

EMBRIOLOGIA

Docente: Dr. Alessia Ongaro

Orario ricevimento: martedì ore 12.00-13.00

Modalità di esame: ORALE

Iscrizione: ONLINE all'esame di Embriologia

Testi consigliati:

-Embriologia, Autori: M. Barbieri, P. Carinci, Casa Editrice Ambrosiana (Terza edizione)

-Istologia orale, Autore: Ten Cate, Casa Editrice Piccin

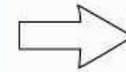
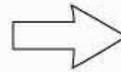
L'Embriologia studia 2 eventi complementari:

- **GENERAZIONE**

come un organismo produce un uovo

- **SVILUPPO**

come un uovo dà origine ad un organismo. Sviluppo è l'emergere di strutture organizzate da un gruppo di cellule inizialmente informi

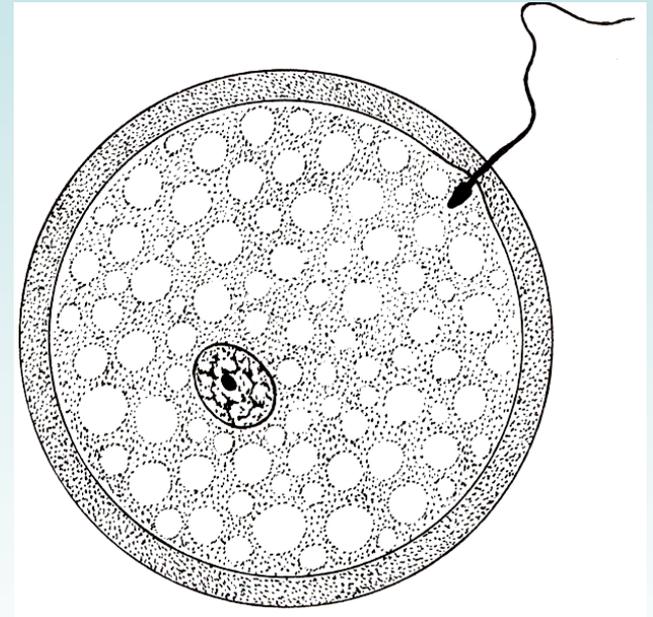


Quante e quali cellule sono necessarie allo sviluppo di un nuovo individuo?

• RIPRODUZIONE SESSUATA

Gli embrioni si sviluppano da una **singola cellula (ZIGOTE)** che **deriva** dalla fusione di **2 cellule** (gameti):

- un gamete maschile (**spermatozoo**) e
- un gamete femminile (**uovo**)



Tappe importanti per l'embriologia

La generazione

La generazione di un nuovo individuo comincia con **2 meiosi** nelle **cellule germinali** che originano i gameti

si realizza con la **fecondazione dei gameti** che origina lo ZIGOTE

Il numero **diploide** viene ricostituito alla fecondazione

I cromosomi contenuti nel nucleo dello zigote derivano in ugual numero dai 2 nuclei parentali.

La costanza del numero cromosomico nelle cellule somatiche viene mantenuta, di generazione in generazione mediante una divisione riduzionale (**meiosi**) che interviene nelle cellule germinali.

Aploide (N)

Aploide (N)



IL PROBLEMA DELLO SVILUPPO come un uovo produce un organismo...

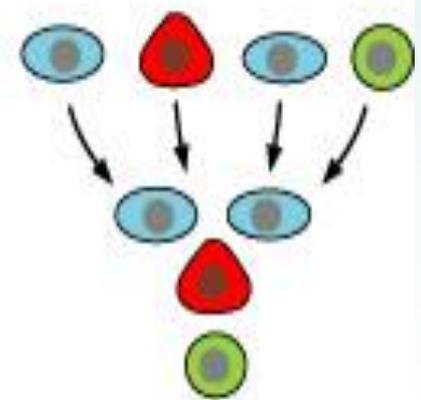
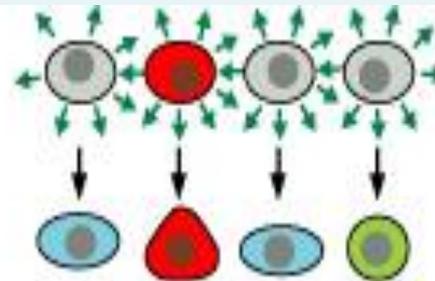
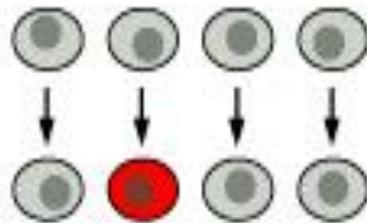
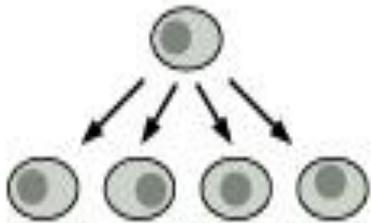
processi fondamentali:

Proliferazione cellulare

Differenziamento istologico

Morfogenesi

Apoptosi



PROLIFERAZIONE CELLULARE

SPECIALIZZAZIONE CELLULARE

INTERAZIONI CELLULARI

MOVIMENTO CELLULARE

Lo studio dello sviluppo è stato tradizionalmente riferito a quella fase della vita di un organismo che è compresa tra la fecondazione e la nascita,
(segmentazione, gastrulazione/neurulazione, organogenesi)

EMBRIOLOGIA

Ma lo sviluppo non termina alla nascita, ma continua in parte anche nell'età adulta



- Ogni giorno rinnoviamo cellule della cute; il midollo osseo forma milioni di nuovi eritrociti in ogni minuto della nostra vita
- Alcuni animali sono capaci di rigenerare parti staccate dal corpo

I processi dello SVILUPPO

PROLIFERAZIONE CELLULARE

Proliferaazione cellulare

Processo di grande importanza per tutta la vita dell'organismo (dallo zigote a 10.000 miliardi cellule adulto)



Durante lo sviluppo le cellule somatiche si dividono per *mitosi* e la divisione è strettamente regolata nell'ambito del ciclo cellulare

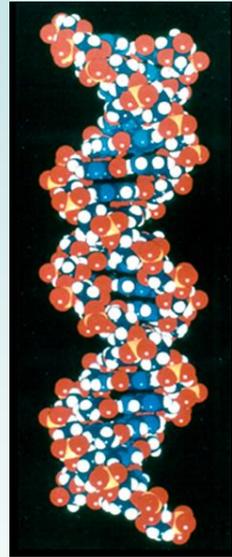
I processi dello SVILUPPO

DIFFERENZIAMENTO CELLULARE

Un'unica cellula, l'uovo fecondato, dà origine a centinaia di tipi cellulari differenti: cell. muscolari, nervose, endocrine, ecc.

Questa realizzazione della diversità cellulare è detta **differenziamento**.

Poiché ogni cellula di un determinato organismo contiene la stessa serie di geni (**equivalenza genomica**), come può questa serie uguale di istruzioni genetiche produrre tipi differenti di cellule?

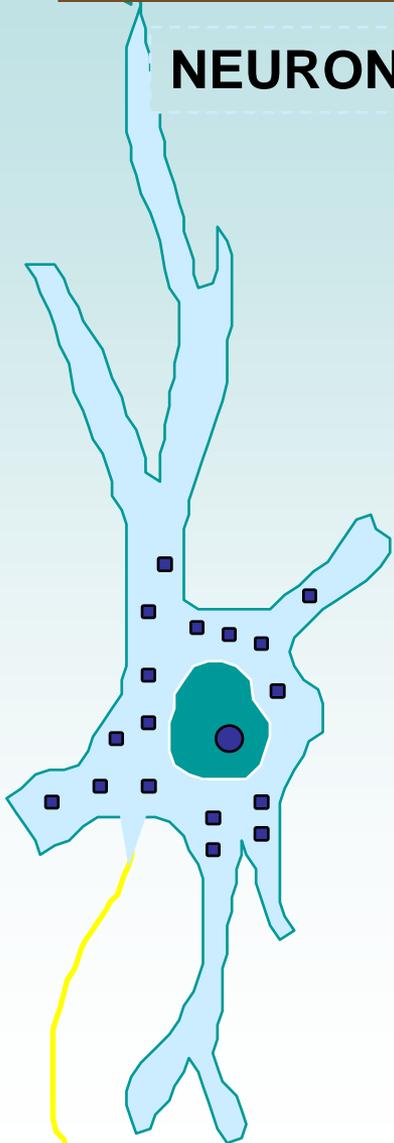


L'espressione selettiva di geni specifici nei diversi tipi cellulari

I processi dello SVILUPPO

DIFFERENZIAMENTO CELLULARE

NEURONE

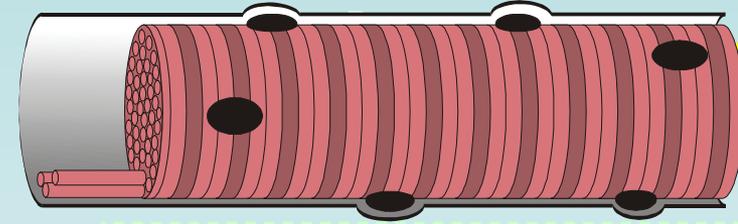


IL **DIFFERENZIAMENTO** è l'acquisizione delle caratteristiche specifiche di una cellula specializzata a svolgere una precisa funzione (FENOTIPO):

Caratteristiche morfologiche

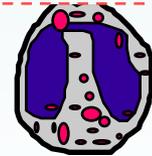
Caratteristiche biochimiche

Caratteristiche funzionali



CELLULA muscolare

GRANULOCITA
EOSINOFILO



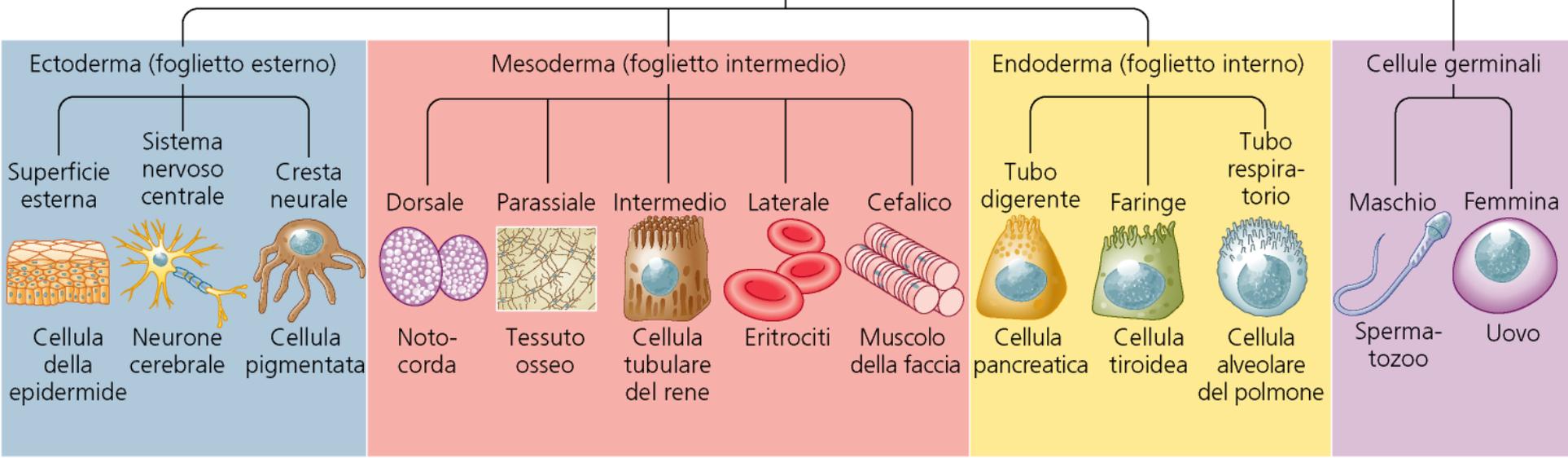
I processi dello SVILUPPO

DIFFERENZIAMENTO CELLULARE

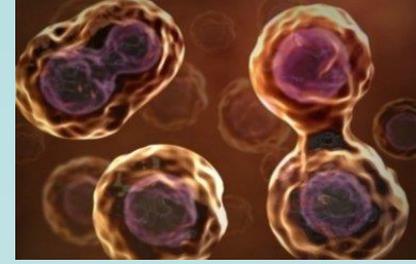
Tipi cellulari differenziati nella struttura e nella funzione caratteristici del corpo dei vertebrati



