



Morfogénesis preembrionaria

Jesús Manuel Rodríguez Ramírez ¹ .

¹ Doctor en Ciencias UCV. Profesor Asociado, Jefe de Cátedra de Anatomía Normal y del Departamento de Ciencias Morfológicas. Universidad Central de Venezuela, Escuela de Medicina "José María Vargas", Edificio I, Plaza San Lorenzo, San José, Caracas, Venezue drjmrodriguezr@yahoo.es

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 05 de Julio del 2016 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

RESUMEN

Objetivo: conocer la formación, ubicación espacial, crecimiento y maduración actualizadas de cada componente anatómico en el período preembrionario y los fenómenos biológicos que los rigen. Materiales y métodos: revisión de investigaciones recientes que muestren fases iniciales y participación de morfógenos en las primeras dos semanas y media del desarrollo. Resultados: el desarrollo preembrionario tiene fases continuas y factores moleculares generados por codificación genética o presentes en el ambiente que permiten la expresión o no de los genes en el proceso de formación del nuevo organismo. Discusión: La diferenciación celular, crecimiento, migración, inducción y apoptosis son influenciadas por multitud de morfógenos, algunos de ellos repiten su presencia pero no tienen la misma acción por efecto de la metilación del ADN o de histonas, que difiere acorde al momento del desarrollo mismo: todo ello ocurre mientras el cigoto pasa por morulación, blastulación, implantación y gastrulación, alargándose al final del período considerado.

PALABRAS CLAVE: Morfogénesis, Embriología, Biología del desarrollo

PRE-EMBRYONIC MORPHOGENESIS

SUMMARY

Objective: To know the formation, space ubication, growth, and maturation of each one of the anatomical compounds in pre-embryonic period and biological guidance phenomenon.

Methods: review of new researches about initial phases and actuation of morphogens in the first three weeks of development. Results: there are presence of continuous phases and molecular gene-codified factors in all preembrionic phases that allow gene expression or not in development. Discussion: cell differentiation, growth, migration, induction and apoptosis are influenced by many morphogens, some of them twice or more, but with different result due to methylation of DNA or hystones, while occur phases of morula, blastula, implantation and gastrulation, with final elongation of blastocyst.

KEY WORDS: Morphogenesis, Embryology, Developmental Biology

MORFOGÉNESIS PREEMBRIONARIA

MORFOGÉNESIS PREEMBRIONARIA BÁSICA

Las células germinales mediante la gametogénesis a nivel gonadal (testículos y ovarios) dan origen respectivamente y por meiosis a las células reproductoras masculina -espermatozoides- y femenina -ovogénesis-. Todo se inicia cuando -producto *generalmente* de un apareamiento-, un espermatozoide haploide, luego de ingentes esfuerzos, se encuentra con una inmensa mole redondeada y rodante, con diámetro varias veces mayor que él: un óvulo -también haploide-, y logra localizar el único sitio de su superficie por donde puede penetrarlo: entonces ocurre su decapitación, pues solo penetra su porción cefálica, la citada célula reproductiva femenina se hará de su carga genética y expulsará al exterior hasta al capuchón craneal que lo transportaba.

En su interior se encontrarán los 23 cromosomas de cada uno con su homólogo, reconstituyéndose así el número diploide común humano (23 pares) y estableciéndose el sexo de la nueva criatura pues el óvulo siempre es X, es el espermatozoo el que llevará cromosoma X ó Y; esa es la fertilización en la que el nuevo espécimen implica una muerte: la del portador varonil y la continuidad del femenino, ahora fecundado, que viaja hacia el sitio de implantación definitivo, en el fondo uterino. (Figura 1).

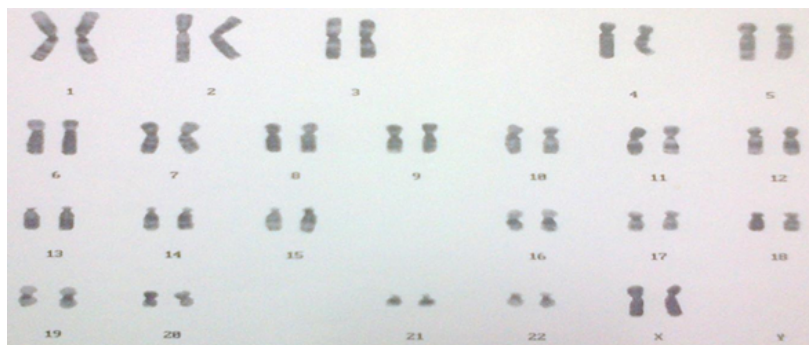


Figura 1. Cariotipo normal XX.

