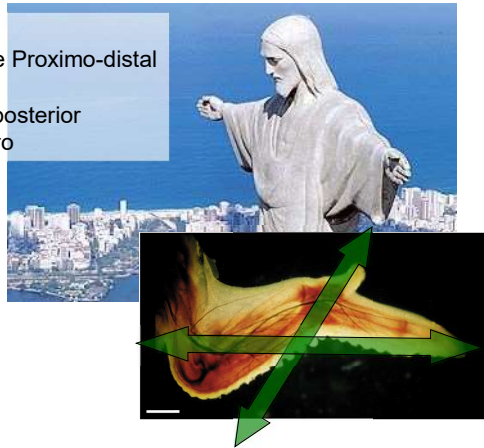
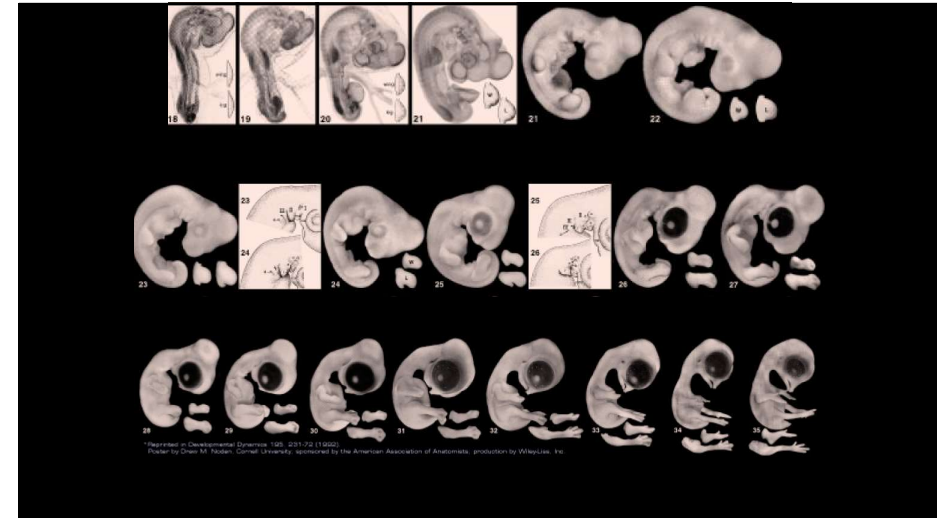


## Desenvolvimento de membros (braços/asas e pernas/patas)

Eixo A-P  
Eixo Dorso-ventral e Proximo-distal  
Campo do membro  
Membro anterior e posterior  
Evolução do membro

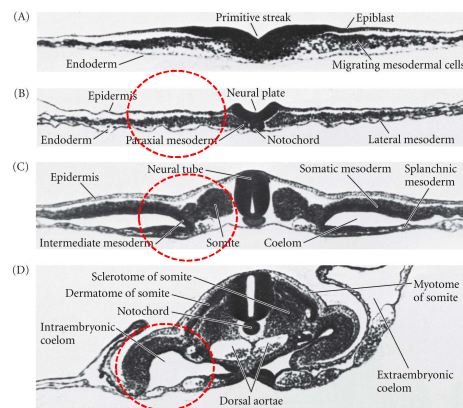


1



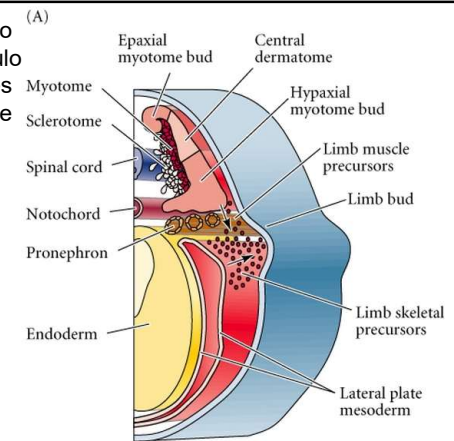
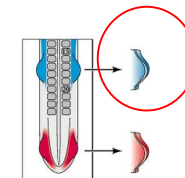
2

## O broto do membro é composto de ectoderma e mesoderma



3

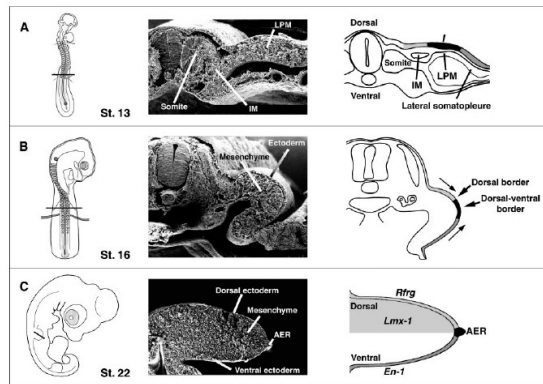
O primórdio de membro se forma com o acúmulo de células provenientes do mesoderma lateral e dos somitos



© 2000 S

4

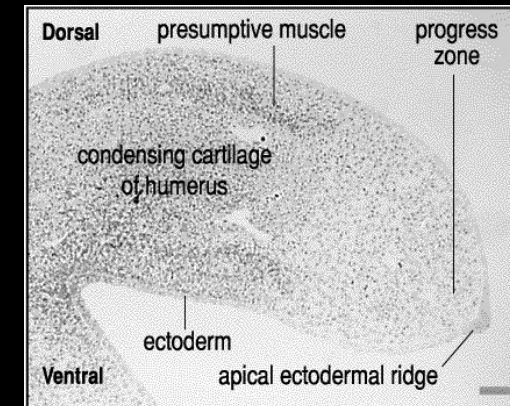
O broto do membro é composto de ectoderma e mesoderma



Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 2001. 17:87-132

5

Em aves e mamíferos existe um espessamento distal da ectoderme do broto do membro: a PREGA ECTODÉRMICA APICAL (AER)

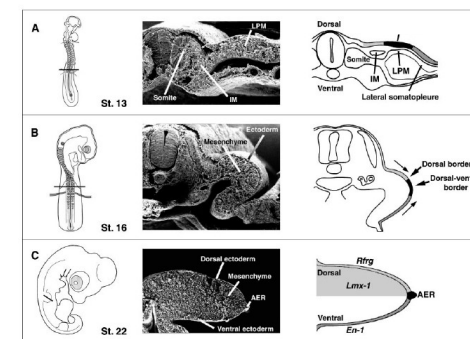


6



7

As fases desenvolvimento do broto do membro :



