

Comentario editorial

Mecanismos generales del control molecular de la formación de las regiones del cerebro durante el desarrollo

Salvador Martínez*Catedrático de Anatomía y Embriología Humana. Laboratorio de Embriología Experimental. Instituto de Neurociencias, UMH-CSIC. San Juan de Alicante (Alicante), España*

Bol ECEMC Rev Dismor Epidemiol VI (n.º 1): 9-16 (2011)

INTRODUCCIÓN

1. El cerebro: un órgano diferente y complejo

La función del cerebro surge de la integración precisa de las funciones de las diferentes estructuras neurales. Así, la especial riqueza de la actividad integral del cerebro depende del desarrollo de varias subregiones anatómicas, cada una con su especificidad citológica y preciso patrón de conexiones. Esto requiere el desarrollo estricto de patrones en el espacio y el tiempo de los procesos moleculares y celulares que construyen la estructura hipercompleja del sistema nervioso central (SNC). En los últimos años, con minuciosos análisis transcriptómicos (de expresión genética) del desarrollo neural, nos hemos dado cuenta de que para el desarrollo normal del cerebro es necesario un delicado equilibrio entre las secuencias espacio-temporales de expresión de genes de desarrollo. Alteraciones genéticas y factores epigenéticos pueden alterar este equilibrio y producir diferentes grados de anomalías estructurales que se manifestarán como malformaciones congénitas.

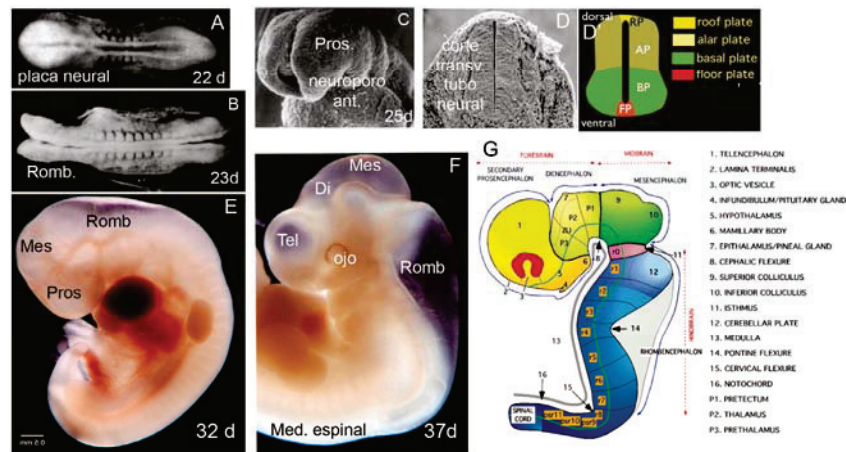
Dado que el espacio y el tiempo aparecen indisolublemente vinculados en el desarrollo genoarquitectónico (la genética regula la estructura), vamos a revisar los procesos y la cartografía de algunos genes que son elementos clave para el desarrollo del tubo neural (esbozo del cerebro en el embrión temprano), centrándonos principalmente en aquellos que codifican información morfogenética: moléculas de señalización y factores de transcripción; y daremos algunos ejemplos de cuadros malformativos asociados a ellos mediante su notación con el código numérico de la base de datos MIM (*Mendelian Inheritance in Man*).

El neuroepitelio de la placa y el tubo neural contiene los progenitores de las células nerviosas —las neuronas y la glía— que en conjunto formarán las estructuras operativas del cerebro. Estos progenitores reciben información posicional, codificada por gradientes de difusión (de distribución escalonada) de las moléculas de señalización. Estas moléculas son producidas por la expresión de genes en lugares precisos del embrión, dentro o cerca del SNC. Cada región de epitelio que contiene el esbozo de un área del cerebro se denomina: campo de desarrollo. Las señales moleculares difunden por el epitelio y actúan sobre receptores específicos expresados en las células neuroepiteliales, y regulan en cada lugar la expresión de un conjunto específico de factores de transcripción. El conjunto de estos factores en un grupo de progenitores determina su proliferación, neurogénesis y diferenciación celular, y, finalmente, la aparición de conexiones y sus propiedades funcionales (por eso a las señales que regulan su expresión se les llama también señales morfogenéticas). Estos progresos de codificación molecular evolucionan durante el desarrollo desde un estado inicial con alta capacidad regulativa (adaptativa a eventos distorsionantes) hacia estados más estables o definitivos, que caracterizarán la identidad molecular de las poblaciones celulares generadas en cada campo de desarrollo. La distribución en el espacio de las señales morfogenéticas indica la topología de la región y va a generar el catálogo de las diferentes lecturas posibles para cada grupo de células progenitoras en la pared del tubo neural; es decir, el proceso conocido de forma genérica como regionalización.

