LA GENÈTICA DEL DESENVOLUPAMENT, AVUI

Comunicació presentada el dia 20 de febrer de 1975
per

JAUME BAGUÑÀ
Departament de Genètica. Facultat de Biologia.
Universitat de Barcelona

SUMMARY

Developmental genetics today

Embryonic development and reparative regeneration have in common four processes which could run sometimes in parallel both in time and space: cell differentiation, epimorfosis, morphogenesis and growth. All of them are the expression of changes at the level of gene transcription and of cell interactions through the action of inductive substances.

Developmental genetics has thus the task to unravel the control mechanisms at the genetic level that brings about the changes in size, form, structure and cell diversity during development. After the embryologists demonstrated from about 1890 to 1940 the crucial importance of cell-cell interactions during development, the molecular biologists of the 1950s and 1960s helped unravel the problems of how genes might influence development and how their activity might be controlled. The problem now is to know how cells receive and interpret signals from the external environment and other cells, and how they act on these signals to produce the carefully regulated subcellular changes.

INTRODUCCIÓ

La Genètica del desenvolupament té com a objecte l'estudi, a nivell genètico-molecular, dels processos propis del desenvolupament, i, com a objectiu principal, desvetllar els mecanismes de control a nivell genètic d'aquests processos. Des d'un punt de vista teòric, reeixir en aquesta tasca duria a un avenç molt considerable dins el cos de la Biologia pura amb nombroses conseqüències sobre d'altres branques d'aquesta ciència; des d'un punt de vista pràctic, les possibles aplicacions de les futures descobertes serien de gran importància, especialment en la Medicina.

Malauradament, poca cosa podem dir avui sobre Genètica del desenvolupament, car els coneixements actuals són encara molt minsos. Per altra banda, no hem d'oblidar que la Genètica del desenvolupament cal que es basi en la Biologia del desenvolupament o, dit en termes més generals, en l'Embriologia. És a dir, per a arribar a desvetllar els mecanismes de control del desenvolupameent a nivell gènic, hem de conèixer en detall l'embriologia del procés que estudiem. En conseqüència aquest treball tractarà principalment d'aquelles àrees de la Biologia del desenvolupament on tenim dades més o menys serioses sobre l'acció dels gens en el procés de desenvolupament.

De tots són sabuts els trets principals de la història de la Genètica. Si bé MENDEL suposa, el 1865, l'existència de factors hereditaris o «gens» que passen de generació en generació i expliquen les diferències entre varietats diverses dins d'una espècie i el seu manteniment al llarg de les generacions, la seva obra resta parcialment desconeguda fins el 1900. Dins el camp de l'Embriologia, l'avenç és, altrament, lineal i constant. Basant-se en la teoria cel·lular de SCHLEIDEN i SCHWANN (aprox. vers 1838-1840) i en el progrés de les tècniques histològiques i citològiques que es desenvolupen considerablement la segona meitat del segle XIX, hom descriu, amb detall considerable, els principals components cel·lulars (nucli, cromosomes, nuclèol, aparell de Golgi, mitocòndries, ergastoplasma, etc....); els processos de mitosi i meiosi, i, mercès a l'interès en els organismes inferiors desvetllat per la influència de les teories darwinianes, es descriuen, amb bastant detall, les etapes del desenvolupament embrionari en nombrosos grups animals.

A l'inici del segle XX, es «redescobreixen» les lleis de Mendel. Combinant el mètode experimental mendelià (encreuament de varietats que presenten trets senzills heretables en forma simple) amb l'estudi dels cromosomes, va ésser possible demostrar elegantment que els gens es trobaven localitzats en els cromosomes, i que els cromosomes passaven els gens d'una generació a l'altra, via espermatozoide i òvuls. Això féu que, cap als anys 30, poguéssim veure mapes cromosòmics de determinats organismes, especialment *Drosophila,* que hi localitzen amb gran precisió la posició de centenars de gens. Al mateix temps, nombroses dades sobre herència, susceptibles d'ésser aplicades a problemes d'herència humana (patològica o no) provenen d'estudis paral·lels fets en fongs, blat i rates. A finals dels anys 40, un enorme cabal d'informació era ja conegut sobre la segregació dels gens, la seva importància en el control dels caràcters dels organismes, i sobre els factors que en controlaven la taxa de mutacions.

De tota manera, el gen sols era conegut pels seus efectes, i la seva identitat bioquímica romania en un complet misteri.

Contràriament, i molt probablement a causa de la superior complexitat del problema, l'Embriologia no avança al mateix ritme. Si bé entrem ja a l'Embriologia experimental, els primers resultats interessants no arriben fins a la dècada dels anys 20, mercès a SPEMANN, MANGOLD, HOLTFRETER i d'altres que introdueixen el concepte d'inducció embrionària, és a dir, aquell procés pel qual un teixit n'influencia un altre (generalment fent-lo diferenciar-se) durant una certa etapa del desenvolupament. D'ací partí la hipòtesi de l'existència de factors o substàncies químiques produïdes per un teixit que influenciarien unes certes característiques de l'altre. Aquestes substàncies hipotètiques foren anomenades inductors. Ensems n'hi hauria unes altres, anomenades inhibidors, que inhibirien igualment determinades característiques dels teixits afectats.

D'aquests experiments i dels efectuats en animals en regeneració, surten els conceptes de camp morfogenètic, gradients axials, polaritat i dominància apical que, junt amb el d'inducció, dominen aquest camp des del 1920 al 1935. Ja a principis dels anys 30, però, nombrosos experiments demostren que la inducció embrionària és tanmateix possible aplicant estímuls mecànics (agulles, pressions), tèrmics, i químics (colorants diferents, substàncies de tipus molt divers, etc.) amb el qual la teoria de la inducció per mitjà de substàncies químiques específiques cau en l'oblit, per no dir, en l'opinió d'alguns autors, en el més complet ridícul. Endemés, els conceptes de polaritat, dominància i gradients axials, perden la seva importància anterior en no poder-se definir amb màs rigor. De tota manera, allò que els investigadors més aguts intueixen és la necessitat de conèixer molt més profundament el funcionament cel·lular (especialment pel que fa a la regulació gènica) per a arribar a copsar els mecanismes que controlen el desenvolupament, creient, però, en l'existència d'inductors i inhibidors específics. D'ací que, a partir dels anys 40, tot l'interès es desplaça cap a la Biologia cel·lular i molecular, i l'Embriologia resta de nou en un nivell pràcticament descriptiu.