1. Definição do campo do membro

2. Crescimento do broto

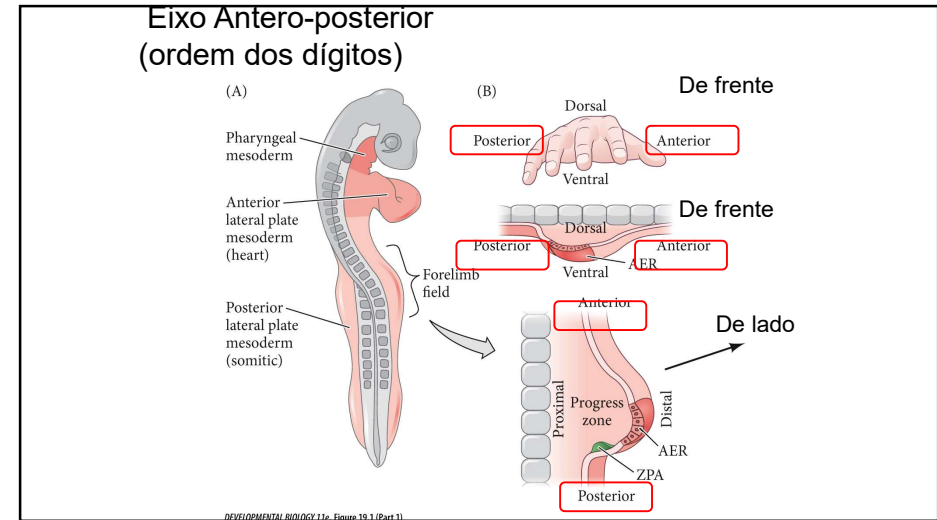
3. Definição dos eixos

Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 2001. 17:87-132

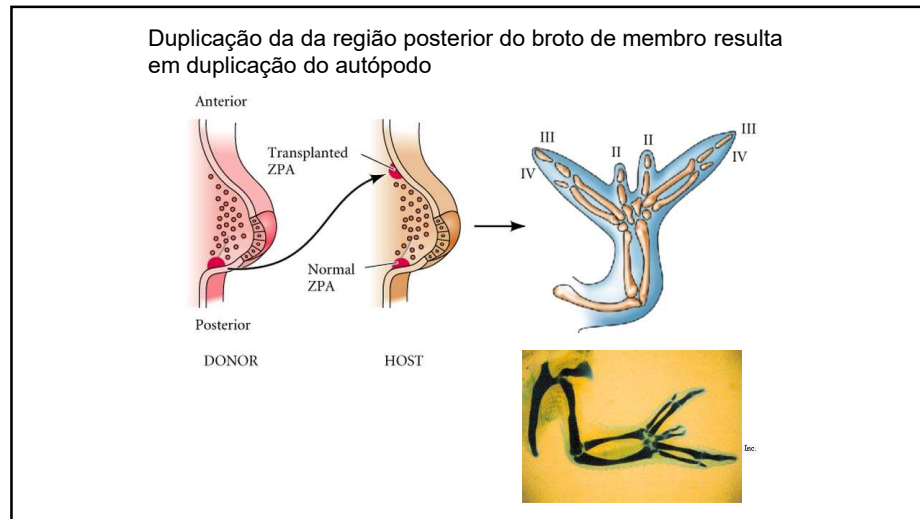
8



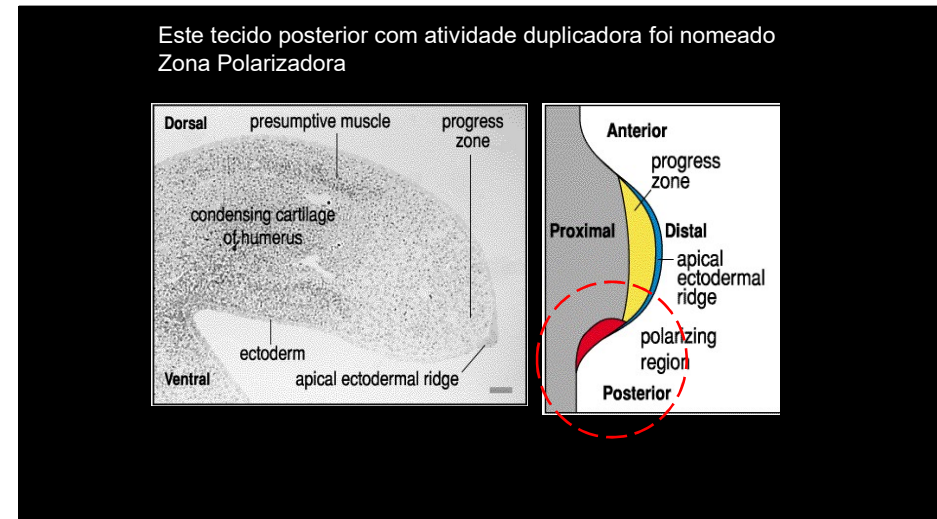
9



10

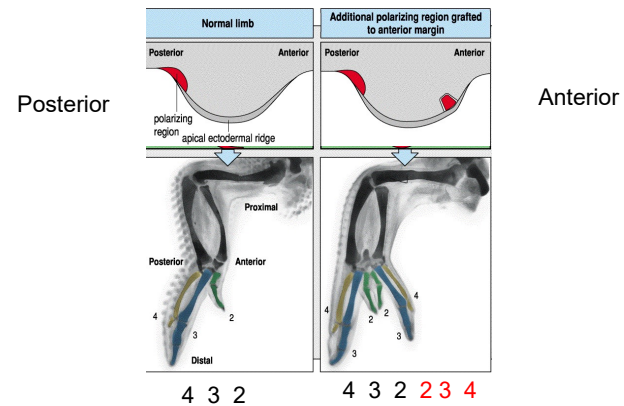


11



12

Duplicação da da região posterior do broto de membro resulta em duplicação ESPECULAR do autópodo



13

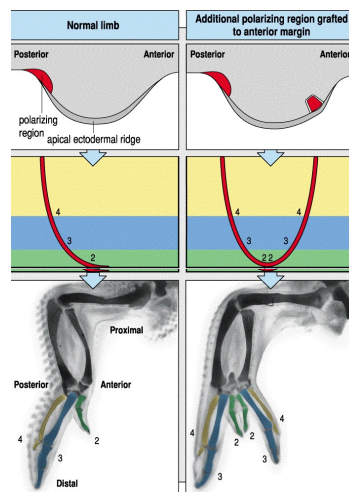
?



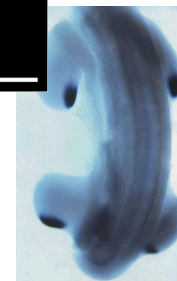
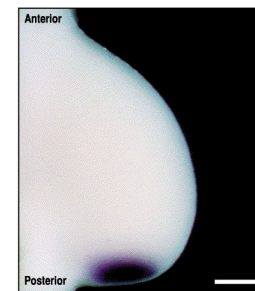
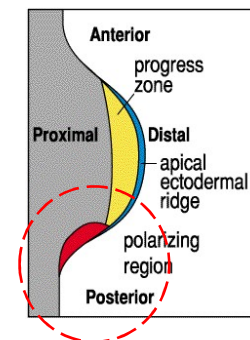
14

Concentrações altas de X induzem a formação de dígitos mais posteriores

Que tipo de molécula é X?



15

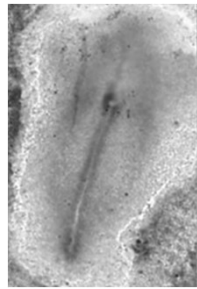


O Shh (Sonic Hedgehog) é expresso na Região Polarizadora

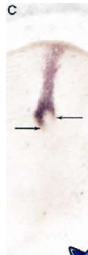
Shh: Proteína secretada no meio extracelular

16

O Shh é assimetricamente expresso no Nó de Hensen



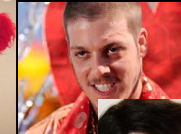
HH 5



17

## Síndromes = Efeito Fabio Porchat

O mesmo ator em papéis diferentes em filmes/eventos diferentes

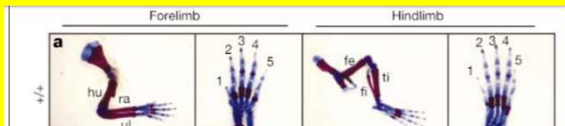


<https://youtu.be/80jNsyr0tYI>  
(melhor parte é o final, depois do logo)

18

Que fenótipo você esperaria de um camundongo  $Shh^{-/-}$ ?  
Camundongos normalmente têm 5 dígitos, sendo o 1 o mais anterior e o 5 o mais posterior

- a) Dígitos invertidos
- b) Apenas dígitos 1
- c) Apenas dígitos 5
- d) Sem dígitos



