo gen *Dlx*, mientras que la lamprea expresa 4 genes *Dlx* (A, B, C y D) y los vertebrados diferencialmente expresan 6 de estos genes (*Dlx1, 2, 3, 5, 6* y *7*) en células de la cresta neural y todos sus derivados (arcos faríngeos, mandíbula y dientes) (63-65). De esta

forma, este grupo de genes parece que sufrieron rondas de duplicación en varios cordados ancestrales desde anfibios, lampreas hasta gnastostomados, indicando que esta duplicación está relacionada con la aparición de nuevas estructuras a lo largo del linaje de vertebrados como mandíbulas. Así, desde este punto de vista la ausencia de mandíbulas en lampreas, estaría explicada por el hecho que este grupo de vertebrados, no experimentó una segunda ronda de duplicación de genes *Dlx* (65) (Figura 3B).

Teniendo en cuenta que los genes *Dlx* se expresan en CCNC que dan origen a cartílagos que contribuyen a la formación de mandíbulas y soportes branquiales tanto en vertebrados gnastostomados como en lampreas respectivamente y considerando las similitudes morfológicas, se considera que los cartílagos braquiales son homólogos entre gnastostomados y agnatos, concluyendo que es posible que la mandíbula haya evolucionado de estos cartílagos (65).

Por otro lado, estudios de expresión, pérdida y ganancia de función han encontrado que los genes *Dlx* tienen un patrón de expresión Dorso-ventral en el AM de vertebrados gnastostomados, este hallazgo es nulo en los análisis de expresión realizados en lampreas, lo que posiblemente pudo haber sido clave en la aparición de mandíbulas en gnastostomados (63,65).

Otra homología también ha sido planteada entre el velo de la lamprea y la mandíbula de vertebrados basados en análisis comparativos de expresión de *Ljpax9* y *Pax9* respectivamente. La lamprea expresa *Ljpax9* en mesénquima del velo en desarrollo, al igual que los vertebrados en desarrollo mandibular. Sin embargo, se concluye que los genes *Pax9* se han expandido secuencialmente a nuevos dominios en AFs a través de la evolución, dando origen a un plan corporal más complejo en vertebrados mandibulados (66).

Varios de los genes expresados en el ectodermo durante el desarrollo de la prominencia mandibular, como *Fgf8* que regula a *Dlx1* en el ectomesénquima proximal y *Bmp4* que regula a *MSX1* en el ectomesénquima distal, presentan además del mismo patrón de expresión, una misma regulación epitelio-mesénquimal en la lamprea (67). Esto parece apoyar una homología entre los labios de la lamprea y mandíbulas en gnastostomados. Sin embargo, al comparar el origen de las células de la cresta neural que pueblan los procesos maxilares y mandibulares en la lamprea, se ha encontrado que los orígenes de estas células en la lamprea son diferentes con el origen de las células de la cresta neural craneal (CCNC) que residen arriba en los arcos maxilares y mandibulares en amniotas. Por lo tanto, el origen ectomesénquimal mandibular entre estas dos especies no es comparable, y basados en estos hallazgos se ha concluido que cambios heterotípicos de interacciones epitelio-mesénquima en el arco mandibular, fueron involucrados en la evolución mandibular (68). También se ha hipotetizado, que la mandíbula surgió como un proceso de innovación en vertebrados por el incremento de factores de crecimiento *Fgf8* y *Bmp4* que generaron nuevas cascadas moleculares superando un proceso de heterotopía en el arco mandibular de las lampreas, que dio lugar a una reorganización morfo-tisular y la consecuente evolución de la mandíbula (68).