Las discusiones acerca de cuándo se inicia la vida no forman parte de éste trabajo sino de textos teológicos que cada quien considere: en ningún momento de los hechos narrados antes deja de haberla, primero porque óvulo y espermatozoide son células vivas, después se tornan una sola, también con vida, pasa cerca de nueve meses para formar sus partes que le

son propias, y luego desarrollándolas, siempre como células vivas. Discernir si esa vida se hereda o se transmite tampoco se trata aquí, el concepto de vida –como el de sexo- es biológico y el de alma, espíritu o similares –como el de género- es social o teológico, según el



caso. (Figura 2).

Figura. 2. Microfoto. Células haploides: Óvulo (izquierda) y espermatozoide (derecha).

No siempre la formación de nuevas criaturas ocurre de manera apropiada, por diversas causas –en genes, cromosomas o medio ambiente- puede alterarse cualquier paso que implica interrupción de secuencias naturales. Los humanos, -ahora más tolerantes-, no arrojan por una montaña Taigeto (con 2400 Mts. de altura) a los niños malformados o con defectos físicos como en Grecia antes, sino que los acoge, habilita y educa según sus capacidades y potencialidades: ya no dependen del veredicto de una deidad que, si sobrevivían a semejante caída, era indicación a los mortales de que los críasen; con sus altibajos, la Humanidad parece más encaminada a la grandeza que a la decadencia, pese a las decisiones posibles a tomar con un diagnóstico precoz.⁽¹⁻³⁾

Conocer los diferentes aspectos en torno a la manera en que se forman las nuevas generaciones de seres vivos permite identificar tanto la normalidad como las variantes convencionales y las anomalías que pueden presentarse a nivel individual. *Morfología* es una extensa parte de las Ciencias Naturales que comprende el origen -Embriología, con inclusión de conceptos de Genética, Bioquímica, Anatomía y Fisiología-, conformación definitiva convencional (Anatomía) y aspecto microscópico (Histología) de los seres vivos. *Morfogénesis* es el conjunto de fenómenos biológicos (codificados en los genes) que permiten que los seres vivos desarrollen su forma y ubicación espacial durante la aparición, crecimiento y maduración de cada uno de sus componentes en la inicial embriogénesis y en la siguiente organogénesis. Para ello se vale de los mecanismos morfogenéticos: diferenciación celular, crecimiento, migración, inducción y muerte celular o apoptosis.⁽⁴⁻⁵⁾

Esos procesos dependen de los morfógenos, que son moléculas que dependiendo de su concentración, participan en la morfogénesis: los factores proteicos de transcripción que contribuyen a la ubicación celular final, los factores proteicos de adherencia (cadherinas), las integrinas que permiten la existencia de la matriz extracelular (formada por laminina, fibronectina y colágeno) que sirve para las migraciones, etc.⁽⁶⁾

El medio juega un papel importante, porque es el que provee micronutrientes (zinc, calcio, cobre, etc.) y otras sustancias más complejas (folatos, proteínas) indispensables para el inicio y

continuidad de gran cantidad de mecanismos anabolizantes y catabolizantes normales, por eso sus fallas durante períodos tempranos del desarrollo pueden resultar en alteraciones del mismo. (7-9) También hay que tomar en cuenta posibilidad de que anomalías genéticas pueden resultar en biodisponibilidad alterada de esos micronutrientes, como en el síndrome recesivo de Menken –con cobre deficitario- o la hereditaria enfermedad de Wilson –por exceso de su acumulación-.⁽¹⁰⁾ Es muy conocida la relación entre deficiencias de ácido fólico y neuromalformaciones severas al provocar merma en la capacidad de multiplicación y migración que impiden parcialmente el cierre del tubo neural, el alcohol consumido en esos primeros días puede no permitir que el sitio blanco sea alcanzado por la inducción sino otro, igual hacen muchos fármacos, tóxicos, componentes inapropiados de dietas y otros compuestos orgánicos.⁽¹¹⁻¹³⁾