L'any 1953 marca una fita cabdal per a la història i el desenvolupament de moltes branques de la Biologia. Demostrat que el DNA era el material hereditari, i que, per tant, els gens eren DNA, s'imposa tot seguit estudiar-ne l'estructura per intentar lligar-la amb la seva funció, coneguda sols indirectament per mitjà dels seus efectes, especialment a nivell de mutació. WATSON i CRICK proposen, el 1953, el famós model de la doble hèlix, avui plenament acceptat, que lliga d'una manera admirable l'estructura del material hereditari amb les seves funcions. Això ha promogut un reguitzell d'estudis d'on, després de demostrada la col·linearitat entre DNA i proteïnes, arribem al desxiframent del codi genètic (1960-1966) que permet explicar, en termes moleculars, els mecanismes de les mutacions i el seu efecte sobre l'estructura de les proteïnes i, d'ací, sobre

els canvis en el seu funcionalisme. El gen es defineix com *aquell tros de DNA responsable de l'estructura d'un polipèptid* i la mutació, com un canvi a nivell de DNA que afecta l'estructura i, per tant, la funció de les proteïnes. Ha nascut ja la Biologia molecular, i, més específicament, la Genètica molecular.

La segona fita cabdal s'esdevé amb el model de l'operó proposat per JACOB i MONOD el 1959, i ampliat successivament els anys següents. Aquest model, proposat per als bacteris, és el primer exemple de mecanisme de control de gen a gen per mitjà de proteïnes. Durant aquells anys, aquest model és demostrat en diferents sistemes bacterians i hom ha trobat que, a par els sistemes de regulació negativa menats per proteïnes inhibidores o repressores, n'hi ha d'altres de caràcter positiu menats per proteïnes activadores o inductores. Aquest model va ésser extrapolat, pels seus propis autors, com una de les bases possibles per a explicar la diferenciació cel·lular en eucariotes, ja que permet explicar el funcionament de xarxes senzilles de gens interactuant en l'espai i en el temps.

Si la Genètica molecular aconsegueix, en aquest temps, avenços tan espectaculars, no es pot dir el mateix de la Genètica del desenvolupament, ni tan sols de la Biologia del desenvolupament. Hom creu més oportú esperar a conèixer primer els mecanismes més elementals de l'acció gènica per atacar més tard els problemes molt més complexos del desenvolupament. Cal dir, però, que els estudis en aquest nivell, si bé pocs en comparació amb els de la Genètica molecular, no s'aturen. A primers dels anys 70 s'arriben a aïllar parcialment les primeres substàncies inductores embrionàries i unes altres que intervenen en els processos de regeneració. Per altra banda, i tal com veurem després, hom comença a analitzar en profunditat mecanismes abans tinguts com quasi màgics, com els de l'epimorfosi i la morfogènesi.

És imperatiu assenyalar que tot aquest avenç ha estat possible mercès al progrés indubtable de les tècniques bioquímiques i biofísiques. Per no fer la llista massa llarga, esmentem com a principals les de microscòpia electrònica, hibridació molecular, perfeccionament dels mètodes de cultiu *in vitro,* mètodes de transplantaments nuclears i formació d'híbrids cel·lulars, utilització de radioisòtops, autoradiografia, acció de metabòlits inhibidors de la transcripció, rèplica i traducció, i els innombrables mètodes de separació i aïllament de diferents substàncies biològiques, com són la cromatografia, electroforesi, electroenfocament, centrifugació diferencial, etcètera... així com éls mètodes de caracterització, dels quals cal destacar, especialment, els immunològics.

Així, doncs, la Genètica del desenvolupament pretén avui descriure, a nivell molecular, els mecanismes de control responsables dels canvis observats al llarg de les diferents etapes del desenvolupament i, d'aquesta

manera, analitzar les causes menades per mutacions o canvis a nivell de regulació gènica sobre alteracions, patològiques o no, d'aquest procés. Malauradament, FRASER [6] diu que l'estat de la Genètica del desenvolupament, avui, és molt semblant al de la Genètica clàssica dels anys 40. Aquesta opinió, si bé no massa afalagadora, és tristament certa. En efecte, anàlogament als problemes de la Genètica clàssica dels anys 40, en la Genètica del desenvolupament, avui, hom suposa que els canvis que s'observen es deuen a «causes» o «substàncies» que no veiem, i de les quals no sabem com, quan i per què actuen. Ara bé, hi ha un avantatge indubtable: semblantment a les nines russes on cada cop que se n'obre una n'apareix una altra de més petita fins a arribar a la darrera, en la Biologia molecular hem arribat ja, o més ben dit, sabem ja quina és la darrera nina russa: el DNA. I si bé hom podria objectar que, fet i fet, el DNA és una molècula, i que una molècula és composta d'àtoms, i aquests de neutrons, protons i electrons, i els dos primers de partícules dites «elementals», i que, en conseqüència, s'ha d'arribar a una Biologia quàntica, l'aspecte conceptual que el DNA és el darrer lligam i la base per a explicar els canvis i els processos que tractem de descriure és cert.

Ara, doncs, amb aquesta base històrica i conceptual, i establerta la base sobre la qual hem de tractar de descriure els processos de la Biologia i la Genètica del desenvolupament, passem a descriure breument els coneixements darrers obtinguts sobre aquest procés.

EL DESENVOLUPAMENT. DIFERENCIACIÓ CEL·LULAR, EPIMORFOSI I MORFOGÈNESI

Tot individu és, al principi, una sola cèl·lula que es desenvolupa al llarg del procés embrionari en un organisme amb molts tipus cel·lulars. Hi ha, doncs, diferenciació cel·lular. D'ací que, en un determinat període, l'activitat gènica en un tipus cel·lular esdevé diferent de la dels altres. Uns certs teixits n'influencien uns altres i en canvien el destí, cosa que fa suposar que algun «senyal» físic o químic passa de l'un a l'altre. Hi ha diferències hereditàries en els senyals; i això fa creure que els gens en determinen la natura i n'expliquen les diferències. Quan l'embrió es va desenvolupant, van apareixent succesivament diferències heredades en estructura i forma, la qual cosa condueix a suposar que els gens influencien l'aparició del patró o epimorfosi i de la forma o morfogènesi al llarg del desenvolupament de l'embrió. Ara bé, la natura bioquímica i genètica d'aquests canvis, solament la comencem a albirar

El coneixement de la natura bioquímica dels gens i de llur mode d'acció, juntament amb les darreres tècniques emprades per la bioquími-

ca i la biofísica, fa possible «atacar» els problemes plantejats per la Biologia del desenvolupament des d'un angle completament nou. Així, per exemple: ¿quins són els factors responsables dels canvis en l'activitat gènica quan una cèl·lula indiferenciada esdevé destinada cap a cèl·lula muscular o cap a cèl·lula nerviosa? ¿Quina és la natura química del «senyal» que la copa òptica envia perquè l'ectoderm que el recobreix es transformi en lent? ¿Per quin tipus de mecanisme els diferents tipus cel·lulars destinats a formar el pàncreas s'ordenen entre si formant la complexa estructura de glàndules i canalicles d'aquest òrgan? Tot això són encara preguntes sense resposta.

