

Evolución y desarrollo facial: perspectiva molecular

Facial Evolution and Development: From a Molecular Perspective

75

Univ Odontol. 2009 Jul-Dic; 28(61): 75-85. ISSN 0120-4319

CIENCIAS BÁSICAS, BIOTECNOLOGÍA Y BIOINFORMÁTICA

Carolina Parada

Odontóloga.

Miembro del Grupo de Crecimiento y Desarrollo Craneofacial y Grupo de Neurociencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

PhD en Genética, Universitat de Barcelona, Barcelona, España.

Miembro del Grup de Biologia del Desenvolupament. Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona, Universitat Pompeu Fabra.

RESUMEN

El desarrollo facial es uno de los eventos más complejos de la embriogénesis, coordinado por un gran número de moléculas que actúan de manera regulada en diversos estadios del desarrollo. Uno de los eventos tempranos más importantes en la formación facial es la generación y migración de las células de la cresta neural, las cuales son consideradas un grupo celular único en los vertebrados, que aporta información para el establecimiento del patrón facial, gracias a su interacción con otros tejidos, así como nuevos tipos celulares. Una vez las células de la cresta han llegado a su destino en los arcos branquiales y se forman las diferentes prominencias faciales, el desarrollo depende del crecimiento, la expansión y la fusión de dichas prominencias. En esta revisión se aportan hallazgos recientes relacionados con la base molecular de estos procesos de desarrollo, así como nuevas ideas sobre la evolución de esta región.

PALABRAS CLAVE

Desarrollo facial, evolución, células de la cresta neural, interacciones tisulares, prominencias faciales.

ÁREA TEMÁTICA

Crecimiento y desarrollo

ABSTRACT

Facial development is one of the most complex events of embryogenesis. It is coordinated by a great number of molecules that act in a regulated manner at different stages of development. One of the most important early events in facial development is the generation and migration of neural crest cells, which are considered a cell group apparently unique to vertebrates. Neural crest cells give rise to a wide variety of cell types and tissues and serve as a source of patterning information, due to their interaction with other tissues. Once neural crest cells have reached the branchial arches and the facial prominences are formed, development relies on the growth, expansion and fusion of those prominences. This review of literature presents recent findings related to the molecular base of those developmental processes as well as new ideas about the evolution of this anatomical part.

KEY WORDS

Facial development, evolution, neural crest, tissue interactions, facial prominences.

THEMATIC FIELD

Growth and development

Gran parte de esta revisión ha sido presentada por la autora como conferencia en el Seminario-Taller: Desarrollo Craneofacial y del Sistema Nervioso Central: Perspectivas Celular y Molecular, llevado a cabo del 8 al 11 de octubre de 2008 en la Universidad Nacional de Colombia y organizado por los grupos de Neurociencias y de Crecimiento y Desarrollo Craneofacial de la misma universidad.

Parada C. Evolución y desarrollo facial: perspectiva molecular. Univ Odontol. 2009 Jul-Dic; 28(61): 75-85.

Recibido para evaluación 13-03-2009
Aceptado para publicación 08-04-2009

Disponible en
<http://revistas.javeriana.edu.co/index.php/revUnivOdontologica/>

HIPÓTESIS DE LA NUEVA CABEZA: EVOLUCIÓN DEL COMPLEJO CRANEOFACIAL

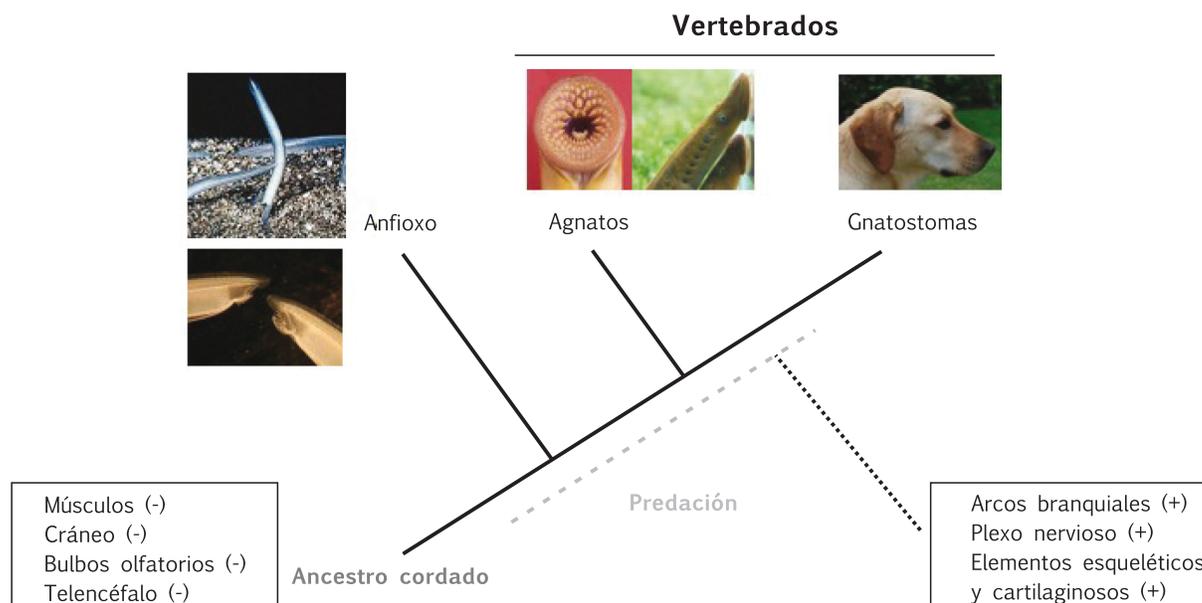
El desarrollo de la región craneofacial es un proceso complejo que refleja las fuerzas evolutivas que controlan la morfogénesis. La región craneofacial en vertebrados protege el cerebro y aloja los órganos sensoriales y las estructuras relacionadas con la alimentación. En ese sentido, la supervivencia de diversas especies de vertebrados depende justamente de la habilidad para percibir y devorar a sus presas. Por esto las variaciones en anatomía y función del complejo craneofacial son una de las mejores evidencias de adaptación evolutiva y, por lo tanto, objeto permanente de estudio.

Con respecto a la evolución de la cabeza en vertebrados, en la actualidad hay gran acuerdo sobre la

hipótesis de la nueva cabeza (*the new head*). Esta hipótesis postula la existencia de un organismo primitivo cordado, ancestro de cefalocordados y vertebrados, que carecía de los músculos de los arcos faríngeos, así como de un cráneo definido y de las estructuras características de la región rostral de la cabeza, como los bulbos olfatorios o las vesículas telencefálicas.

De acuerdo con esta hipótesis, este organismo ancestral debió de sufrir una transición evolutiva de alimentarse por filtración del agua a la predación activa, lo cual produjo diversidad de innovaciones, como el desarrollo de arcos branquiales, maxilares muscularizados, un plexo nervioso que capacitó al animal para detectar y capturar a la presa, e igualmente elementos cartilaginosos y esqueléticos que sostuvieron ese plexo (figura 1).¹

FIGURA 1
HIPÓTESIS DE LA NUEVA CABEZA



Nota: En esta imagen se muestra un cladograma simplificado que incluye las relaciones Filogenéticas entre cefalocordados y vertebrados con su ancestro común, así como las innovaciones morfológicas en los organismos más complejos.

Fuente: modificada de Chai Y, Maxson R. Recent advances in craniofacial morphogenesis. *Dev Dyn.* 2006 Sep; 235(9): 2353-75.