MORFOGÉNESIS PREEMBRIONARIA BÁSICA II

Las nanopartículas son partes de elementos químicos con menos de 100 nm de diámetro, son destinados a industrias y productos de uso doméstico (oro, plata, cobre, platino, magnesio, níquel, zinc); se estudian los efectos de ellas en embriones humanos puesto que atraviesan bien la barrera hematoencefálica fetal y se sabe de alteraciones que provocan en gran cantidad de procesos metabólicos, a modo de virus, en el ADN del hospedador, en otras especies.^(10, 14-17) De los fármacos y tóxicos es redundante referirse a ellos como factores que interfieren el desarrollo normal, al igual que zoonosis parasitarias, virus y otros patógenos.⁽¹⁸⁾ (Figura 3).

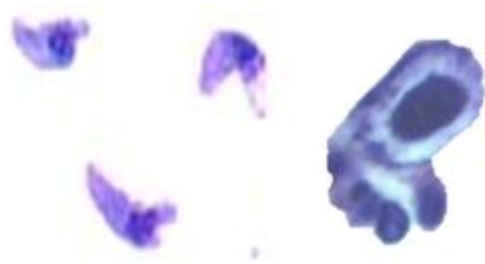


Figura 3. Microfoto. H.E. Izq.: Grupo de taquizoitos de *Toxoplasma gondii*, es la forma invasiva y de reproducción asexual de este protozooario apicomplejo. Der.: Inclusiones de Citomegalovirus con halo perinuclear claro típico, en células pulmonares infectadas.

Diferenciación: cuando las células cambian de forma y de funciones –o las adquieren distintas a su origen-, con memoria que se transmite a las células hijas. *Crecimiento* es modificación positiva de peso, volumen y/o área; es mediado por factores de crecimiento (FC): epidérmico, neuronal, de insulina, fibroblástico, de eritropoyetina, de tejido conectivo, etc. *Migración* es la cinética resultante de reubicación celular, ocurre por adherencia o por reconocimiento celulares; para ello la fibronectina guía el traslado y el colágeno revela el sitio definitivo; la adhesividad depende de moléculas glicoproteicas de adhesión que desaparecen al inicio de la migración y se activan al llegar al sitio de destino.^(19, 20)

Inducción es cuando las células o estructuras embrionarias influyen para que otras se diferencien o mueran, por ejemplo, la proteína FRA-2 induce la diferenciación de queratinocitos a células constituyentes de la epidermis.⁽²¹⁾ Son inductores neurales: el ácido retinoico, el factor de crecimiento fibroblástico, el factor de crecimiento transformador (TGF) que incluye a las proteínas BMP o morfogenéticas óseas, el factor Sonic hedgehog que actúa también en la diferenciación neuronal motriz de astas anteriores medulares, el TGF- β que hace lo mismo con las neuronas de las posteriores.⁽²²⁻²⁵⁾

Los mecanismos de inducción necesitan de un control o señalización endógena, molecular, la cual es también controlada genéticamente, sirven para que la señal llegue a su sitio diana y que lo haga en el tiempo adecuado y con la duración apropiada; se vale para ello de activación o inhibición según el caso, de receptores, proteincinasas, tirosincinasas, serina treoninacinasas, presencia de gradientes de difusión, reconocimiento de la diana específica, mediación de señalizadores como nogina y cordina, etc.