Per altra banda, un bon nombre de mutants que afecten el desenvolupament en formes diferents són ja coneguts. Se sap que cada gen mutant actua alterant una reacció bioquímica específica; així, doncs, el desenvolupament, el podem esquematitzar com el conjunt ordenat en l'espai i el temps d'un gran nombre de reaccions químiques. El problema és, doncs, iniciar aquest treball amb les eines de què disposem avui. Abans de donar un breu resum del que hem aconseguit fins ara i per tal de facilitar la comprensió del problema, estudiem d'un en un els principals aspectes del desenvolupament i els problemes principals que ens plantegen.

El desenvolupament comprèn, a gran trets, quatre aspectes principals, generalment contemporanis entre si: diferenciació cel·lular, epimorfosi, morfogènesi i creixement. D'aquests estudiarem els tres primers i deixarem el darrer, ja que és, de molt, el menys conegut i, per ara, el més desligat dels altres per manca de dades.

La diferenciació cel·lular

La diferenciació cel·lular o, més ben dit, el procés que mena una cèl·lula indiferenciada a diferenciar-se en un tipus cel·lular diferenciat és potser el problema més important que té plantejat la Biologia actualment. A part diferències evidents a nivell morfològic, cèl·lules diferenciades de tipus diferents produeixen proteïnes diferents ensems que en produeixen de comunes. És força raonable suposar que la diferenciació resulta, doncs, de l'activació d'uns certs grups de gens en un tipus cel·lular diferent dels que s'activen en un altre tipus cel·lular. Per altra banda, en tots dos tipus és obvi que uns grups de gens han de quedar reprimits, és a dir, no expressats. El problema està, doncs, a identificar aquests exemples d'activació i repressió gèniques, i com aquests canvis en l'activitat gènica són controlats.

A part això, un dels conceptes més clars i necessaris que hom veu en els processos de diferenciació, si n'exceptuem potser els primers estadis

del desenvolupament embrionari que, segons sembla, són més o menys autònoms, és que la diferenciació s'ha d'induir, és a dir, que «quelcom» o «algú» indueix, des de fora la cèl·lula, la diferenciació d'aquesta cap a un tipus cel·lular en concret. Aquest «algú» pot ésser (i en la majoria dels casos ho és) un altre tipus cel·lular o teixit; i el «quelcom» pot ser alguna substància produïda per aquest «algú». Evidentment, aquesta idea concorda perfectament amb la d'«inducció embrionària» esmentada en la Introducció històrica, i que va ésser ridiculitzada durant els decennis dels anys 40 i 50 per manca de dades convincents. Avui, el concepte torna a ésser completament vàlid, i la recerca d'aquestes hipotètiques substàncies va donant ja els primers fruits.

Així doncs, la diferenciació cel·lular és, d'una banda, el problema de saber com és menada l'activació i repressió gèniques, i de l'altra, el problema de la identificació dels factors (inductors i repressors) que l'activen o l'aturen, i de com i quan actuen.

Els avenços esmentats abans duts a cap els decennis dels anys 50 i 60 en el camp de la Genètica molecular han tingut gran influència sobre el planteig del problema de la diferenciació. En destaquem els dos principals: l'un és la teoria de l'operó de Jacob-Monod; l'altre, les darreres troballes sobre l'estructura i funció de la RNA-polimerasa.

La primera ha tingut principalment una influència conceptual, ja que l'elegància del model de l'operó, junt amb la seva lògica formal, ha fet que ens preguntem si aquest model pot aplicar-se a eucariotes i, en alguns casos, intentar trobar-hi exemples concrets. A l'actualitat, però, cap exemple específic d'operó no ha pogut demostrar-se inequívocament en eucariotes; això no vol dir, evidentment, que no se n'hi puguin trobar.

Les troballes sobre la RNA-polimerasa s'han centrat especialment en els anomenats factors sigma (σ). Aquests factors són polipèptids de pes molecular variable que en unir-se a la RNA-polimerasa li donen especificitat per a començar a transcriure segments específics del DNA. Anàlogament a exemples concrets trobats en bacteriòfags i bacteris —on sembla haver-hi diferents factors σ que, en uns determinats períodes del desenvolupament dels bacteriòfags o durant l'esporulació bacteriana, s'uneixen a l'RNA-polimerasa i li donen una especificitat peculiar per a transcriure diferents segments del DNA— hom s'ha preguntat si aquests factors poden operar també durant la diferenciació dels eucariotes. Conceptualment, el model és aplicable, i formalment és lògic, però actualment no hi ha tampoc cap exemple concret que permeti defensar-ne l'existència en eucariotes. Per altra banda, l'elevat nombre de tipus cel·lulars diferents que posseeixen els eucariotes, així com l'elevadíssim nombre de subtipus funcionals que hom pot distingir-hi (fins i tot morfològicament) en tota dife-

renciació cel·lular fan pensar que aquest model, si cas existís en eucariotes, hauria d'estar substancialment modificat.

Des del punt de vista teòric i pràctic, hi ha, en eucariotes, dues dificultats que fan molt més complex arribar a una solució del problema de la diferenciació. L'una és l'estructura del cromosoma; l'altra, l'organització del material hereditari, és a dir, del DNA. De tots és sabut que la complexitat d'una cèl·lula eucariòtica és molt superior a la d'una cèl·lula procariòtica, especialment pel que es refereix a la presència de nucli i a l'estructura dels cromosomes. En conseqüència, arribar a desvetllar l'estructura dels cromosomes és una tasca essencial. En els eucariotes del DNA és associat amb diferents tipus de proteïnes, en especial amb proteïnes bàsiques o histones, i amb proteïnes acídiques o no-històniques. Les primeres varen ésser considerades com a repressors específics de l'activitat gènica cap als anys 50. D'ací que hom els suposés una funció semblant a la dels repressors tipus Jacob-Monod. Estudis bioquímics, estructurals i nombroses proves *in vitro* en demostraren palesament la manca d'heterogeneïtat, la gran semblança que manifesten les dels diferents tipus cel·lulars d'un organisme, així com les d'organismes diferents i les d'estadis diferents de desenvolupament de qualsevol organisme, llevat de petites diferències probablement poc importants. Això, junt amb la demostració que l'estructura primària d'un tipus particular d'histona era pràcticament idèntica en la vedella i en el pèsol, va fer descartar, en la majoria d'autors, la idea que les histones podien ésser els repressors específics dels eucariotes. De tota manera, el que sí és clar és que les histones es troben en els cromosomes més o menys lligades al DNA, la qual cosa fa imprescindible cercar el paper exacte que hi tenen. Darrerament (a mitjan 1974) [10] hom ha demostrat que 4 de les 5 fraccions històniques tenen una funció eminentment estructural, ja que serveixen d'esquelet per sobre del qual el DNA s'entortolliga. L'única fracció que no té aquesta funció, la F1, sembla que faria de pont entre torn i torn del DNA condensant o descondensant l'espiral del DNA dins el cromosoma. Aquesta funció estructural no exclou, però, que canvis metabòlics a nivell de les histones, com ara els d'acetilació o fosforilació d'aquestes proteïnes, puguin tenir un cert paper dins de la regulació gènica, ja que sembla que les histones, un cop acetilades o fosforilades, tenen menys afinitat per al DNA. Això podria ésser un mecanisme de desbloqueig previ a l'activació d'un cert grup de gens. Aleshores, però, cal fer-se algunes preguntes: en primer lloc, quin és el mecanisme que controla quin tros s'ha de desbloquejar; per altra banda, si són totes les histones o sols algunes les que queden transformades i, doncs, amb menys afinitat per al DNA. Sigui quin sigui el paper d'aquests canvis metabòlics, allò que resta perfectament clar és que les histones no poden subministrar, ni de lluny, l'especificitat neces-