En principio, estas estructuras nuevas pudieron haberse generado por dos vías diferentes: una reestructuración de la región anterior del tronco o, más probablemente, la aparición de una sección anterior añadida al tronco ya presente. Esta última, que considera la cabeza como un neomorismo, es la posición central de la hipótesis de nueva cabeza. También esencial para esta hipótesis es la idea de que el tipo celular más crítico para la evolución del complejo craneofacial son las células de la cresta neural (CCN), pues actúan como fuente de novedad evolutiva única de vertebrados, que aporta nuevos tejidos y que, además, da información para el establecimiento del patrón.²⁻³

Se ha realizado mucha investigación para determinar si en organismos no vertebrados hay CCN. Al respecto, se ha estudiado profundamente el cefalocordado anfiexo, un animal marino que suele estar en las playas arenosas del Atlántico y el Mediterráneo. En este organismo, que no posee CCN, se expresa *amfiFoxD* en la placa neural anterior de manera similar a su homólogo en vertebrados *FoxD3*, que es un marcador conocido de CCN. *AmphiFoxD* también se expresa en el mesodermo axial y paraaxial, por lo cual se especula que el *FoxD* es un ancestro común de anfiexo y vertebrados que tuvo un papel en el desarrollo del mesodermo, y posteriormente, durante la evolución, empezó a actuar en las

CCN.⁴⁻⁵ También se ha demostrado que en urocordados hay células que se comportan como CCN, que migran desde el tubo neural y expresan marcadores propios de estas células como *hnk* y *zic1*, pero que luego se diferencian sólo en células pigmentarias.⁶ Esto sugiere que inicialmente estas células primordiales tenían una función en pigmentación, pero luego, durante la evolución, se adquirieron destinos celulares adicionales.⁷ A pesar de estos hallazgos, está claro que sólo en vertebrados existen CCN que originan un amplio espectro de tipos celulares. Por lo tanto, la idea de que las CCN son la fuente principal de estructuras para la nueva cabeza en vertebrados permanece intacta.

CÉLULAS DE LA CRESTA NEURAL

Uno de los primeros eventos en la formación del complejo craneofacial es la subdivisión del ectodermo cefálico en las regiones neural y no neural, ya que esto constituirá la cresta neural craneal o cefálica (CCNC). Las CCN son un grupo de células ubicadas en este límite neural/no neural que adoptan un carácter mesenquimal y migran de manera ventrolateral (figura 2a). En el momento del cambio de tipo celular, las CCN expresan *Snail*, que es un factor de transcripción que regula la transformación ectodermo-mesenquimal.⁸

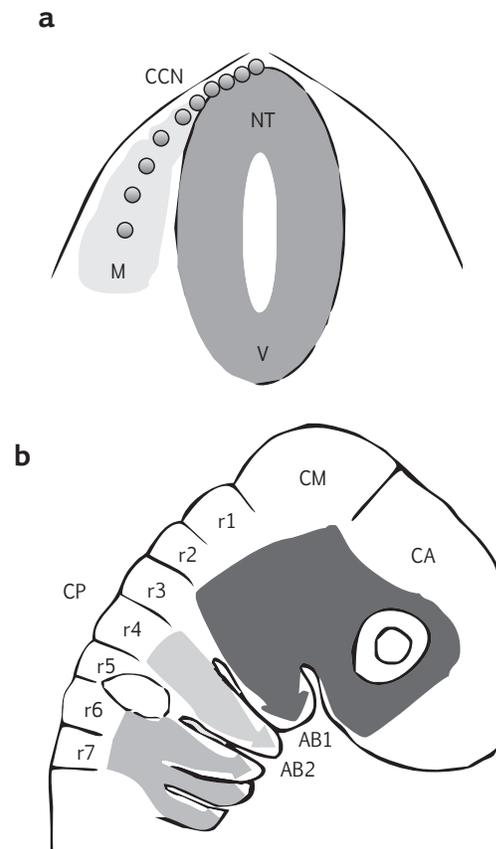
Esta transición depende del cambio de las células de la fase G1 a la fase S del ciclo celular, lo cual a su vez depende de la actividad de las proteínas morfogenéticas óseas (BMP, por su sigla en inglés), entre otros factores. Cuando se inhibe la señalización dada por las BMP en el tubo neural, la transición de G1 a S se bloquea y no se generan CCN a partir de los márgenes de los pliegues neurales. Las BMP ejercen su efecto en parte mediante la regulación de la transcripción de *Wnt1*.⁹⁻¹¹

Una vez definidas como CCN, estas células delaminan del tubo neural (figura 2a). Este proceso es iniciado por la inactivación de moléculas de adhesión celular, como la *neural cell adhesion molecule* (NCAM) y las N-cadherinas, que son las que mantienen a las células en adhesión con sus vecinas, que no migran.¹²⁻¹³ Las CCN poseen dos características especiales y esenciales: primero, son pluripotentes y, segundo, migran a través del mesénquima hacia destinos concretos que dependen de su posición inicial en el eje antero-posterior del tubo neural.¹⁴

Los siguientes párrafos se referirán a las células de la CCNC que migran desde las regiones más anteriores del tubo (figura 2b). Las CCNC migran en sentido ventrolateral para finalmente tener contacto con el endodermo faríngeo y constituir el mesénquima de los arcos faríngeos (figura 2b). En la región facial, las células derivadas de las CCNC originarán diversidad de tejidos, entre ellos cartílago, hueso, músculo, vasculatura y la dentina, la pulpa y el cemento de los dientes.¹⁵⁻¹⁷

FIGURA 2

GENERACIÓN Y MIGRACIÓN DE LAS CÉLULAS DE LA CRESTA NEURAL: (A) ESQUEMA DEL CORTE TRANSVERSAL DE UN EMBRIÓN DE VERTEBRADO QUE MUESTRA LA MIGRACIÓN VENTROLATERAL DE LAS CÉLULAS DE LA CRESTA NEURAL. (B) VISTA LATERAL DE UN EMBRIÓN DE RATÓN



Nota: Se esquematiza la migración de las células de la cresta neural craneal hacia la región frontonasal y los arcos branquiales a partir de orígenes diferentes.

AB: arcos branquiales; CA: cerebro anterior; CCN: células de la cresta neural; CM: cerebro medio; CP: cerebro posterior; r: rombómero; M: mesénquima; NT: tubo neural; V: región ventral.

Modificada de Graham A, Begbie J, McGonnell I. Significance of the Cranial Neural Crest. *Dev Dyn*. 2004 Jan; 229(1): 5-13.

Cabe destacar que de todas las CCN, solamente las cefálicas pueden formar hueso y cartílago. En ese sentido, se ha visto que si se transplantan CNCC al tronco se forma cartílago donde normalmente las CCN troncales no lo generan.¹⁶ Esta capacidad de formar cartílago y hueso podría ser una propiedad primitiva, característica de los primeros peces que poseían placas óseas en todo el organismo y que luego quedó restringida a la parte cefálica. En el resto del organismo los tejidos duros se derivan del mesodermo.