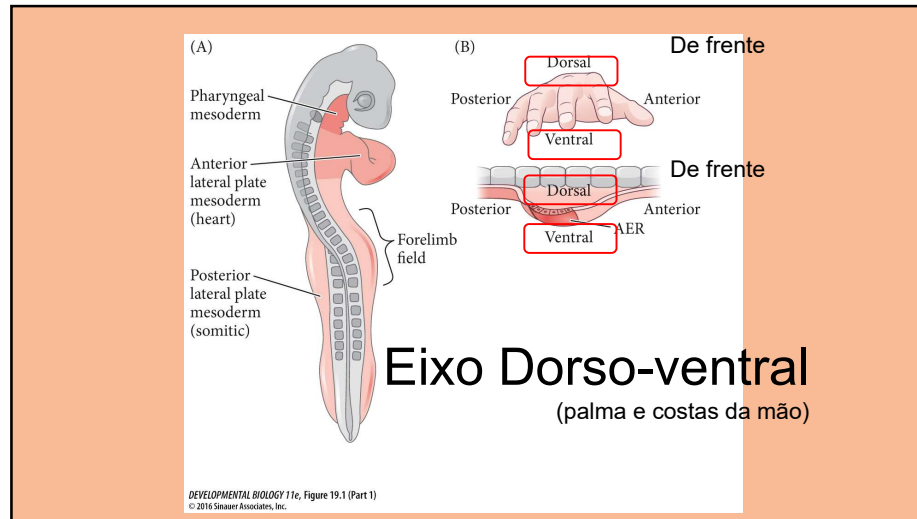
Litingtung et al. (2002) Nature 418: 979-983