sària per a una regulació fina de l'activitat gènica, i que, a tot estirar, aquestes proteïnes poden servir com a repressors generalitzats inespecífics, funció força interessant de cara a l'economia cel·lular.

L'altre component proteic important de la cromatina són les anomenades proteïnes acídiques o no-històniques. Aquest nom comprèn un grup molt heterogeni de proteïnes. El pes molecular va dels 10.000 als 150.000 daltons, i la composició varia dins dels diferents teixits del mateix organisme, així com dins del mateix teixit en diferents organismes o en el mateix organisme al llarg del desenvolupament. Per altra banda, per ésser proteïnes de tipus acídic, la càrrega elèctrica és globalment de tipus negatiu, per això l'afinitat per al DNA és més baixa que la de les histones. Des que aquestes proteïnes varen ésser descobertes, s'inicià una veritable allau d'estudis per a trobar-ne la possible funció. Ben aviat, però, va observar-se que algunes d'aquestes proteïnes pertanyien a la categoria d'enzims com, per exemple, la DNA-polimerasa i la RNA-polimerasa les fosfoquinases, acetilases i metilases, i les altres que intervenen en el metabolisme de les proteïnes cromosòmiques i del DNA. Junt amb aquestes proteïnes, hom suposa que hi ha un altre grup (representant potser sols el 0,01 % de les proteïnes acídiques) que tindria una funció reguladora activant o reprimint segments específics de gens. Aquesta funció va ésser sospitada a partir d'experiments en els quals les proteïnes acídiques, un cop afegides a sistemes *in vitro* acel·lulars *("cell-free systems")*, feien incrementar la síntesi de mRNA. D'ací que PAUL i d'altres autors varen proposar un model en què les proteïnes acídiques reconeixerien una seqüència específica de DNA. Un cop complexades, es fosforilarien; cosa que en faria augmentar encara més la càrrega elèctrica negativa i, doncs, les duria a unir-se a les histones que bloquejaven inespecíficament aquell segment del DNA, a les quals desplaçaria tot permetent, en conseqüència, que la RNA-polimerasa pogués transcriure aquell segment abans reprimit. Això explicaria l'activació específica d'un determinat segment del DNA. Quant a la repressió específica d'uns certs segments de gens, la cosa no és tan clara.

Cal dir que aquest model és purament hipotètic, i que, si bé és atractiu, planteja encara una sèrie d'interrogants fonamentals. Així, per exemple: ¿d'on prové la proteïna acídica reguladora que desplaça les histones d'aquell segment particular de DNA? ¿Per què aquesta proteïna actua en un tipus cel·lular i no en d'altres? D'altra banda, si aquesta proteïna realment existeix, qui en regula la síntesi? Amb aquests interrogants, resta el problema d'aïllar realment una proteïna d'aquesta mena anàlogament al treball fet amb el repressor de l'operó lactosa bacterià. Hi ha força autors que creuen que les veritables proteïnes reguladores existeixen, i que són probablement (per extrapolació del repressor *lac*) proteïnes acídiques, si bé hi existeixen en quantitats tant petites que no han estat

detectades, de fet, amb els mètodes actuals de separació i caracterització. Aleshores, les diferències detectades per aqusts mètodes, a nivell de les proteïnes acídiques, en teixits diferents o dins un mateix teixit al llarg del temps, correspondrien a canvis quantitatius o/i qualitatius de les proteïnes acídiques de tipus enzimàtic, a causa dels canvis en l'estat funcional de la cèl·lula en qüestió.

L'altre aspecte que dificulta l'estudi del problema de la diferenciació en eucariotes és l'organització del DNA. En procariotes, cada gen (aproximadament n'hi ha uns 3.000-4.000) és únic, és a dir, hi ha una sola còpia per genoma. En eucariotes, això no és així, ja que, junt amb una determinada proporció de gens únics, n'hi ha uns altres que tenen algunes còpies o moltes per genoma. Aquesta troballa, feta els anys 60 per BRITTEN i KOHNE [3], mercès a la tècnica d'hibridació entre DNA-DNA i DNA-RNA, és molt remarcable, ja que, entre d'altres coses, va posar fi (momentàniament, però) al plet entre els genètics clàssics i els genètics moleculars sobre el nombre «possible» de gens (3 milions en l'home, si suposem que cada gen té 1.000 nucleòtids) i el nombre «permès» de gens d'acord amb les dades sobre la taxa de mutacions en eucariotes (cal suposar que un nombre superior a 30.000-50.000 gens en l'home seria inviable a causa del llast mutacional). Si suposem, segons les dades de BRITTEN i KHONE, que un percentatge determinat de gens és repetit algunes vegades o moltes, el nombre de gens «possibles» esdevé força rebaixat i s'acosta notablement al nombre de gens «permesos». Tot i que actualment no hi ha un acord perfecte sobre aquest punt, aquests resultats plantegen, des del punt de vista de la regulació i diferenciació gèniques, el problema de saber quina és la funció d'aquestes seqüències gèniques repetides. Nombroses hipòtesis han estat proposades, si bé cap no ha estat acceptada unànimement. Aquest aspecte és, doncs, un altre que separa procariotes i eucariotes pel que fa als estudis sobre regulació gènica durant la diferenciació i el desenvolupament.