La CCNC comprende desde la parte más anterior del embrión hasta la frontera entre el somita 3 y 4, y a partir de ese punto las CCN adquieren las características del tronco. En la región cefálica, las CCNC se pueden dividir también en tres grupos de poblaciones diferen-

tes: derivadas del cerebro anterior (prosencefalo), del cerebro medio (mesencefalo) o del cerebro posterior (rombencefalo). Las dos primeras poblaciones migran para constituir el mesénquima de la región frontonasal, el tejido periocular y la prominencia maxilar. En cambio, la tercera población migra en distintos grupos correspondientes a diferentes rombómeros, poblando lo que será la mandíbula, el hioides y los arcos branquiales más posteriores (figura 2b).¹⁶

Los rombómeros (r) son bloques de tejido en el cerebro posterior que expresan moléculas diferentes que los definen como estructuras separadas (figura 2b). La segmentación rombomérica dada por la expresión de distintas moléculas confiere a cada rombómero propiedades diferentes que finalmente afectan la formación de nervios craneales y de sus correspondientes CCNC. La primera evidencia de la especificación de los rombómeros es la restricción de un linaje celular en cada rombómero concreto. Esta segregación no es debida únicamente a las fronteras entre rombómeros, ya que la extirpación de estas fronteras no provoca el intercambio de las células entre rombómeros.

Las características que definen la especificación rombomérica son, por lo tanto, intrínsecas a las células que los constituyen, ya sea por afinidad o adhesión celular.¹⁸⁻¹⁹ La segmentación del cerebro posterior se debe principalmente a la expresión de diversos factores de transcripción como Krox20, Kreisler/MafB y varios Hox, que delinean finamente las unidades romboméricas.¹⁸ Hay varias moléculas implicadas en restringir la mezcla de células *downstream* a estos factores; entre ellas, el receptor EPH y sus ligandos, las efrinas.

Los rombómeros pares expresan efrinas, mientras que los impares expresan sus receptores, los EPH. Este patrón complementario de expresión EPH/efrina es importante debido a que la señalización bidireccional entre células con receptores y aquellas con ligandos produce una repulsión mutua en el límite de cada rombómero, lo cual al final determinará la plasticidad de las células en cada uno de ellos.²⁰⁻²¹ Las caderinas también están implicadas en las restricciones de linaje entre rombómeros, ya que controlan el movimiento celular y el mantenimiento de la polaridad.²² Puesto que la señalización dada por EPH-efrinas puede causar el colapso de elementos del citoesqueleto y que las caderinas están asociadas a la actina, es posible que estos dos grupos de moléculas actúen cooperativamente para regular el estado del citoesqueleto en la región del límite entre rombómeros.

Respecto de los factores de transcripción, Krox20 es esencial para determinar los rombómeros impares, en parte mediante la inducción de la expresión de Hoxa2, Hoxb2 y Hoxb3. Krox20 se expresa en dos franjas en el cerebro posterior correspondientes a r3 y r5. Los ratones *knockout* para este gen pierden estos rombómeros y aparecen rombómeros fusionados de r2/r4 y r6.²³

Otro gen que parece estar implicado en la segmentación del cerebro posterior es MafB o Kreisler, el cual se expresa en estadios tempranos en la zona que originará r5 y r6.²⁴ La pérdida de expresión de Kreisler provoca la desaparición de r5 y r6, así como la pérdida de segmentación en la región posterior a la frontera r3/r4.²⁵ Además, se ha demostrado que MafB en pollo es un activador de Hoxa3 y Hoxb3 y un represor de Hoxb1. Finalmente, otro gen implicado en la segmentación del cerebro posterior es *variant hepatocyte nuclear factor-1* (vHnf1), ya que activa MafB y Krox20 en r5 y r6, mientras que reprime Hoxb1 en el mismo dominio.²⁶

En relación con los genes Hox, los organismos vertebrados cuentan con cuatro *clusters* parálogos de genes Hox (HoxA, HoxB, HoxC y HoxD). De éstos, los genes que se expresan más anteriormente están comprendidos en los dos primeros *clusters*. El límite anterior de expresión de los genes Hox está en el r2, donde se expresa Hoxa2. Esto define una zona Hox-negativa y otra Hox-positiva en el desarrollo del cerebro posterior. En lo que se refiere a las CCN, este límite es todavía más caudal, ya que las CCNC más anteriores que expresan genes Hox son aquellas que migran a partir del r4 (hacia el segundo arco) y que expresan Hoxa2. Un ejemplo de la importancia de estos genes se encuentra en que los dobles mutantes Hoxa1 y Hoxb1 tienen defectos en el patrón del cerebro posterior, específicamente en el rombómero 4, que pierde su habilidad para generar CCN.²⁷ Consecuentemente, no se produce la población mesenquimal del segundo arco branquial.

En resumen, en el desarrollo cefálico de vertebrados, la acción de los genes Hox se puede dividir en dos niveles. El primero es su actuación en la segmentación del cerebro posterior y el segundo está relacionado con su expresión y actuación directa en las CCN, para que la migración se dé correctamente en sus respectivos arcos.²⁸ Un punto crítico en este sentido es que las CCNC que expresan Hox sólo migran hacia el segundo arco y posteriores, no hacia el primer arco, que es el responsable de la formación de la cara. Por lo tanto, la expresión de los genes Hox determina las propiedades esqueléticas de las CCNC. Las CCNC Hox-negativas derivarán en cartílagos y huesos de tipo membranoso y endocondral del tercio superior de la cara y los maxilares, mientras que las CCNC Hox-positivas están limitadas a originar huesos del tipo endocondral.²⁹

INTERACCIONES TISULARES EN EL DESARROLLO FACIAL

Una vez las CCNC alcanzan su sitio de destino, tienen que enfrentarse con la señalización dada por los tejidos presentes en esa región. La contribución de las CCNC al patrón facial ha sido estudiada recientemente usando la técnica clásica de trasplante de tejidos entre especies diferentes: codorniz y pato. En estos estudios se ha encontrado que el intercambio de las CCNC frontona-

sales entre embriones de pato y codorniz altera significativamente la apariencia de los embriones quimera en tal extensión que los patos con CCNC provenientes de codorniz forman pico de codorniz y las codornices con CCNC de pato forman pico de pato.^{3,30-31} Por lo tanto, las CCNC mantienen su programa temporal de expresión génica y éste es capaz de alterar al epitelio receptor. Sin embargo, el efecto es dependiente del número de CCNC transplantadas. Sólo cuando hay suficientes células, éstas pueden mantener las vías de señalización propias de su especie.³⁰

También se ha visto que las CCNC responden activamente a estímulos provenientes del epitelio y que adquieren de este tejido información sobre el patrón, como es evidente en la odontogénesis.³²⁻³⁴ Por consiguiente, la morfogénesis craneofacial depende, en gran medida, de interacciones recíprocas e inductivas entre estos dos tejidos adyacentes: mesénquima derivado de las CCNC y epitelio. En este sentido, también se ha analizado la actividad del endodermo faríngeo en la morfogénesis de los tercios medio e inferior de la cara.^{1,29}

La eliminación del endodermo en estadios tempranos produce defectos en los huesos y cartílagos faciales. Esto es debido a que durante la formación del primer arco branquial, el endodermo faríngeo preestablece el patrón del epitelio orofacial.³⁵ Un ejemplo de la influencia endodérmica en el patrón facial se ve en la formación de las bolsas faríngeas. Estas estructuras se forman cuando algunos grupos de células endodérmicas migran lateralmente; ese proceso de migración se altera completamente cuando se inactivan *Fgf8* y *Fgf3*. Consecuentemente, las bolsas faríngeas no se forman y los cartílagos de los arcos branquiales se desorganizan causando los defectos óseos que se ven cuando no hay endodermo. Sin embargo, no todos los cartílagos se ven afectados de la misma manera; los cartílagos mandibulares derivados de las CCNC Hox-negativas están menos afectados que las células del segundo arco que son Hox-positivas.³⁶

En el pollo se ha visto que cuando se transplantan células del endodermo faríngeo a una posición adyacente al tubo neural, hay una duplicación en las estructuras esqueléticas del arco, de acuerdo con el nivel del trasplante (por ejemplo del pico inferior).²⁹ No obstante, el endodermo faríngeo no es esencial para el desarrollo facial de los dos tercios superiores de la cara; en cambio, el cerebro anterior y el ectodermo facial/del estomodeo parecen tener esa función.

