

DEZVOLTAREA PRENATALA A SISTEMULUI NERVOS CENTRAL

DAN BOITOR-BORZA, FRANCISC GRIGORESCU-SIDO

Catedra de Anatomie și Embriologie Umană, UMF "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca

Rezumat

Lucrarea noastră se dorește a fi o sinteză a cunoștințelor actuale asupra dezvoltării prenatale a sistemului nervos central. În zilele noastre anatomia dezvoltării nu mai este un domeniu strict al embriologului sau al anatomistului. A devenit un fapt obișnuit ca și clinicienii să se preocupe de acele aspecte ale dezvoltării care ar putea explica apariția unor anomalii congenitale.

Sistemul nervos central uman reprezintă cea mai înaltă treaptă de organizare și perfecționare a țesutului nervos din toată seria animală. În lucrarea noastră prezentăm aspectele esențiale ale dezvoltării sistemului nervos central: mai întâi formarea tubului neural prin procesele de neurulație primară și secundară, ulterior diferențierea tubului neural după axele cranio-caudal și dorso-ventral.

Cuvinte cheie: embriologie, sistem nervos central, neurulație

Prenatal development of the Central Nervous System

Abstract

Our paper is a review of the modern knowledge on the antenatal development of the central nervous system. In our era the developmental anatomy is no more the exclusive field of the embryologist or anatomist. Clinicians usually are interested in those aspects of the development that could explain the mechanism of some congenital anomalies.

The human central nervous system is the highest level of organization and perfecting of the nervous tissue in animals. In our paper we focus on the essential aspects of the development of the central nervous system: formation of the neural tube by the primary and secondary neurulation, and then the differentiation of the neural tube considering the cranio-caudal and the dorso-ventral axes respectively.

Keywords: embryology, central nervous system, neurulation

Embriologia a realizat progrese constante de la începutul secolului al XX-lea, când cercetători ca Brooks, Whitman, Spemann și Mangold puneau bazele acestei discipline. Înțelegerea principiilor dezvoltării

animalelor a devenit posibilă de când embriologia, genetica, biochimia și citologia au fost reunite într-o știință pe care Paul Weiss a denumit-o, la începutul anilor '50 ai secolului trecut, "biologie a dezvoltării".

Ultimul deceniu al secolului al XX-lea a adus o revoluție în diagnosticul și tratamentul bolilor congenitale. Multe boli pot fi identificate în timpul sarcinii, iar operațiile pe făt vor deveni în curând o rutină. Datorită acestei perspective terapeutice, biologia dezvoltării reprezintă un domeniu important în cercetarea medicală.

Dezvoltarea sistemului nervos central în timpul vieții intra-uterine pare a fi privilegiată. Ea este progresivă și regulată atât din punct de vedere ponderal cât și structural. La embrion și făt craniul este enorm față de restul corpului. Sistemul nervos reprezintă 90% din masa embrionului de 21 de zile, 70% la făt și 40% la nou-născut, pentru a se rezuma la numai 2% la adult. Cerebelul luat singur nu reprezintă decât 1/25 din greutatea creierului la nou-născut față de 1/10 - 1/15 la adult. Aceste date pot fi exprimate în medie aritmetică și deviație standard, în procente sau sub formă de drepte de regresie, în funcție de vârsta gestațională sau de greutatea corpului. Însăși consistența encefalului fetal în dezvoltare este diferită de cea a encefalului copilului și, a fortiori, de cea a encefalului adultului. În cursul dezvoltării, pe măsură ce conținutul în lipide crește, conținutul în apă scade. Apa reprezintă 90-91% din greutatea encefalului proaspăt la făt între săptămânile a 10-a și a 34-a, 88-90% la termen, 86-87% la 3-4 luni, 80% la 6 luni și 72% la 2 ani.

Această structură delicată și indispensabilă dezvoltării organismului apare în cursul celei de-a treia săptămâni de viață sub forma plăcii neurale.

1. FORMAREA TUBULUI NEURAL

Întregul sistem nervos derivă din ectoblast. Procesul prin care se formează tubul neural, primordiul sistemului nervos central, este denumit neurulație, iar embrionul care suferă aceste modificări se numește neurulă.

Inducția neurală reprezintă achiziția identității neurale de către celule nediferențiate [1]. La om, acest proces are loc în primele trei săptămâni de gestație.

Inducția neurală a fost descrisă de Hilde Mangold și Hans Spemann la începutul secolului al XX-lea. Acești autori au utilizat tehnica himerei interspecifice la amfibieni, tehnică descrisă de altfel încă din 1897 de către Born. Prin grefarea buzei dorsale a blastoporului de la un donor la o gazdă, s-a observat că grefa se diferențiază de la sine în structuri axiale (notocord, placă bazală, endoderm median) și în mezoderm paraxial. Mai mult, grefa induce apariția unei plăci

neurale la gazdă. Mangold și Spemann au dedus din acest experiment că buza posterioară a blastoporului produce un semnal care determină diferențierea ectodermului de suprafață în primordiul neural. Această semnalizare a fost denumită inducție neurală, iar buza posterioară a blastoporului - inductor neural.

La mamifere există doi inductori : unul în nodul Hensen ("organizatorul") și celălalt în endodermul visceral anterior. Primul este esențial pentru inducerea structurilor axiale caudal de mezencefal, iar cel de-al doilea pentru inducerea prosencefalului.