Parlem ara breument de l'enfocament modern del problema de la inducció, que, alhora, és també força més complex que en procariotes. Hem esmentat ja els resultats obtinguts per SPEMANN, MANGOLD, HOLTFRETER i d'altres els anys 20, i la teoria de la inducció embrionària sortida d'aquests treballs, així com de la davallada que va patir la teoria els decennis 30 i 40. A partir dels anys 60, i mercès al gran perfeccionament de les tècniques emprades per la Biologia molecular, els estudis en aquest terreny es varen dirigir a l'aïllament dels factors inductors i a l'estudi del mecanisme d'acció a nivell gènic. L'exemple més ben estudiat actualment és el de l'acció d'inductors de tipus hormonal sobre teixits receptors, especialment sobre l'úter. Dels estudis fets sobre aquest tema, podem destacar la importància que hom adjudica avui a la membrana cel·lular com a

possible lloc d'interacció amb l'inductor, i dels processos que d'ací es poden derivar, especialment els de la transmissió de l'acció inductora cap al genoma. En uns altres sistemes se sap que l'inductor travessa la membrana cel·lular i interacciona amb una proteïna receptora citoplasmàtica. Un cop format el complex, aquest travessa la membrana nuclear i interacciona amb la cromatina de manera encara poc coneguda. Així, doncs, per a enfocar aquest tipus de problema es necessari aïllar els presumptes inductors i treballar en sistemes de fàcil maneig que permetin estudis a nivell molecular.

En l'actualitat, doncs, el problema de la diferenciació cel·lular ha d'ésser centrat en l'estudi de l'estructura dels cromosomes, la funció inespecífica de les histones, la funció específica de les proteïnes acídiques, la hibridació molecular per a estudiar la dinàmica de la transcripció i l'ordenament dels gens en el genoma, així com en l'estudi de l'acció de substàncies inductores en sistemes, *in vitro* o no, durant els processos de diferenciació en el període embrionari, en l'organisme adult i durant la regeneració.

L'EPIMORFOSI

Fóra erroni, però, considerar el problema de la diferenciació cel·lular aïlladament. Una cèl·lula indiferenciada o embrionària no és diferencia aïlladament, sinó que ho fa dins del context general del desenvolupament embrionari de l'organisme o durant els períodes de regeneració fisiològica o traumàtica. En conseqüència, no es pot descriure adequadament el desenvolupament de cap organisme solament en termes de diferenciació cel·lular. En particular, encara que sabéssim el mecanisme precís pel qual una cèl·lula es diferencia d'una altra, de poc ens serviria a l'hora de tractar d'explicar la gènesi de la forma característica d'un embrió. O la formació per exemple d'una extremitat. Així, doncs, un problema fonamental en els estudis del desenvolupament és saber com la diferenciació cel·lular s'organitza espacialment per donar lloc a una estructura tan complexa com la mà, per exemple, o l'orella.

L'organització espacial de la diferenciació cel·lular per a donar lloc a una estructura concreta particular rep el nom de epimorfosi. Un exemple molt típic n'és l'ordenació espacial durant el desenvolupament de les cèl·lules que es van diferenciant des del primordi embrionari indiferenciat fins a donar, per exemple, l'estructura ordenada en braç, avantbraç, monyó i mà de l'extremitat anterior de qualsevol vertebrat. D'altra banda, és perfectament lícit (i necessari), per més estúpid que pugui semblar, preguntar-se per què el braç apareix quasi sempre unit a l'espatlla i no a d'altres parts del cos, per què sempre l'estructura segueix l'ordre braç,

avantbraç, monyó, mà i no d'altres, per què té sempre la pell a fora i l'os a dins i no a l'inrevés o, finalment, per què, malgrat tenir els mateixos tipus cel·lulars diferenciats, és tan diferent l'estructura del membre anterior de la del membre posterior o quins són els mecanismes responsables d'aquestes diferències, tenint en compte que fan servir cèl·lules diferenciades molt semblants. Per més ridícules que puguin semblar aquestes preguntes, no hi ha avui ningú que les pugui respondre satisfactòriament des d'un punt de vista científic.

L'epimorfosi ha estat estudiada particularment durant els processos de regeneració dels membres en organismes superiors, ja que són de més fàcil maneig que els embrions. De tota manera, les regles que governen aquest procés són poc conegudes i, de fet, els treballs més acurats han estat realitzats en organismes inferiors, com ara hidres i planàries. En aquests organismes, hom ha demostrat l'existència de tres propietats que semblen extrapolables a d'altres sistemes.

La primera és la polaritat. Aquesta s'expressa en el fet que, durant la regeneració, la superfície anterior d'amputació sempre regenera un cap (o hipostoma), mentre que la posterior regenera una cua (o peduncle). Això vol dir que el teixit regenerant conté una «polarització» que es manifesta en aquesta propietat durant la regeneració. En els sistemes embrionaris també hi ha polarització. Així, els discs imaginals de *Drosophila* o el monyó dels membres de Vertebrat són, de fet, un conjunt homogeni de cèl·lules indiferenciades, si bé presenten ja una polarització territorial, de manera que hi ha regions particulars d'aquest «camp» o teixit que donen lloc a unes certes estructures, mentre que unes altres regions en donen de diferents. El punt d'interès està a saber com s'estableix i com es manté aquesta polaritat. Molts autors l'han lligada a la presència d'uns determinats gradients axials, concepte ja emprat des dels treballs de MORGAN i CHILD [4] (1900-1940). Aquests autors varen demostrar que en la regeneració i desenvolupament de nombrosos animals existien propietats en forma de gradient com, per exemple, la freqüència o velocitat de regeneració, l'activitat metabòlica, la susceptibilitat davant d'uns determinats compostos químics, etc....

Recentment però, aquest concepte ha estat reenfocat, sota una perspectiva molt més acurada, per WOLPERT [11] i d'altres autors. Segons ells, cada cèl·lula, en un camp morfogenètic determinat, rep uns senyals determinats que li assignen un «valor posicional» que especifica la posició de cada cèl·lula dins el camp respecte a dos extrems teòrics. Aquests extrems teòrics poden ésser el principi i el final d'un gradient d'alguna substància o la combinació de dos o més gradients. La cèl·lula interpreta aleshores la seva posició activant uns determinats gens. Evidentment, els gens que activin una cèl·lula o un grup d'elles serà diferent dels que n'activen

d'altres lluny d'aquestes. El punt fonamental d'aquest nou enfocament és que el «valor posicional» fa conèixer a la cèl·lula la seva posició dins el sistema, i aquest valor és interpretat per la cèl·lula, especificant-ne la diferenciació molecular. Malauradament hi ha poques proves experimentals per a sostenir aquests conceptes, malgrat la coherència lògica i formal que presenten.

A part les propietats de polaritat i de gradients axials, hi ha una tercera propietat interessant: la dominància apical. En la regeneració de planàries i hidres, això es manifesta en el fet que el primer que es forma és l'hipostoma (hidres) o el cap (planàries). Un cop formades, aquestes estructures tenen dues funcions importants: *a*) organitzar les propietats d'allò que encara s'ha de regenerar, i *b*) inhibir la formació d'un altre hipostoma o cap. Aquesta propietat es manifesta, tanmateix, durant el desenvolupament o durant la regeneració dels membres de vertebrats i d'invertebrats. Els exemples més ben estudiats són els de la interacció ectoderm-mesènquima en el desenvolupament dels membres dels pollets, els estudis de polaritat i dominància en la cutícula d'insectes, i els nombrosos estudis fets en la regeneració dels membres dels vertebrats.