2. Construyendo el cerebro: morfogénesis cerebral

La *neurulación* es un proceso fundamental de la embriogénesis, que culmina en la formación del tubo neural después de un repliegue progresivo de la placa neural temprana (Fig. 1). En el embrión humano transcurre entre los días 18 y 27 del desarrollo embrionario. La placa neural se va curvando progresivamente debido a la formación de regiones bisagra (en las que las células epiteliales modifican su forma prismática para adoptar una forma piramidal) y procesos mecánicos mediados por contactos del tubo neural con los tejidos circundantes¹. La elevación de los pliegues neurales se establece a través de un espacio, llamado el surco neural, que se convierte en el lumen del tubo neural primitivo después del cierre del surco neural. El tubo neural se cierra cuando los pliegues neurales se fusionan en la línea media dorsal, estableciendo la placa del techo (*roof plate*) en el tubo neural². Este cierre en humanos comienza en la región de unión entre el futuro tronco cerebral y la médula espinal, y progresa hacia delante y atrás para terminar con el cierre de los orificios anterior y posterior (neuroporos) (Fig. 1B, C). Además, en los pliegues neurales se generan las células especializadas de la cresta neural, que originan parte del mesodermo de los arcos branquiales, así como los progenitores neuronales y gliales del sistema nervioso periférico (esto último junto con otros progenitores procedentes de las placodas ectodérmicas cefálicas)³.

Figura 1. A, B, E, F. Embriones humanos a diferentes estadios de desarrollo (d: días de gestación). C, visión anterior de un embrión por microscopía de barrido para evidenciar el neuroporo anterior. D, D', cortes transversales del tubo neural, ilustrando en el dibujo la regionalización dorso-ventral. G, esquema del tubo neural anterior y los segmentos neuroméricos del cerebro embrionario.



El tubo neural temprano, en la mayoría de los vertebrados es una estructura alargada y recta. Antes del final de la neurulación (entre los días 25 y 35 del desarrollo embrionario), la porción más anterior del tubo neural experimenta cambios morfológicos drásticos (Fig. 1E). En esta región se desarrollan las tres vesículas primarias: el cerebro anterior (prosencefalo; Pros.), el cerebro medio (mesencefalo; Mes.) y el cerebro posterior (rombencefalo; Romb.); el extremo anterior del tubo neural se cierra y se evagina lateralmente las vesículas ópticas desde cada lado del prosencefalo (Fig. 1F). En esta etapa temprana de desarrollo [llamada etapa de tres vesículas (Fig. 1E); días 30-35 del desarrollo], el eje del tubo neural se curva considerablemente hacia la zona ventral para formar las flexuras cefálica y cervical del tubo neural (Fig. 1E, F, G). Posteriormente, el prosencefalo se divide en el prosencefalo secundario (telencefalo y el hipotálamo) y más caudalmente el diencefalo (Fig. 1F, G)^{3,4}.

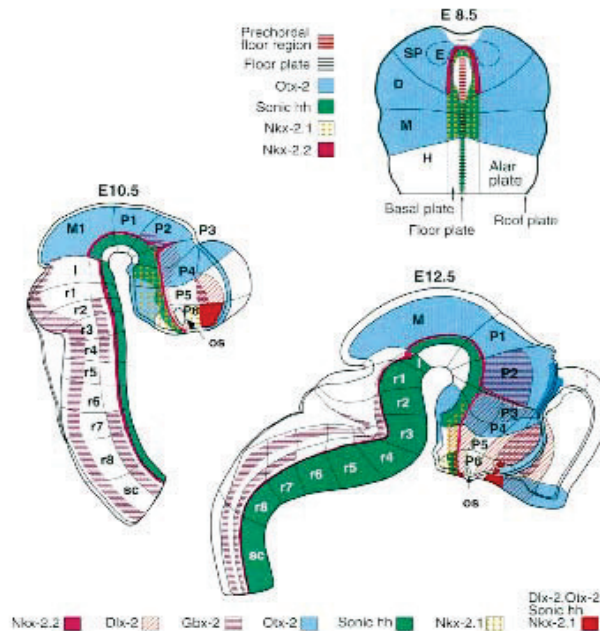
El descubrimiento de genes reguladores que se expresan en patrones regionales restringidos en el cerebro anterior en desarrollo, ha proporcionado nuevas herramientas para la identificación de los campos de desarrollo en el esbozo cerebral, así como la definición de sus propiedades moleculares e histogénicas. Sobre la base de patrones de expresión génica, junto con información morfológica, se han utilizado dos modelos para interpretar el proceso de regionalización de la placa y el tubo neural:

- 1) Uno topográfico o “modelo en columnas”, en gran medida construido con el objetivo de salvar la clásica interpretación de las regiones cerebrales de acuerdo a la localización de los surcos del diencefalo en cuatro zonas longitudinales: columnas de Herrick (1910)⁵.

- 2) Modelo topológico segmentario, conocido como el “modelo prosomérico” (Fig. 2), construido sobre la evidencia de una serie de divisiones transversales del tubo neural, que se superponen a las zonas primarias longitudinales descritas por Hiss^{6,7}.

El modelo prosomérico es más consistente con los recientes datos morfológicos, moleculares y experimentales, que por otro lado, no pueden ser totalmente explicables en términos de las zonas longitudinales de Herrick.

Figura 2. Modelo prosomérico²⁶



El paradigma prosomérico propone que el cerebro anterior embrionario se subdivide en un patrón de cuadrícula donde los patrones moleculares longitudinales (columnas) y transversales (segmentos) se intercalan para definir los campos de desarrollo (Fig. 2). Este plan general del patrón segmentario, con una organización fundamental cartesiana es reconocible en el primordio neural de todos los cordados, por lo que como conquista evolutiva debió significar un gran avance funcional y adaptativo. Variaciones en los mecanismos genéticos que regulan el desarrollo de este plan, producen cambios de la estructura o deformaciones, y son el origen de las diferencias estructurales entre los cerebros de las diferentes especies de vertebrados. Como resultado, el número de zonas longitudinales y segmentos transversales, y sus subdivisiones principales, son constantes en todos los cerebros de vertebrados, permitiendo una fácil comparación de la topología cerebral entre las especies, así como una mejor extrapolación de los mecanismos causales. El modelo hace hincapié en los patrones compartidos, y puede ser fácilmente utilizado para estudiar los procesos diferenciales de desarrollo, así como identificar los patrones patológicos (como fenotipos mutantes)⁸.

Señales morfogenéticas con patrones espacio-temporales precisos distribuidos en el eje ventro-dorsal, regulan la especificación molecular y el destino diferenciativo de estos progenitores. Esto se conoce como patrón dorso-ventral (DV), que da lugar a las zonas longitudinales o columnas neuroepiteliales (Fig. 1D, D'). Todos los segmentos neurales comparten este patrón básico DV, con independencia de su posición antero-posterior. Este patrón básico común repetido es lo que se entiende como distribución metamérica.

Los límites transversales subdividen el tubo neural en una serie constante de segmentos antero-posteriores o neurómeros (Fig. 1G, 2). Como resultado de una expresión genética diferencial (regulada, como veremos más adelante, por señales morfogenéticas), cada uno de estos campos regula de forma independiente la dinámica de proliferación e histogénesis en sus progenitores. En el prosencéfalo hay tres prosómeros diencefálicos (P1-P3), además del prosencéfalo secundario, que presenta una segmentación incompleta⁹. En el rombencéfalo, los segmentos se denominan rombómeros (R1 a R11, contando el istmo [I] como r0) y el mesencéfalo está formado por dos mesómeros (M1 y M2).