Mecanismul exact al inducției neurale este încă un subiect de dezbatere. Există, în principal, două orientări. Prima dintre ele, care este cea clasică, se bazează pe un fenomen pozitiv. Potrivit acestuia, inductorul neural (organizatorul, care este nodul la amniote) acționează asupra ectoblastului pentru a genera două derivate : neuroectodermul, care rezultă din inducția neurală, și ectodermul de suprafață, care este un produs secundar al dezvoltării. În acest model, organizatorul secretă proteine care acționează ca molecule-semnal ce vor determina diferențierea ectoblastului în neuroectoderm. În absența acestor inductori, ectoblastul va lua calea secundară a dezvoltării, ce rezultă din absența evenimentelor inductive, și va deveni ectoderm de suprafață. Acest model se potrivește perfect cu modelul lui Spemann și s-a emis ipoteza că buza dorsală a blastoporului secretă o moleculă-semnal care acționează asupra ectoblastului și îl transformă în țesut neural.

Cea de-a doua teorie susține că inducția neurală este calea secundară de diferențiere a ectoblastului, calea principală fiind inducția epidermală datorată secreției unor molecule ca BMP 4 (bone morphogenetic molecule 4). Într-adevăr, când sunt cultivate in vitro, celulele ectoblastului adoptă spontan un fenotip neural (așa-numita auto-neuralizare). Când sunt cultivate în prezența BMP 4, aceste celule își schimbă fenotipul și devin epiderm. Această modificare de fenotip nu se produce dacă anumite celulele, care exprimă un receptor negativ și dominant pentru BMP 4, sunt cultivate în prezența BMP4. Concluzia acestor experimente este că celulele ectodermale sunt capabile să se diferențieze spontan în neuroni. BMP4 determină transformarea lor în celule epidermice, fiind agentul inducției epidermale. BMP4 este exprimat de celulele ectodermului lateral (viitorul epiderm) iar viitoarele celule neurale prezintă receptori pentru BMP4. Acest

model nu corespunde rezultatelor lui Spemann. Într-adevăr, buza dorsală a blastoporelui plasată în regiunea ventrală a unui embrion va fi expusă la concentrații ridicate de BMP4 și ar trebui să se transforme în epiderm. Totuși, în viitorul nevrx, acțiunea BMP4 este contracarată de către molecule produse de organizator și care joacă un rol anti-BMP4 (chordina, noggina, follistatina). Utilizând acest concept, modelul modern este următorul : în absența moleculelor antagoniste, BMP4 acționează la nivelul receptorilor săi și promovează inducția epidermală. Din contră, în apropierea nodului, BMP4 se leagă de moleculele anti-BMP4 produse de către nod și nu se leagă de receptorii săi. Acest model ar explica faptul că buza posterioară a blastoporelui grefată heterotopic induce formarea unui nevrx supranumerar [1].

Ca urmare a inducției neurale, la mijlocul săptămânii a treia a dezvoltării ectoblastul supracordal se diferențiază în neuroectoderm, iar celulele lui se disting prin aspectul lor columnar (placa neurală); restul ectoblastului devine epiderm. Aproximativ jumătate din ectoblast este inclus în placa neurală.

Placa neurală va genera sistemul nervos: tubul neural va forma sistemul nervos central, iar crestele neurale vor genera sistemul nervos periferic. Este interesant de observat că :

- placa neurală nu dă naștere numai sistemului nervos; din tubul neural se formează și retina, neurohipofiza, epifiza ; crestele neurale dau naștere și dermului cefalic, leptomeningelui și melanocitelor ;

- racordurile sistemului nervos periferic cu cel central fac ca unele fibre senzitive ale sistemului nervos central (cordoanele posterioare ale măduvei spinării, de exemplu) să fie de fapt prelungiri ale celulelor nervoase derivate din crestele neurale ; de asemenea, fibrele motorii ale rădăcinii anterioare (care aparțin sistemului nervos periferic) sunt prelungiri ale celulelor nervoase derivate din tubul neural (motoneuronii din coarnele anterioare ale măduvei spinării, de exemplu) ;

- unele părți ale sistemului nervos nu derivă din placa neurală, ci din placode epiblastice, ca de exemplu ganglionii Corti și Scarpa [2].

Neurulația se petrece diferit în diferite porțiuni ale corpului. Tubul neural din regiunile capului, trunchiului și a cozii se formează în moduri diferite ce reflectă relațiile inductive dintre endodermul faringial, placa precordală și notocord, pe de o parte și ectoblastul supraiacent pe de altă parte.

Există așadar două modalități de formare a tubului neural : neurulația primară și neurulația secundară. În cadrul neurulației primare, neuroectodermul devine un tub care se separă de ectodermul de suprafață. În neurulația secundară, ectodermul formează un cordon care ulterior se tunelizează. Aceste două mecanisme se realizează în continuitate, fără o delimitare strictă spațială sau temporală [1].

La pești neurulația este exclusiv secundară.

La păsări, porțiunea anterioară a tubului neural apare ca urmare a neurulației primare, în timp ce tubul neural caudal de perechea a 27-a de somite se formează prin neurulație secundară [3].

La amfibieni ca *Xenopus*, cea mai mare parte a tubului neural apare ca urmare a neurulației primare, dar la nivelul cozii tubul neural se formează prin neurulația secundară [4].

La șoareci (și probabil și la om) neurulația secundară începe la sau în jurul somitelor 35 [5, 6].

Neurulația primară

Procesul neurulației primare se desfășoară similar la amfibieni, reptile, păsări și mamifere [7]. La puțin timp după formarea plăcii neurale, marginile ei se îngroașă și se deplasează dorsal pentru a forma plicile neurale, în timp ce în centrul plăcii apare un șanț ce divizează părțile dreaptă și stângă ale embrionului. Plicile neurale migrează spre axul longitudinal al embrionului și vor fuziona pentru a forma tubul neural plasat ventral de ectoderm.