## CONCLUSIÓN

La evolución del complejo craneofacial radica principalmente en la activación de CCN y de sus características de delaminación, migración y pluripotencialidad, tanto para llegar a poblar regiones de los arcos faríngeos y prominencias faciales, como para dar origen a los diversos tejidos derivados de este grupo celular como mandíbulas, dientes y esqueleto craneofacial osificado entre otros. Si bien es cierto el proceso evolutivo del complejo craneofacial se plantea que pudo haber sido influenciado en gran medida por eventos como la duplicación génica que permitió a las CCN adquirir propiedades inherentes al desarrollo craneofacial. Este evento evolutivo de la región craneofacial no fue desarrollado por cordados más inferiores como ascidias y anfibios dado que estos carecían de la maquinaria suficiente para inducir en CCN la capacidad de migrar hacia los precursores faciales.

## GLOSARIO

**Células de la cresta Neural (CCN):** Conjunto de células que durante el desarrollo embriológico de los vertebrados, se desprenden de la zona adyacente al límite entre el neuroectodermo y el ectodermo superficial, más específicamente en los ectameros. Estas pueden dividirse en Craneales o Troncales de acuerdo a la región embriológica a la cual migren.

**Delaminación de CCN:** Es un paso transitorio que ocurre entre la especificación y migración de las Células de la Cresta Neural, también definida como la independencia de las CCN del epitelio del tubo neural.

**Duplicación Génica:** Duplicación de una región del ADN que contiene un gen que puede ocurrir como un error en la recombinación homóloga ó retrotransposición que trae como consecuencia nuevas funciones o cualidades favorables o degenerativas en las especies.

**Ectómero:** Zona de expresión génica diferencial donde se originan las células de la Cresta Neural.

**Gen parálogo:** Son genes resultantes de un evento de duplicación génica que codifican para proteínas con función y estructura similar en una misma especie.

**Gen Homólogo:** Son genes que codifican para proteínas con funciones similares que se encuentran en diferentes especies.

**Plácodas Ectodérmicas:** Engrosamientos pareados ectodérmicos localizados por la elongación apico-basal de células cubicas en la capa interna del ectodermo en la cabeza de embriones vertebrados.

## REFERENCIAS

1. CHAI Y, MAXSON RE. Recent advances in craniofacial morphogenesis. *Dev Dyn* 2006;235(9):2353-75.
2. DUQUE J. Crestas neurales, placodas y arcos branquiales: una Revisión evolutiva y embriológica de datos Básicos y recientes. *Rev Acad Colomb Cienc* 2003; 27(103):291-307.
3. SHIMELD SM, HOLLAND PW. Vertebrate innovations. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97(9):4449-52.
4. WADA H, MAKABE K. Genome duplications of early vertebrates as a possible chronicle of the evolutionary history of the neural crest. *Int J Biol Sci* 2006;2(3):133-41.
5. NORTHCUTT R. The new head hypothesis revisited. *J Exp Zool B Mol Dev Evol* 2005;304(4):274-97.
6. CAROLINA P. Evolución y desarrollo facial: perspectiva molecular. *Univ Odontol* 2009; 28:75-85.
7. NORTHCUTT RG. The Agnathan ark: the origin of craniate brains. *Brain Behav Evol* 1996;48(5):237-47.
8. HELMS JA, CORDERO D, TAPADIA MD. New insights into craniofacial morphogenesis. *Development* 2005;132(5):851-61
9. DUBAND JL. Neural crest delamination and migration: integrating regulations of cell interactions, locomotion, survival and fate. *Adv Exp Med Biol* 2006; 589:45-77..
10. ERICKSON CA, REEDY MV. Neural crest development: the interplay between morphogenesis and cell differentiation. *Curr Top Dev Biol* 1998;40:177-209.
11. HOLLAND LZ, HOLLAND ND. Evolution of neural crest and placodes: amphioxus as a model for the ancestral vertebrate? *J Anat* 2001;199(1-2):85-98.
12. KURATANI S. Cephalic neural crest cells and the evolution of craniofacial structures in vertebrates: morphological and embryological significance of the premandibular-mandibular boundary. *Zoology* 2005; 108(1):13-25.
13. YU JK. The evolutionary origin of the vertebrate neural crest and its developmental gene regulatory network--insights from amphioxus. *Zoology (Jena)* 2010; 113(1):1-9.
14. MANSOURI A, STOYKOVA A, TORRES M, GRUSS P. Dysgenesis of cephalic neural crest derivatives in Pax7-/- mutant mice. *Development* 1996;122(3):831-8.
15. SHIMELD SM, MCKAY IJ, SHARPE PT. The murine homeobox gene Msx-3 shows highly restricted expression in the developing neural tube. *Mech Dev* 1996;55(2):201-10.