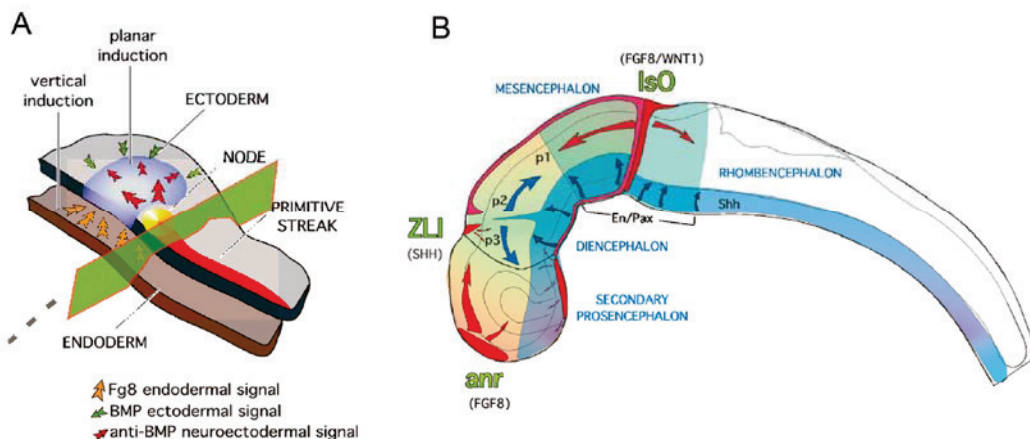
El modelo prosomérico ha dado a conocer el significado morfológico de numerosos patrones de expresión génica en el cerebro anterior. Estos patrones regulan la generación de dominios de progenitores con propiedades histogénicas diferentes y que son la base de la diversidad neuronal y estructural del cerebro adulto (últimas revisiones^{9,10}).

Para terminar este apartado introductorio y en relación con los modelos que se proponen para entender el proceso de regionalización cerebral, es importante señalar que un buen modelo debe permitir explicar los datos moleculares y celulares de forma sencilla, así como tener capacidad para sugerir nuevas ideas interesantes para ser contrastadas experimentalmente. Después de todo, los modelos morfológicos son instrumentos mentales sólo para ayudarnos a interpretar hechos y pensar en sus causas, y nunca deben considerarse como la representación única de la verdad. Por lo tanto, debemos esperar siempre más datos descriptivos y experimentales aclaratorios, que son necesarios para abordar con mayor precisión un modelo causal, cada vez más adecuado de la regionalización cerebral.

MECANISMOS MOLECULARES QUE CONTROLAN LA REGIONALIZACIÓN DORSO-VENTRAL (DV)

La especificación del destino molecular diferencial de las regiones longitudinales y transversales en el neuroepitelio, implica patrones de señalización posicional a lo largo de los ejes mediolateral (ML) y antero-posterior (AP) de la placa neural. Debido a la neurulación, el patrón ML en la placa neural es topológicamente equivalente al patrón DV en el tubo neural.

Figura 3. A, esquema de las interacciones verticales y planares durante la inducción de la placa neural; B, en una visión lateral del tubo neural se han representado los organizadores secundarios y sus influencias morfogenéticas mediante flechas que representan la distribución de las moléculas señal.



Ventralización: nuestro conocimiento de los procesos ventralizantes está fundamentalmente basado en los resultados obtenidos del estudio de la regionalización DV de la médula espinal, que se deriva de la parte posterior (caudal) de la placa neural. Moléculas señaladoras producidas por los tejidos subyacentes no neurales (como es el mesodermo axial) especifican la identidad ventral de las diversas áreas neurales supra-yacentes (Fig. 3 A). Esta señalización ventral está representada por la expresión del gen *Sonic Hedgehog* (*SHH*; 7q36.3; Holoprosencefalia: MIM:120200, 142945, 611638, 269160, 147250), que se expresa en la notocorda (mesodermo axial) y codifica para una proteína secretable que, a través de un gradiente de difusión, actúa como morfógeno del tubo neural ventral (para una revisión ver referencias 11 y 12). La proteína SHH es primero secretada por la notocorda, induciendo su propia expresión en la línea medial de la placa neural (lo que se convertirá en la placa del suelo) (Fig. 3 B). La activación de la señal mediada por SHH confiere a esta región una identidad de placa del suelo y la capacidad de funcionar como una fuente secundaria de morfógeno ventralizante. En el polo rostral de la placa y tubo neural, la notocorda termina ejerciendo una actividad ventralizante que de forma radial, y junto con la actividad del mesodermo precordial (placa precordial), van a influenciar el especial desarrollo del diencefalo basal (tegmento diencefálico) y el hipotálamo (placa basal del prosencéfalo secundario).