În timpul neurulației primare ectodermul original generează trei structuri celulare : tubul neural, care va forma nevrxul ; epidermul ; celulele creștelor neurale. Creștele neurale se formează în regiunea ce conectează tubul neural și epidermul, dar vor migra în alte regiuni ale corpului embrionului, unde vor genera neuronii periferici, ganglionii, celulele Schwann, masivul facial, melanocitele, ca și alte tipuri de celule. La păsări, celulele creștelor neurale nu migrează din regiunea dorsală până ce tubul neural nu se închide. La mamifere, celulele creștelor neurale din regiunea cefalică migrează în timp ce plicile neurale se ridică, deci înainte de închiderea tubului neural ; în regiunea măduvei spinării însă, celulele creștelor vor migra numai după ce tubul neural se va fi închis [8, 9].

Procesul neurulației primare poate fi împărțit în patru etape distincte, dar suprapuse spațial și temporal :

- formarea plăcii neurale ;
- modelarea plăcii neurale ;
- formarea șanțului neural ;

- închiderea șanțului neural și formarea tubului neural [10].

1. Formarea plăcii neurale

La embrionul de 18 zile apare o îngroșare a ectodermului care formează placa neurală, dispusă între nodul primitiv și membrana buco-faringiană, dorsal de canalul cordal, viitorul notocord [11].

Procesul de neurulație primară începe în locul în care mezodermul dorsal (respectiv endodermul faringial în regiunea capului) induce celulele ectodermale supraiacente ; acestea iau un aspect columnar și formează placa neurală [12]. Forma lor alungită le deosebește de celulele pre-epidermale care le înconjoară și care sunt mai turtite.

Placa neurală formează un relief în formă de rachetă cu axul mare cranio-caudal, cu extremitatea mai lărgită situată cranial.

2. Modelarea plăcii neurale

Placa neurală este modelată prin mișcările intrinseci care se petrec în regiunile epidermală și neurală ale ectodermului.

Ea se va modela prin alungire după axul antero-posterior și prin îngustare, astfel încât pliarea ei ulterioară va forma un tub și nu o capsulă sferică. La amfibieni și amniote, această modelare se realizează prin extensie convergentă (intercalarea unor straturi celulare între altele). Mai mult, diviziunile celulare în placa neurală se realizează în direcție rostro-caudală [13, 14, 15].

Aceste evenimente se petrec chiar dacă țesuturile implicate sunt izolate. Dacă placa neurală este izolată, celulele ei converg și formează o placă mai subțire, dar nu vor forma un tub. Dacă se izolează regiunea “de graniță” ce conține celule ce vor deveni atât epiderm cât și placă neurală, aceasta va forma plici neurale [16, 17].

3. Formarea șanțului neural

La sfârșitul celei de-a treia săptămâni, marginile laterale ale plăcii neurale se ridică realizând astfel șanțul neural.

Clasic, se consideră că pliarea plăcii neurale se datorează acțiunii mezodermului axial asupra plăcii neurale supraiacente, deoarece acest proces nu mai are loc dacă nodul lui Hensen este îndepărtat [12].

Formarea șanțului neural implică apariția regiunilor “balama”, zone în care tubul neural vine în contact cu țesuturile adiacente. În aceste regiuni, celulele epidermale aderă la marginile laterale ale plăcii

neurale, pe care le împing spre axul median al corpului embrionului.

La păsări și la mamifere, celulele situate pe linia mediană a plăcii neurale sunt denumite celule MHP (“median hinge point cells”). Ele derivă dintr-o porțiune a plăcii neurale situată imediat rostral de nodul lui Hensen, ca și din regiunea cea mai rostrală a acestui nod [3, 18, 19]. Celulele MHP se ancorează de notocordul subiacent și, sub influența inductoare a acestuia, își diminuează înălțimea și se îngustează la polul apical [12, 20]. Celulele situate lateral de MHP nu suferă o astfel de modificare.

La puțin timp după aceasta, două alte regiuni “balama” apar la granița dintre placa neurală și ectoderm. Aceste regiuni sunt denumite DLHPs (“dorsolateral hinge points”) și conțin celule care și ele se alungesc și se îngustează la polul apical [21].

În DLHPs, în modificarea formei celulelor sunt implicați microtubulii și microfilamentele. Colchicina, un inhibitor al polimerizării microtubulilor, inhibă alungirea acestor celule, în timp ce citochalasină B, un inhibitor al formării microfilamentelor, previne constricția apicală a acestor celule [22].

Placa neurală se pliază datorită acestor regiuni “balama”, fiecare dintre ele acționând ca un pivot ce direcționează rotația celulelor în jurul lui [10].

În același timp acționează unele forțe externe. Ectodermul de suprafață este esențial pentru pliarea corectă a plăcii neurale și formarea DLHPs [17, 23]. La embrionul de găină, ectodermul se împinge spre axul median al corpului, furnizând o altă forță care va plia placa neurală [23]. Această mișcare a prezumtivului epiderm și ancorarea plăcii neurale la mezodermul subiacent asigură invaginarea șanțului neural înspre corpul embrionului și nu evaginarea lui. Dacă se izolează mici porțiuni din placa neurală (incluzând mezoderm), acestea au tendința de a se rula în sens invers mișcării normale [24].

4. Închiderea tubului neural

La începutul celei de-a patra săptămâni (ziua a 21-a), când embrionul măsoară 3 mm, șanțul neural se închide luând forma tubului neural. Cele două plici neurale se unesc pe linia medio-dorsală, aderă una la cealaltă și celulele lor se amestecă. Înainte de fuzionarea plicilor neurale, din zona de graniță dintre șanțul neural și epiderm, de amândouă părțile, se detașează două cordoane longitudinale care reprezintă crestele neurale. Epidermul se reconstituie deasupra tubului neural flancat de cele două creste neurale.