Con respecto al ectodermo oral, el patrón de este tejido es independiente de las CCNC. Por ejemplo, en ratones con defectos en migración de las CCNC, el epitelio del primer arco tiene un patrón correcto. Sin embargo, el establecimiento del dominio ectodérmico influye de manera significativa la determinación del destino de las CCNC, a medida que pueblan el primer arco. Cuando se transplantan regiones del ectodermo facial en sitios ectópicos en la cara en embriones de pollo, el destino de

las células de la cresta neural frontonasal subyacentes se altera y resulta en la duplicación de estructuras correspondientes al pico superior.³⁷ El ectodermo puede producir duplicaciones similares cuando se trasplanta en el primer arco, Hox-negativo, mientras que no produce ningún efecto cuando se trasplanta en el segundo arco, Hox-positivo. Este resultado ilustra cómo se balancea la plasticidad de las CCNC contra un prepatrón que no depende de la expresión de genes Hox en los tejidos faciales.^{1,38}

El neuroectodermo también es una fuente de información para el patrón de los tercios medio y superior de la cara. En el pez cebra se ha visto que el *sonic hedgehog homolog* (SHH) del neuroectodermo ventral anterior dirige el patrón del ectodermo superficial ventral, sin requerir una señal intermediaria generada por las CCN que se encuentran entre estos dos ectodermos. La pérdida del SHH del neuroectodermo interrumpe la agregación de CCN para formar las condensaciones que constituirán los elementos esqueléticos.^{1,39-40} En estadios tardíos, las CCN interactúan con el epitelio y proveen señales instructivas que tienen un efecto en el patrón epitelial. El desarrollo dental es un claro ejemplo de este cambio de potencial de epitelio a mesénquima y viceversa.

DESARROLLO LABIAL Y PALATINO

Finalmente, las CCNC como ectomesénquima constituyen el primer arco faríngeo. El desarrollo de la cara ahora depende de las interacciones entre los procesos faciales y de su crecimiento, fusión y extensión. Muy temprano en el desarrollo de vertebrados, la cara embrionaria está formada por cinco prominencias individuales que rodean al estomodeo.⁴¹ En el lado rostral se ubica la prominencia frontonasal, que se encuentra en una posición ventrolateral al cerebro anterior y que está constituida por células ectomesenquimales derivadas de las CCN provenientes del cerebro anterior y medio.

Lateralmente al estomodeo, hay dos procesos maxilares y caudalmente dos procesos mandibulares, los cuales se derivan del primer arco que a su vez está constituido por CCN provenientes del primer y segundo rombómeros (figura 3a). En estas prominencias, SHH, *Bmp4*, *Wnt3*, *Wnt9b* y *fgf8* se expresan en el epitelio, mientras que *Fgf1*, -2, -3, *Lhx*, *Gsc*, *Dlx1*, -2, *Pax9*, *Msx1* y -2 se expresan en el mesénquima y son una vía esencial para el crecimiento de los procesos.⁴² Las mutaciones en *Bmp* y *Msx* causan defectos muy graves en la morfogénesis mandibular, así como hendiduras en el tercio medio de la cara.⁴³⁻⁴⁴

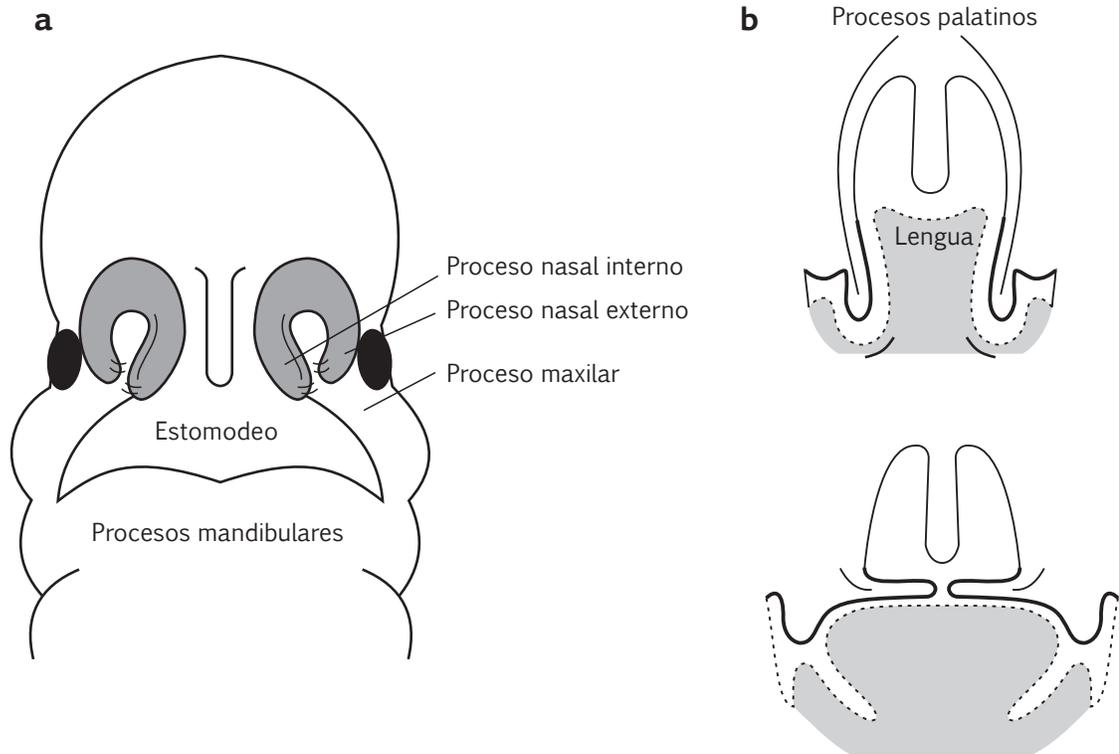
Posteriormente, la prominencia frontonasal se amplía y da lugar a dos vesículas telencefálicas, primordios de los hemisferios cerebrales. En la parte ventrolateral de esta prominencia ocurre un engrosamiento ectodérmico bilateral que origina las placodas nasales. El proceso

frontonasal crece y se abulta en la región adyacente a las placodas, lo cual resulta en la formación de las fositas nasales, alrededor de las cuales se encuentran los procesos nasales laterales (o externos) y medios (o internos). En este estadio las fositas nasales están en

continuidad con el estomodeo. Más tarde hay un crecimiento muy rápido del mesénquima en los procesos maxilares, que empuja las fositas nasales hacia el medio, mientras que los procesos nasales medios crecen ventrolateralmente (figura 3a).⁴¹

FIGURA 3

DESARROLLO DE LA CARA Y EL PALADAR SECUNDARIO. (A) ESQUEMA DE LA VISTA FRONTAL DE UN EMBRIÓN DE RATÓN, QUE MUESTRA LAS PRINCIPALES PROMINENCIAS FACIALES QUE FORMARÁN LA CARA. (B) PARTE SUPERIOR: PROCESOS PALATINOS EN POSICIÓN VERTICAL, A LADO Y LADO DE LA LENGUA; PARTE INFERIOR: ESTADIO DE DESARROLLO MÁS AVANZADO DONDE LOS PROCESOS PALATINOS YA SE HAN ELEVADO Y LA LENGUA HA DESCENDIDO



Modificada de Tewfik TL, Karsan N. Congenital malformations, mouth and pharynx. eMedicine [internet]. 2008 Oct 21 [citado 06-10-2009]. Disponible en: <http://emedicine.medscape.com/article/837347-overview>.