19

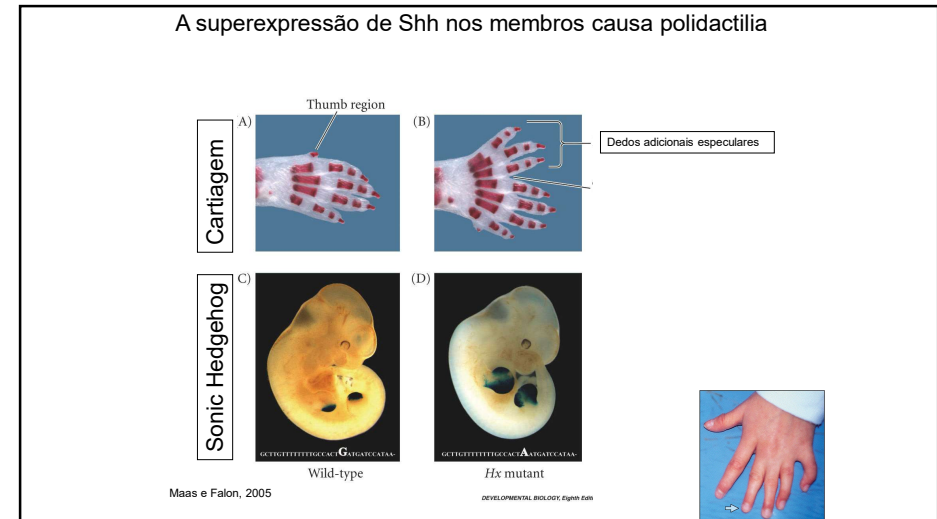
Eixo dorso-ventral e próximo-distal



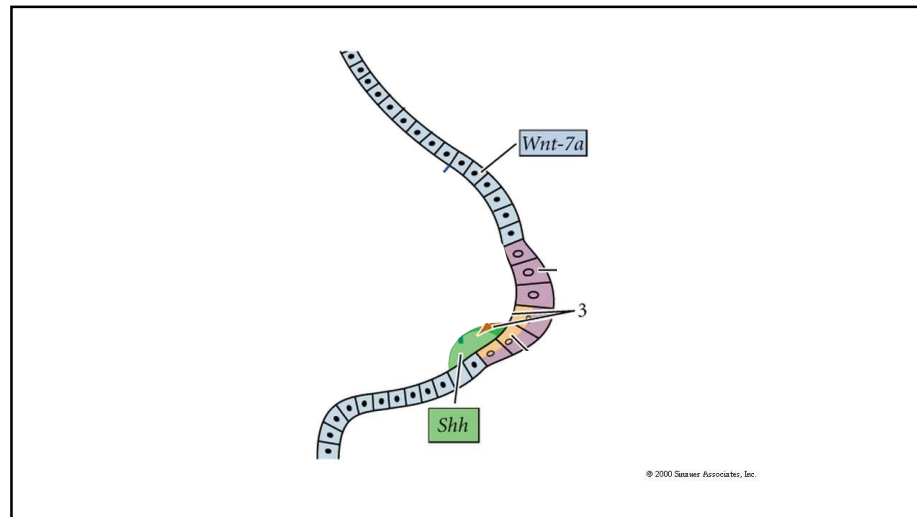
20



21



22



23

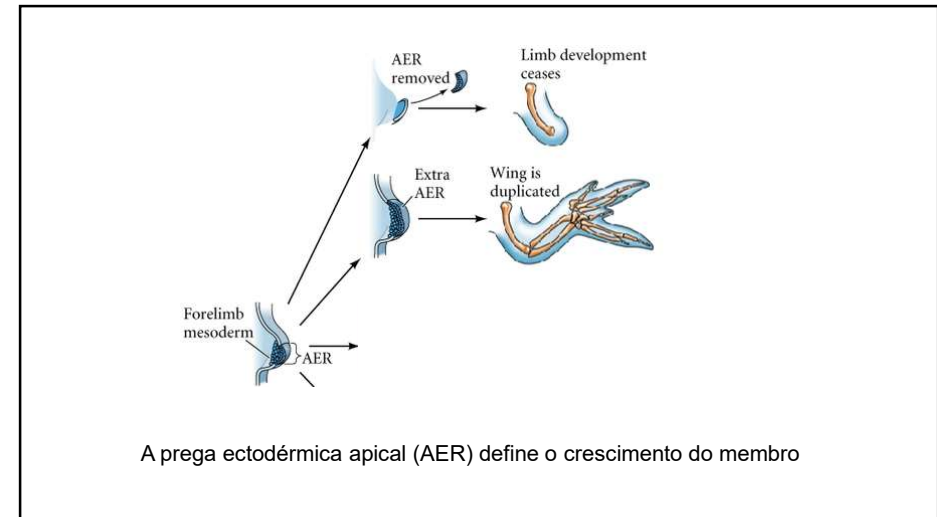


24

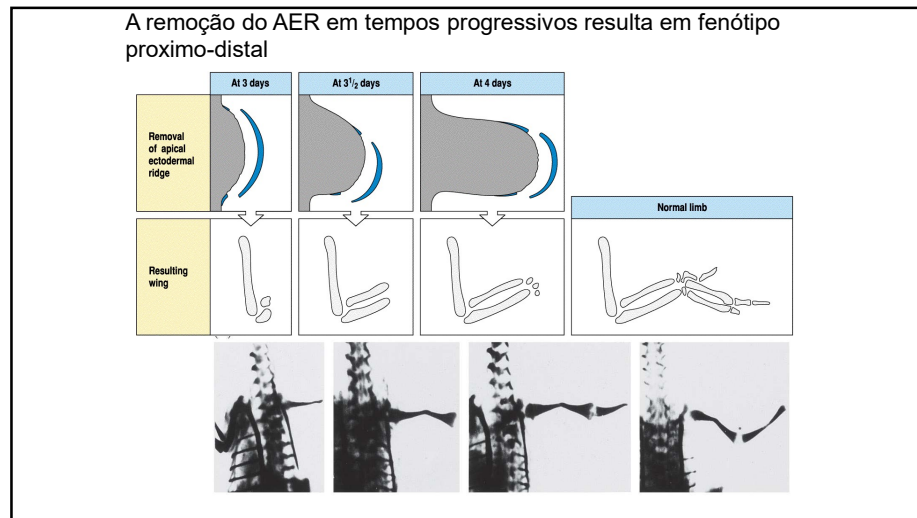




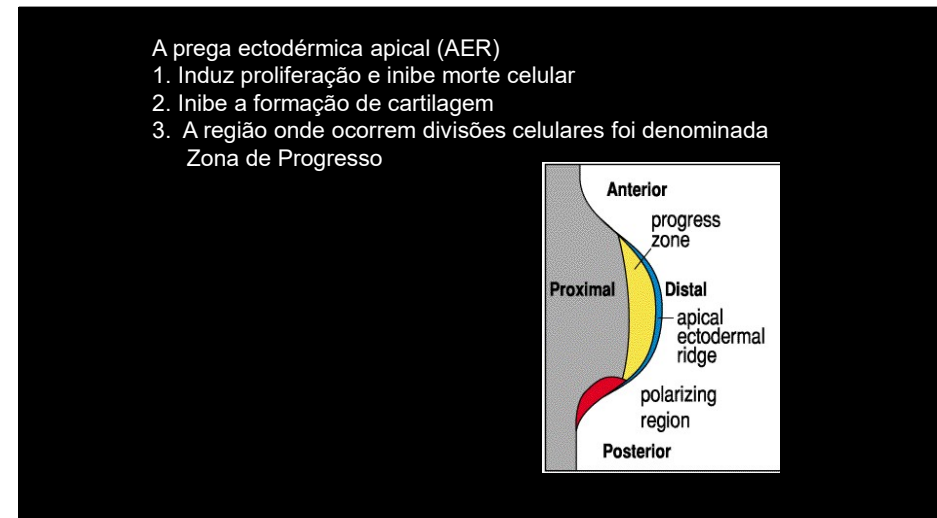
29



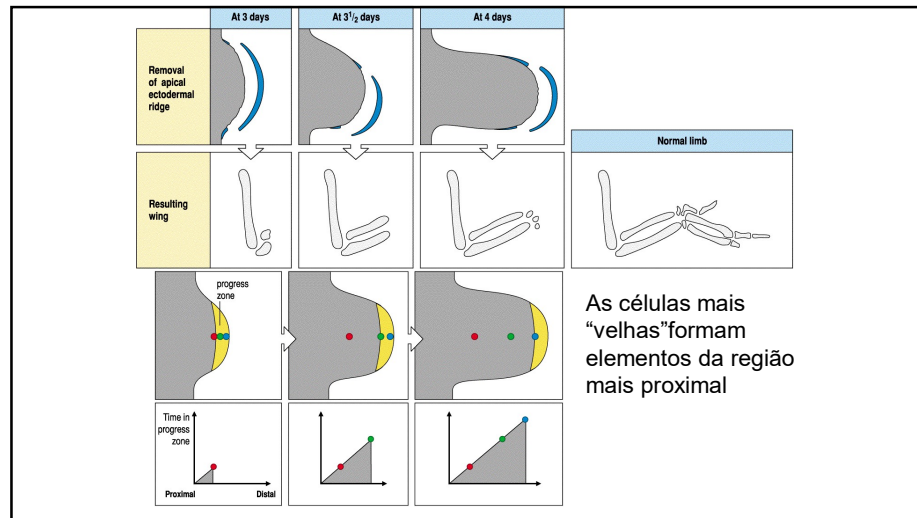
30



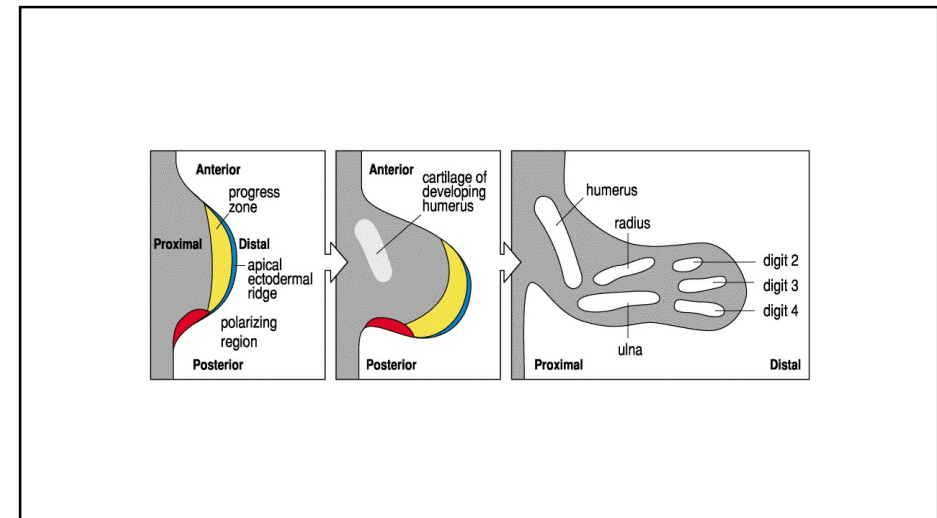
31



32



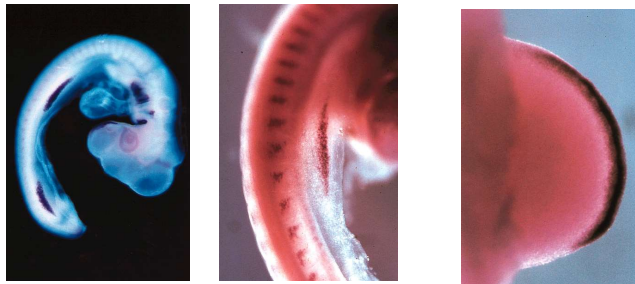
33



34

### O FGF8 é expresso na prega ectodérmica apical

FGF: Proteína extracelular secretada

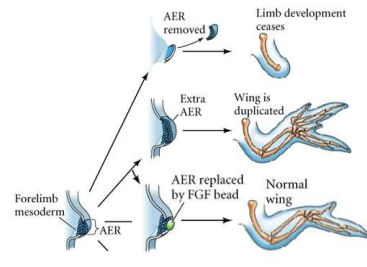


35

Hipótese:

O FGF8 no Prega Ectodérmica Apical é responsável pelo crescimento do broto do membro.

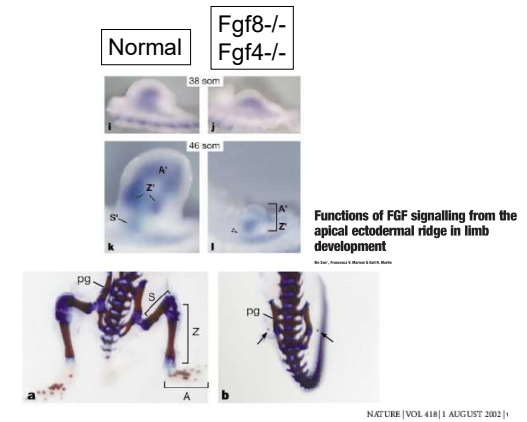
36



A ausência da prega ectodérmica apical (AER) pode ser compensada por FGF8

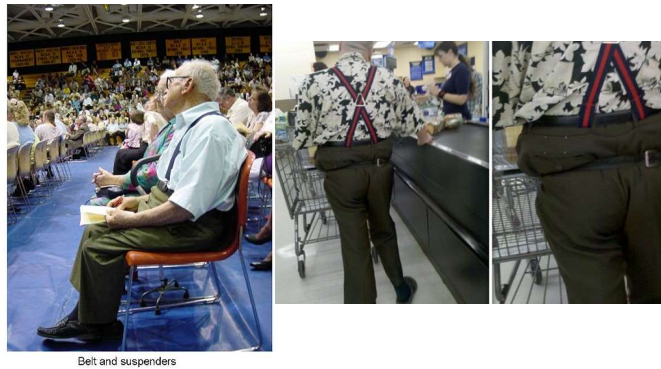
37

Camundogos *knockout* para FGF8 não apresentam membros



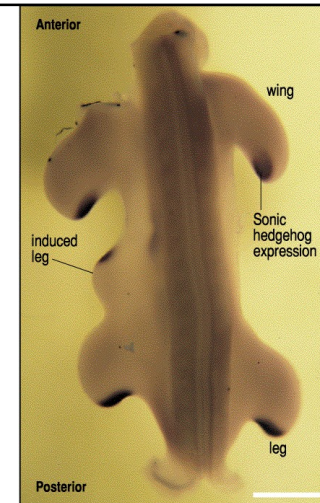
38

Redundância é importante



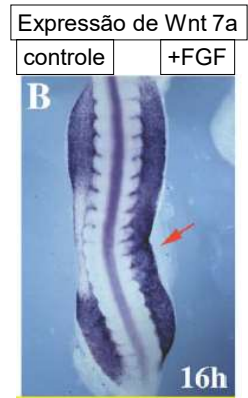
39

A indução de um membro extra por implante de FGF causa a formação de um primórdio com Shh na região polarizadora