La *apoptosis o muerte programada* permite que otro grupo celular sobreviva, ejemplos: parte de cola embrionaria, las formaciones faríngeas, parte de notocorda; hay varios inductores de apoptosis conocidos: mitocondriales (regulados por proteínas proapoptóticas Bcl-2 y otras), extracelulares (factor de necrosis tumoral, por ejemplo) y factores que la controlan, como el complejo cisteinil-aspartato, y otras proteasas que activan a las endonucleasas.^(26, 27)

Aunque todas las células tienen el mismo cariotipo (salvo los gametos), las características propias de cada espécimen (*expresión genética*) permite la diferenciación celular con diversidad citológica y funcional; frecuentemente se producen cambios heredables que modifican la expresión de los genes sin alterar la secuencia del ADN, esas innovaciones – estudiadas por la *Epigenética* y que pueden persistir en varias generaciones- pueden deberse a factores ambientales que van desde la dieta, las adicciones, las enfermedades a las que se exponen, influencia geográfica o la polución del medio (es decir, causas ambientales), hasta la edad o el sexo. La expresión genética es un proceso esencial para mantener la diferenciación de las células, tanto en su estructura como en su función pues cuando ellas nacen portan el mismo contenido genético, pero al desarrollarse divergen hasta convertirse en células diferentes debido, en parte, a los cambios epigenéticos de su ADN.

Los cambios epigenéticos en el neurodesarrollo temprano ocurren por modulación de la actividad de genes: activación o inactivación de la transcripción de uno o varios genes o grupos de ellos silenciados cuando otros están expresándose *en ciertos períodos de tiempo*, los más comunes son la *metilación* -que inhibe- y *acetilación* -que dinamiza- de aminoácidos *de histonas* (proteínas que forman el nucleosoma o eje de enrollamiento del ADN dentro de cromosomas) y la *metilación del ADN*.^(28,29)

La metilación del ADN es un proceso reversible mediante el cual la codificación genética puede ser interpretada de diferente manera según la etapa del desarrollo ^(30,31); es regido en buena parte por el gen methyl-CpG binding protein 2 (MECP 2) que muestra una normal variabilidad según el género, a nivel autosómico.^(32,33) Las uniones entre citosina y guanina (dinucleótidos CpG) son más abundantes en las áreas de inicio de transcripción génica ("*islas CpG*"), si allí la citosina se metila *temporalmente* a 5'-metil-citosina, se inactiva el proceso

(28,29); esa misma metilación también influye en cambios trofoblásticos que culminan al lograr formarse la placenta, por lo que es un factor importante en la implantación del cigoto en el fondo uterino.⁽³⁴⁾ Actualmente se usan y siguen desarrollándose fármacos con principios epigenéticos para modificar metilaciones y acetilaciones en el transcurso de algunas enfermedades oncológicas.

Por otra parte, el medio interno debe mantener normal variabilidad de algunos elementos orgánicos: la disminución de la concentración de una molécula lipídica esteroidea hidrófoba, el colesterol neuronal hipocampal, está relacionada con el envejecimiento de esa estructura, sospechándose ahora que esto juega importante papel en la apoptosis temprana, así como también en las dificultades de aprendizaje y memoria de la senectud.⁽³⁵⁾ (Figura 4).

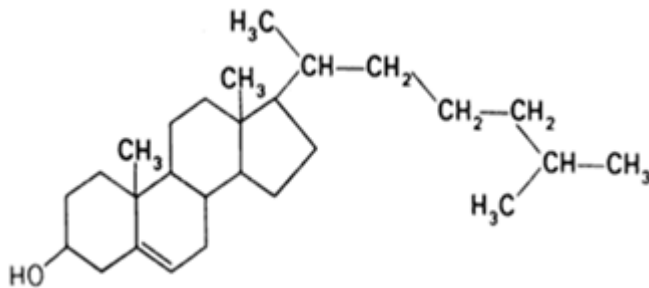


Figura 4. Molécula de colesterol, con cuatro carbociclos que forman un complejo ciclopentanoperhidrofenantreno con una cabeza polar (OH, a la izquierda) y una cola apolar de núcleos condensados, en el otro extremo.

La embriogénesis entonces se inicia al fusionarse el núcleo del espermatozoide con el del óvulo. Por lo anteriormente descrito, las células del nuevo ser vivo pasan por etapas de *proliferación* en número, *migración* hacia su destino final, *diferenciación* hacia su aspecto definitivo, *crecimiento* en tamaño y *maduración* hasta lograr plenamente sus características funcionales.