Închiderea tubului neural nu se realizează simultan pe toată lungimea lui. Acest fapt se observă cel mai bine la acele vertebrate la care corpul se lungește înainte de neurulație (păsări, mamifere). Procesul începe în regiunea mijlocie a tubului, viitoarea regiune cervicală, și progresează atât în sens cranial cât și în sens caudal ; extremitățile lui se închid ultimele: extremitatea cranială (sau neuroporul anterior, viitoarea lamă terminală) se va închide spre ziua a 26-a, iar cea caudală (sau neuroporul posterior) spre ziua a 28-a. La păsări, închiderea tubului neural este inițiată în dreptul viitorului mezencefal și se extinde în ambele direcții. La mamifere, închiderea este inițiată în mai multe puncte pe axul antero-posterior [25, 26].

Tubul neural formează așadar un cilindru ce se va separa de ectodermul de suprafață. Se presupune că această separare este mediată unele molecule de adeziune celulară. Celulele care vor deveni tub neural exprimă la început E-cadherina, dar, pe măsură ce tubul neural se închide, ele vor înceta să mai producă această proteină și vor sintetiza în schimb N-cadherina și N-CAM (Fig. 4).

Ca urmare, ectodermul de suprafață nu va mai adera la tubul neural [21]. Experimental, dacă ectodermul de suprafață exprimă N-cadherina (prin injectarea de N-cadherin-mARN într-o celulă a unui embrion de *Xenopus* în stadiul bicelular), separarea tubului neural de viitorul epiderm nu se mai produce [27, 28].

Închiderea tubului neural este rezultatul acțiunii unor forțe intrinseci și extrinseci. Acest eveniment necesită o cooperare complexă între unii factori genetici și de mediu. Anumite gene, ca Pax3, sonic hedgehog sau openbrain sunt esențiale pentru formarea tubului neural la mamifere, dar și unii factori alimentari, ca de exemplu colesterolul și acidul folic, joacă un rol important. Se estimează că 50% din defectele de tub neural la om pot fi prevenite printr-o suplimentare zilnică de 0,4 mg acid folic (vitamina B12) a dietei femeilor gravide [29, 30].

Neurulația primară se încheie când neuroporul posterior se închide. În acest moment însă, sistemul nervos central este departe de a fi complet. Porțiunea caudală a acestuia se formează printr-un mecanism diferit denumit neurulație secundară.

Neurulația secundară

Acest proces implică existența unui cordon celular care se va transforma în tub neural. Din mugurele cozii provine o condensare de celule care se va tuneliza;

această porțiune a tubului neural nu se deosebește cu nimic de cea formată prin neurulația primară [1].

Neurulația primară și cea secundară se supun aceluiași mecanisme, ele acționând în continuitate în timpul dezvoltării embrionare [3].

Înțelegerea mecanismelor neurulației poate servi la interpretarea unor malformații așa-zise “ale liniei mediane”. De fapt, la nivelul tubului neural există două linii mediane : ventrală și dorsală. Linia ventrală corespunde liniei mediane a plăcii neurale și se diferențiază dintr-un primordiu unic : organizatorul [3]. Linia dorsală rezultă din fuziunea marginilor laterale ale plăcii neurale. Această fuziune este atât de puternică încât celule care provin din partea stângă se pot regăsi de partea dreaptă a liniei mediane [1]. Linia dorsală provine așadar din fuziunea a două primordii.

Datorită modului diferit de formare, Catala [1] diferențiază malformații ale liniei mediane ventrale și respectiv dorsale. La nivelul măduvei spinării situația este simplă, dar în telencefal linia mediană dorsală este de fapt placa comisurală. Axonii caloși nu sunt structuri mediane, ci sunt structuri laterale care traversează linia mediană. Absența plăcii comisurale este într-adevăr un defect al liniei mediane dorsale. O migrare anormală a axonilor caloși nu este însă un defect al liniei mediane dorsale. Această subdivizare ar putea servi la o clasificare a agenezilor de corp calos în sindroame mai omogene [1].

2. DIFERENȚIEREA TUBULUI NEURAL

Diferențierea tubului neural în regiuni ale sistemului nervos central se realizează simultan la trei nivele. La nivel anatomic, tubul neural se modelează pentru a forma creierul și măduva spinării. La nivel tisular, populațiile celulare din peretele tubului neural se rearanjează generând diferite regiuni funcționale ale nevraxului. În cele din urmă, la nivel celular, celulele neuroepiteliale se diferențiază în numeroase tipuri de neuroni și celule de susținere [21].

Diferențierea după axul cranio-caudal

Segmentarea cranio-caudală a tubului neural este cunoscută și descrisă încă din secolul al XIX-lea.

Clasic se consideră că regionalizarea tubului neural apare ca rezultat al modificărilor formei sale. De fapt, tubul neural este regionalizat după axul antero-posterior încă din momentul formării sale. Acest fapt este revelat de teritoriile de expresie ale unor gene, care împart tubul neural în regiuni distincte ce prefigurează viitoarele subdiviziuni anatomice ale sistemului nervos central [1].

Sistemul nervos al cordatelor și cel al artropodelor, deși structural foarte diferite, sunt specificate de același set de instrucțiuni genetice. La *Drosophila* au fost descrise mutații denumite homeotice, în care un segment al corpului este înlocuit de un alt segment (de exemplu un membru în locul unei antene). S-a demonstrat că identitatea unui segment este controlată de o singură genă, denumită genă homeotică deoarece prezintă o zonă centrală denumită homeobox ce codează factori transcripționali, proteine capabile de a lega ADN și de a modula transcripția lui. Gehring și De Robertis au clonat la vertebrate genele homeotice omologe *Drosophilei*. Aceste gene au fost clasate în patru familii denumite Hox a, b, c și d.