El crecimiento rápido de los procesos maxilares y nasales medios empuja los procesos nasales laterales más rostralmente y pone en contacto directo los extremos distales de los procesos maxilares y nasales medios.⁴¹ En embriones de ratón se ha visto que la fusión entre procesos nasales ocurre inicialmente en la parte posterior de las fositas nasales y procede en una dirección anterior, lo cual es bastante similar a lo que ocurre en el humano. Este proceso parece estar mediado por BMP4.⁴² De esta manera, se forma el labio superior. Cualquier alteración en alguno de estos procesos puede causar hendiduras labiales, el segundo defecto de nacimiento más común en todas las poblaciones.

Los procesos maxilares continúan creciendo rápidamente y empujan las fositas nasales y los procesos nasales medios en dirección mediofrontal. La hendidura entre los procesos nasales medios se hace cada vez más superficial. Estos procesos morfogenéticos convierten las fositas nasales en cámaras nasales y en

ductos nasales, una vez se completa la fusión entre los procesos nasales laterales y medios, los cuales se perforan mucho más tarde para dar continuidad a las cavidades nasal y oral.⁴¹ Los procesos nasales laterales originan las alas nasales, mientras que los nasales medios constituyen la punta de la nariz. En el día 48, en los humanos, se completa la formación del labio superior, después de la desintegración del epitelio superficial de los procesos y la confluencia mesenquimal.⁴²

Con respecto al paladar, éste se divide en paladar primario y secundario. El paladar primario procede del proceso frontonasal, mientras que el paladar secundario proviene de las prominencias maxilares. El desarrollo del paladar secundario inicia con un crecimiento vertical de cada proceso maxilar. Estas extensiones forman dos procesos palatinos posicionados verticalmente a cada lado de la lengua, los cuales se vuelven horizontales en estadios más tardíos (figura 3b).⁴¹ Este último proceso depende de factores extrínsecos e intrínsecos.

Entre los primeros se encuentra: contracción lingual, en respuesta a estímulos neurales dados por la deglución, crecimiento mandibular en dirección sagital, levantamiento de la cabeza, enderezamiento de la base craneal y aumento de la altura de la cavidad oronasal.

Los factores intrínsecos incluyen fuerzas hidrostáticas producidas por la matriz extracelular en los procesos palatinos, elongación del citoplasma de las células mesenquimales, aumento en la actividad mitótica del mesénquima e incremento en la vascularización. El crecimiento continuo de los procesos palatinos hace que al ser elevados, sus bordes mediales se pongan en contacto. Las glicoproteínas de la superficie celular promueven la adhesión, la cual es regulada por Tgfb3, que induce proteínas de ese tipo como ácido hialurónico, condroitin sulfato, perlecan y diversas metaloproteinasas.⁴⁵ Simultáneamente las proyecciones epiteliales formadas a partir de los bordes mediales se extienden a lo largo del sitio de fusión en un proceso denominado lamelipodia y filopodia, también controlado por Tgfb3.⁴⁶

Después del contacto y la fusión del epitelio, ocurren procesos de degeneración epitelial que permiten la continuidad del mesénquima subyacente. Estos procesos incluyen muerte celular programada, transformación epitelio-mesenquimal o migración de las células epiteliales. La migración y la transformación son dirigidas también por Tgfb3, a través de la vía de RohA/Roh cinasa y mediante la inhibición de syndecan-1 y E-caderina, que son marcadores del fenotipo epitelial.⁴⁷⁻⁴⁸ Además de Tgfb3, hay otras moléculas esenciales para el desarrollo palatino. Por ejemplo, la pérdida de Msx1 en el paladar produce un defecto en la proliferación del ectomesénquima de los procesos en la región anterior del paladar secundario que se traduce en hendiduras. La BMP4 funciona *downstream* de Msx1 y controla la expresión de SHH en el epitelio palatino. El SHH, a su vez, regula la expresión de BMP2 en el mesénquima, lo cual promueve la proliferación celular.⁴⁴ Mientras tanto, el fgf10 se expresa en la región anterior del mesénquima palatino y funciona de forma paracrina a través de su receptor FGFR2 en el epitelio palatino, para mediar la expresión de SHH. De esta manera, las vías de señalización de BMP y Fgf confluyen en la señalización por SHH en el epitelio, para controlar el crecimiento de la región anterior de los procesos palatinos.⁴² Lhx8, Pax9 y Dlx2 también están implicados en el mantenimiento de la proliferación mesenquimal.

El gen *shox2* se expresa exclusivamente en el mesénquima palatino anterior. La pérdida de función de este gen causa una hendidura incompleta del paladar duro anterior, mientras que la fusión en la región posterior es normal. Esto demuestra claramente que hay mecanismos regulatorios diferentes y que la fusión de la región anterior y de la posterior ocurre de diferente forma.⁴⁹⁻⁵⁰ Se sabe muy poco sobre la expresión de moléculas en la región posterior. Fgfr2 se expresa en el epitelio y el

mesénquima en los tercios medios y posterior del paladar y FGF8 induce selectivamente la expresión de Pax9 en el mesénquima de la región posterior.⁵¹

Además de las diferencias a lo largo del eje anteroposterior, también hay heterogeneidad mesenquimal entre las regiones medias y laterales de los procesos palatinos. Por ejemplo, los genes *Osr1* y *Osr2* se expresan en un gradiente mediolateral y las mutaciones en *Osr2* causan alteraciones en el desarrollo del aspecto medio del paladar y retardan la elevación palatina.⁵² Asimismo, la expresión de *fgfr2* se concentra en el aspecto medio de los procesos palatinos, lo cual sugiere que este factor podría estar implicado también en la elevación de los procesos. De acuerdo con los fenotipos de los mutantes con hendidura palatina, se han propuesto cinco categorías para dividir las alteraciones del desarrollo del paladar.⁵³

1. Falla de la formación de los procesos palatinos, que puede ser producto de mutaciones en *activin-A*, las cuales alteran todas las prominencias faciales.⁵⁴ La mutación en *Fgfr2* también afecta el desarrollo inicial del paladar y resulta en hendidura palatina incompleta.⁵⁵
2. Fusión del paladar con la lengua o la mandíbula. En este caso, la pérdida de función de *fgf10* produce fusión de la región palatina anterior con la lengua, mientras que las regiones media y posterior se adhieren a la mandíbula; por lo tanto, se evita la elevación de los procesos, lo cual eventualmente causa una hendidura.⁵⁶ En humanos se han hallado mutaciones en *Tbx22* en pacientes con paladar hendido combinado con anquiloglosia.⁵⁷
3. Falla en la elevación de los procesos. Las mutaciones en *Pax9*, *Pitx1* y *Osr2* causan defectos en la elevación y paladar hendido.⁵² El defecto celular está principalmente asociado con el mesénquima, lo cual sugiere que estos genes colaboran en la determinación del destino de las CCN.
4. Falla de los procesos para tener contacto tras la elevación. Éste es el tipo más común de hendidura palatina en ratones y humanos. Ejemplos de ello son las mutaciones en *Msx1* y *Lhx8* y la inactivación condicional de *Tgbr2* en las CCN o del SHH en el epitelio, que producen un desarrollo retardado de los procesos palatinos una vez están en posición horizontal.^{44,55}
5. Persistencia del epitelio en el límite medial. Como se ha comentado antes, los mutantes para *Tgfb3* y también para *Egfr* presentan alteraciones en los mecanismos de degeneración del epitelio.^{42,45,47}