Dorsalización: respecto a las señales dorsalizantes que especifican los territorios alares, experimentos de ganancia de función (expresión inducida de genes) y datos de mapeos de expresión genética, han demostrado que sus moléculas señalizadoras son miembros de la superfamilia de TGF- β , como *BMP4* (14q22.2; Anoftalmia-microftalmia y alteraciones de la línea media; MIM 112262¹³) y *BMP7* (20q13.31), o de la familia *Wnt* (*WNT1*; 12q13.12). Estas señales son producidas por el ectodermo perineural primero, y más tarde por la placa del techo. *BMPs* y *Wnts* se expresan en la placa del techo, difunden por las regiones dorsales del tubo neural y junto con las señales ventralizantes (principalmente la señal SHH), establecen un código donde la combinación molecular implica información posicional a lo largo del eje DV en el tubo neural. Recientemente, el producto del gen *Fgf8* ha sido identificado como un factor necesario para el normal desarrollo de la placa alar diencefálica y telencefálica, mediante la interacción a nivel local con los genes *Wnt1* y *Wnt3a*¹⁴.

El resultado de este proceso de regionalización DV, que afecta a todo el tubo neural, es la especificación de las cuatro zonas básicas longitudinales de la pared neuroepitelial: las placas del suelo, basal, alar y del techo. Estos cuatro territorios van a generar todas las estructuras neurales presentes en el eje transversal (es decir, en una rodaja) del cerebro:

- La placa del suelo formará una glía radial especial que se mantiene durante mucho tiempo, incluso después del desarrollo. Produce, además de Shh, moléculas guía (como las *netrinas*; *NTN*; 17p13.12) atrayentes para los axones comisurales ventrales y, en algunas regiones especiales también atrae poblaciones neuronales. La placa del suelo del rombencéfalo produce las neuronas de los núcleos del rafe y en el mesencéfalo las de la sustancia negra y el área tegmental ventral.
- La placa basal va a originar las regiones eferentes (de salida) para realizar la actividad del SNC sobre los otros órganos del cuerpo como son: las neuronas motoras y las interneuronas, que regulan las actividad motriz y la integración sensitivo-motora, las regiones de control y las neuronas eferentes del sistema nervioso autónomo, así como el control de las secreciones glandulares (principalmente a través del hipotálamo y la neurohipófisis).
- La placa alar es donde se desarrollan los centros de procesamiento sensorial y las funciones neurales de análisis e integración más avanzadas. Su desarrollo es paralelo al aumento de complejidad estructural y funcional de los cerebros. La placa alar del prosencéfalo secundario es el telencéfalo, donde el desarrollo de la corteza cerebral es el proceso de mayor variabilidad evolutiva del cerebro de vertebrados. La corteza cerebral, en paralelo al desarrollo de la placa alar del diencefalo (el tálamo), marca las mayores diferencias en las funciones cerebrales, con la aparición de las funciones mentales en algunas especies.
- La placa del techo va a desarrollar las comisuras dorsales, muy importantes en el prosencéfalo, donde se desarrollan el cuerpo caloso, la comisura del hipocampo, las comisuras anterior y posterior. También son derivados de la placa del techo los plexos coroideos y la glándula pineal.

MECANISMOS MOLECULARES QUE CONTROLAN LA REGIONALIZACIÓN ANTERO-POSTERIOR (AP)

La regionalización en el eje AP es el proceso que conduce a la generación de los distintos territorios transversales del tubo neural. Hay evidencias de que en la placa neural ya van apareciendo patrones moleculares diferenciales a lo largo del eje AP durante la gastrulación (Fig. 2). Señales moleculares verticales propagadas desde tejidos subyacentes (mesodermo y endodermo) y señales planares actuando desde el organizador primario (el nodo) así como desde el ectodermo, van a contribuir a la especificación AP del tubo neural (Fig. 3 A). Para revisión, ver referencias¹⁵⁻¹⁷.