Genele Hox specifică poziția organelor de-a lungul axului antero-posterior al corpului. Inactivarea acestor gene duce la apariția unor malformații specifice unui segment. În mod similar, expresia ectopică a genelor Hox poate altera axul corpului.

Genele Hox sunt implicate în controlul segmentării la nivelul rombencefalului, fapt demonstrat experimental. Inactivarea genei *Hoxa-1* duce la reducerea sau chiar la lipsa de formare a rombomerelor 4 și 5, care reprezintă domeniul rostral de expresie al acestei gene [31, 32, 33]. Astfel, un rombomer reprezintă un segment al rombencefalului caracterizat de expresia unor gene specifice. Rombomerele pot fi văzute ca și compartimente individualizate în cursul ontogenezei, ale căror celule pot migra liber în cadrul aceluiași rombomer, dar nu și în rombomerele învecinate [34, 35].

Omologia unor gene structurale și similaritatea unor modele de expresie între genele Hox la *Drosophila* și la mamifere sugerează că acest mecanism de modelare a corpului este extrem de vechi.

Istmul rombo-mezencefalic este un organizator în sistemul nervos central embrionar. Această regiune secretă FGF8 - "fibroblast growing factor 8" [36]. Pe de altă parte, istmul este capabil să inducă apariția unui mezencefal ectopic dacă este implantat în regiunea caudală a prosencefalului. Mai mult, FGF8 acționează în același fel ca și celulele istmului, ceea ce indică faptul că FGF8 este molecula-semnal a acestei induceri [1].

La mulți embrioni și în special la cei ai amniotelor la nivelul sistemului nervos în dezvoltare există un gradient de maturitate cranio-caudal. La un embrion de găină de 24 de ore neurulația este avansată în regiunea

cefalică, în timp ce în regiunea caudală gastrulația este în curs. Regiunea cranială a tubului neural se dezvoltă înainte ca regiunea caudală a acestuia să se fi format, iar veziculele optice, dilatări secundare, se vor fi format deja în momentul în care regiunea posterioară a tubului neural se închide [21].

Această regiune cranială, în care tubul neural se dilată iar peretele lui se îngroașă, își va crește considerabil volumul și va suferi numeroase modificări; ea va genera encefalul. În rest, tubul neural rămâne un cilindru care se prelungește până în regiunea caudală a corpului embrionului și care va da naștere măduvei spinării.

Dilatarea primordiului embrionar al creierului este remarcabilă ca viteză și extindere, dar și prin faptul că, în stadiile precoce, ea este rezultatul creșterii în dimensiuni a cavităților și nu a creșterii tisulare. La păsări, volumul creierului crește de 30 de ori între zilele 3 și 5 ale dezvoltării. Această expansiune rapidă se pare că este produsă de presiunea pozitivă ce se exercită asupra pereților tubului neural din viitoarea regiune cefalică de către lichidul din lumenul tubului. Este de așteptat ca această presiune să fie disipată de măduva spinării, dar acest fapt nu se întâmplă, ci apare un alt fenomen: pe măsură ce plicile neurale se închid în regiunea dintre viitorul creier și viitoarea măduvă a spinării, structurile supraiacente presează și îngustează tubul neural [5, 37, 38]. Această ocluzie (care apare de altfel și la embrionul uman) separă efectiv regiunea creierului de cea a viitoarei măduvă a spinării [39]. Experimental, dacă se scade presiunea în porțiunea anterioară a tubului neural astfel ocluzat, creierul la păsări se mărește cu o viteză mult mai mică și conține mult mai puține celule decât la embrionul normal. Regiunea ocluzată a tubului neural se redeschide după dilatarea rapidă inițială a veziculelor cerebrale.

În jurul zilei a 25-a, porțiunea cranială a tubului neural prezintă trei vezicule: prozencefalul, mezencefalul și rombencefalul, care derivă din vezicula arhencefalică, unică [11]. Aceste vezicule sunt dispuse pe o curbă cu concavitatea ventrală.

Înainte de închiderea completă a tubului neural, creșterea este dominată de alungirea mai rapidă a părții dorsale în comparație cu partea ventrală a tubului neural, ceea ce obligă corpul embrionar să se ruleze. Acest fenomen antrenează formarea unei prime curburi cefalice, și anume curbura mezencefalică, între prozencefal și mezencefal (săptămâna a 6-a), urmată

de o a doua, curbura cervicală, între măduvă și rombencefal (săptămâna a 7-a) ; amândouă prezintă o concavitate ventrală [2].

În timpul primei jumătăți a cele de-a doua luni, începând cu ziua a 32-a, cele trei vezicule inițiale dau naștere la cinci vezicule : telencefalul și diencefalul (provenind din prozencefal), mezencefalul (ce rămâne neschimbat), metencefalul și mielencefalul (provenind din rombencefal).

Telencefalul va forma două evaginări laterale, emisferele cerebrale primitive. La două luni și

jumătate, veziculele telencefalice acoperă complet vezicula diencefalică. La rândul său, diencefalul va genera regiunile talamică, hipotalamică, metatalamică, subtalamică. Retina însăși este un derivat al diencefalului.

Mielencefalul devine bulb rahidian, ai cărui neuroni intervin în reglarea mișcărilor respiratorii, gastrointestinale și cardiovasculare. Metencefalul dă naștere punții și cerebelului.

Derivatele celor trei vezicule cerebrale sunt sistematizate în tabelul I.