REGULACIÓN MOLECULAR DE LA MORFOLOGÍA FACIAL

Los vertebrados exhiben una gran variación en morfologías craneofaciales que están diseñadas para nichos y comportamientos específicos. Estas características posnatales son obvias, pero durante el período embrionario las caras de los vertebrados son muy similares. Aunque no se han identificado por completo los genes/proteínas que establecen esas morfologías, hay algunos grupos de moléculas interesantes, cuyos patrones de expresión o actividad son indicativos de su influencia en este aspecto, entre ellos se encuentran los mencionados previamente en esta revisión: SHH, Fgfs, Wnt, algunos miembros de la familia Hox y principalmente BMP. Debido a la gran cantidad de información al respecto, se revisarán brevemente algunos estudios sobre la actividad de las BMP en la definición de características faciales específicas en aves. El primero en aproximarse a este aspecto fue Darwin, quien notó que en los gorriones de las islas Galápagos había una graduación perfecta en los picos de distintas especies, desde picos muy gruesos a picos muy delgados y finos.⁵⁸ Se sabe que estas variaciones morfológicas específicas de especie son evidentes durante la embriogénesis desde el estadio 22, de Hamilton y Hamburger.⁵⁹

Antes de ese estadio, las caras de las diferentes especies de aves son indistinguibles unas de otras. Más recientemente se han evaluado dos especies de gorriones, de cactus y de tierra, que representan los extremos en la morfología del pico que mencionaba Darwin. En el momento en que los embriones de gorrion de cactus y de tierra todavía son similares, existe una diferencia importante en los patrones de expresión de BMP4. En relación con este hallazgo, se ha visto que la sobreexpresión BMP4 en el mesénquima de la prominencia frontonasal en embriones de pollo convierte el pico estrecho y corto en un pico ancho y más grande,^{1,60} parecido al del gorrion de tierra.

También se han usado las diferencias inherentes en la morfología del pico de distintas especies para investigar si las variaciones espaciales en la expresión de BMP4 coinciden con las diferencias espaciales en el crecimiento entre especies.⁶¹ En los primeros análisis se vio que los embriones de pato tienen una masa frontonasal más amplia que el pollo, pero menos que el papagayo, el cual además crece verticalmente y tiene una prominencia mandibular reducida. Además, los embriones de pollo tienen una sola población de células proliferantes cerca del centro organizador de la zona frontonasal, mientras que los patos parecen tener dos de estos sitios en los bordes laterales de la zona organizadora.

Estas áreas de proliferación celular, además, coinciden con los sitios de expresión de BMP4 en la prominencia frontonasal. Se ha sugerido que estas zonas de crecimiento aparentemente inducidas por BMP4 podrían ser

responsables de la morfología adulta del pico. Los experimentos de ganancia y pérdida de función de BMP4 en embriones de pollo han confirmado esta idea. Al usar concentraciones diferentes de BMP4 o de su inhibidor, se consiguen diferentes morfologías correspondientes a diferentes especies de aves: cuando se sobreexpresa BMP4 o se inhibe usando *noggin*, incrementa o disminuye el tamaño del pico, respectivamente.⁶¹⁻⁶² Adicionalmente, el gradiente de concentración de BMP4 modula la rotación del pico: a mayor concentración, hay mayor rotación, porque el crecimiento en la región más proximal también es superior.

Estos hallazgos sugieren que las modificaciones en la actividad de BMP4 han alterado la morfología a lo largo de la evolución. Sin embargo, no se puede decir que esta molécula causa directamente esos cambios o si lo hace a través de la regulación de otras vías moleculares ya que, por ejemplo, también se ha mostrado que hay cambios en la expresión en *Msx1*, dependientes de las variaciones en BMP4. Las BMPs también regulan la morfología en especies más lejanas como los peces. En diversos estudios en cíclidos se ha establecido que la BMP4 es una molécula esencial en la regulación de las variaciones en la morfología facial características de estos peces.⁶³⁻⁶⁴

DE AGNATOS A GNATOSTOMAS: PAPEL DE LOS GENES HOX

Es evidente que las caras han cambiado de forma drástica durante la evolución. Tal vez una de las alteraciones más notables ha sido la aparición de los maxilares. Este avance dio la habilidad de diversificar los hábitos alimenticios y, por consiguiente, aportó ventajas para la competición. Uno de los modelos más estudiados al respecto ha sido la lamprea, un vertebrado basal sin maxilares (agnato), pero que en su forma embrionaria muestra muchas semejanzas con los organismos que tienen maxilares (gnatostomas). Por ejemplo, ambos poseen arcos faríngeos, estructuras esenciales para el desarrollo del esqueleto facial.¹ Estas similitudes han generado la pregunta de cómo se han desarrollado maxilares en organismos con una embriogénesis temprana tan parecida a la de los agnatos.

Algunos estudios recientes sobre los patrones de expresión de genes Hox podrían revelar los mecanismos moleculares de esta transformación. Como se describió antes en esta revisión, los genes Hox se expresan a lo largo del eje anteroposterior del organismo de una manera específica, lo cual apunta a que ellos proveen la identidad regional a las células.^{29,36} Se ha sugerido que la pérdida de la expresión anterior de los genes Hox está relacionada con la adquisición de maxilares en bisagra, ya que las CCN correspondientes al primer arco en animales primitivos (anfioxo, lamprea, etc.) son Hox-positivas, mientras que se vuelven Hox-negativas en vertebrados superiores (gnatostomas). Por ejemplo,

en lamprea se ha encontrado que HoxL6 se expresa en el primer arco branquial, en tanto que esta expresión se ha perdido en especies cercanas pero con maxilares.⁶⁵⁻⁶⁶ Las lampreas son el único agnato disponible para estudio, por lo cual muchos autores han recurrido al análisis del anfióxio. En los embriones de este seudopez, que no posee maxilares, el AmphiHox6 también se expresa en la región cefálica anterior, lo que le da más peso a la hipótesis de que la aparición de los maxilares se produce cuando no hay Hox.⁶⁵⁻⁶⁷ La flexibilidad de las CCN que han perdido la regulación dada por los genes Hox permitiría variaciones adaptativas más fáciles en los maxilares.

A pesar de que la lamprea no tiene maxilares, sí tiene labios superior e inferior, similares a los de gnatostomas. Algunos análisis de tinción con Dil en embriones de lamprea han mostrado que las células que contribuyen a los labios se originan de poblaciones de CCN del cerebro anterior y medio, mientras que en gnatostomas las células mesenquimales de la mandíbula tienen un origen más posterior en el tubo neural. En el campo molecular, el gen Dlx1 en lamprea se expresa en regiones de la cresta neural diferentes a las zonas de expresión en gnatostomas.

Este cambio en la expresión de Dlx1 está relacionado con una modificación en la expresión de fgf8, un regulador *upstream* de Dlx1 tanto en gnatostomas como en lamprea.⁵³ Un cambio evolutivo de este tipo pudo haber permitido la emergencia de los maxilares en gnatostomas. Si así fuera, los maxilares serían una innovación evolutiva, resultado de un cambio topográfico en las interacciones epitelio-mesenquimales y de una modificación en el destino celular de las CCN.