En resum, doncs, durant el desenvolupament, les cèl·lules semblen diferenciar-se d'acord amb la posició espacial dins d'una població. Cada cèl·lula ha d'adquirir —i, d'acord amb això, actuar— una determinada informació referent a la seva posició dins de la població. Si les cèl·lules embrionàries existeixen dins d'un determinat gradient, han d'adquirir la «informació posicional» referent a la concentració local de la substància en que es manifesta el gradient. La cèl·lula interpretarà aquest valor activant els gens apropiats. WOLPERT suggereix que el mecanisme que assigna el valor posicional a les cèl·lules dins del camp i el mecanisme que utilitza la cèl·lula per a interpretar-ne la informació són estàndards i universals. Allò que és diferent és el grup de gens que s'activen en cada cas, i d'ací el tipus de diferenciació que en resulta. Aquesta teoria general de l'epimorfosi, si bé de gran valor quant a allò que representa com a principi unitari, planteja, encara avui, més preguntes que respostes. Així, per exemple: com s'estableixen els gradients i com es mantenen? ¿Com s'estableixen els extrems del gradient i com es mantenen enfront d'alteracions, com ara el creixement o unes certes anormalitats? ¿Com poden mesurar les cèl·lules la concentració local de la substància-gradient? ¿Quin és el mecanisme que activa uns determinats grups de gents d'acord amb la posició de la cèl·lula en el gradient?

Un pas molt recent que sembla que pot respondre a bon nombre d'aquestes qüestions i que, per altra banda, té l'avantatge d'ésser susceptible d'ésser analitzat genèticament, són els treballs de GARCIA-BELLIDO [7]

i col·laboradors amb discs imaginals de *Drosophila*. Aquest autor es va preguntar com, a partir d'un disc imaginal, que aparentment és una massa homogènia de cèl·lules més o menys indiferenciades, surt la complexa estructura d'una ala o d'un apèndix, per exemple. Aquests autors es varen formular, doncs, el problema de com s'ho fa l'organisme per transformar una massa aparentment homogènia sense davant o darrera, ni dreta ni esquerra, en una estructura amb coordenades espacials molt característiques. Aprofitant els avantatges de *Drosophila* com a material de treball a nivell genètic, aquests autors varen realitzar un gran nombre d'experiments utilitzant nombrosos mutants que afecten el desenvolupament d'uns determinats discs imaginals. La conclusió més important a què han arribat és que com més el disc va creixent, les cèl·lules d'aquest més es van «compartimentalitzant». Això vol dir que van apareixent successivament divisions dins el disc, de manera que es formin primer dos compartiments (per exemple: anterior i posterior); després quatre compartiments (per exemple: anterior dret, anterior esquerre, posterior dret i posterior esquerre), i així successivament. El curiós del cas és que la línia divisòria entre compartiments és molt recta, contràriament al que hom podria suposar en principi. De moment, el mecanisme que produeix aquests compartiments és completament desconegut, si bé hom creu que pot ésser degut a canvis en l'afinitat cel·lular entre diferents compartiments, canvis deguts a alteracions de les proteïnes de la membrana, conseqüència de l'acció gènica. Com podem veure, el més interessant d'aquestes troballes és que per primer cop apareix un lligam entre acció gènica i formació del *pattern*. Les idees d'aquests autors són un pas més per a entendre com, a partir d'una massa indiferenciada de cèl·lules es produeix una estructura complexa. Evidentment, falta ara saber com es formen els compartiments, quin paper hi juga l'existència d'uns determinats gradients, quin paper hi té l'adhesivitat cel·lular, etc....

La morfogènesi

L'últim aspecte que tractarem és el de la morfogènesi. L'exemple que pot ésser més típic és el de la gastrulació durant el desenvolupament. Aquest procés no implica necessàriament cap classe de diferenciació cel·lular (al menys morfològicament visible) ni d'epimorfosi, sinó tan sols els moviments coordinats de poblacions cel·lulars senceres. Per a entendre aquest procés, cal fer-se abans dues preguntes: com es mouen les cèl·lules i com coordinen els moviments poblacions senceres d'elles.

Respecte a la primera pregunta se sap, avui, que la membrana cel·lular juga un paper fonamental en tota mena de moviment. De tota manera,

no podem aprofundir aquest punt. També sabem amb certesa que estructures citoplasmàtiques com ara els microfilaments i els microtúbuls són molt importants per als processos de moviment, creixement i manteniment de la forma en la majoria de cèl·lules. De fet, el que aquestes estructures formen és un veritable esquelet que manté l'estructura cel·lular, i d'ací, l'estructura de teixits i òrgans. Els principals mitjans de locomoció cel·lular són per pseudòpodis (per exemple: fibroblasts) i per filòpodis (per exemple: cèl·lules mesenquimàtiques de l'eriçó de mar). Tant en l'un exemple com en l'altre, la membrana cel·lular té un paper molt important; i les estructures citoplasmàtiques esmentades abans hi juguen un paper cabdal.

Respecte a com coordinen el moviment grups de cèl·lules entre si, el principal punt a considerar són els fenòmens d'adhesivitat cel·lular i el seu control gènic. Avui sabem que, en nombrosos exemples de morfogènesi, canvis previs en l'adhesivitat mútua de grups de cèl·lules juguem un paper molt important. L'adhesivitat cel·lular, podem considerar en una primera aproximació que és una força equivalent a la resultant de la suma de les energies dels enllaços existents entre dues cèl·lules per l'àrea de contacte entre elles. Aleshores, canvis a nivell de membrana cel·lular que tinguin com a conseqüència fer augmentar o disminuir la força d'adhesivitat poden tenir gran importància en aquests processos. En general, aquests canvis van acompanyats de l'acció dels microfilaments i microtúbuls esmentats abans. Especialment dels primers, se sap que tenen propietats contràctils molt semblants a l'actina muscular, i d'ací, que puguin canviar molt fàcilment la forma d'una cèl·lula. Si això va acompanyat de canvis en l'adhesivitat de la membrana, els canvis estructurals i espacials de grups de cèl·lules poden ésser molt profunds. De tota manera, al capdavall tots aquests canvis han d'ésser deguts a canvis previs a nivell de les proteïnes que constitueixen la membrana cel·lular. Aquests canvis poden ésser el resultat de l'acció gènica directa o bé el resultat de canvis conformacionals de les proteïnes de la membrana deguts a l'acció d'algun inductor extern. Ja abans, en tractar de l'epigènesi, i més concretament en referir-nos als experiments de «compartimentalització» de GARCIA-BELLIDO i col·laboradors, hem esmentat la gran importància que hom atribueix a canvis en les propietats d'adhesivitat cel·lular entre diferents compartiments per a explicar-ne la gènesi, i com aquesta gènesi pot ésser dictada per una acció directa. El que es veu clar, després d'examinar tots aquests processos, és la gran importància que tenen els canvis a nivell de la membrana cel·lular per a explicar o al menys per a tractar d'explicar els fenòmens de l'epimorfosi i de la morfogènesi. Així, per exemple, la formació de les fulles embrionàries pot ésser descrita a nivell de la variació en el grau d'adhesivitat de les cèl·lules junt amb l'acció d'induc-

