

## **5.- Expresión durante el desarrollo de Proteínas Ligantes de Calcio como indicadores de actividad celular.**

En la hipófisis de ratón sólo se observó inmunorreacción cuando se utilizó un anticuerpo anti-proteína ligante de calcio, CBD28K.

En el estadio E.12 del desarrollo embrionario, se observó CBD28K-ir en dos regiones:

1.- En las células que forman la expansión de la cara dorsorostral (CDr) de la bolsa de Rathke y que van a constituir el lóbulo tuberal y 2.- En las células del neuroepitelio de la base diencefálica (Fig 30a,30b).

Las primeras células que presentan inmunorreacción frente al antisuero anti-CB D28K corresponden a células localizadas en las expansiones laterales de la cara dorsorostral de la bolsa en el estadio E.12 de desarrollo, es decir, las células que van a constituir el lóbulo tuberal (Fig 30c). En los estadios E.14 y E.15, células CBD28K-ir se observan en el lóbulo anterior; estas células son escasas, con una débil inmunorreacción y se encuentran dispersas por la mitad caudal del lóbulo anterior (Fig 30d,30e). La inmunorreacción que se observa en este estadio en células del lóbulo anterior, se encuentra en células indiferenciadas puesto que la única hormona presente en este estadio es la ACTH y los estudios de colocalización mostraron que la proteína CBD28K y la ACTH no coexisten en este momento del desarrollo (Fig 30f).

En las siguientes etapas del desarrollo embrionario se observa como aumenta el número de células CBD28K-ir en general, en los tres lóbulos de la adenohipófisis: en el lóbulo tuberal, la CB presenta el mismo patrón de distribución que la TSH colocalizándose ambas en las mismas células (Fig 31a<sub>1</sub>,a<sub>2</sub>) mientras que en el lóbulo anterior la CB se colocaliza en células que también expresan ACTH (Fig 31b<sub>1</sub>,b<sub>2</sub>) y STH (Fig 31c<sub>1</sub>,c<sub>2</sub>).

En el estadio E.16, se observó por primera vez células CBD28K-ir en células del lóbulo intermedio (Fig 32a). En este lóbulo, la CBD28K, estuvo presente en células que presentaban también inmunorreacción para los derivados de la POMC (Fig 32b).

En el lóbulo tuberal, el patrón de distribución de la CBD28K se mantuvo igual al de la TSH hasta el final del desarrollo embrionario (Fig 32c,32d,33a) y las primeras semanas de desarrollo posnatal (Fig 33b), no observándose inmunorreacción en células de este lóbulo en el animal adulto (Fig 33c,33f). De forma similar, en las células del lóbulo anterior, después de la primera semana de vida posnatal se observó una disminución de inmunorreacción quedando en el adulto sólo unas cuantas células en la región caudal del lóbulo (Fig 33c,33d). Sin embargo, en el lóbulo intermedio, la inmunorreacción se mantuvo coexistiendo en las mismas células con los derivados de la POMC, incluso en el animal adulto (Fig 33c,33e).

En cuanto al lóbulo posterior, las células neuroepiteliales que en un principio presentaban CBD28K-ir, han migrado para formar los núcleos hipotalámicos que envían axones al lóbulo neural. Los axones de estas neuronas presentan inmunorreacción para la CBD28K por lo que en estadios finales del desarrollo se observó una fuerte inmunorreacción en el lóbulo neural y eminencia media (Fig 33a). Esta inmunorreacción se mantuvo incluso en el animal adulto (Fig 33c,33e).