Ogni cellula differenziata esprime un proprio corredo di geni e quindi proteine



Le cellule staminali

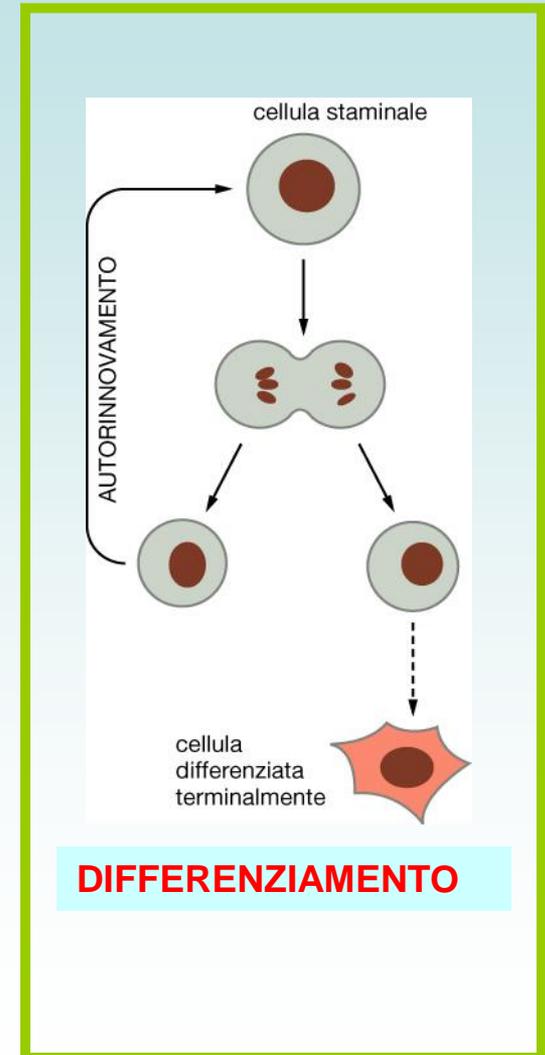


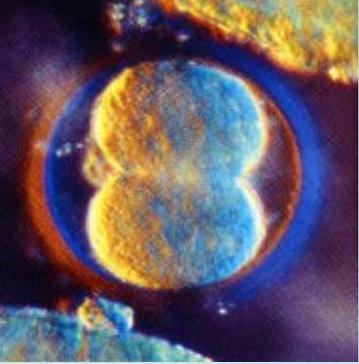
DEFINIZIONE e proprietà:

Cellula non differenziata
di origine embrionale, fetale o adulta

Cellula in grado di dividersi e quindi di
autorinnovarsi (self-renewal) senza
differenziarsi

Cellula che può originare cellule (**cellule
progenitrici**) che si differenziano andando
a costituire i diversi tipi cellulari differenziati
dei tessuti



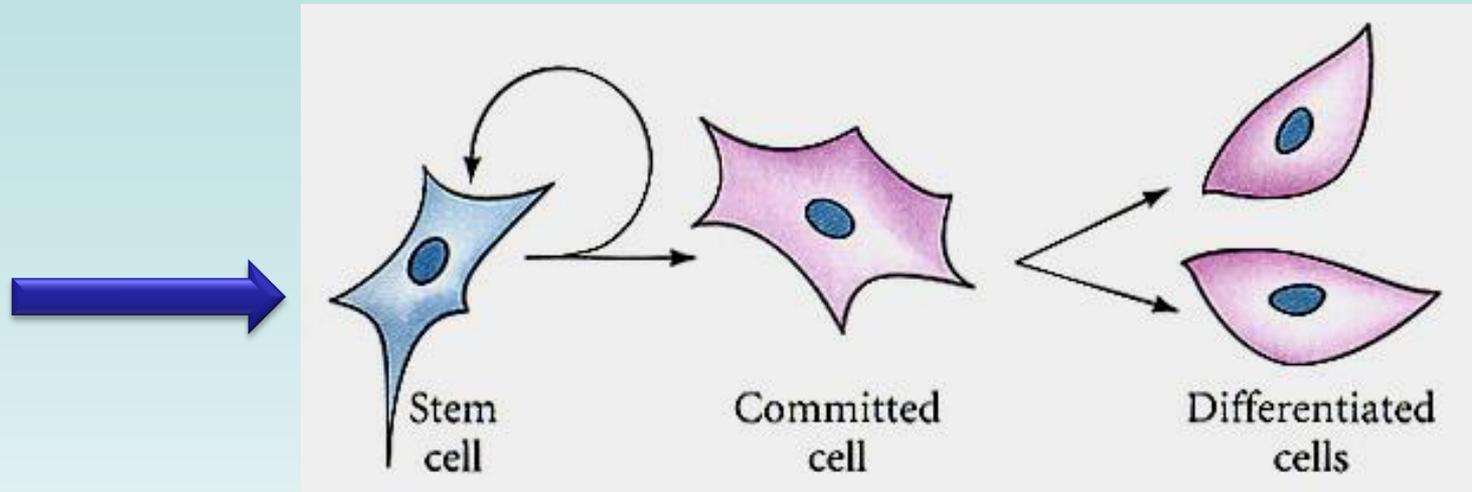


Localizzazione delle cellule staminali

cellule staminali embrionali
cellule staminali nell'adulto

tipo	Descrizione	Esempio
Totipotente	Può originare un intero individuo (tessuti embrione e annessi embrionali)	Cellule embrionali precoci (morula)
Pluripotenti	Cellule che possono originare tutti i diversi tipi cellulari di un organismo	cellule nodo embrionale della blastocisti
Multipotenti Unipotenti	Cellule che possono originare <i>pochi o un solo</i> tipo cellulare differenziato	Tessuti fetali, tessuti adulto

Cellule e differenziamento



Il differenziamento è un processo graduale che avviene **per stadi**.

Il primo stadio è la **determinazione cellulare** in cui la cellula non differenziata diventa destinata solo ad alcuni tipi di differenziamento (COMMITTED CELL).

Si realizza tramite **modificazioni successive nella espressione genica** e quindi nei componenti molecolari prodotti dalla cellula

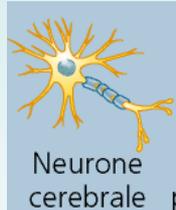
Dinamica del DIFFERENZIAMENTO CELLULARE

- Lo sviluppo di tipi cellulari specializzati è il **differenziamento**
- Queste modificazioni nella biochimica e nella funzione della cellula sono precedute da un processo: il **preordinamento (commitment)** della cellula per un determinato destino
- *Una cellula **committed** non differisce fenotipicamente dal suo stato non commissionato, ma il suo destino di sviluppo è limitato*

Il processo del **commitment** è suddiviso in due stadi:

I *specificazione* (le cellule sono in grado di differenziarsi in modo autonomo se vengono poste in un ambiente neutro; però a questo stadio *il loro destino può ancora essere modificato*).

II *determinazione* (le cellule si differenziano secondo il loro destino anche se in un ambiente che le indirizzerebbe in altro tipo cellulare; *il loro destino non può più essere modificato*).
Sono commissionate in modo irreversibile.



Cellule e differenziamento: Un esempio

Cellule dei somiti embrionali (mesoderma) si differenziano in mioblasti. I mioblasti sono i precursori delle cellule muscolari

Precursori staminali embrionali mesodermici

myoD

Altri geni muscolo-specifici



off



off



Determinazione:
espressione *myoD*
o *mef2*



off



off

mioblasto



myoD
proteina



myoD



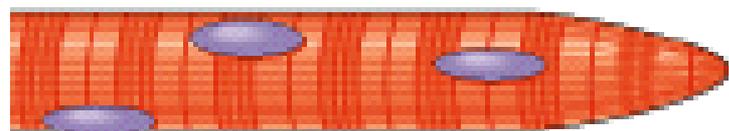
**Altri fattori
di trascrizione (TFs)**



**Miosina e
altre
Proteine
muscolari**

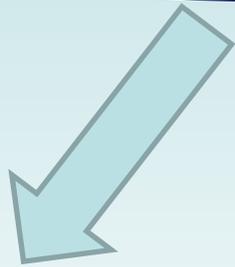
Differenziamento:
Espressione dei geni
specifici della cellula muscolare

Cellula muscolare
(differenziata)

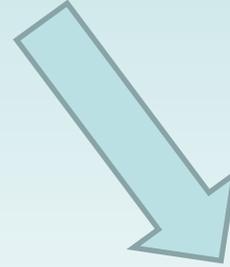


Quali sono i meccanismi alla base del DIFFERENZIAMENTO CELLULARE?