tors exògens que poden actuar a nivell de membrana. La majoria de característiques de la morfogènesi d'eriçons de mar pot explicar-se per mitjà de la formació de pseudòpodis i filòpodis a nivell de la superfície cel·lular i per variacions d'adhesivitat de grups de cèl·lules. Tot aquest conjunt de fets suggereix l'existència d'un lligam entre els gens de les cèl·lules embrionàries i la forma i característiques de l'embrió. I si bé, de fet, desconeixem quasi per complet els detalls de tots aquests processos, és relativament fàcil imaginar-se com l'acció gènica pot controlar tant el moviment com l'adhesivitat cel·lular a través de proteïnes que afectin l'estructura de la membrana.

Gens i desenvolupament

Hem parlat fins ara dels tres processos principals que s'esdevenen durant el desenvolupament a un nivell, però principalment descriptiu. Res no hem dit encara de la genètica d'aquests processos. La raó no és difícil d'entendre. Quasi res no sabem a nivell d'eucariotes o ben poc. L'únic que sabem és a nivell de processos elementals de diferenciació i morfogènesi en procariotes. D'ací, que hom ha extrapolat processos semblants en els eucariotes.

En procariotes, els dos processos més ben estudiats han estat la morfogènesi del bacteriòfag T4 i d'altres, i l'esporulació bacteriana. En el fag T4, l'engalzament de les diferents parts que el componen (cap, cua i fibres de la cua) no és de cop, com en el cas de fag del mosaic del tabac, sinó que procedeix per etapes successives que recorden una cadena de muntatge d'automòbils. Això és, certament, semblant a l'aparició de les diferents parts del cos durant l'embriogènesi d'organismes superiors. Actualment coneixem unes 40 proteïnes diferents que formen les diverses parts del fag, mentre que el nombre de gens que té el fag és aproximadament de 150 a 200. Això fa suposar que un bon nombre de proteïnes no són estructurals, sinó que tenen una funció reguladora o catalítica (enzimàtica). El nombre de passos d'aquest engalzament és d'uns 20, i l'ordre que segueixen és invariant. Ara bé, la diferència cabdal amb la morfogènesi dels eucariotes és que les proteïnes que componen el fag se sintetitzen alhora i després s'engalzen seqüencialment. Això és com si un organisme superior formés primer tots els tipus cel·lulars diferenciats de l'adult en un nombre determinat i, un cop formats, s'anessin engalzant seqüencialment i donessin, segons les seves característiques genètiques, una hidra, un cuc, un ratolí o un home. Realment seria ensems divertit i curiós poder arribar a veure un espectacle d'aquesta mena! Per altra banda, se sap que els fags necessiten, durant el procés d'engalzament,

d'unes certes estructures de l'hoste que li facin de bastida, de manera que la seva morfogènesi no es autònoma.

L'altre procés, força estudiat en procariotes —l'esporulació bacteriana— ja ha estat comentat anteriorment. El fet que, quan un bacteri inicia l'esporulació, l'estructura de la RNA polimerasa canvia (es perd un factor σ i sembla que se n'hi afegeix un altre, a part altres canvis) ha permès considerar-ho com un model vàlid de diferenciació. Mentre que això no es discuteix, si que és discutible si aquest model és extrapolable als eucariotes. Si bé no sembla ésser així, cal dir que manquen moltes dades perquè puguem rebutjar o acceptar aquesta proposta definitivament.

I passem ja, per fi, als eucariotes, punt d'inici dels problemes actuals i final indispensable per a cloure aquesta conversa. Comencem, però, per dir que, en eucariotes, no hi ha cap exemple —ni tant sols de diferenciació elemental— conegut amb un mínim de detall. Tot el que tenim són peces fragmentàries d'un fantàstic trencaclosques que un dia o un altre arribarem a conèixer amb més detall. Esmentem-ne, però, algunes.

1) *La determinació embrionària a* Drosophila [8].

La determinació s'esdevé en el bastoderm, ja que les cèl·lules dissociades de la part anterior donen lloc a cap i tòrax, mentre que les de la part posterior del blastoderm donen lloc a regions post-toràciques i abdominals. Ara bé, com s'esdevé això? Sembla que hi ha dos factors o substàncies que controlen en aquesta determinació cap a un tipus o un altre de diferenciació:

a) El que determina allò que seran segments anteriors o posteriors.

b) El que determina l'aparició de les cèl·lules germinals, que sempre estan situades al pol vegetatiu. Actualment, hom intenta aïllar-les.

2) *Genètica del desenvolupament de l'axolot* [1].

Han estat aïllats ja nombrosos mutants que n'afecten el desenvolupament. Els uns són d'efectes materns, és a dir, són duts per l'òvul. Uns altres són gens mutants que afecten la inducció de diversos òrgans o l'expressió fenotípica de diferents teixits. N'hi ha que afecten el nucleòl, i n'hi ha d'altres que són letals autònoms. En total se'n coneixen uns 40, i alguns han pogut ésser mapats.

3) *L'organització del DNA a* Xenopus *(amfibis)* [5].

Aquest aspecte, que junt amb el problema de l'estructura de la cromatina és un dels diferenciadors del genoma a nivell estructural i funcional entre procariotes i eucariotes, ha estat estudiat per BRITTEN, DAVIDSON i col·laboradors. Recentment han suggerit que el DNA, en aquest organisme, té una estructura molt ordenada, i està compost de seqüències repetides curtes (aproximadament 300-100 nucleòtids) separades per seqüències no repetides (úniques) més llargues (aproximadament 650-1000 nucleòtids). Ara bé, quin significat funcional té això? ¿Què aporta de nou al problema de la regulació gènica a eucariotes? Si bé els resultats han estat criticats per alguns autors, cal dir que la metodologia emprada és força acurada. De tota manera, l'aportació potser més interessant d'aquests resultats és la de confirmar, si bé indirectament, els models de regulació de la transcripció en eucariotes proposats per BRITTEN i DAVIDSON [2] i GEORGIEV [9]. Per a ésser sincers, però, aquests models, que han estat formulats com a pures extensions del model de l'operó a eucariotes, si bé tenen el valor d'ésser coherents amb alguns dels resultats diferencials de l'organització de la cromatina en eucariota (DNA repetitiu, presència de RNA nuclear de grans dimensions i heterogeni, acció d'inductors específics, etc....) són purament especulatius i tenen un valor predictiu pràcticament nul. En conseqüència, abans de poder formular un model coherent més o menys definitiu és necessari fer estudis molt més profunds sobre el particular.