40

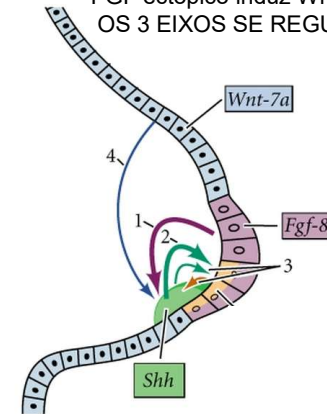
FGF ectópico induz Wn7a



Mechanism of Development 116 (2002) 19-27

41

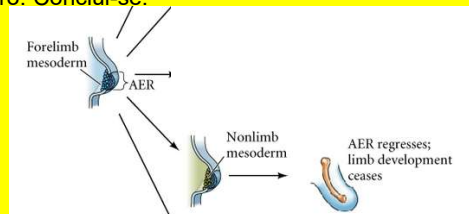
FGF ectópico induz Wn7a;  
OS 3 EIXOS SE REGULAM ENTRE SI



© 2000 Sinauer Associates, Inc.

42

A substituição do mesoderma do broto de membro por mesoderma do flanco (região entre os membros) resulta em regressão do AER e interrupção do desenvolvimento do membro. Conclui-se:



- As células do mesoderma do flanco não proliferam.
- As células do mesoderma do flanco não respondem ao AER.
- As células do mesoderma do broto mantêm o AER.
- O AER é necessário para o crescimento do broto.

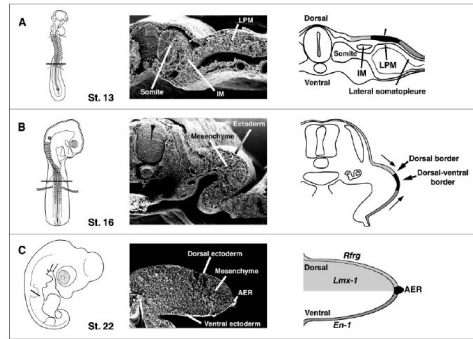
43

Campo do membro  
(broto do membro vs flanco)



44

As fases desenvolvimento do broto do membro :



1. Definição do campo do membro

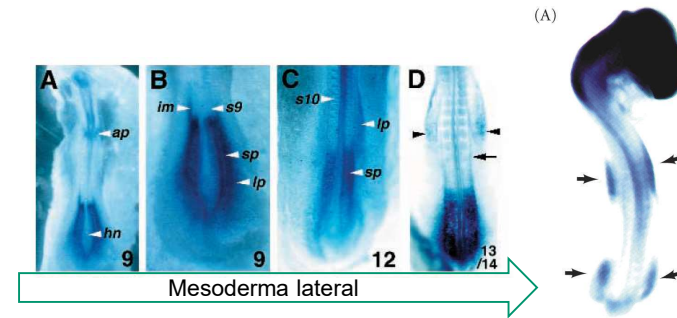
2. Crescimento do broto

3. Definição dos eixos

Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 2001. 17:87-132

45

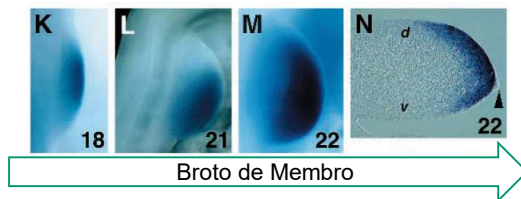
A expressão de FGF10 no mesoderma é progressivamente restrita às regiões que originarão os brotos dos membros



Development 124, 2235-2244 (1997)

46

A expressão de FGF10 é mantida no mesênquima do broto de membro



Development 124, 2235-2244 (1997)

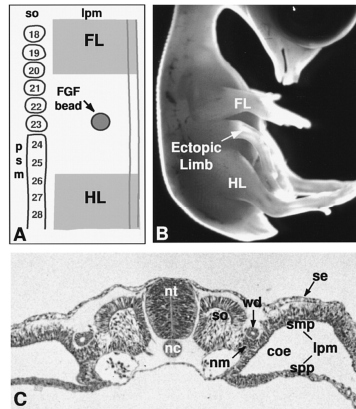
47

Hipótese:

A presença de FGF 10 define no mesoderma a região de onde surgirá o broto do membro

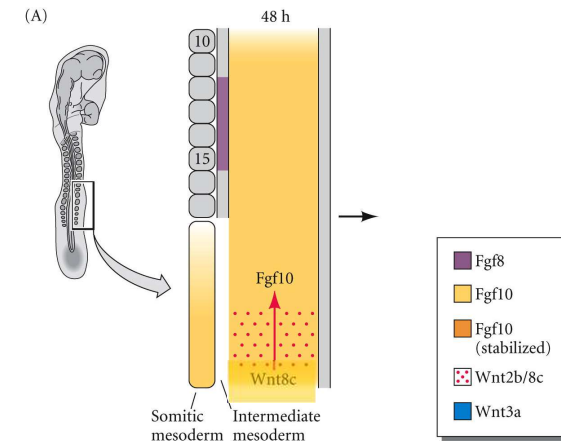
48

### Fonte exógena de FGF gera membros extras



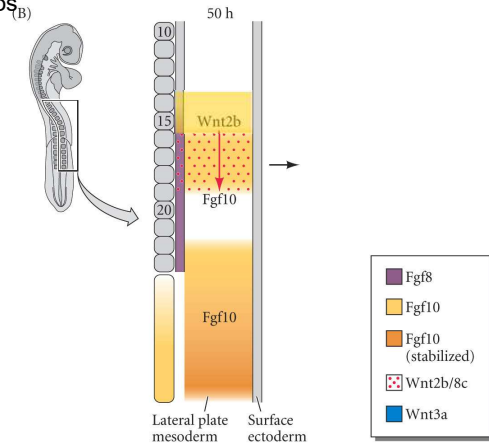
49

### O mesoderma pré-somítico produz FGF10



50

### O FGF10 não é mais produzido na região entre os futuros membros



51

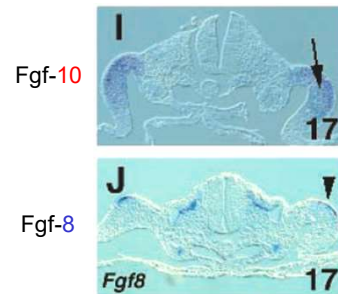
### Hipótese:

O FGF8 no Prega Ectodérmica Apical é responsável pelo crescimento do broto do membro.

E QUAL A RELAÇÃO ENTRE FGF10 (mesênquima/mesoderma do broto) e FGF8 (prega ectodérmica apical) ?