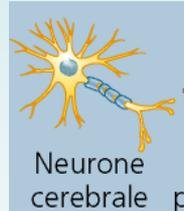
Molecole segnale



Prodotte ALL'INTERNO delle
cellule che si differenziano
AUTODIFFERENZIAMENTO



Trasmesse da un
tessuto (INDUTTORE)
ad un gruppo di
cellule (RICEVENTE)
INDUZIONE

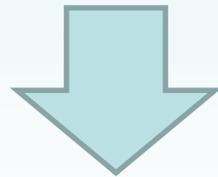


INDUZIONE

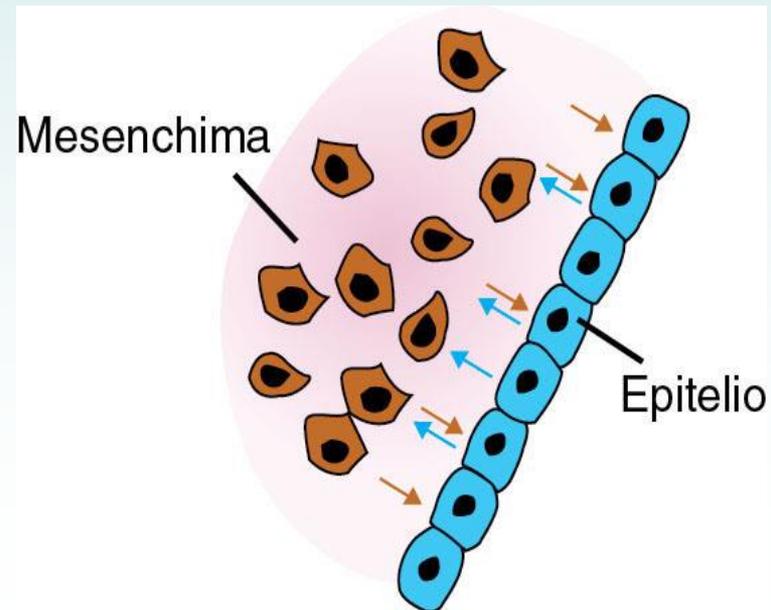
E' il processo attraverso il quale un gruppo di cellule o di tessuti (**INDUTTORE**) agisce su un altro gruppo (**RICEVENTE**) per cambiare il loro destino.

La capacità di rispondere è chiamata **COMPETENZA**.

I **SEGNALI CELLULARI** sono essenziali per l'induzione, per conferire la competenza alla risposta e per il dialogo tra cellule inducenti e riceventi



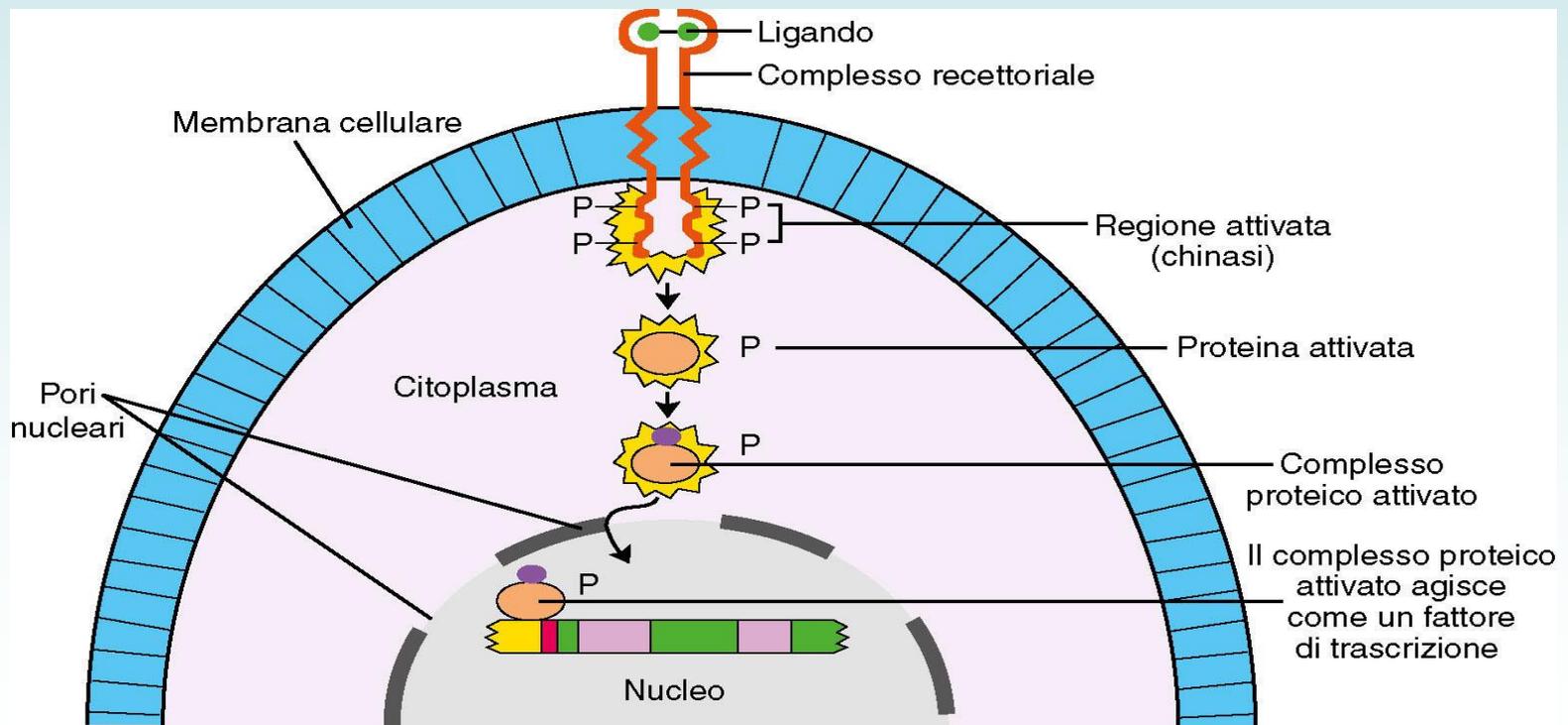
Interazioni **PARACRINE**
Interazioni **IUXTACRINE**



INTERAZIONI PARACRINE

Le proteine sintetizzate da una cellula diffondono a breve distanza per interagire con altre cellule.

I **FATTORI PARACRINI** attivano le vie di trasduzione del segnale



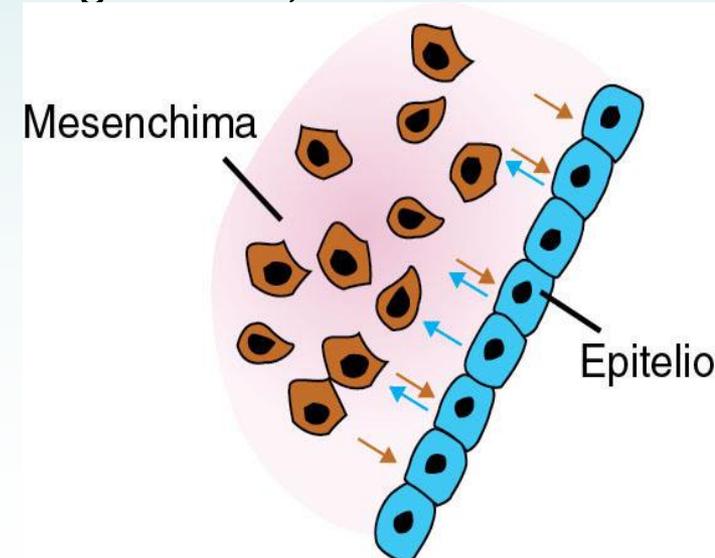
gr06.jpg

Embriologia medica di Langman

Schema di una tipica via di trasduzione del segnale, che coinvolge il ligando e il suo recettore. L'attivazione del recettore avviene a seguito del legame con il ligando. Tipicamente, l'attivazione è di tipo enzimatico e coinvolge una tirosina-chinasi, anche se altri enzimi possono essere coinvolti. Alla fine, l'attività chinasi genera una cascata di fosforilazione di parecchie proteine che attiva un fattore di trascrizione per la regolazione dell'espressione genica.

Fattori PARACRINI

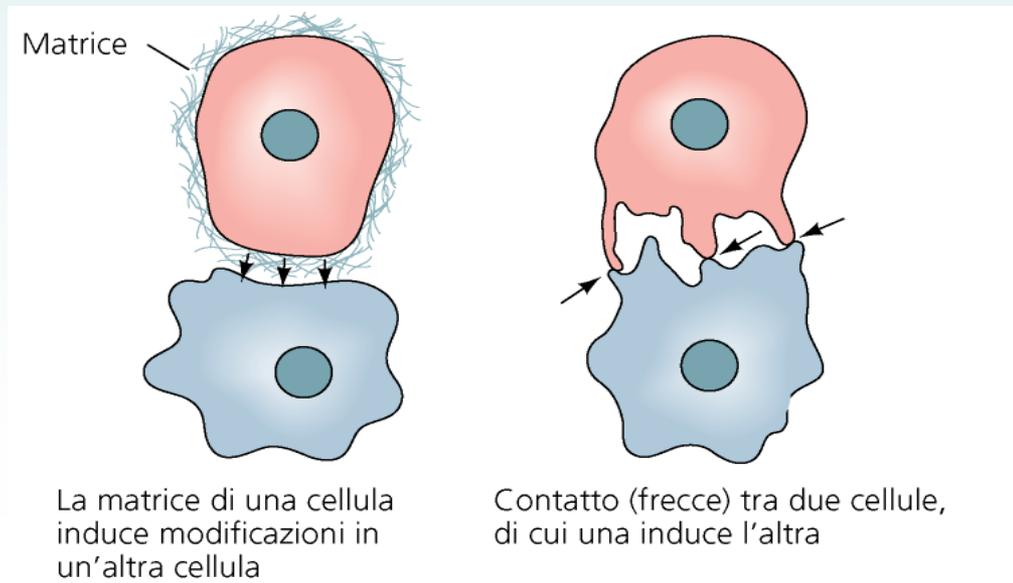
- FATTORI DI CRESCITA FIBROBLASTICI (FGF)**: angiogenesi, crescita assonica, differenziazione mesodermica;
- Proteine WNT**: sviluppo degli arti, del mesencefalo, somiti, apparato urogenitale;
- Proteine hedgehog**: nei mammiferi, 3 geni hedgehog: *desert*, *indian* e *sonic*, sviluppo arti, tubo neurale, Regionalizzazione intestino;
- FATTORI DI CRESCITA TRASFORMANTI (TGF- β)**: include BMP, attivine, fattore inibente mulleriano, formazione ECM, ramificazione epiteliale nello sviluppo di polmoni, reni, ghi salivari, formazione dell'osso.



INTERAZIONI IJXTACRINE

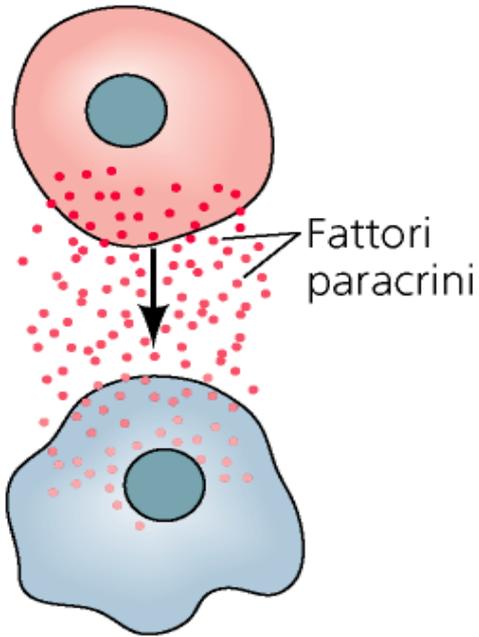
Sono mediate dalla via di trasduzione del segnale anche se **NON** coinvolge **fattori diffusibili**.