16. SHARMAN AC, SHIMELD SM, HOLLAND PW. An amphioxus Msx gene expressed predominantly in the dorsal neural tube. *Dev Genes Evol* 1999;209(4):260–3.
17. WADA S, SAIGA H. HrzicN, a new Zic family gene of ascidians, plays essential roles in the neural tube and notochord development. *Development* 2002;129(24):5597–608.
18. PANGANIBAN G, RUBENSTEIN JL. Developmental functions of the Distal-less/Dlx homeobox genes. *Development* 2002;129(19):4371–86.
19. LINKER C, BRONNER-FRASER M, MAYOR R. Relationship between gene expression domains of Xsnail, Xslug, and Xtwist and cell movement in the prospective neural crest of Xenopus. *Dev Biol* 2000;224(2):215–25.
20. SEFTON M, SANCHEZ S, NIETO MA. Conserved and divergent roles for members of the Snail family of transcription factors in the chick and mouse embryo. *Development* 1998;125(16):3111–21.
21. HILGER-EVERSHEIM K, MOSER M, SCHORLE H, BUETTNER R. Regulatory roles of AP-2 transcription factors in vertebrate development, apoptosis and cell-cycle control. *Gene* 2000;260(1–2):1–12.
22. MEULEMANS D, BRONNER-FRASER M. Amphioxus and lamprey AP-2 genes: implications for neural crest evolution and migration patterns. *Development* 2002;129(21):4953–62.
23. KOS R, REEDY MV, JOHNSON RL, ERICKSON CA. The winged-helix transcription factor FoxD3 is important for establishing the neural crest lineage and repressing melanogenesis in avian embryos. *Development* 2001;128(8):1467–79.
24. SASAI N, MIZUSEKI K, SASAI Y. Requirement of FoxD3-class signaling for neural crest determination in Xenopus. *Development* 2001;128(13):2525–36.
25. IMAI KS, HINO K, YAGI K, SATOH N, SATOU Y. Gene expression profiles of transcription factors and signaling molecules in the ascidian embryo: towards a comprehensive understanding of gene networks. *Development* 2004; 131(16):4047–58.
26. MEULEMANS D, BRONNER-FRASER M. Gene-regulatory interactions in neural crest evolution and development. *Dev Cell* 2004;7(3):291–9.
27. IMAI KS, SATOH N, SATOU Y. An essential role of a FoxD gene in notochord induction in Ciona embryos. *Development* 2002;129(14):3441–53.
28. YU JK, HOLLAND ND, HOLLAND LZ. Tissue-specific expression of FoxD reporter constructs in amphioxus embryos. *Dev Biol* 2004;274(2):452–61.
29. NAKAGAWA S, TAKEICHI M. Neural crest emigration from the neural tube depends on regulated cadherin expression. *Development* 1998;125(15):2963–71.