VEZICULA PRIMARĂ	VEZICULA SECUNDARĂ	DERIVATE		LUMEN
		PLANȘEU	TAVAN	
prozencefal	telencefal	nuclei striati	cortex	ventriculi laterali peretele anterior al ventriculului al 3-lea
	diencefal	epifiză retină neurohipofiză talamus hipotalamus metatalamus subtalamus	lamina terminalis	ventriculul al 3-lea (cu excepția peretelui anterior)
mezencefal	mezencefal	pedunculi cerebrali	tuberculi cvadrigemeni	apeductul cerebral
rombencefal	metencefal	punte	cerebel, punte	ventriculul al 4-lea
	mielencefal	bulb pedunculi cerebeloși	pânză coroidă	ventriculul al 4-lea

Tabel I. Veziculele cerebrale și derivatele lor (după Encha-Razavi și Escudier 1999, completat).

Ulterior apare o a treia curbura, pontină, cu concavitatea dorsală, între mielencefal și metencefal.

Aceasta va marca amplasarea ventriculului al 4-lea. Ea apare în săptămâna a 5-a ca urmare a alungirii rombencefalului.

Descrierea stadiului de cinci vezicule este artificială, pentru că telencefalul se prezintă deja sub forma a două evaginări laterale ale diencefalului ; putem vorbi astfel de un stadiu de 6 vezicule.

Începând cu luna a 3-a a dezvoltării, fiecare dintre cele două vezicule telencefalice va prezenta câte o curbura

telencefalică ce vor da forma de potcoavă cu concavitatea anterioară viitoarelor emisfere cerebrale.

Foarte devreme, la nivelul prosencefalului și în teritoriul prezumptiv al diencefalului se dezvoltă lateral cele două vezicule optice. În continuare apar bulbul olfactiv, evaginație a telencefalului și mugurele neurohipofizei, evaginație a planșeului diencefalului [2].

Canalul neural va suferi și el modificări, generând sistemul ventricular.

Două teorii încearcă să explice formarea ventriculului al 4-lea. Prima, teoria lui Hiss, se bazează pe o

experiență realizată cu un tub de cauciuc care este pliat după ce a fost incizat longitudinal. Fanta astfel realizată se va deschide în formă de romb. Alți autori susțin că dezvoltarea ganglionului trigeminal va exercita o tracțiune la nivelul unghiului bulbo-pontin, care va duce la ecartarea în sens transversal a ventriculului al 4-lea.

Peretele tubului neural se îngroașă sau se subțiază, în funcție de nivel. Grosimea maximă se găsește la nivelul celor două vezicule telencefalice, viitoarele emisfere cerebrale. În anumite locuri, o subțiere considerabilă a peretelui va duce la formarea pânzelor coroidiene, care constau într-o alăturare a stratului ependimar unicelular și a leptomeningelui. La nivelul lor se vor diferenția plexurile coroide, care pătrund în ventriculii cerebrali, unde secretă lichidul cefalo-rahidian.

Diferențierea după axul dorso-ventral

Tubul neural este polarizat după axul dorso-ventral. De exemplu, în măduva spinării, regiunea dorsală conține neuroni senzitivi iar regiunea ventrală conține neuroni motori. Polarizarea tubului neural este indusă de semnale ce provin de la structurile vecine, regiunea dorsală fiind modelată de către epiderm iar regiunea ventrală de către notocord [21].

Modelarea regiunii ventrale a tubului neural este mediată de mai mulți factori. Unul dintre aceștia este proteina “Sonic hedgehog” (SHH), probabil originară din notocord. Un alt agent este acidul retinoic, care provine, probabil, din somitele adiacente [40].

Există un gradient de concentrație pentru proteina SHH ; acesta va induce formarea a diferite tipuri celulare. În notocord, SHH este procesată printr-un proces de scindare mediat de colesterol și secretată sub formă activă (porțiunea amino-terminală). Această proteină va induce celulele MHP care vor deveni lama bazală a tubului neural. Ele vor secreta de asemenea SHH ; astfel, concentrația acestei proteine va fi maximă în cea mai ventrală regiune a tubului neural [41, 42].

Diferitele concentrații de SHH determină grupele de neuroni să exprime diferite tipuri de factori de transcripție. Acești factori, la rândul lor, vor activa genele ai căror produși proteici vor conferi identitate neuronilor. Celulele adiacente lamei bazale, care primesc cea mai mare concentrație de SHH, vor deveni neuroni ventrali (V3), în timp ce următorul grup de celule, expus la concentrații mai mici de SHH, va genera neuronii motori. Următoarele două grupuri

celulare, ce primesc concentrații tot mai mici de SHH, vor deveni interneuroni V1 și V2.

SHH poate, de asemenea, să inhibe expresia genelor ce codează factorii de transcripție de la nivelul regiunii dorsale a tubului neural. Altfel, aceste gene s-ar exprima în tot tubul neural.

Importanța SHH în inducerea și modelarea regiunii ventrale a tubului neural poate fi demonstrată experimental. Dacă fragmente de notocord prelevate de la un embrion sunt transplantate în regiunea laterală a unui tub neural gazdă, acesta din urmă va forma o altă lamă bazală în această regiune laterală. Lama bazală, odată indusă, va induce la rândul ei formarea neuronilor motori. Aceleași rezultate se obțin dacă fragmentele de notocord sunt înlocuite cu celule de cultură ce produc SHH [43, 44]. Mai mult, dacă o porțiune de notocord este îndepărtată, tubul neural adiacent regiunii respective nu va mai prezenta lamă bazală [45, 46].