- Esistono **3 vie del segnale iuxtacrino**:
 1. Proteina di superficie interagisce con il recettore di una cellula adiacente (via di Notch)
 2. Ligandi della matrice extracellulare che interagiscono con i loro recettori posti su cellule confinanti
 3. Segnale diretto tra una cellula e l'altra attraverso GIUNZIONI GAP



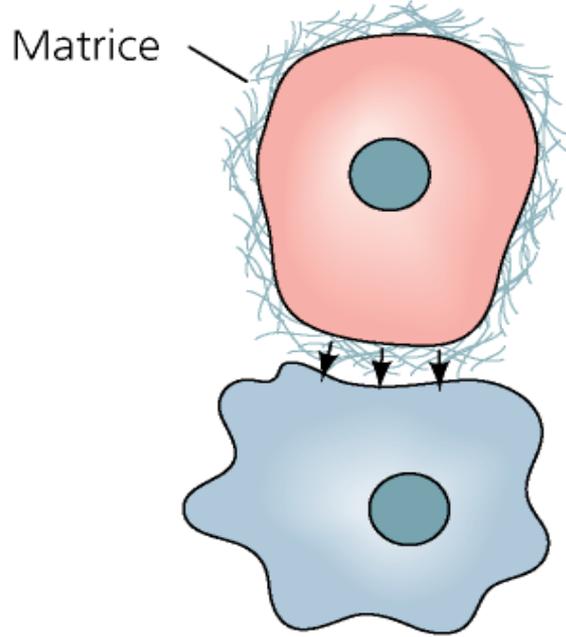
La regolazione della espressione delle molecole coinvolte negli eventi dello sviluppo

fattori paracrini

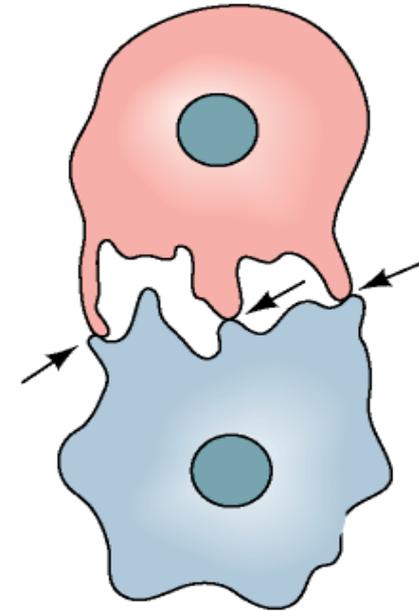


Diffusione di induttori da una cellula a un'altra

fattori iuxtacrini



La matrice di una cellula induce modificazioni in un'altra cellula

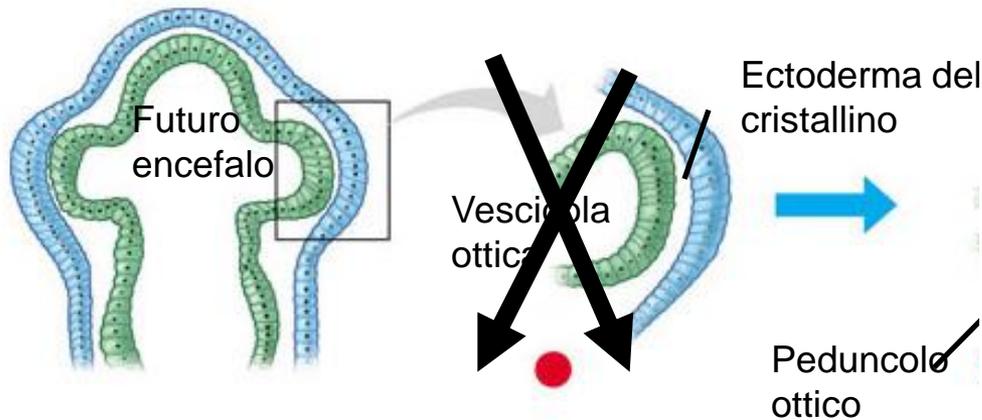


Contatto (freccie) tra due cellule, di cui una induce l'altra

Molecole che possono specificare e differenziare un tipo cellulare possono essere definite molecole induttrici o morfogeni.

Induzione (identificata nei primi anni 1900)

Es: Processo di induzione durante lo sviluppo dell'occhio:



1 osservazione: rimuovendo la vescicola ottica non si forma il cristallino

2 osservazione: trapiantando la vescicola ottica in una zona dove si forma l'ectoderma, si forma un cristallino

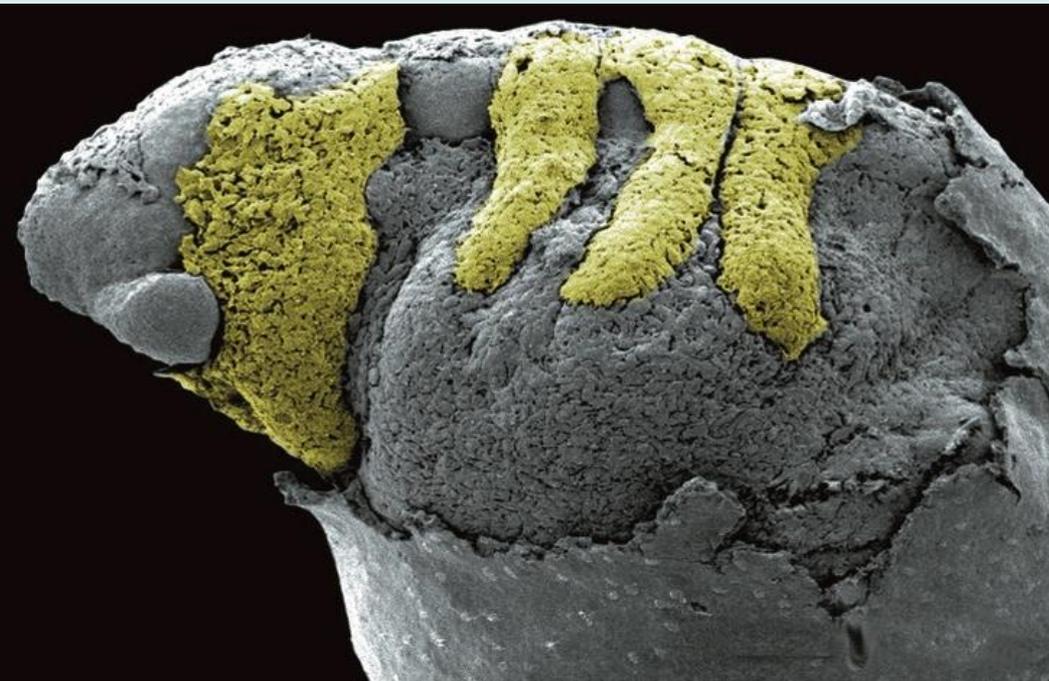
CONCLUSIONI: la vescicola ottica induce il cristallino nell'ectoderma

Ma l'induzione non è tutto...

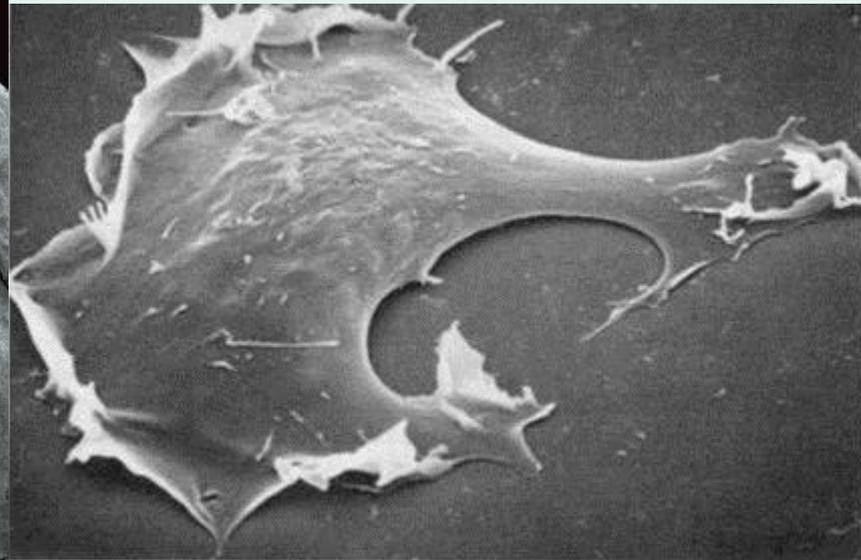
MORFOGENESI migrazioni cellulari

- **Migrazione di cellule.** Interazione tra cellule e ambiente:

Proteine della matrice - laminina, fibronectina
Molecole di adesione - integrine
proteine del citoscheletro



**Cellule embrionali (creste neurali)
in migrazione**



**Una cellula che migra aderendo
all'ambiente**

I processi dello SVILUPPO

MORFOGENESI

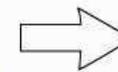
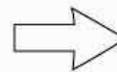
MORFOGENESI (CAMBIAMENTI della FORMA):

- organizzazione delle cellule nei tessuti e negli organi
- creazione della forma interna ed esterna dell'embrione

Si realizza mediante:

migrazioni cellulari
aggregazioni cellulari
ripiegamenti
invaginazioni

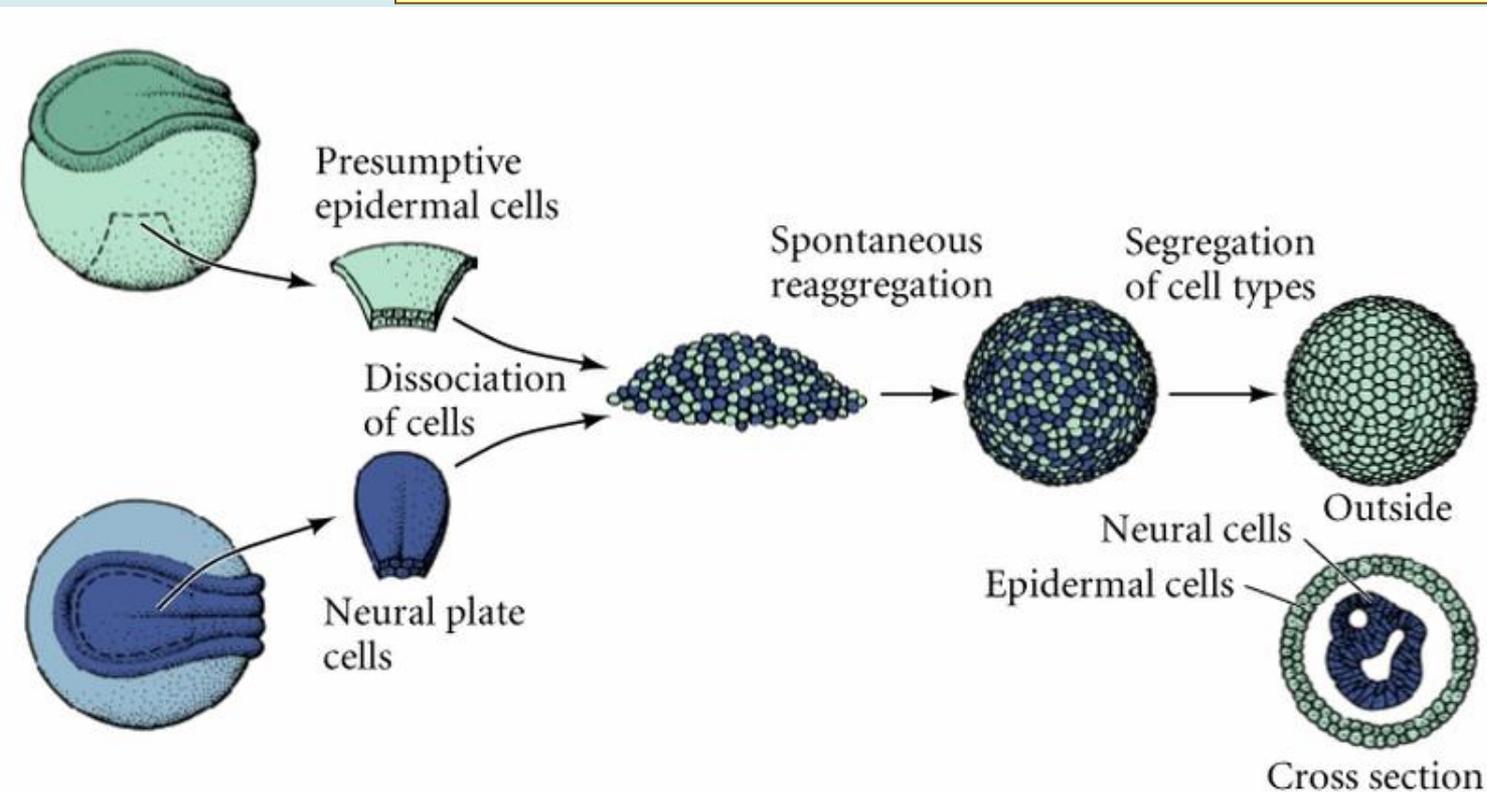
Eventi spiegabili a livello molecolare
identificando le molecole coinvolte...



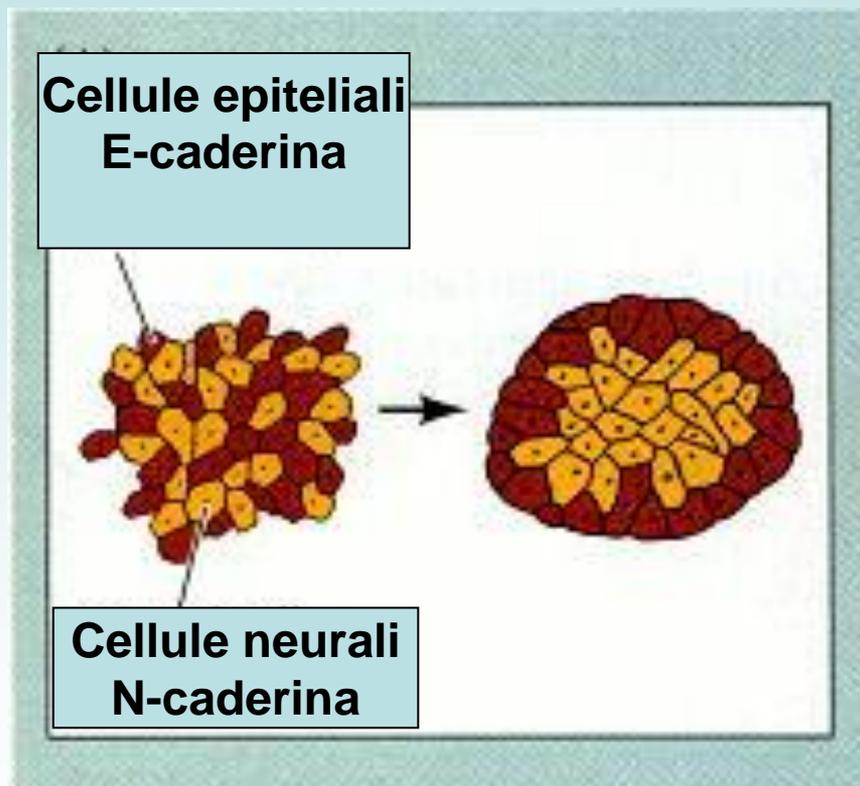
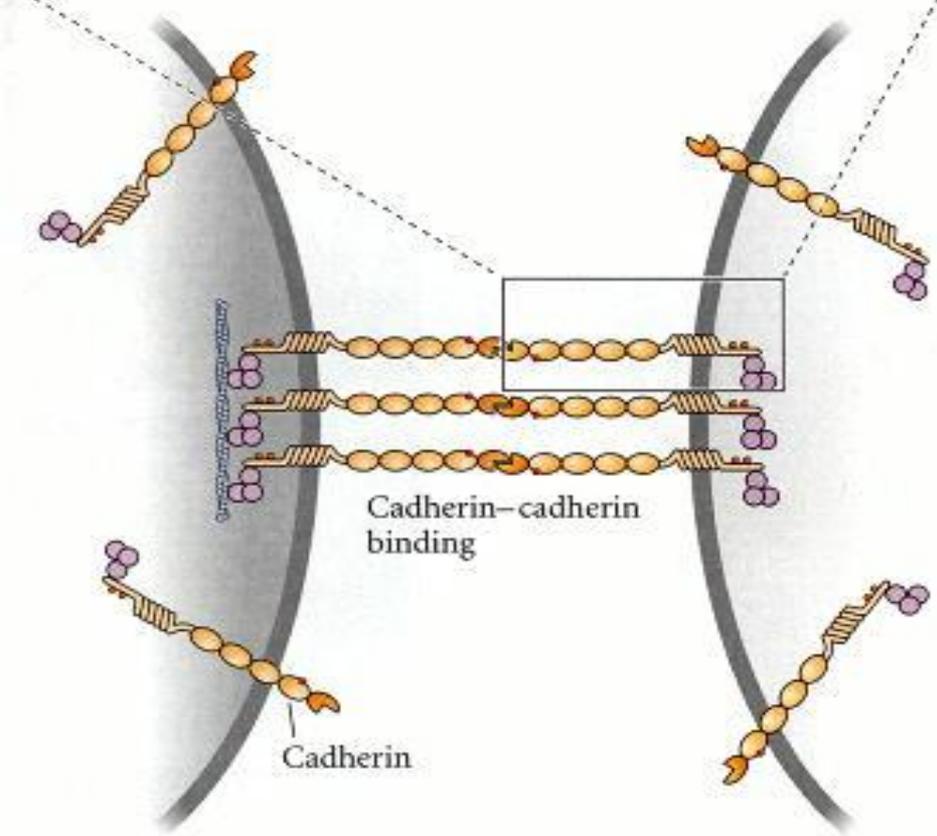
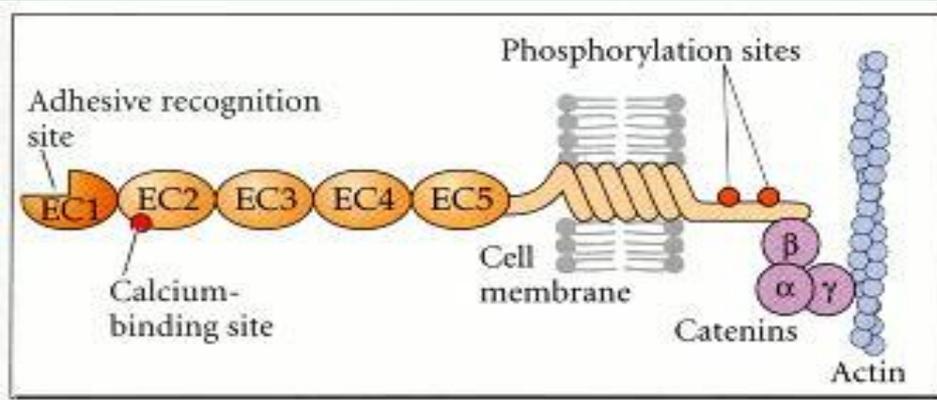
MORFOGENESI adesioni fra cellule

Adesione differenziale tra cellule embrionali
1ª dimostrazione di Holtfreter (1955)

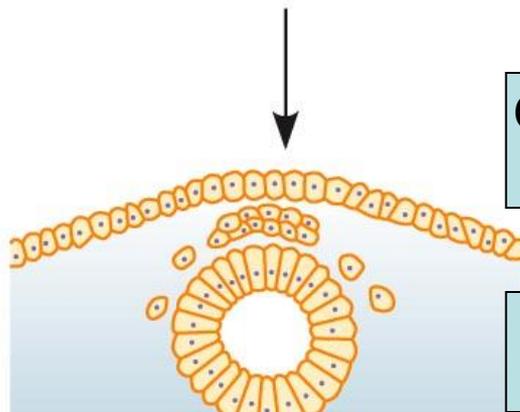
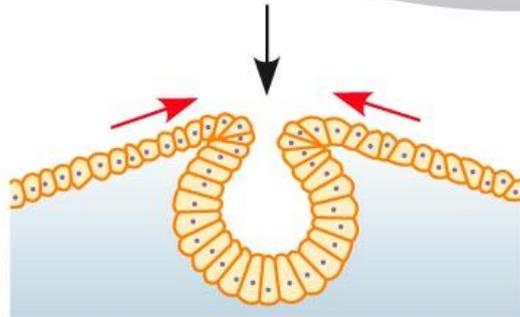
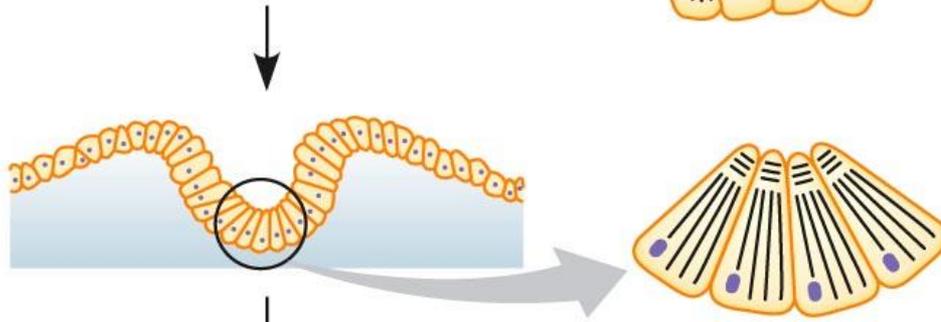
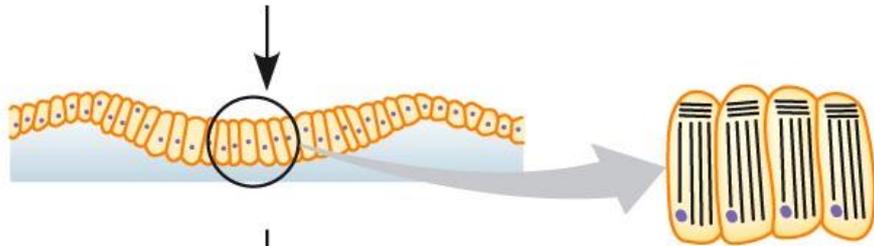
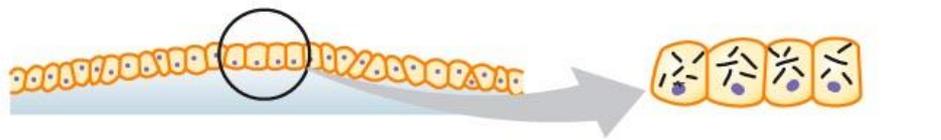
Proteine di adesione cellula-cellula: caderine