30. [NOLLET F](#), [KOOLS P](#), [VAN ROY F](#). Phylogenetic analysis of the cadherin superfamily allows identification of six major subfamilies besides several solitary members. *J Mol Biol* 2000;299(3):551-72.
31. [DOTTORI M](#), [GROSS MK](#), [LABOSKY P](#), [GOULDING M](#). The winged-helix transcription factor Foxd3 suppresses interneuron differentiation and promotes neural crest cell fate. *Development* 2001;128(21):4127-38.
32. [LIU JP](#), [JESSELL TM](#). A role for rhoB in the delamination of neural crest cells from the dorsal neural tube. *Development* 1998;125(24):5055-67.
33. [HOTTA K](#), [TAKAHASHI H](#), [UENO N](#), [GOJOBORI T](#). A genome-wide survey of the genes for planar polarity signaling or convergent extension-related genes in *Ciona intestinalis* and phylogenetic comparisons of evolutionary conserved signaling components. *Gene* 2003;317(1-2):165-85.
34. [HANKEN J](#), [GROSS JB](#). Evolution of cranial development and the role of neural crest: insights from amphibians. *J Anat* 2005;207(5):437-46.
35. [KURATANI S](#). Craniofacial development and the evolution of the vertebrates: the old problems on a new background. *Zoolog Sci* 2005;22(1):1-19.
36. [KURATANI S](#), [MATSUO I](#), [AIZAWA S](#). Developmental patterning and evolution of the mammalian viscerocranium: genetic insights into comparative morphology. *Dev Dyn* 1997;209(2):139-55.
37. [GOULY GF](#), [COLTEY PM](#), [LE DOUARIN NM](#). The triple origin of skull in higher vertebrates: a study in quail-chick chimeras. *Development* 1993;117(2):409-29.
38. [JEFFERY WR](#), [STRICKLER AG](#), [YAMAMOTO Y](#). Migratory neural crest-like cells form body pigmentation in a urochordate embryo. *Nature* 2004;431(7009):696-9.
39. [DONOGHUE P](#), [PURNELL M](#), [ALDRIDGE R](#). Conodont anatomy, chordate phylogeny and vertebrate classification. *Lethaia* 1998;31:211-9.
40. [SCHLOSSER G](#). Induction and specification of cranial placodes. *Dev Biol* 2006;294(2):303-51.
41. [BEGBIE J](#), [GRAHAM A](#). The ectodermal placodes: a dysfunctional family. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2001;356(1414):1655-60.
42. [MAZET F](#), [MASOOD S](#), [LUKE GN](#), [HOLLAND ND](#), [SHIMELD SM](#). Expression of AmphiCoe, an amphioxus COE/EBF gene, in the developing central nervous system and epidermal sensory neurons. *Genesis* 2004;38(2):58-65.
43. [MACKIE J](#), [SINGLA C](#). Cupular organs in two species of *Corella* (Tunicata: Ascidiacea). *InvertebrBiol* 2004;123(3):269-81.
44. [FERNALD RD](#). Eyes: variety, development and evolution. *Brain Behav Evol* 2004;64(3):141-7.