Dos tipos de señales moleculares actúan sobre la placa neural:

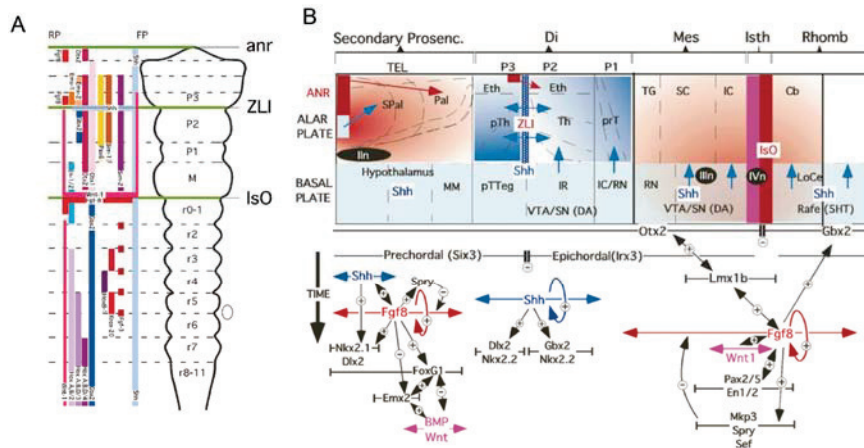
- La primera señal induce diferenciación hacia el cerebro anterior y el mesencéfalo. La molécula señal es la proteína de Cerberus (*CER1*; 9p22.3) que regula la expresión de los factores de transcripción: *Lim1* (*LHX1*; 17q12) y *Otx2* (*OTX2*; 14q22.3; Microftalmia; MIM: 610125, 613986, 610125). Estos factores son moléculas clave para el desarrollo del organizador endomesodérmico anterior y están implicados en sus efectos sobre el neuroectodermo. Alteraciones de la función de cualquiera de estos genes producen embriones que carecen de cerebro anterior y mesencéfalo en los modelos animales, y alteraciones oculares y del telencéfalo en humanos^{18,19}.

— Más tarde, señales secundarias ejercen una influencia posteriorizante sobre la placa neural, lo que permite la inducción del rombencéfalo y la médula espinal. Las moléculas candidatas para esta actividad posteriorizante incluyen el ácido retinoico²⁰, Fgf2 (*FGF2*; 4q27-q28)²¹ y la señalización de Wnt²². Estas moléculas regulan la expresión de los genes de la familia Hox. En los mamíferos, esta familia de genes está compuesta por 39 genes estrechamente relacionados con la codificación de factores de transcripción, organizados en cuatro grupos o clusters homólogos, los grupos: A (7p15.2), B (17q21.32), C (12q13.13), y D (2q31.1)²³. Los genes Hox presentan un límite anterior de expresión muy definido, que identifica el límite entre campos de desarrollo en el rombencéfalo y médula espinal (Fig. 4 A). La combinación de las expresiones de los genes Hox va segmentando molecularmente el neuroepitelio de estas regiones en rombómeros y mielómeros, así como el resto de los derivados mesodérmicos y endodérmicos, donde también se expresan. El conjunto de genes Hox expresados en un determinado segmento corporal o cefálico (código Hox) regula la expresión de otros genes de manera particular para la región, determinando sus características estructurales y funcionales específicas.

¿CÓMO SE CONSTRUYE LA COMPLEJIDAD DEL CEREBRO?

Como hemos visto, la regionalización de la placa neural anterior es el resultado de la superposición de múltiples patrones tempororo-espaciales de expresión de genes del desarrollo, que regulan los principales procesos del desarrollo neural: proliferación, migración y diferenciación celular. La combinación de los patrones en los ejes DV y AP genera la red de primordios de las áreas cerebrales (Fig. 4). Por lo tanto, los campos del desarrollo regularán sus programas de proliferación y diferenciación en función de la información posicional, codificada en forma de expresión de un grupo específico de genes para cada campo. Debemos ahora conocer cuáles son los mecanismos que se van a activar para producir diversidad en el interior de un campo del desarrollo. El mapa resultante será una representación cartesiana de los esbozos de los territorios cerebrales, en las dos dimensiones topológicas principales del epitelio neural. En el interior de los esbozos cada célula progenitora adopta programas de desarrollo específicos según su identidad molecular.

Figura 4. A, representación esquemática de patrones de expresión génicos sobre el plano segmentario del tubo neural; B, campos morfogenéticos en el modelo prosemérico. Los gradientes de color representan la señalización vehiculada por señales morfogenéticas que activan cascadas génicas, representadas por flechas; los símbolos (+) representan activación y los (-) represión de la expresión del gen diana.