La diferenciación ocurre porque hay gradientes de información posicional (concentraciones distintas moleculares) que son las que gobiernan la formación y evolución de nuestra simetría bilateral y nuestros ejes ánteroposterior y cráneo-caudal; es influida por el medio interno (fármacos y otras sustancias químicas o biológicas, hormonas, etc.) y externo (radiaciones) por ser parte de un sistema biológico, es interdependiente y simultáneo, como lo es también el posterior neurodesarrollo –entendido como el desarrollo psiconeurológico, con la conducta y cognición siguiendo al desarrollo de la motricidad-.^(36,37) Por diferenciación es que hay diversidad celular y de tejidos. (Figura 5).

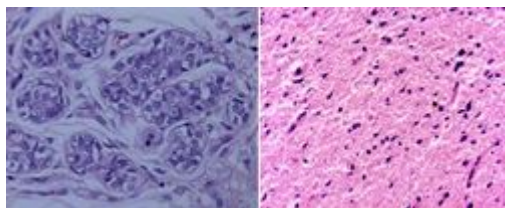


Figura 5. Microfoto. H.E. Tejidos diferenciados: epitelial glandular (Izq.) y nervioso (Der.).

El desarrollo humano normal tiene tres períodos: preembrionario, embrionario y fetal; clásicamente, se ha utilizado los *Estadios Carnegie* que toman en cuenta el día del desarrollo, los cambios ocurridos y la longitud en milímetros, se enumera desde el estadio 1 que es cuando el óvulo es fertilizado (primer día), la fase de mórula los días 2 y 3 (estadio 2), y así sucesivamente, hasta el día 57 con cabeza redonda y párpados fusionados, correspondiente al estadio 23, con 27-31 mm.⁽³⁸⁾ También se usan para medir la cronología del desarrollo temprano al número de somitas: a los 20 días hay entre 1 y 4 somitas, día 21: 4-7, 22: 7-10, 23: 10-13, 24: 13-17, 25: 17-20, 26: 20-23, 27: 23-26, 28: 26-29, 29: 29-34, 30: 34-35 somitas.⁽⁵⁾

PERÍODO PREEMBRIÓNARIO

comprende desde la fecundación y el viaje del *cigoto* de 3-5 días (segmentándose mientras, por mitosis) hasta el fondo uterino (implantación), incluye los cambios desde *mórula* de hasta 32 células al 4° día –compacta, debe su nombre al parecido con la pequeña baya polidrupa del género arbóreo *Morus* o de la zarza *Rubus* - hasta *blastocisto* o *blástula* al 5° o 6° día –cavitada y de mayor volumen, significa “lo pequeño que germina”-.⁽⁵⁾ Hoy es posible determinar en esta temprana etapa de blastocisto si hay o no alteraciones cuando la fertilización es in vitro.⁽³⁾

La *implantación* es en el séptimo, *gastrulación* cerca del 14° día (“vientre, saco o estómago pequeño”) que es cuando se agrupan las células en una capa germinativa orientada hacia afuera –*ectodermo*- y otra hacia la cavidad –*endodermo*-: es el *disco germinativo bilaminar* el cual, un par de días después se torna *trilaminar* al migrar parte del ectodermo a través de la *línea primitiva* y separar ésta nueva capa o *mesodermo* a las dos ya citadas (días 16 a 18) que en algunos textos denominan *ectomesénquima*. El ectodermo ha sido bien estudiado, aparece cuando las proteínas morfogénicas BMP4 y 7 se activan e interactúan con el ácido retinoico y la cordina (codificada por el gen CHRD).^(25,39) (Figura 6).



Figura 6. Microfoto. Mórula (izquierda), blastocisto de 5 días (centro) y gástrula (derecha).

Esa línea primitiva se ubica en el dorso del disco bilaminar hacia su parte caudal, estableciéndose así el eje embrionario, su extremo anterior llega hasta poco menos de la mitad de dicho disco; factores como el gen HNF-3beta –factor nuclear hepático- y el gen T permiten aparición de un engrosamiento o *nodo organizador* (“de Hensen”) en ese extremo anterior de la línea, el cual rige que, una vez establecida la tercera capa embrionaria, y por acción inductora de BMP-4 –proteína morfogénica ósea- se desarrolle el mesodermo lateral e intermedio (en la parte ventral del disco), y después, por acción del gen HNF-3beta y el gen T –codificantes de cordina, nodal, nogina y folistatina-, al mesodermo dorsal con sus derivados: notocorda y somitas.⁽⁶⁾ Finalmente, se establecen cinco tipos de mesodermo: el precordial

(forma tejido conjuntivo), central o cordal (forma la notocorda), axial (se segmenta en somitas), intermedio (forma el sistema urinario y reproductor) y lateral (forma el sistema cardiovascular).