Modelarea regiunii dorsale a tubului neural este determinată de proteinele superfamiliei TGF- β și în special de BMP4 (bone morphogenetic protein), BMP7, dorsalină și activină [47, 48]. Inițial, BMP4 și BMP7 se găsesc în epiderm. Așa cum notocordul determină apariția unui semnalizator secundar (celulele lamei bazale) în regiunea ventrală a tubului neural, epidermul determină apariția unui semnalizator secundar prin inducerea expresiei BMP4 în lama alară a tubului neural. Acesta induce la rândul său o cascadă de proteine aparținând superfamiliei TGF- β în celulele adiacente. Diferite grupe de celule sunt astfel expuse unor concentrații diferite de proteine TGF- β , la momente diferite (cea mai dorsală regiune fiind expusă precoce la cei mai mulți factori, având concentrațiile cele mai mari). Gradientele temporale și de concentrație ale proteinelor superfamiliei TGF- β induc diferite tipuri de factori de transcripție în celule situate la diferite distanțe de placa dorsală, conferindu-le astfel identități diferite.

În concluzie, se poate spune că în zilele noastre anatomia dezvoltării nu mai este un domeniu strict al embriologului sau al anatomistului. Pentru patolog, ca și pentru clinician, anumite anomalii etichetate ca și “malformații” sunt înțelese prin prisma marilor etape ale morfogenezei și ale histogenezei. Pe de altă parte, majoritatea tablourilor de suferință fetală descrise în perioada neonatală depind de gradul de maturare a creierului și deci sunt cvasi-specifice unei vârste gestaționale date. În sfârșit, o mai bună cunoaștere a

dezvoltării cerebrale a permis stabilirea unor relații strânse și fiabile între datele morfologice, examenul clinic al copilului și activitatea bioelectrică a creierului, îndeosebi în cazul hipotrofiei fetale. gitala prin corpul embrionului B5 (col. HE, 4x).

Bibliografie

1. Catala M. From conception to the child. *Child's Nerv Syst* 1999 ; 15:613-9
2. Poirier J, Poirier I, Baudet J. *Embryologie humaine*. Eds. Maloine, ed. a 3-a, Paris 1993 : 221-49
3. Catala M, Teillet MA, De Robertis EM, Le Douarin ML. A spinal cord fate map in the avian embryo: while regressing, Hensen's node lays down the notochord and floor plate thus joining the spinal cord lateral walls. *Development* 1996 Sep;122(9):2599-610
4. Gont LK, Steinbeisser H, Blumberg B, de Robertis EM. Tail formation as a continuation of gastrulation: the multiple cell populations of the *Xenopus* tailbud derive from the late blastopore lip. *Development* 1993 Dec;119(4) : 991-1004
5. Schoenwolf GC, Desmond ME. Descriptive studies of occlusion and reopening of the spinal canal of the early chick embryo. *Anat Rec* 1984 Jun;209(2):251-63
6. Nievelstein RA, Hartwig NG, Vermeij-Keers C, Valk J. Embryonic development of the mammalian caudal neural tube. *Teratology* 1993 Jul;48(1):21-31
7. Gallera J. Primary induction in birds *Adv Morphogenet* 1971 ; 9: 149-180
8. Nichols DH. Neural crest formation in the head of the mouse embryo as observed using a new histological technique. *J Embryol Exp Morphol* 1981 Aug;64:105-20
9. Erickson CA, Weston JA. An SEM analysis of neural crest migration in the mouse. *J Embryol Morphol* 1983 Apr;74:97-118
10. Smith JL, Schoenwolf GC. Further evidence of extrinsic forces in bending of the neural plate. *J Comp Neurol* 1991 May 8;307(2):225-36
11. Grigorescu Sido F. *Tratat de neuroanatomie funcțională*. Casa Cărții de Știință, Cluj-Napoca, 2004 :24-6
12. Keller R, Shih J, Sater AK, Moreno C. Planar induction of convergence and extension of the neural plate by the organizer of *Xenopus*. *Dev Dynam* 1992 ;193:218-234
13. Jacobson AG, Sater AK. Features of embryonic induction. *Development* 1988 Nov;104(3):341-59
14. Schoenwolf GC, Alvarez IS. Roles of neuroepithelial cell rearrangement and division in shaping of the avian neural plate. *Development* 1989 Jul;106(3):427-39
15. Sausedo RA, Smith JL, Schoenwolf GC. Role of nonrandomly oriented cell division in shaping and bending of the neural plate. *J Comp Neurol* 1997 May 19;381(4):473-88
16. Jacobson AG, Moury JD. Tissue boundaries and cell behavior during neurulation. *Dev Biol* 1995 Sep;171(1):98-110
17. Moury JD, Schoenwolf GC. Cooperative model of epithelial shaping and bending during avian neurulation: Autonomous movements of the neural plate, autonomous movements of the epidermis, and interactions in the neural plate/epidermis transition zone *Dev Dynam* 1995 ;204: 323-337
18. Schoenwolf GC. Cell movements driving neurulation in avian embryos *Development* 1991 [Suppl.]: 157-168
19. Schoenwolf, GC. Cell movements in the epiblast during gastrulation and neurulation in avian embryos. In R. Keller et al. (eds)., *Gastrulation*. Plenum, New York, pp. 1-28
20. Straaten van HW, Hekking JW, Wiertz-Hoessels EJ, Thors F, Drukker J. Effect of the notochord on the differentiation of a floor plate area in the neural tube of the chick embryo. *Anat Embryol (Berl)* 1988;177(4):317-24
21. Gilbert SF. *Developmental Biology*. Sinauer Associates, Inc., ediția a 6-a, 2003
22. Nagele RG, Lee HY. Studies in the mechanism of neurulation in the chick. Morphometric analysis of the relationship between regional variations in cell shape and sites of motive force generation *J Exp Biol* 1987 ; 24:197-205
23. Alvarez IS, Schoenwolf GC. Expansion of surface epithelium provides the major extrinsic force for bending of the neural plate. *J Exp Zool* 1992 Mar 1 ; 261(3):340-8
24. Schoenwolf GC. Cell movements driving neurulation in avian embryos *Development* 1991[Suppl.]: 157-168.