AGRADECIMIENTOS

A los doctores Clementina Infante y Humberto Arboleada, organizadores del Seminario-Taller Desarrollo Craneofacial y del Sistema Nervioso Central: Perspectivas Celular y Molecular.

BIBLIOGRAFÍA

- Helms J, Cordero D, Tapadia M. New insights into craniofacial morphogenesis. *Development*. 2005 Mar; 132(5): 851-61.
- Kuratani S. Craniofacial development and the evolution of the vertebrates: the old problems on a new background. *Zool Sci*. 2005 Jan; 22(1): 1-19.
- Trainor P. Development. The bills of quacks and ducks. *Science*. 2003 Jan; 299(5606): 523-4.
- Holland LZ, Holland ND. Evolution of neural crest and placodes: amphioxus as a model for the ancestral vertebrate? *J Anat*. 2001 Jul-Aug; 199(Pt 1-2): 85-98.
- Koop D, Holland LZ. The basal chordate amphioxus as a simple model for elucidating developmental mechanisms in vertebrates. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2008 Sep; 84(3): 175-87.
- Jeffery W. Chordate ancestry of the neural crest: New insights from ascidians. *Semin Cell Dev Biol*. 2007 Aug; 18(4): 481-91.
- Baker CV, Bronner-Fraser M. The origins of the neural crest. Part II: an evolutionary perspective. *Mech Dev*. 1997 Dec; 69(1-2): 13-29.
- Taneyhill LA, Coles EG, Bronner-Fraser M. Snail2 directly represses cadherin6B during epithelial-to-mesenchymal transitions of the neural crest. *Development*. 2007 Apr; 134(8): 1481-90.
- Burstyn-Cohen T, Stanleigh J, Sela-Donenfeld D, Kalcheim C. Canonical Wnt activity regulates trunk neural crest delamination linking BMP/noggin signaling with G1/S transition. *Development*. 2004 Nov; 131(21): 5327-39.
- Raible DW. Development of the neural crest: achieving specificity in regulatory pathways. *Curr Opin Cell Biol*. 2006 Dec; 18(6): 698-703.
- Schmidt C, McGonnell I, Allen S, Patel K. The role of Wnt signaling in the development of somites and neural crest. *Adv Anat Embryol Cell Biol*. 2008; 195: 1-64.
- Duband JL. Neural crest delamination and migration: integrating regulations of cell interactions, locomotion, survival and fate. *Adv Exp Med Biol*. 2006; 589: 45-77.
- Kuriyama S, Mayor R. Molecular analysis of neural crest migration. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2008 Apr 12; 363(1495): 1349-62.
- Kulesa P, Ellies D, Trainor P. Comparative analysis of neural crest cell death, migration, and function during vertebrate embryogenesis. *Dev Dyn*. 2004 Jan; 229(1): 14-29.
- Le Douarin NM, Ziller C, Couly GF. Patterning of neural crest derivatives in the avian embryo: in vivo and in vitro studies. *Dev Biol*. 1993 Sep; 159(1): 24-49.
- Le Douarin NM, Brito JM, Creuzet S. Role of the neural crest in face and brain development. *Brain Res Rev*. 2007 Oct; 55(2): 237-47.
- Graham A, Begbie J, McGonnell I. Significance of the Cranial Neural Crest. *Dev Dyn*. 2004 Jan; 229(1): 5-13.
- Lumsden A. Segmentation and compartment in the early avian hindbrain. *Mech Dev*. 2004 Sep; 121(9): 1081-8.
- Murakami Y, Kuratani S. Brain segmentation and trigeminal projections in the lamprey; with reference to vertebrate brain evolution. *Brain Res Bull*. 2008 Mar 18; 75(2-4): 218-24.
- Cooke JE, Moens CB. Boundary formation in the hindbrain: Eph only it were simple... *Trends Neurosci*. 2002 May; 25(5): 260-7.
- Klein R. Bidirectional signals establish boundaries. *Curr Biol*. 1999 23; 9(18): R691-4.
- Inoue T, Chisaka O, Matsunami H, Takeichi M. Cadherin-6 expression transiently delineates specific rhombomeres, other neural tube subdivisions, and neural crest subpopulations in mouse embryos. *Dev Biol*. 1997 Mar 15; 183(2): 183-94.
- Borday C, Chatonnet F, Thoby-Brisson M, Champagnat J, Fortin G. Neural tube patterning by Krox20 and emergence of a respiratory control. *Respir Physiol Neurobiol*. 2005 Nov 15; 149(1-3): 63-72.
- Giudicelli F, Gilardi-Hebenstreit P, Mechta-Grigoriou F, Poquet C, Charnay P. Novel activities of Mafk underlie its dual role in hindbrain segmentation and regional specification. *Dev Biol*. 2003 Jan 1; 253(1): 150-62.
- Manzanares M, Trainor PA, Nonchev S, Ariza-McNaughton L, Brodie J, Gould A, Marshall H, Morrison A, Kwan CT, Sham MH, Wilkinson DG, Krumlauf R. The role of kreisler in segmentation during hindbrain development. *Dev Biol*. 1999 Jul 15; 211(2): 220-37.
- Aragón F, Vázquez-Echeverría C, Ulloa E, Reber M, Cereghini S, Alsina B, Giraldez F, Pujades C. vHnf1 regulates specification of caudal rhombomere identity in the chick hindbrain. *Dev Dyn*. 2005 Nov; 234(3): 567-76.
- Gavalas A, Trainor P, Ariza-McNaughton L, Krumlauf R. Synergy between Hoxa1 and Hoxb1: the relationship between arch patterning and the generation of cranial neural crest. *Development*. 2001 Aug; 128(15): 3017-27.