Sobre este mapa cartesiano de información posicional, la identidad neuronal o glial es adquirida por las células neurales, que sufren una restricción progresiva de su potencial histogénético, bajo el control de su programa genético y la influencia de las señales ambientales de origen local. Estas señales ambientales tienen carácter morfogenético y se producen en lugares específicos en el tubo neural, que son conocidos como organizadores secundarios (Fig. 3B, 4B). Estas regiones expresan genes que codifican moléculas señalizadoras, que difunden dentro del campo de desarrollo, estableciendo las identidades regionales y la polaridad de las células neuroepiteliales²⁴. El establecimiento de gradientes de difusión para estas señales morfogenéticas se interpreta en términos de regulación diferencial de la transcripción genómica de las

células dentro del campo del desarrollo sobre el que actúan, regulando las identidades neuronales a lo largo de los ejes AP y DV²⁵⁻²⁷.

Tres regiones de la placa y el tubo neural se han identificado como organizadores secundarios: el polo neural anterior (ANR; a nivel de los bordes del neuroporo anterior en el techo del prosencéfalo secundario), la zona limitante intratálámica (ZLI; en el diencéfalo entre tálamo y pretálamo) y el organizador del istmo (ISO; entre las vesículas mesencefálica y rombencefálica) (Fig. 3B, 4B). Son bien conocidos los procesos moleculares y celulares que subyacen a la actividad del ISO, controlando el desarrollo mesencefálico por delante y del cerebelo por detrás²⁴. La señal morfogenética del ANR y el ISO es Fgf8 (*FGF8*; 10q24.32; Síndrome de Kallmann; MIM: 612702). El gradiente de difusión de Fgf8 en el neuroepitelio actúa sobre receptores específicos y regula el desarrollo de las regiones anteriores de la corteza cerebral, así como el mesencéfalo y cerebelo (respectivamente) (Fig. 4). Se sabe menos sobre la regionalización diencefálica y la función reguladora de la ZLI. La molécula señalizadora de la ZLI es Shh, cuya actividad tiene también distribución gradiente para modular la expresión local de marcadores regionales en el tálamo (Fig. 4B)^{24,28}.

Nota del Editor:

Descripción de las anotaciones génicas:

- Abreviaciones del nombre del gen: letra cursiva y primera con mayúscula.
- Si la referencia es en relación al gen humano: todo con mayúsculas y letra cursiva.
- Las proteínas siguen el mismo nombre que sus genes codificantes, pero sin cursiva.