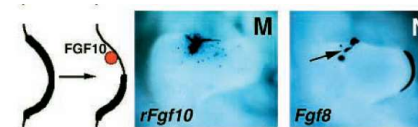
52

O FGF10 é expresso no **mesênquima/mesoderma** do broto e o FGF8 na **Prega Ectodérmica Apical**



Development 124, 2235-2244 (1997)

O FGF10 induz a expressão de FGF8



Development 124, 2235-2244 (1997)  
Printed in Great Britain © The Company of Biologists Limited 1997  
095017

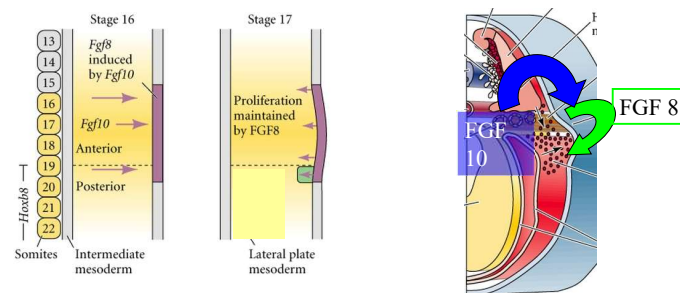
2235

The mesenchymal factor, FGF10, initiates and maintains the outgrowth of the chick limb bud through interaction with FGF8, an apical ectodermal factor

53

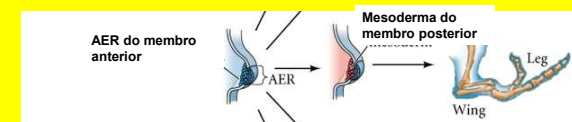
54

O FGF10 dos mesoderma dos futuros brotos de membros induz a produção de FGF8 do ectoderma superficial, que por sua vez mantém as células que produzem FGF10



55

Foi realizado um transplante de mesoderma. O mesoderma do membro anterior foi substituído pelo mesoderma do membro posterior. O resultado foi um membro com estruturas distais posteriores. Qual sua hipótese?



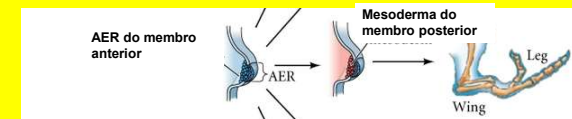
56

Membro anterior e posterior

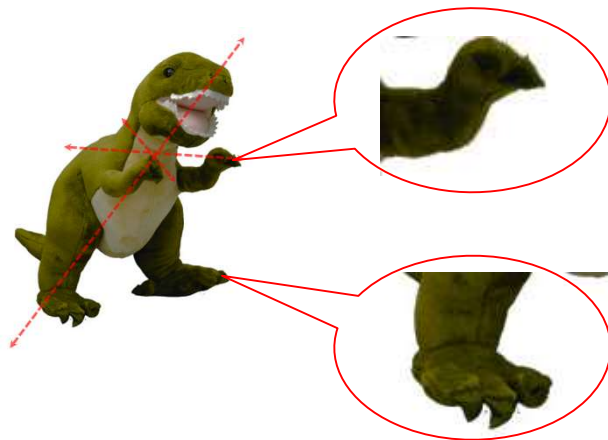


57

Foi realizado um transplante de mesoderma. O mesoderma do membro anterior foi substituído pelo mesoderma do membro posterior. O resultado foi um membro com estruturas distais posteriores. Qual sua hipótese?

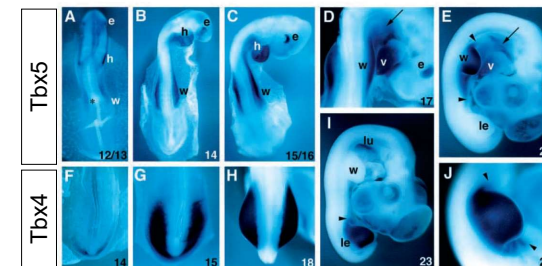


58



59

A região do membro **anterior** expressa o fator de transcrição **Tbx5** e o **inferior** o **Tbx4**

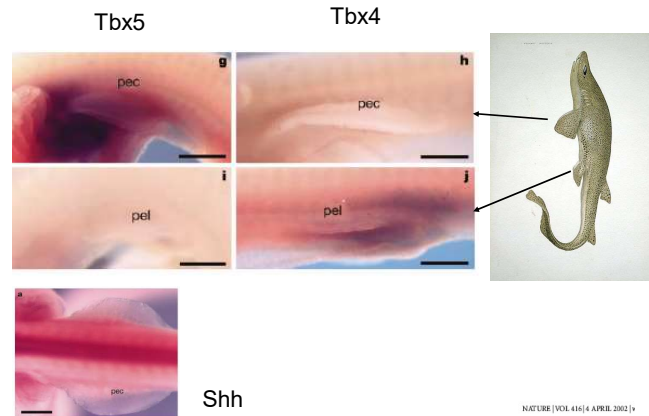


Development 125, 51-60 (1998)

60

### Fin development in a cartilaginous fish and the origin of vertebrate limbs

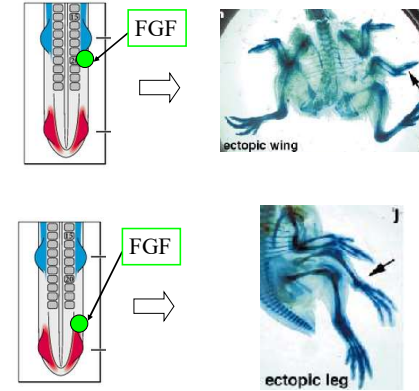
Mikiko Tanaka<sup>1</sup>, Andrea Münsterberg<sup>2</sup>, W. Gary Anderson<sup>1</sup>, Alan R. Prescott<sup>1</sup>, Neil Hazon<sup>1</sup> & Cheryl Tickle<sup>1</sup>



NATURE | VOL 416 | 4 APRIL 2002 | 1

61

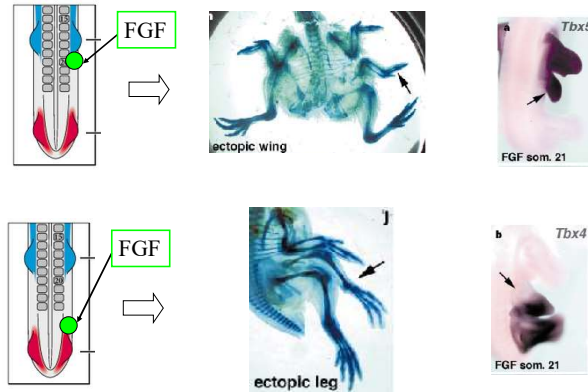
O implante de FGF pode gerar tanto m. superior quanto inferior.



Nature 1999 Apr 29;398(6730):814-8.

62

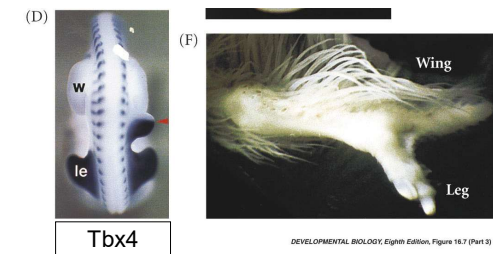
O implante de FGF pode gerar tanto m. superior quanto inferior.



Nature 1999 Apr 29;398(6730):814-8.

63

A expressão de *Tbx4* na metade posterior do broto forma um membro misto.



DEVELOPMENTAL BIOLOGY, Eighth Edition, Figure 16.7 (Part 3) © 2006 Sinauer Associates, Inc.

64

Hipótese:

A identidade do membro depende da expressão de **Tbx5** e **Tbx4**.

65

O que determina o padrão de expressão de **Tbx5** e **Tbx4**?

OU SEJA

O que determina que um par de membros seja

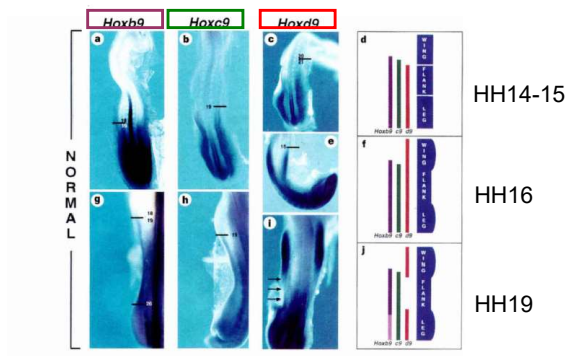
**Superior/Anterior**

**Inferior/Posterior?**

66

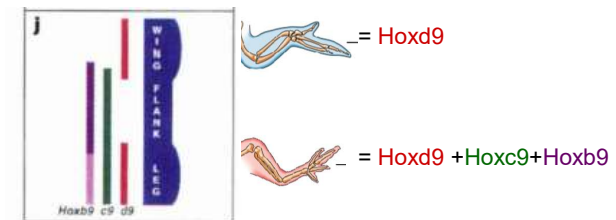
O padrão de expressão de genes da família Hox para o membro anterior e posterior são diferentes.