28. Trainor PA, Krumlauf R. Patterning the cranial neural crest: hindbrain segmentation and Hox gene plasticity. *Nat Rev Neurosci*. 2000 Nov; 1(2): 116-24.
29. Couly G, Le Douarin N. Interactions between Hox-negative cephalic neural crest cells and the foregut endoderm in patterning the facial skeleton in the vertebrate head. *Development*. 2002 Feb; 129(4): 1061-73.
30. Schneider RA, Helms JA. The cellular and molecular origins of beak morphology. *Science*. 2003 Jan 24; 299(5606): 565-8.
31. Tucker AS, Lumsden A. Neural crest cells provide species-specific patterning information in the developing branchial skeleton. *Evol Dev*. 2004 Jan-Feb; 6(1): 32-40.
32. Pispa J, Thesleff I. Mechanisms of ectodermal organogenesis. *Dev Biol*. 2003 Oct 15; 262(2): 195-205.
33. Thesleff I. Genetic basis of tooth development and dental defects. *Acta Odontol Scand*. 2000 Oct; 58(5): 191-4.
34. Thesleff I, Järvinen E, Suomalainen M. Affecting tooth morphology and renewal by fine-tuning the signals mediating cell and tissue interactions. *Novartis Found Symp*. 2007; 284: 142-53; discussion 153-63.
35. Crump JG, Maves L, Lawson ND, Weinstein BM and Kimmel CB. An essential role for Fgfs in endodermal pouch formation influences later craniofacial skeletal patterning. *Development*. 2004 Nov; 131(22): 5703-16.
36. Ruhin B, Creuzet S, Vincent C, Benouaiche L, Le Douarin NM and Couly G. Patterning of the hyoid cartilage depends upon signals arising from the ventral foregut endoderm. *Dev Dyn*. 2003 Oct; 228(2): 239-46.
37. Hu D, Marcucio RS and Helms JA. A zone of frontonasal ectoderm regulates patterning and growth in the face. *Development*. 2003 May; 130(9): 1749-58.
38. Creuzet S, Couly G, Le Douarin NM. Patterning the neural crest derivatives during development of the vertebrate head: Insights from avian studies. *J Anat*. 2005 Nov; 207(5): 447-59.
39. Cordero D, Marcucio R, Hu D, Gaffield W, Tapadia M and Helms JA. Temporal perturbations in sonic hedgehog signaling elicit the spectrum of holoprosencephaly phenotypes. *J Clin Invest*. 2004 Aug; 114(4): 485-94.
40. Jeong J, Mao J, Tenzen T, Kottmann AH and McMahon AP. Hedgehog signaling in the neural crest cells regulates the patterning and growth of facial primordia. *Genes Dev*. 2004 Apr 15; 18(8): 937-51.
41. Hinrichsen K. The early development of morphology and patterns of the face in the human embryo. *Adv Anat Embryol Cell Biol*. 1985; 98: 1-79.
42. Jiang R., Bush J., Lidral A. Development of the upper lip: Morphogenetic and molecular mechanisms. *Dev Dyn*. 2006 May; 235(5): 1152-66.
43. Liu W, Selever J, Murali D, Sun X, Brugger SM, Ma L, Schwartz RJ, Maxson R, Furuta Y, Martin JF. Threshold-specific requirements for Bmp4 in mandibular development. *Dev Biol*. 2005 Jul 15; 283(2): 282-93.
44. Zhang Z, Song Y, Zhao X, Zhang X, Fermin C, Chen Y. Rescue of cleft palate in Msx1-deficient mice by transgenic Bmp4 reveals a network of BMP and Shh signaling in the regulation of mammalian palatogenesis. *Development*. 2002 Sep; 129(17): 4135-46.
45. Gato A, Martinez ML, Tudela C, Alonso I, Moro JA, Formoso MA, Ferguson MW, Martínez-Alvarez C. TGF-beta(3)-induced chondroitin sulphate proteoglycan mediates palatal shelf adhesion. *Dev Biol*. 2002 Oct 15; 250(2): 393-405.
46. Parada C, Bayona F. Palatogénesis y hendiduras palatinas: Implicación de TGFB3 y BMPs [Palatogenesis and cleft palate: TGFB3 and BMP4 implication]. *Acta Biol Col*. 2004 Dec; 9(2): 13-23.
47. Ahmed S, Liu CC, Nawshad A. Mechanisms of palatal epithelial seam disintegration by transforming growth factor (TGF) beta3. *Dev Biol*. 2007 Sep 15; 309(2): 193-207.
48. Nawshad A, Medici D, Liu CC, Hay ED. TGFbeta3 inhibits E-cadherin gene expression in palate medial-edge epithelial cells through a Smad2-Smad4-LEF1 transcription complex. *J Cell Sci*. 2007 May 1; 120(Pt 9): 1646-53.
49. Li Q, Ding J. Gene expression analysis reveals that formation of the mouse anterior secondary palate involves recruitment of cells from the posterior side. *Int J Dev Biol*. 2007; 51(2): 167-72.
50. Yu L, Gu S, Alappat S, Song Y, Yan M, Zhang X, Zhang G, Jiang Y, Zhang Z, Zhang Y, Chen Y. Shox2-deficient mice exhibit a rare type of incomplete clefting of the secondary. *Development*. 2005 Oct; 132(19): 4397-406.
51. Hilliard SA, Yu L, Gu S, Zhang Z, Chen YP. Regional regulation of palatal growth and patterning along the anterior-posterior axis in mice. *J Anat*. 2005 Nov; 207(5): 655-67.
52. Lan Y, Ovitt CE, Cho ES, Maltby KM, Wang Q, Jiang R. Odd-skipped related 2 (Osr2) encodes a key intrinsic regulator of secondary palate growth and morphogenesis. *Development*. 2004 Jul; 131(13): 3207-16.
53. Chai Y, Maxson R. Recent advances in craniofacial morphogenesis. *Dev Dyn*. 2006 Sep; 235(9): 2353-75.
54. Matzuk MM, Kumar TR, Vassalli A, Bickenbach JR, Roop DR, Jaenisch R, Bradley A. Functional analysis of activins during mammalian development. *Nature*. 1995 Mar 23; 374(6520): 354-6.
55. Rice R, Spencer-Dene B, Connor EC, Gritli-Linde A, McMahon AP, Dickson C, Thesleff I, Rice DP. Disruption of Fgf10/Fgfr2b-coordinated epithelial mesenchymal interactions causes cleft palate. *J Clin Invest*. 2004 Jun; 113(12): 1692-700.
56. Alappat SR, Zhang Z, Suzuki K, Zhang X, Liu H, Jiang R, Yamada G, Chen Y. The cellular and molecular etiology of the cleft secondary palate in Fgf10 mutant mice. *Dev Biol*. 2005 Jan 1; 277(1): 102-13.
57. Bush JO, Lan Y, Maltby KM, Jiang R. Isolation and developmental expression analysis of Tbx22, the mouse homolog of the human X-linked cleft palate gene. *Dev Dyn*. 2002 Nov; 225(3): 322-6.
58. Darwin C. The origin of species. New York: The Crowell-Collier Publishing, 1859.
59. Hamburger V, Hamilton HL. A series of normal stages in the developing chick embryo. *J Morphol*. 1951; 88: 49-92.
60. Abzhanov A, Protas M, Grant BR, Grant PR, Tabin CJ. Bmp4 and morphological variation of beaks in Darwin's finches. *Science*. 2004 Sep 3; 305(5689): 1462-5.
61. Wu P, Jiang TX, Suksaweang S, Widelitz RB, Chuong CM. Molecular shaping of the beak. *Science*. 2004 Sep 3; 305(5689): 1465-6.
62. Wu P, Jiang TX, Shen JY, Widelitz RB, Chuong CM. Morphoregulation of avian beaks: comparative mapping of growth zone activities and morphological evolution. *Dev Dyn*. 2006 May; 235(5): 1400-12.
63. Albertson RC, Strelman JT, Kocher TD. Genetic basis of adaptive shape differences in the cichlid head. *J Hered*. 2003 Jul-Aug; 94(4): 291-301.
64. Terai Y, Morikawa N, Okada N. The evolution of the prodomain of bone morphogenetic protein 4 (Bmp4) in an explosively speciated lineage of East African cichlid fishes. *Mol Biol Evol*. 2002 Sep; 19(9): 1628-32.
65. Cohn MJ. Evolutionary biology: lamprey Hox genes and the origin of jaws. *Nature*. 2002 Mar 28; 416(6879): 386-7.
66. Schilling T. Evolution and development: Making jaws. *Heredity*. 2003 Jan; 90(1): 3-5.
67. Tewfik TL, Karsan N. Congenital malformations, mouth and pharynx. *eMedicine* [internet]. 2008 Oct 21 [citado 06-10-2009]. Disponible en: <http://emedicine.medscape.com/article/837347-overview>.

CORRESPONDENCIA

Carolina Parada
Parc de Recerca Biomédica de Barcelona
C/Dr. Aiguader, 88 E-08003
Barcelona, España
cparada@gmail.com