REFERENCIAS

1. Colas JF, Schoenwolf GC. Towards a cellular and molecular understanding of neurulation. *Dev Dyn*. 2001;221:117-145 (Review).
2. Copp AJ, Greene ND, Murdoch JN. The genetic basis of mammalian neurulation. *Nat Rev Genet*. 2003;4:784-793 (Review).
3. Müller F, O'Rahilly R. The initial appearance of the cranial nerves and related neuronal migration in staged human embryos. *Cells Tissues Organs*. 2011;193:215-238.
4. Larsen. *Human Embryology*. 4th Edition. Schoenwolf, GC, Bleyl, SB, Brauer PR and Francis-West PH Eds. Elsevier, UK. 2009.
5. Álvarez-Bolado G, Rosenfeld MG, Swanson LW. Model of forebrain regionalization based on spatiotemporal patterns of POU-III homeobox gene expression, birthdates, and morphological features. *J Comp Neurol*. 1995;355:237-295.
6. His W. Über das frontale Ende des Gehirnröhres. *Arch.- Anat. Entwicklungsges. [Anatomische Abteilung des Arch.f.Anat.u. Physiol]*. 1893a;3:157-171.
7. His W. Vorschläge zur Eintheilung des Gehirns. *Arch.- Anat. Entwicklungsges. [Anatomische Abteilung des Arch.f.Anat.u. Physiol]*. 1893b;3:172-179.
8. Pombero A, Valdés L, Vieira C, Martínez S. Developmental mechanisms and experimental models to understand forebrain malformative diseases. *Genes Brain Behav*. 2007; Suppl 1:45-52 (Review).
9. Puelles L, Rubenstein JL. Forebrain gene expression domains and the evolving prosomeric model. *Trends Neurosci*. 2003;26:469-476 (Review).
10. García-López R, Pombero A, Martínez S. Fate map of the chick embryo neural tube. *Dev Growth Differ*. 2009 Apr;51(3):145-165 (Review).
11. Tanabe Y, Jessell TM. Diversity and pattern in the developing spinal cord. *Science*. 1996 Nov 15;274(5290):1115-1123 (Review).
12. Singh S, Tokhunts R, Baubet V, Goetz JA, Huang ZJ, Schilling NS, Black KE, MacKenzie TA, Dahmane N, Robbins DJ. Sonic hedgehog mutations identified in holoprosencephaly patients can act in a dominant negative manner. *Hum Genet*. 2009;125:95-103.
13. Bakrania P, Efthymiou M, Klein JC, Salt A, Bunyan DJ, Wyatt A, Ponting CP, Martin A, Williams S, Lindley V, Gilmore J, Restori M, and 9 others. Mutations in BMP4 cause eye, brain, and digit developmental anomalies: overlap between the BMP4 and Hedgehog signaling pathways. *Am J Hum Genet*. 2008;82:304-319.
14. Martínez-Ferré A, Martínez S. The development of the thalamic motor learning area is regulated by Fgf8 expression. *J Neurosci*. 2009 Oct 21;29(42):13389-13400.
15. Doniach T. Planar and vertical induction of anteroposterior pattern during the development of the amphibian central nervous system. *J Neurobiol*. 1993 Oct;24(10):1256-1275 (Review).
16. Ruiz i Altaba A. Pattern formation in the vertebrate neural plate. *Trends Neurosci*. 1994 Jun;17(6):233-243 (Review).
17. Puelles L, Fernández-Garre P, Sánchez-Arrones L, García-Calero E, Rodríguez-Gallardo L. Correlation of a chicken stage 4 neural plate fate map with early gene expression patterns. *Brain Res Rev*. 2005 Sep;49(2):167-178 (Review).

18. Acampora D, Mazan S, Lallemand Y, Avantagegiato V, Maury M, Simeone A, Brulet P. Forebrain and midbrain regions are deleted in *Otx2*^{-/-} mutants due to a defective anterior neuroectoderm specification during gastrulation. *Development*. 1995 Oct;121(10):3279–3290.
19. Dateki S, Fukami M, Sato N, Muroya K, Adachi M, Ogata T. OTX2 mutation in a patient with anophthalmia, short stature, and partial growth hormone deficiency: functional studies using the IRBP, HESX1, and POU1F1 promoters. *J Clin Endocr Metab*. 2008;93: 3697-3702.
20. Ruiz i Altaba A, Jessell T. Retinoic acid modifies mesodermal patterning in early *Xenopus* embryos. *Genes Dev*. 1991 Feb;5(2):175–187.
21. Hemmati-Brivanlou A, Melton D. Vertebrate neural induction. *Annu Rev Neurosci*. 1997;20:43–60 (Review).
22. Elkouby YM, Elias S, Casey ES, Blythe SA, Tsabar N, Klein PS, Root H, Liu KJ, Frank D. Mesodermal Wnt signaling organizes the neural plate via *Meis3*. *Development*. 2010 May;137(9):1531–1541.
23. Pearson JC, Lemons D, McGinnis W. Modulating Hox gene functions during animal body patterning. *Nat Rev Genet*. 2005 Dec;6(12):893–904 (Review).
24. Vieira C, Pombero A, García-López R, Gimeno L, Echevarría D, Martínez S. Molecular mechanisms controlling brain development: an overview of neuroepithelial secondary organizers. *Int J Dev Biol*. 2010;54(1):7–20 (Review).
25. Meinhardt H. Cell determination boundaries as organizing regions for secondary embryonic fields. *Dev Biol*. 1983 Apr;96(2):375–385.
26. Rubenstein JL, Martínez S, Shimamura K, Puelles L. The embryonic vertebrate forebrain: the prosomeric model. *Science*. 1994 Oct 28;266(5185):578–580 (Review).
27. Wassef M, Joyner AL. Early mesencephalon/metencephalon patterning and development of the cerebellum. *Perspect Dev Neurobiol*. 1997;5(1):3–16 (Review).
28. Scholpp S, Lumsden A. Building a bridal chamber: development of the thalamus. *Trends Neurosci*. 2010;33(8):373-380.