Aparece la *notocorda* mesodérmica o soporte axial del embrión -que tiene un conducto central y persiste luego como núcleo pulposo del disco intervertebral- que induce el inicio de la formación del sistema nervioso -*placa neural*- desde el día 18 y la aparición de los primeros *somitas* de la siguiente manera: se condensan bandas mesodermales a cada lado que van apareciendo procedentes de la migración de parte del ectodermo por la línea primitiva ocurrida durante la gastrulación: es el mesodermo axial no segmentado.

Al iniciarse el cierre del tubo neural (4ª semana) ese mesodermo se reorganiza en pequeños bloques pares a ambos lados del mismo: son los somitas, 40 pares, que no aparecen todos simultáneamente sino según avanza el desarrollo embrionario, se van individualizando, y muchos ya han desaparecido cuando se presentan los últimos en la 6ª semana. Finaliza este período preembrionario en mitad de la 3ª semana, al alargarse el embrión.⁽⁵⁾

En resumen, así ocurren el origen, ubicación espacial, crecimiento y maduración de componentes morfológicos básicos en las dos primeras semanas y media del desarrollo y los fenómenos biológicos que los rigen; la morfogénesis preembrionaria tiene fases continuas y factores moleculares generados por codificación genética o presentes en el ambiente que permiten la expresión o no de los genes en el proceso de formación del nuevo organismo. La diferenciación celular, crecimiento, migración, inducción y apoptosis son rectorizadas por multitud de morfógenos, algunos de ellos repiten su presencia pero sin la misma acción por efecto de la metilación del ADN o de histonas, que difiere acorde al momento del desarrollo mismo; mientras, el cigoto pasa por morulación, blastulación, implantación y gastrulación, alargándose al final del período considerado.

REFERENCIAS

¹ Del Rosario A, Flores F. Frecuencia de malformaciones congénitas en el Servicio de Neonatología del Hospital General de México. Rev Mex Ped 2003; 701: 128-31.

² Tico V, Beghim M. Anencephaly: pitfalls in pregnancy outcome and relevance of the prenatal exam. Rom J Morphol Embryol 2009; 50: 295-7.

³ Yan L. Live births after simultaneous avoidance of monogenic disorders and chromosome abnormality big next-generation sequencing with linkage analysis. Proc Natl Acad Sci Usa 2015 Dec 29; 112(52): 15964-9.

⁴ Moore K, Persaud T. (2013). Embriología clínica. 9ª edición. Elsevier Saunders.

⁵ Sadler T (2015). Langman Embriología médica. 12ª edic. Edit. Wolters Kluwer Lippincott Williams y Wilkins.

⁶ Purves D. (2016). Neurociencia. 5ª Ed. Edit. Médica Panamericana.