4) *Experiments de fusió cel·lular.*

Aquesta tècnica aprofita l'avantatge dels anomenats virus Sendai de fer fusionar les membranes cel·lulars (i després, els citoplasmes) de dues cèl·lules diferents del mateix animal o fins i tot d'animals diferents. Aleshores, i segons l'estat de diferenciació de cada una, podem veure l'acció de l'una sobre l'altra en l'expressió fenotípica de cada una. Els resultats aconseguits han estat força interessants, si bé són molt complexos i, per tant, no gens fàcils d'interpretar.

5) *Experiments d'inducció de la diferenciació a l'úter pel 17-β-estradiol.*

És l'exemple més complet fins ara d'inducció de la diferenciació a nivell molecular en eucariotes. Se sap que l'hormona entra en la cèl·lula, es lliga a receptor citoplasmàtic de tipus proteic, i junts, després d'un canvi

conformacional o canvi en les subunitats del receptor, passen al nucli. Allà, sembla que el complex es lliga a una proteïna de tipus acídic present en la cromatina i activa tot seguit un segment del DNA. Aquest model, que en un principi pot semblar una resposta quasi definitiva al problema de la inducció de la diferenciació, planteja, tot i així, problemes força seriosos: *a*) El teixit receptor sembla ésser l'únic que té la proteïna receptora. Aleshores cal preguntar-se com, quan i per què ha aparegut aquest receptor en aquest teixit i no en uns altres. *b*) Així mateix, el teixit receptor sembla ésser l'únic que té la proteïna acídica a la cromatina. Evidentment, és una pregunta anàloga a l'anterior que s'ha de formular i intentar respondre. En conseqüència, i malgrat ésser un dels millors models per a estudiar la diferenciació en eucariotes, sembla que la resposta és encara força llunyana.

Cloenda

Al llarg d'aquesta breu i incompleta exposició, hem vist que desenvolupament és pràcticament un sinònim de canvi. Tot canvia: el nombre de cèl·lules, els diferents tipus de cèl·lules, les dimensions de l'organisme, la forma de l'organisme, etc.... De tota manera, el més important és que se sap ja que tots aquests canvis depenen, al capdavall, de la interacció entre el genotip de l'organisme i l'ambient; i entenem per ambient, el conjunt de totes les altres cèl·lules principalment i, molt més secundàriament, factors físics i químics que poden afectar el fenotip.

Així, doncs, la informació genètica de l'ou és copiada i copiada de nou al llarg de totes les generacions cel·lulars que es produeixen. Aquestes cèl·lules interaccionen amb l'ambient físic que les envolta i amb les altres cèl·lules; produeixen els canvis subcel·lulars característics de la diferenciació cel·lular i dels moviments i multiplicació cel·lular que menen a la formació d'un organisme adult. Ara bé, com s'inicien aquests canvis? És relativament fàcil imaginar-se que, un cop un embrió conté diferents tipus cel·lulars, cada un d'aquests té un «ambient» que l'envolta que difereix dels «ambients» dels altres tipus cel·lulars. Aquests diferents ambients podran produir, alhora, canvis diferencials nous que donaran lloc a noves diferenciacions i a la formació del *pattern* i a la forma característica dels diferents teixits i òrgans. Aquest argument, el podríem anar repetint una vegada i una altra fins a arribar a la formació de les estructures adultes. De tota manera, restaria encara la primera pregunta: ¿com comencen aquests canvis? ¿En quin estat de l'embriogènesi apareixen les primeres diferències locals, i com es produeixen?

Sembla bastant clar que l'ou de tots els organismes conté ja una informació imprescindible per el desenvolupament en forma de factors citoplasmàtics que s'aniran repartint desigualment entre els diferents blastòmers. Com que se sap que tots els blastòmers contenen la mateixa informació genètica, hom suposa que aquests factors citoplasmàtics produiran l'activació de diferents blocs de gens en cadascun dels blastòmers, fet que donarà lloc a una diferenciació incipient entre ells. Un cop establertes aquestes primeres diferències, podem iniciar ja tot el procés d'interaccions cel·lulars i induccions que produiran l'organisme adult segons el programa genètic de l'espècie. Aleshores és força clar veure que qualsevol alteració, bé en el programa genètic, bé en «l'ambient», pot dur a alteracions més o menys bones o més o menys dolentes en el desenvolupament.

D'ací que, en l'estudi del desenvolupament embrionari, saber com, quan i per què actuen els diferents gens sigui la clau absoluta del problema.

Voldria acabar, però, comentant que, si els canvis inicials que apareixen en els blastòmers són el resultat de diferències inicials en el citoplasma de l'ou per a respondre a la pregunta de com s'inicien aquests canvis, caldria anar a l'estudi de com es forma l'òvul, és a dir, a l'ougènesi; que, en bona part, dependrà ja de la història de l'òvul i l'ou dins la mare. En termes més clàssics, doncs: què és primer, l'ou o la gallina? A això podríem respondre que el primer no és ni l'ou ni la gallina, sinó una gallina amb un ou.

BIBLIOGRAFIA

1. BRIGGS, R. — *Developmental Genetics of the Axolotl. Genetic Mechanisms of Development*. Ruddle. F. H. Academic Press. Nova York i Londres. pp. 169 (1973)
2. BRITTEN, R. J., i DAVIDSON, E. H. — *Gene regulation for higher cells: a theory*. «Science», *165:* 349-357 (1969).
3. BRITTEN, R. J. i KOHNE, D. E. — *Repeated sequences in DNA*. «Science», *161:* 529-540 (1968).
4. CHILD, C. M. — *Patterns and Problems of Development*. University Press. Chicago. (1941).
5. DAVIDSON, E. H., HOUGH, B. R., AMENSON, C. S. i BRITTEN, R. J. — *General interspersion of repetitive with non-repetitive sequence elements in the DNA of* Xenopus. «J. Mol. Biol.», *77:* 1-23 (1973).
6. FRASER, F. C. — *Developmental Genetics: A Status of Research Report*. «Teratology», *3* (1): 73-88 (1970).
7. GARCÍA-BELLIDO, A., RIPOLL, P., i MORATA, G. — *Developmental compartmentalisation of the wing disk of* Drosophila. «Nature New Biology», *245* (147): 251-253 (1973).

8. GEHRING, W. J. — *Genetic control of determination in the* DROSOPHILA *embryo. A Genetic Mechanisms of Development*. Ruddle, F. H. Academic Press: Nova York i Londres. pp. 103 (1973).
9. GEORGIEV, G. P. — *On the structural organization of operon and the regulation of RNA synthesis in animal cells*. «J. Theor. Biol.», *25:* 473-490 (1969).
10. KORNBERG, R. D. — *Chromatin structure: A repeating unit of histones and DNA*. «Science», *184* (4139): 868-871 (1974).