Proteine di adesione cellula-cellula: caderine



Un esempio di **MORFOGENESI**



Cellule epiteliali
E-caderina

Cellule neurali
N-caderina

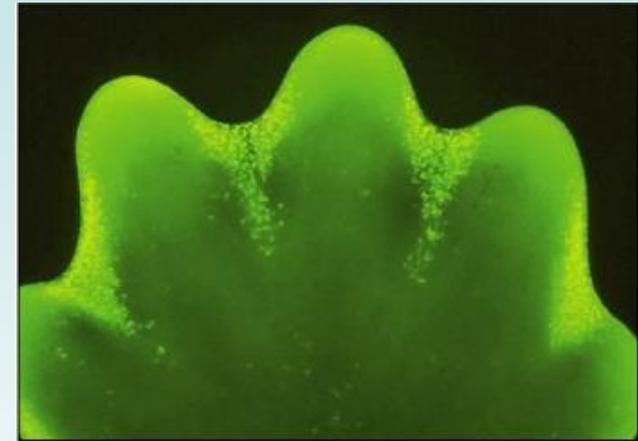
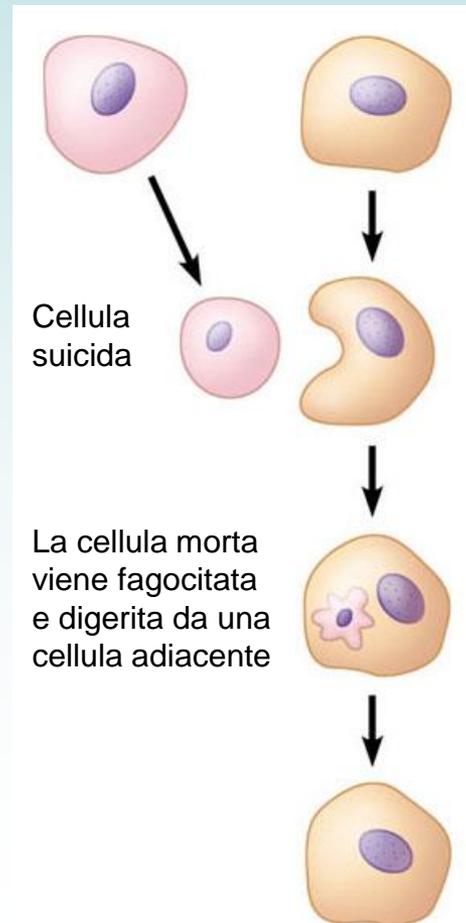
Ripiegamenti cellulari
molecole coinvolte?

- proteine del citoscheletro
- molecole di adesione cellulare: caderine

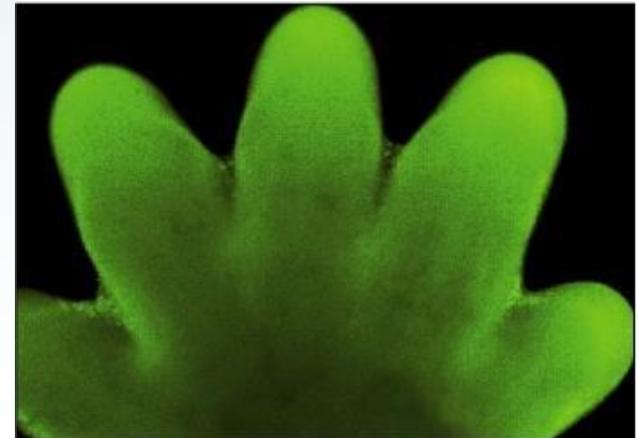
MORFOGENESI apoptosi

- Un processo determinante per lo sviluppo embrionale è la *morte cellulare programmata* o **apoptosi**

Apoptosi durante lo SVILUPPO della zampa di topo

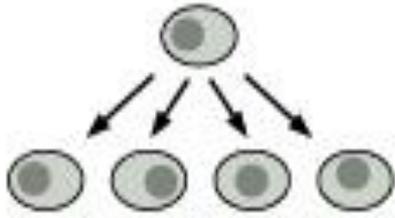


(A)

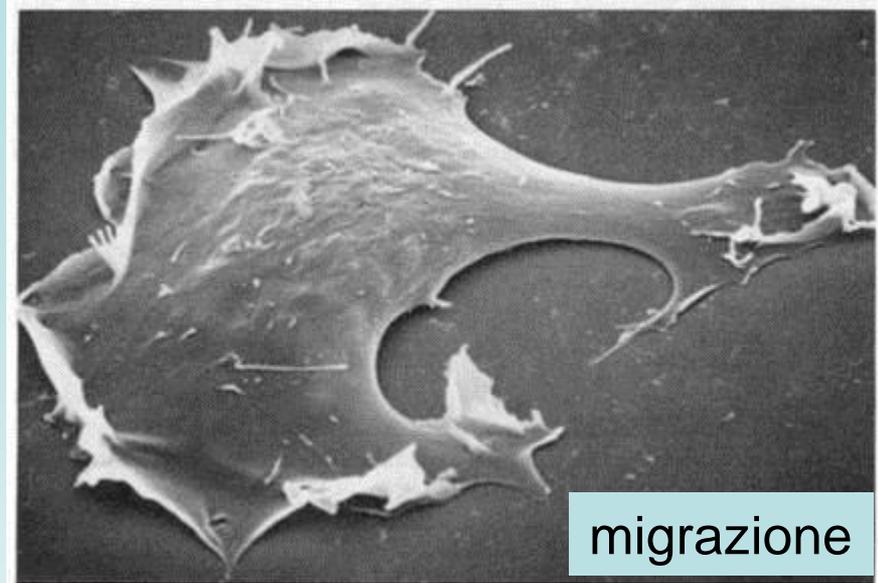


(B)

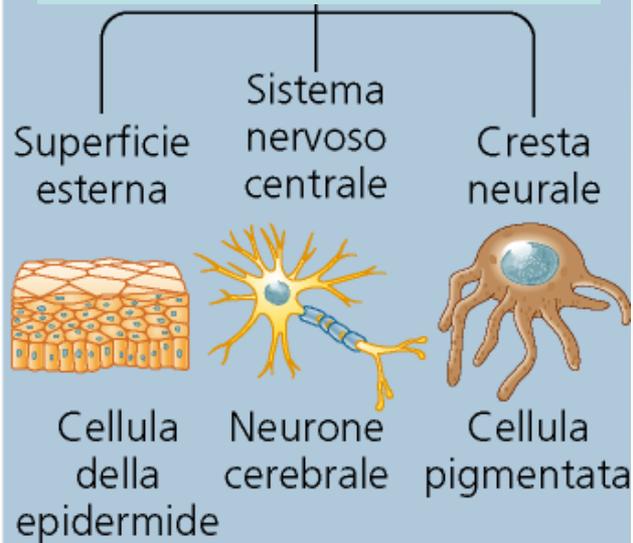
1 mm



PROLIFERAZIONE CELLULARE

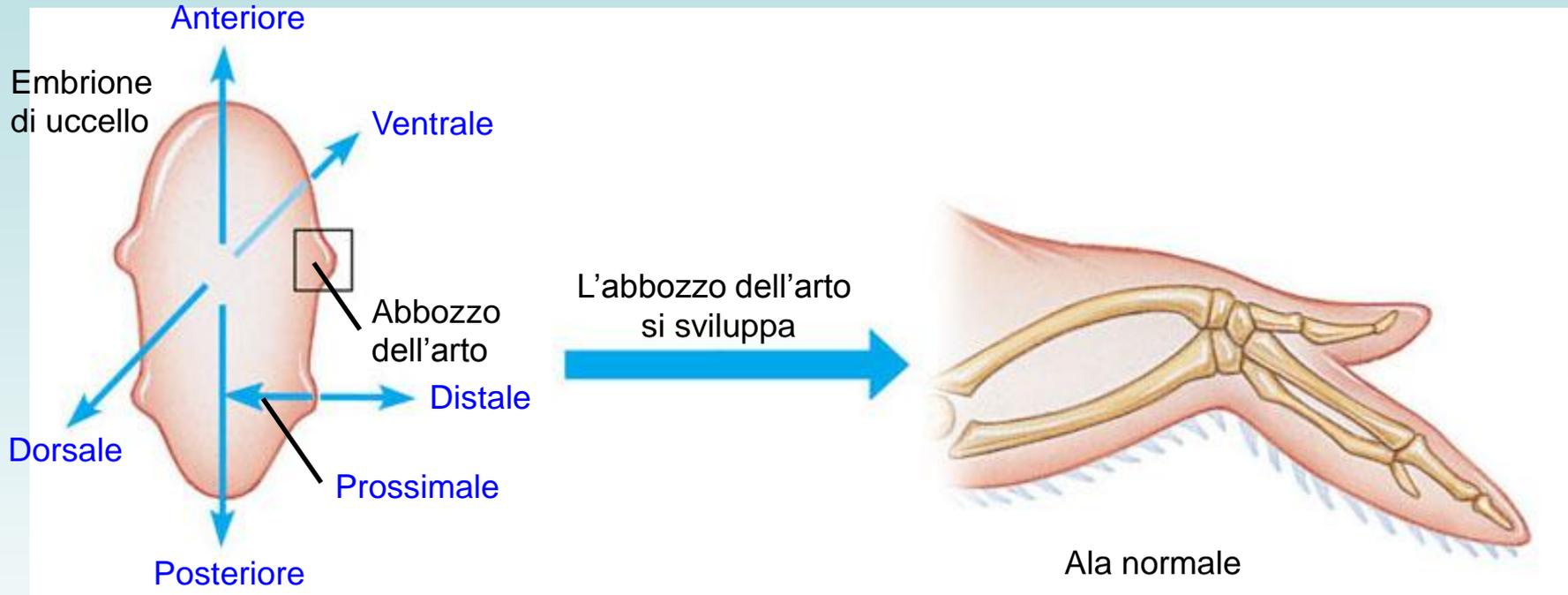


differenziamento



Ogni evento descritto è legato alla produzione, nelle cellule interessate, delle molecole specificamente coinvolte nel processo stesso

Nel corpo tessuti e organi specializzati devono differenziarsi e prendere forma, ciascuno al posto giusto.



devono essere definiti gli assi principali dell'embrione.