- ⁷ Cousins R. Metal elements and gene expression. *Ann Rev Nutr* 1994; 14: 449-69.
- ⁸ MacDonald R. The role of zinc in growth and cell proliferation. *J Nutr* 2000; 130: 1500S-1508S.
- ⁹ Sanes J. Extracellular matrix molecules that influence neural development. *Annu Rev Neurosci* 1989; 12: 491-516.
- ¹⁰ Campbell A, Hamai D. Differential toxicity of aluminium salts in human cell lines of neural origin. *Neurotoxicity* 2001; 22(1): 63-71.
- ¹¹ Butterworth C, Bendich A. Folic acid and the prevention of birth defects. *Ann Rev Nutr* 1996; 16: 73-97
- ¹² Cuskelly G, McNulty H. Effect of increasing dietary folate on red-cell folate: implications for prevention of neural tube defects. *Lancet* 1996; 347: 657-9.
- ¹³ Spencer J. Flavonoids: modulators of brain functions? *Br J Nutr* 2008; 99E SUPPL: 2560-77.
- ¹⁴ Celá A, Veselá B. Embryonic toxicity of nanoparticles. *Cells tissues organs* 2014; 199: 1-23.
- ¹⁵ Hoelting L, Scaenhardt B. A 3-dimensional human embryonic stem cell-derived model to detect developmental neurotoxicity of nanoparticles. *Arch Toxicol* 2013; 87: 7821-33.
- ¹⁶ Myllynen P; Loughran C. Kinetics of gold nanoparticles in the human placenta. *Reprod Toxicol* 2008; 26: 130-7.
- ¹⁷ Wick P, Malik P. Barrier capacity of human placenta for nanosized materials. *Environ Health Perspect* 2010; 118: 432-6.
- ¹⁸ Wise L, Buschmann M. Embryo-fetal developmental toxicity study design for pharmaceuticals. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 2009; 86: 418-28.
- ¹⁹ Anderson S, Eisenstat D. Inter neuro migration from basal forebrain to neocortex: dependence of dlx genes. *Science* 1997; 278: 474-6
- ²⁰ Hatten M. The role of migration in CNS neuronal development. *Curr Opin Neurobiol* 1993; 3: 38-44.
- ²¹ Wurm S, Zhang J, Guinea A. Terminal epidermal differentiation is regulated by the interaction of Fra7 2/AP71 with Ezh2 and ERK1/2. *Genes and development* 2015; Doi: 10.1101/gad.249748.114
- ²² Ericson J, Montor A. Two critical periods of sonic hedgehog signaling required for the specification of motor neuroidentity. *Cell* 1996; 87: 661-73.
- ²³ Jessell T, Melton D. Diffusible factors in vertebrate embryonic induction. *Cell* 1992; 68:

257-270.

²⁴ Kessler D, Melton D. Vertebrate embryonic induction: mesodermal and neural patterning. *Science* 1994; 266: 596-604.

²⁵ Lamantia A, Colbert M. Retinoic acid induction and regional differentiation prefigure olfactory pathways formation in the mammalian forebrain. *Neuron* 1993; 10: 1035-1048.

²⁶ Gilbert S. (2003). *Biología del desarrollo*. 7ª Ed. Edit. Médica Panamericana. P. 881.

²⁷ Martinez A. (2002). *Molecular principles of animal development*. Oxford University Press. P. 410.

²⁸ Esteller M. Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification map. *Nature Rev Genet* 2007; 8: 286-98.

²⁹ Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nature Genetics* 2003; 33: 245-54.

³⁰ Jaffe A, Gao Y. Mapping DNA methylation across development, genotype and schizophrenia in the human frontal cortex. *Nature Neuroscience* 2016; 19: 40-47.

³¹ Sabunciyen S, Aryee M. Genome-wide DNA methylation scan in major depressive disorder. *PLoS One*. 2012; 7(4): e34451.

³² Flickinger R. AT-rich repetitive DNA sequences transcription frequency and germ layer determination. *Mech Dev* 2015; 138(3): 227-32.

³³ Spiers H, Hannol E. Methylomic trajectories across human fetal brain development. *Genome Res* 2015; 25: 338-52.

³⁴ Branco M. Maternal DNA methylation regulates early trophoblast development. *Developmental Cell*. 2015. Doi: 101016/J.devcel.2015.12.027

³⁵ Martin M, Ahmed T. Constitutive hippocampal cholesterol loss underlies poor in old rodents. *EMBO Molecular Medicine*. 2013. Doi: 1015252/erimm.201303711.

³⁶ Sadler T. (2007). *Embriología Médica con orientación clínica*. Edit. Médica Panamericana. Montevideo.

³⁷ Smith-Agreda V. (2007). *Neuroembriología y órganos de los sentidos: neuroanatomía y neuropsicología*. Editorial Edicep.

³⁸ O'Rahilly R (1997). *Embriología y Teratología Humana*. Edit. Masson, Barcelona.

³⁹ Millet C, Lemaire P. The human chordin gene encodes several differentially expressed spliced variants with distinct BMP opposing activities. *Mech Dev* Aug 2001; 106(1-2): 85-96.