45. [HOLLAND ND](#), [CHEN J](#). Origin and early evolution of the vertebrates: new insights from advances in molecular biology, anatomy, and palaeontology. *Bioessays* 2001;23(2):142–51.
46. [NODEN DM](#). Interactions and fates of avian craniofacial mesenchyme. *Development* 1988;103, S:121–40.
47. [TRAINOR PA](#), [MELTON KR](#), [MANZANARES M](#). Origins and plasticity of neural crest cells and their roles in jaw and craniofacial evolution. *Int J Dev Biol* 2003;47(7–8):541–53.
48. [KIMMEL CB](#), [MILLER CT](#), [KEYNES RJ](#). Neural crest patterning and the evolution of the jaw. *J Anat.* 2001;199(Pt 1–2):105–20.
49. [KURATANI S](#), [KURAKU S](#), [MURAKAMI Y](#). Lamprey as an evo–devo model: lessons from comparative embryology and molecular phylogenetics. *Genesis*. 2002;34(3):175–83.
50. [KURATANI S](#), [NOBUSADA Y](#), [HORIGOME N](#), [SHIGETANI Y](#). Embryology of the lamprey and evolution of the vertebrate jaw: insights from molecular and developmental perspectives. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2001;356(1414):1615–32.
51. [MALLATT J](#). Early vertebrate evolution: pharyngeal structure and the origin of gnathostomes. *J Zool* 1984;204(2):169–83.
52. [MALLAT J](#). Ventilation and the origin of jawed vertebrates: a new mouth. *Zool J Linn Soc* 2008;117(4):329–404.
53. [KURATANI S](#). Evolution of the vertebrate jaw: comparative embryology and molecular developmental biology reveal the factors behind evolutionary novelty. *J Anat* 2004;205(5):335–47.
54. [HUNT P](#), [WHITING J](#), [MUCHAMORE I](#), [MARSHALL H](#), [KRUMLAUF R](#). Homeobox genes and models for patterning the hindbrain and branchial arches. *Dev Suppl* 1991;1:187–96.
55. [MCGINNIS W](#), [KRUMLAUF R](#). Homeobox genes and axial patterning. *Cell* 1992;68(2):283–302.
56. [GENDRON–MAGUIRE M](#), [MALLO M](#), [ZHANG M](#), [GRIDLEY T](#). Hoxa–2 mutant mice exhibit homeotic transformation of skeletal elements derived from cranial neural crest. *Cell* 1993;75(7):1317–31.
57. [PASQUALETTI M](#), [ORI M](#), [NARDI I](#), [RIJLI FM](#). Ectopic Hoxa2 induction after neural crest migration results in homeosis of jaw elements in *Xenopus*. *Development* 2000;127(24):5367–78. Couly G, Grapin–Botton A, Coltey P, Ruhin B, Le Douarin NM. Determination of the identity of the derivatives of the cephalic neural crest: incompatibility between Hox gene expression and lower jaw development. *Development* 1998;125(17):3445–59.
58. [TRAINOR PA](#), [ARIZA–MCNAUGHTON L](#), [KRUMLAUF R](#). Role of the isthmus and FGFs in resolving the paradox of neural crest plasticity and prepatterning. *Science* 2002;295(5558):1288–91.

59. COHN MJ. Evolutionary biology: lamprey Hox genes and the origin of jaws. *Nature* 2002;416(6879):386-7.
60. TAKIO Y, PASQUALETTI M, KURAKU S, HIRANO S, RIJLI FM, KURATANI S. Evolutionary biology: lamprey Hox genes and the evolution of jaws. *Nature*. 2004;429(6989):1.
61. MALLATT J, CHEN J, HOLLAND ND. Comment on "A new species of yunnanozoan with implications for deuterostome evolution". *Science*. 2003;300(5624):1372
62. STOCK DW, ELLIES DL, ZHAO Z, EKKER M, RUDDLE FH, WEISS KM. The evolution of the vertebrate Dlx gene family. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93(20):10858-63.
63. HOLLAND ND, PANGANIBAN G, HENYEV EL, HOLLAND LZ. Sequence and developmental expression of AmphiDII, an amphioxus Distal-less gene transcribed in the ectoderm, epidermis and nervous system: insights into evolution of craniate forebrain and neural crest. *Development* 1996;122(9):2911-20.
64. NEIDERT AH, VIRUPANNAVAR V, HOOKER GW, LANGELAND JA. Lamprey Dlx genes and early vertebrate evolution. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98(4):1665-70.
65. OGASAWARA M, SHIGETANI Y, HIRANO S, SATOH N, KURATANI S. Pax1/Pax9-Related genes in an agnathan vertebrate, *Lampetra japonica*: expression pattern of LjPax9 implies sequential evolutionary events toward the gnathostome body plan. *Dev Biol* 2000;223(2):399-410.
66. SHIGETANI Y, NOBUSADA Y, KURATANI S. Ectodermally derived FGF8 defines the maxillomandibular region in the early chick embryo: epithelial-mesenchymal interactions in the specification of the craniofacial ectomesenchyme. *Dev Biol* 2000;228(1):73-85.
67. SHIGETANI Y, SUGAHARA F, KAWAKAMI Y, MURAKAMI Y, HIRANO S, KURATANI S. Heterotopic shift of epithelial-mesenchymal interactions in vertebrate jaw evolution. *Science* 2002;296(5571):1316-9.