Asse antero - posteriore (A-P) o cefalo-caudale

Asse dorso - ventrale (D-V)

Asse dx-sin

Le diverse parti del corpo devono costituire una porzione specifica del corpo

Braccio e gamba, Braccio dx e sin, parte prossimale del braccio o distale (dita)

I processi dello SVILUPPO

FORMAZIONE DEL PATTERN

FORMAZIONE del PATTERN (ORGANIZZAZIONE SPAZIALE del piano corporeo)

Nello sviluppo deve essere disegnato il piano corporeo complessivo (progetto architettonico).

Anche se

- sono costituiti dagli stessi tessuti...
- le differenze sono associate ad una diversa distribuzione degli stessi tipi di cellule (organizzazione) nello spazio

Geni del differenziamento

Geni della determinazione Spaziale (del pattern)

Organizzazione spaziale del piano corporeo

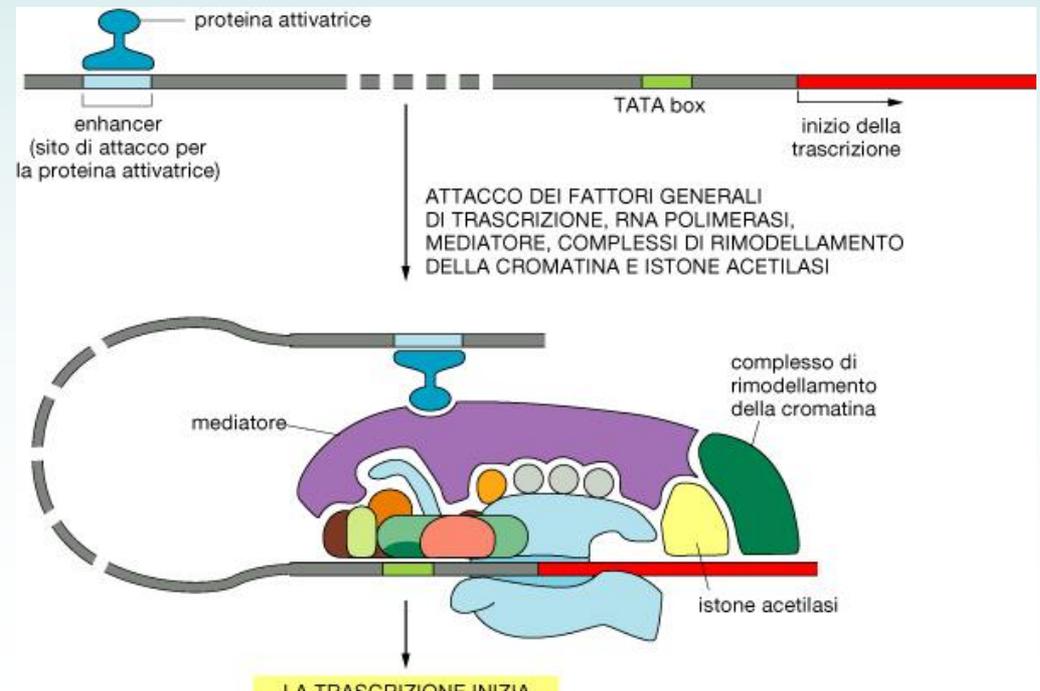
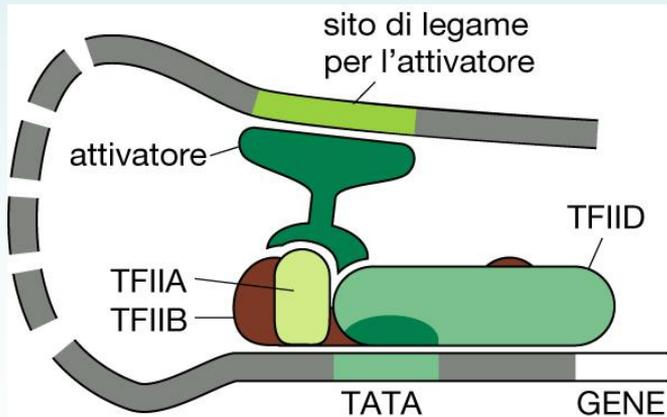
- Quali meccanismi determinano come organizzare le cellule nelle diverse parti del corpo?
 - Clusters di geni specifici (HOX GENES)
 - Fattori di trascrizione specifici
 - Espressione di proteine lungo l'asse antero-posteriore in modo “regionalizzato”

...facciamo un passo indietro

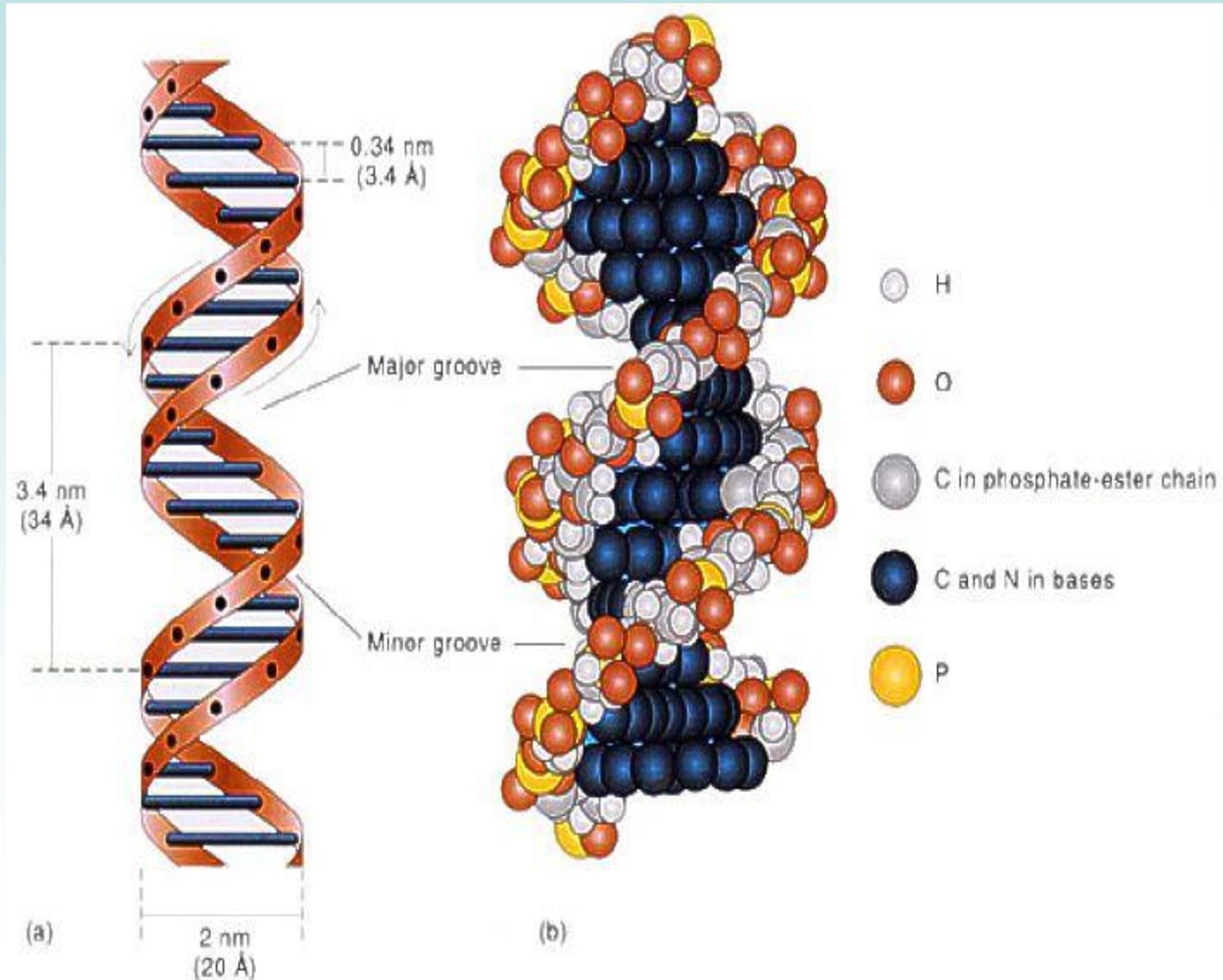


I fattori di trascrizione specifici :

- Si legano a sequenze specifiche sul promotore **tramite il dominio di legame al DNA**
- Facilitano l'assemblaggio del macchinario basale di trascrizione



Come i fattori di trascrizione possono riconoscere i loro siti di legame sul DNA?



Domini di legame al DNA

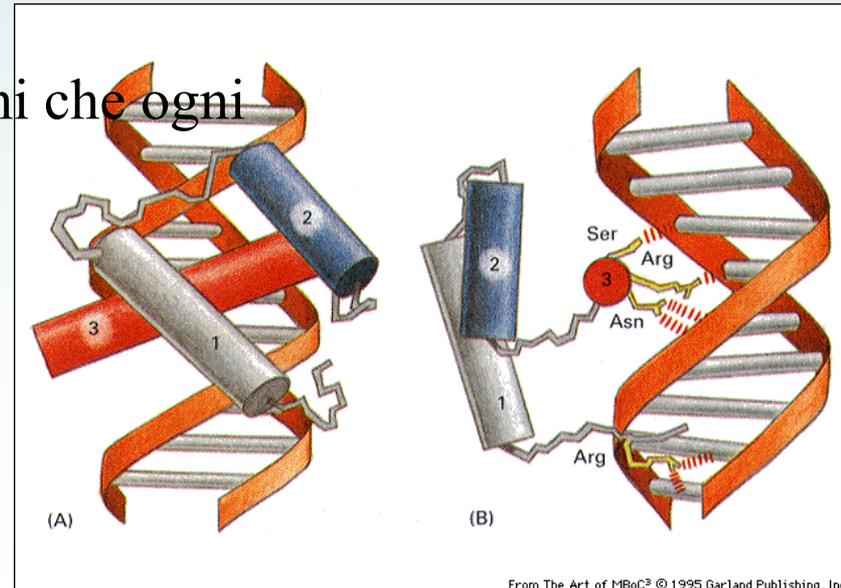
- Homeodominio
- A dita di zinco (Zinc-Finger)
- Basico- a cerniera di leucine (Basic-Leucine Zipper)
- Elica-ansa-elica (Helix-Loop-Helix)

L' omeodominio

- caratteristici dei geni omeotici (antennapedia, Oct-1 or -2, Hox)
- sequenza altamente conservata di 60 aa che forma una struttura a elica-ansa-elica-giro-elica (**omeobox**)
- si lega ad una sequenza “consenso” conservata : aTtA(tAaT)
- Gli omeodomini determinano il gene o i geni che ogni proteina andrà a regolare