25. Golden JA, Chernoff GF. Intermittent pattern of neural tube closure in two strains of mice. *Teratology* 1993 Jan;47(1):73-80
26. Allen van MI, Kalousek DK, Chernoff GF, Juriloff D, Harris M, McGillivray BC, Yong SL, Langlois S, MacLeod PM, Chitayat D, et al. Evidence for multi-site closure of the neural tube in humans. *Am J Med Genet* 1993 Oct 1;47(5):723-43
27. Detrick RJ, Dickey D, Kintner CR. The effects of N-cadherin misexpression on morphogenesis in *Xenopus* embryos. *Neuro*. 1990 Apr;4(4):493-506
28. Fujimori T, Miyatani S, Takeichi M. Ectopic expression of N-cadherin perturbs histogenesis in *Xenopus* embryos. *Development*. 1990 Sep;110(1):97-104
29. Milunsky A, Jick H, Jick SS, Bruell CL, MacLaughlin DS, Rothman KJ, Willett W. Multivitamin/folic acid supplementation in early pregnancy reduces the prevalence of neural tube defects. *JAMA* 1989 Nov 24;262(20):2847-52
30. Czeizel AE, Dudas I. Prevention of the first occurrence of neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *N Engl J Med* 1992 Dec 24;327(26):1832-5
31. Carpenter EM, Goddard JM, Chisaka O, Manley NR, Capecchi MR. Loss of Hox-A1 (Hox-1.6) function results in the reorganization of the murine hindbrain. *Development* 1993 ;118 :1063-75
32. Dollé P, Lufkin T, Krumlauf R, Mark M, Duboule D, Chambon P. Local alterations of Krox-20 and Hox gene expression in the hindbrain suggest lack of rhombomeres 4 and 5 in homozygote null Hoxa-1 (Hox-1.6) mutant embryos. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 :7-70
33. Mark M, Lufkin T, Vonesch JL, Ruberte E, Olivo JC, Dollé P, Gorry P, Lumsden A, Chambon P. Two rhombomeres are altered in Hoxa-1 mutant mice. *Development* 1993 ; 5 :1062-75
34. Fraser S, Keynes R, Lumsden A. Segmentation in the chick embryo hindbrain is defined by cell lineage restrictions. *Nature* 1990 ; 344 :431-5
35. Guthrie S, Lumsden A. Formation and regeneration of rhombomere boundaries in the developing chick hindbrain. *Development* 1991 May;112(1): 221-9
36. Crossley PH, Martinez S, Martin GR. Midbrain development induced by FGF8 in the chick embryo. *Nature* 1996 ;380 :66-8
37. Desmond ME, Schoenwolf GC. Evaluation of the roles of intrinsic and extrinsic factors in occlusion of the spinal neurocoel during rapid brain enlargement in the chick embryo. *J Embryol Exp Morphol* 1986 Sep;97:25-46.
38. Desmond ME, Field MC. Evaluation of neural fold fusion and coincident initiation of spinal cord occlusion in the chick embryo. *J Comp Neurol* 1992 May 8;319(2):246-60
39. Desmond ME. Description of the occlusion of the spinal cord lumen in early human embryos. *Anat Rec* 1982 Sep;204(1):89-93
40. Pierani A, Brenner-Morton S, Chiang C, Jessell TM. A sonic hedgehog-independent, retinoid-activated pathway of neurogenesis in the ventral spinal cord. *Cell* 1999 Jun 25;97(7):903-15
41. Roelink H, Porter JA, Chiang C, Tanabe Y, Chang DT, Beachy PA, Jessell TM. Floor plate and motor neuron induction by different concentrations of the amino-terminal cleavage product of sonic hedgehog autoproteolysis. *Cell* 1995 May 5;81(3):445-55
42. Briscoe J, Sussel L, Serup P, Hartigan-O'Connor D, Jessell TM, Rubenstein JL, Ericson J. Homeobox gene Nkx2.2 and specification of neuronal identity by graded Sonic hedgehog signalling. *Nature* 1999 Apr 15;398(6728): 622-7
43. Eckelard Y, Epstein DJ, St-Jacques B, Shen L, Mohler J, McMahon JA, McMahon AP. Sonic hedgehog, a member of a family of putative signaling molecules, is implicated in the regulation of CNS polarity. *Cell* 1993 Dec 31;75(7):1417-30
44. Roelink H, Augsburger A, Heemskerk J, Korzh V, Norlin S, Ruiz i Altaba A, Tanabe Y, Placzek M, Edlund T, Jessell TM, et al. Floor plate and motor neuron induction by vhh-1, a vertebrate homolog of hedgehog expressed by the notochord. *Cell* 1994 Feb 25;76(4):761-75
45. Placzek M, Tessier-Lavigne M, Yamada T, Jessell T, Dodd J. Mesodermal control of neural cell identity: floor plate induction by the notochord. *Science* 1990 Nov 16;250(4983):985-8
46. Yamada T, Pfaff SL, Edlund T, Jessell TM. Control of cell pattern in the neural tube: motor neuron induction by diffusible factors from notochord and floor plate. *Cell* 1993 May 21;73(4):673-86
47. Liem KF Jr, Tremml G, Roelink H, Jessell TM. Dorsal differentiation of neural plate cells induced by BMP-mediated signals from epidermal ectoderm. *Cell* 1995 Sep 22;82(6):969-79

48. Liem KF Jr, Tremml G, Jessell TM. A role for the roof plate and its resident TGFbeta-related proteins in neuronal patterning in the dorsal spinal cord. Cell 1997 Oct 3;91(1):127-38