Hox (homeobox): Fator de transcrição= homeótico



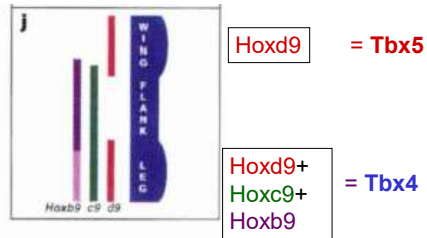
67

O padrão de Hox para o membro anterior e posterior são diferentes



68

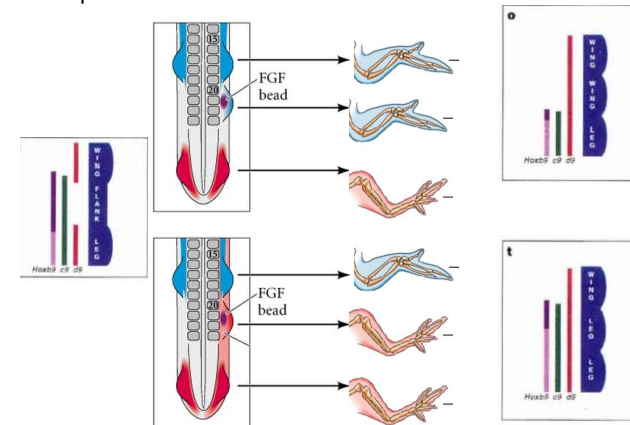
O padrão axial é inicialmente gerado pelos genes Hox



NATURE/VOX 387:1 MAY 1997

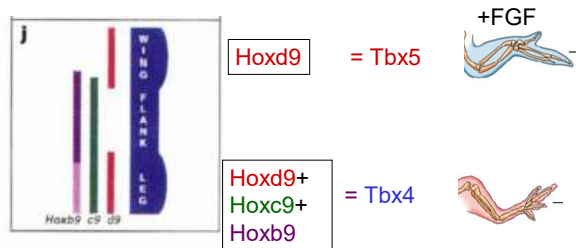
69

A implantação de FGF expande o domínio de Hox correspondente



70

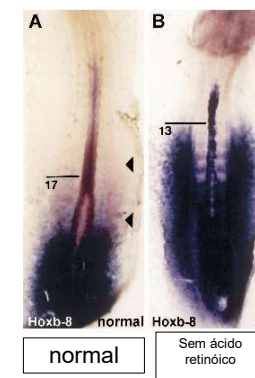
O padrão axial é inicialmente gerado pelos genes homeóticos



NATURE/VOX 387:1 MAY 1997

71

O ácido retinóico determina o padrão de expressão de Hox nos somitos

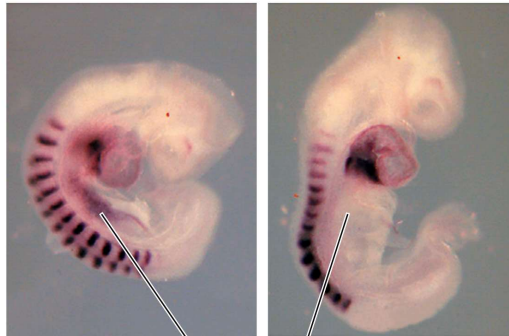


Mechanisms of Development 81 (1999) 115–125

72

Inibição da sinalização de ácido retinoico \* perdem a expressão de Tbx5

(C) Tbx5

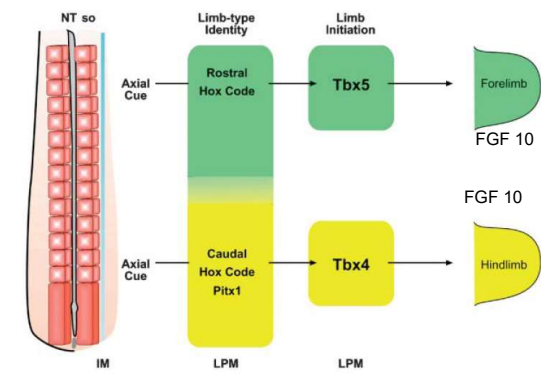


Forelimb field

DEVELOPMENTAL BIOLOGY 17e, Figure 19.8 (Part 3)  
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

\*(mutantes sem a enzima que sintetiza ácido retinóico)

73



Developmental Cell, Vol. 8, 75–84, January, 2005,

74

Um embrião tem superexpressão de Tbx4 por toda a região do flanco. O fenótipo esperado seria:

- a) Ausência ou redução do crescimento proximo-distal
- b) Duplicação de estruturas A-P
- c) Aumento do número de dígitos
- d) Posteriorização dos dígitos
- e) Alteração na identidade dos membros.
- f) Alteração no posicionamento axial dos membros.

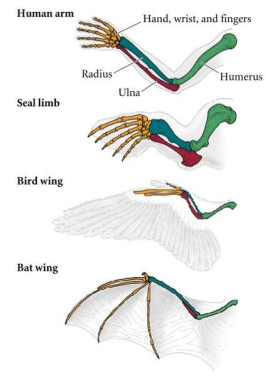
75

Evolução do membro



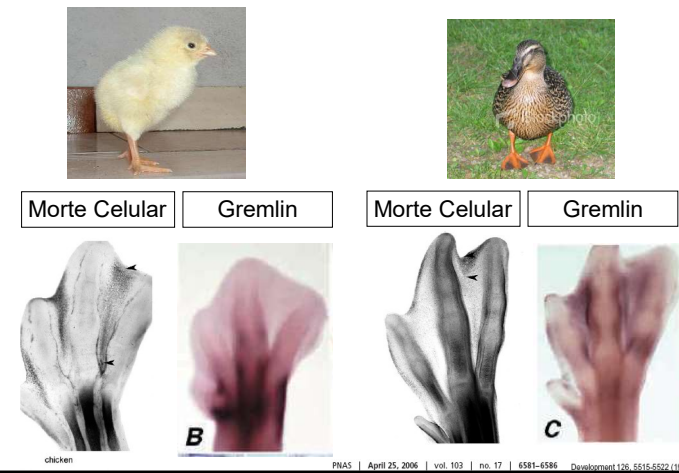
76

## CONSERVAÇÃO DO PROJETO EM VERTEBRADOS



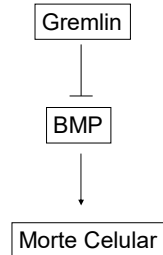
77

A eliminação da membrana interdigital depende de morte celular



78

Hipótese:



79

A superexpressão de Gremlin em pintinhos inibiu a morte celular interdigital

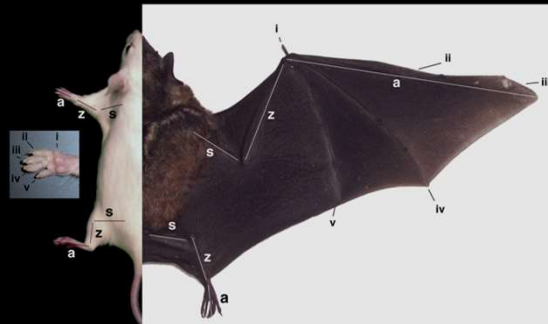


The BMP antagonist Gremlin regulates outgrowth, chondrogenesis and programmed cell death in the developing limb

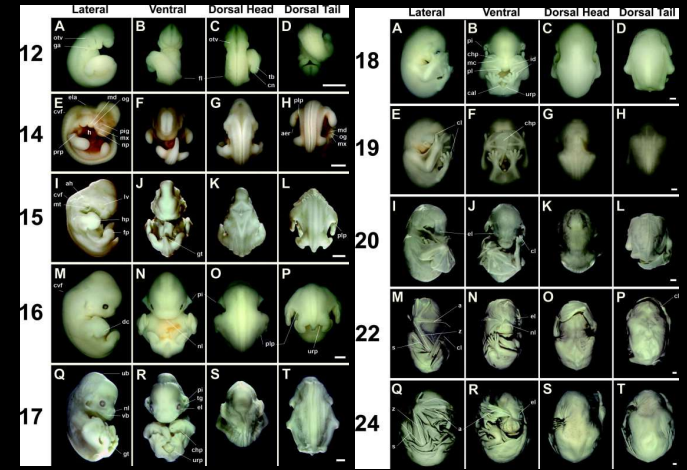
R. Merino<sup>1\*</sup>, J. Rodríguez-León<sup>2\*</sup>, D. Macías<sup>3</sup>, Y. Galian<sup>2</sup>, A. N. Economides<sup>3</sup> and J. M. Huarte<sup>4†</sup>

80

O morcego é um camudongo que voa?



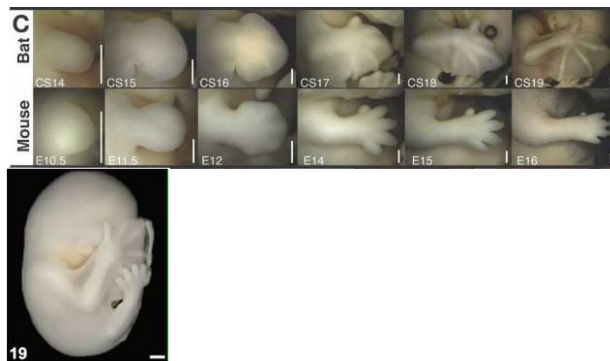
81



82

Regulatory divergence modifies limb length between mammals

As fases iniciais do broto de membro de camundongo e morcegos são similares



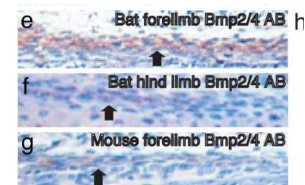
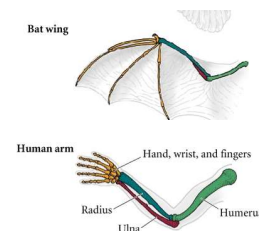
Cretokos, C. J., Wang, Y., Green, E. D., Martin, J. F., Rasweiler, J. J., and Behringer, R. R. (2008). Regulatory divergence modifies limb length between mammals. *Genes Dev.* 22, 141–151.

83

Development of bat flight: Morphologic and molecular evolution of bat wing digits

Karen E. Sears\*, Richard R. Behringer<sup>1</sup>, John J. Rasweiler IV<sup>2</sup>, and Lee A. Niswander<sup>2,3</sup>

1. Morcegos expressam mais **BMP2/4** nos membros dianteiros



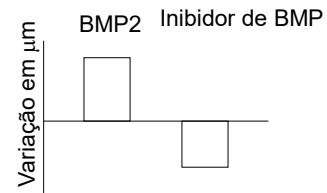
PNAS | April 25, 2006 | vol. 103 | no. 17 | 6581–6586

84

## Development of bat flight: Morphologic and molecular evolution of bat wing digits

Karen E. Sears\*, Richard R. Behringer<sup>1</sup>, John J. Rasweiler IV<sup>2</sup>, and Lee A. Niswander<sup>1,3</sup>

### 2. BMP2 aumenta o comprimento dos dígitos de camudongo em cultura



PNAS | April 25, 2006 | vol. 103 | no. 17 | 6581-6586

85

## Development of bat flight: Morphologic and molecular evolution of bat wing digits

Karen E. Sears\*, Richard R. Behringer<sup>1</sup>, John J. Rasweiler IV<sup>2</sup>, and Lee A. Niswander<sup>1,3</sup>

### 2. BMP2 aumenta o comprimento dos dígitos de camudongo em cultura



glyphy.com

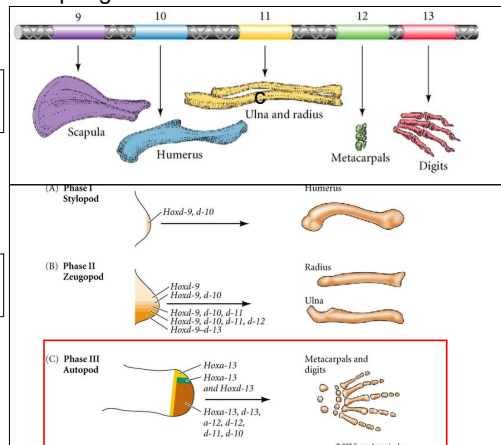
PNAS | April 25, 2006 | vol. 103 | no. 17 | 6581-6586

86

As regiões próximo-distais do primórdio de membro também são definidas por genes Hox

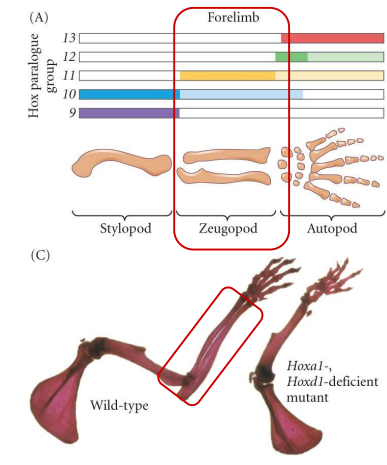
Ordem Espacial

Ordem Temporal



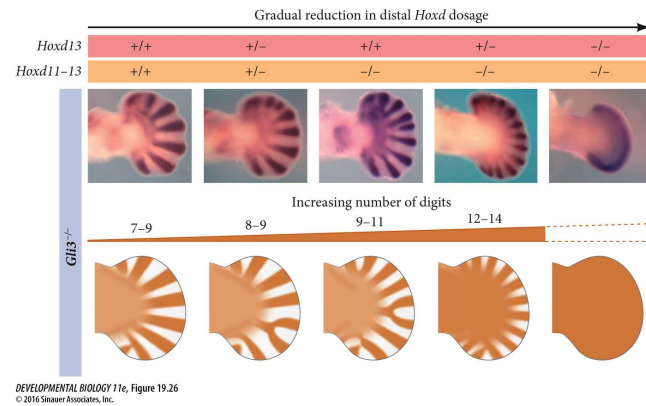
87

A remoção de Hoxa11 e Hoxd11 elimina o zeugópodo



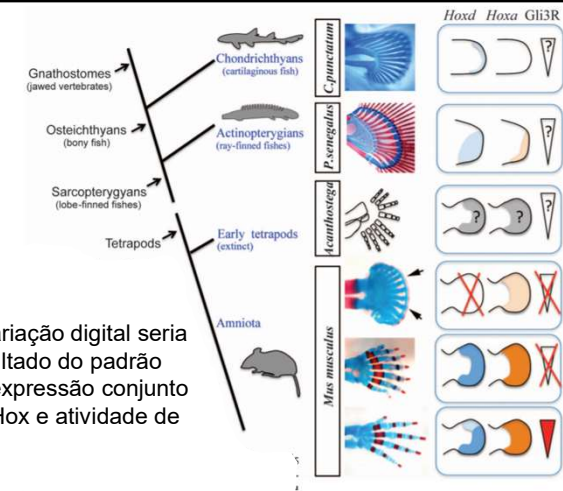
88

Shh e genes Hox atuam em conjunto para determinar o n. de dígitos



89

A variação digital seria resultado do padrão de expressão conjunto de Hox e atividade de Shh



90



giphy.com

91