Gene → omeobox (HOX)

Proteina → omeodominio



Lo studio dello sviluppo e della genetica dello sviluppo si avvale di modelli animali

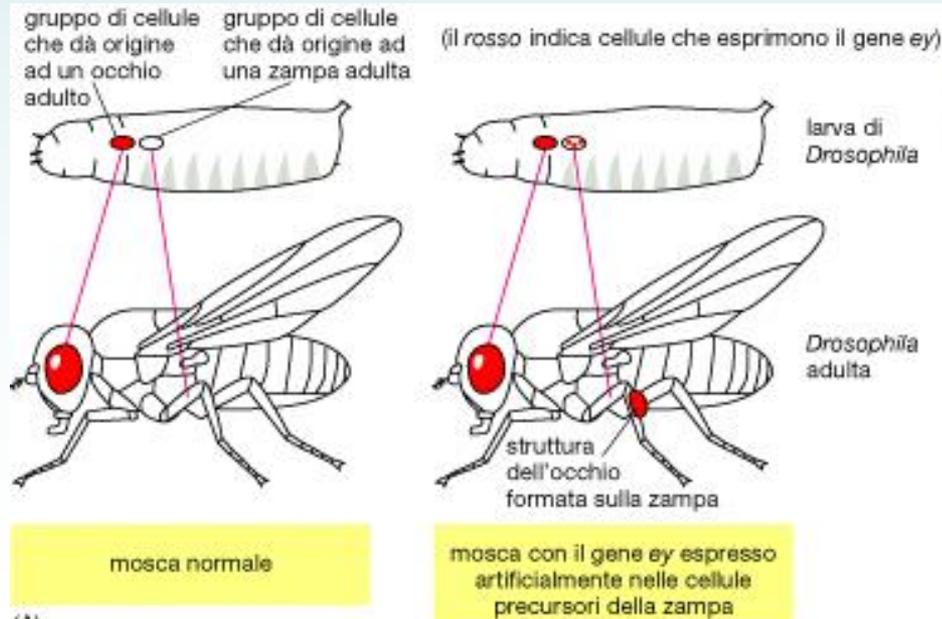
- Embrioni facilmente osservabili
- Brevi cicli vita
- Genomi relativamente piccoli



Alcuni geni regolano complessi programmi di sviluppo

Drosophila Melanogaster (moscerino della frutta)

Mutante *Antennapedia*: mutata la regione regolatrice del gene, che ora si esprime nella testa: si sviluppano zampe invece di antenne



I geni HOX

- Sequenza di 180 nucleotidi, detta *homeobox*, che codifica per una catena di 60 aminoacidi, detta *omeodominio*, presente negli invertebrati ma anche nei vertebrati
- partecipano alla costruzione del piano corporeo e allo sviluppo dei componenti lungo l'asse antero-posteriore
- i geni Hox controllano altri geni durante lo sviluppo embrionale per mezzo di proteine che si attaccano fisicamente ad alcuni tratti di DNA e ne regolano la trascrizione



Geni selettori OMEOTICI

- Determinano le strutture fenotipiche, caratteristiche di ciascun segmento
- In *Drosophila* sono localizzati sul cromosoma 3 dove formano 2 complessi genici:
 - *Antennapedia (ANT-C)*: 5 geni che determinano la struttura della testa e del torace
 - *Bithorax (BX-C)*: determina le strutture del 3° segmento toracico e addome

L'insieme di questi due complessi è definito HOM

Geni selettori OMEOTICI nei VERTEBRATI

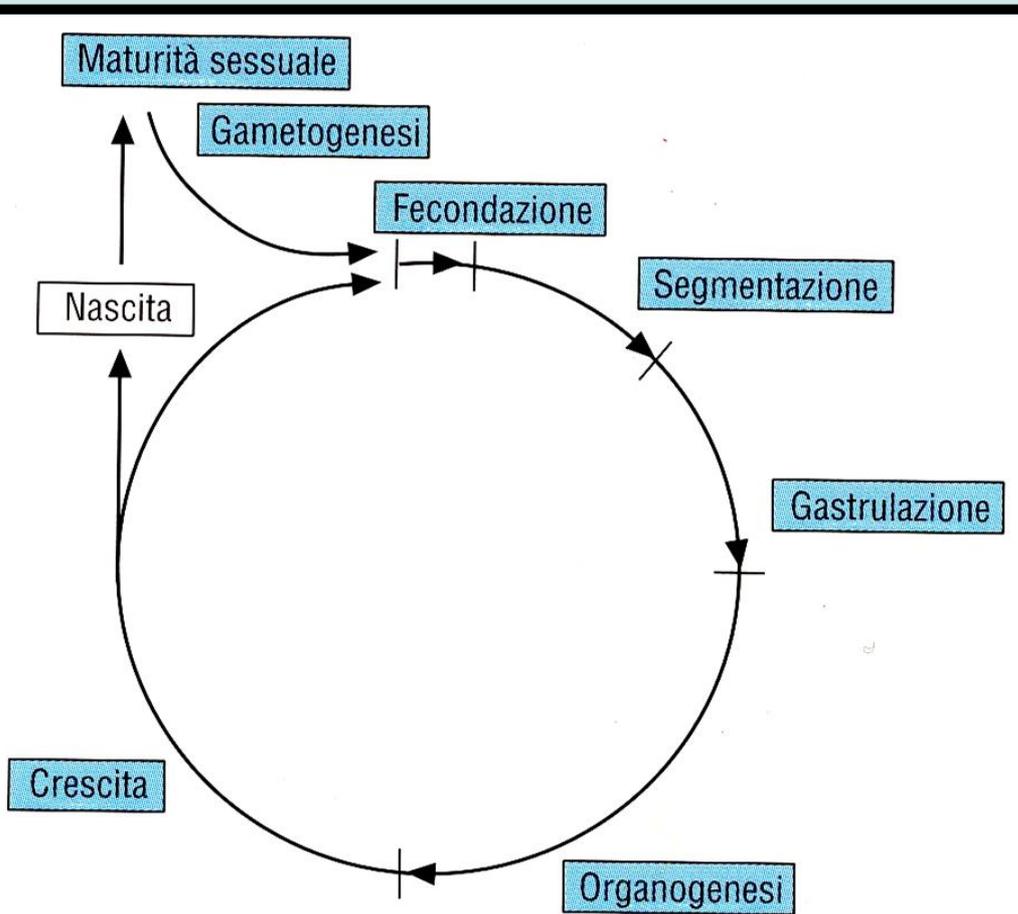
- I Vertebrati possiedono non 1 ma 4 complessi di geni con omeobox denominati **HOX A, HOX B, HOX C, HOX D**.
- I geni HOX sono allineati nello stesso ordine delle regioni del corpo di cui controllano lo sviluppo embrionale e i loro omeobox presentano forte omologia con *Antennapedia* ed *Ultrabithorax*.

CICLO VITALE dei METAZOI

Metazoi : tutti gli organismi pluricellulari appartenenti al regno animale

Protisti: eucarioti unicellulari

I processi che vanno dalla **generazione** di un individuo alla sua **riproduzione** definiscono il **CICLO VITALE**.



7 FASI SUCCESSIVE

conservate nel corso
dell'evoluzione

1. GAMETOGENESI

2. FECONDAZIONE

Formazione dello zigote

CICLO VITALE dei METAZOI

3. SEGMENTAZIONE

Mitosi successive dello zigote che originano cellule (BLASTOMERI) sempre più piccole



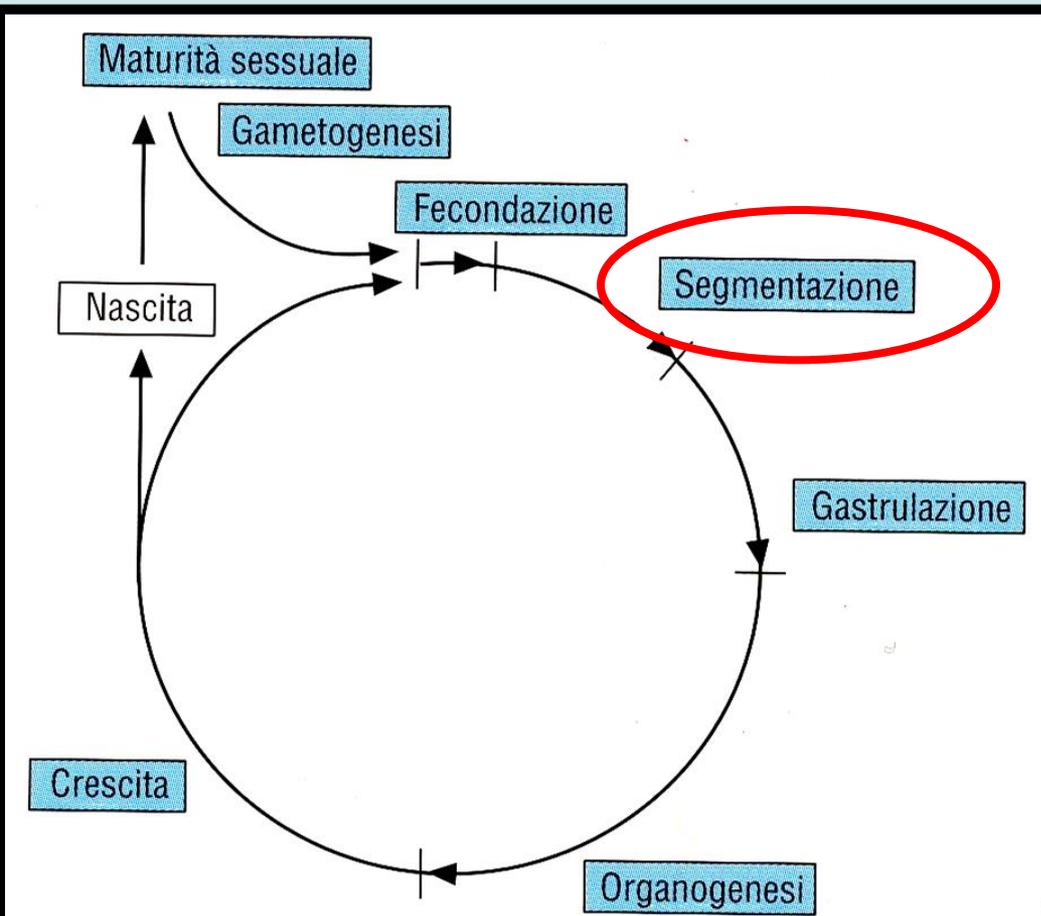
Termina quando si è raggiunto il rapporto Nucleo/Citoplasma caratteristico della specie.

NB

Crea le prime

DETERMINAZIONI

“differenziamento invisibile”



CICLO VITALE dei METAZOI

4. GASTRULAZIONE

Un insieme di movimenti che gettano le basi della architettura del futuro individuo

**MOVIMENTI
MORFOGENETICI**

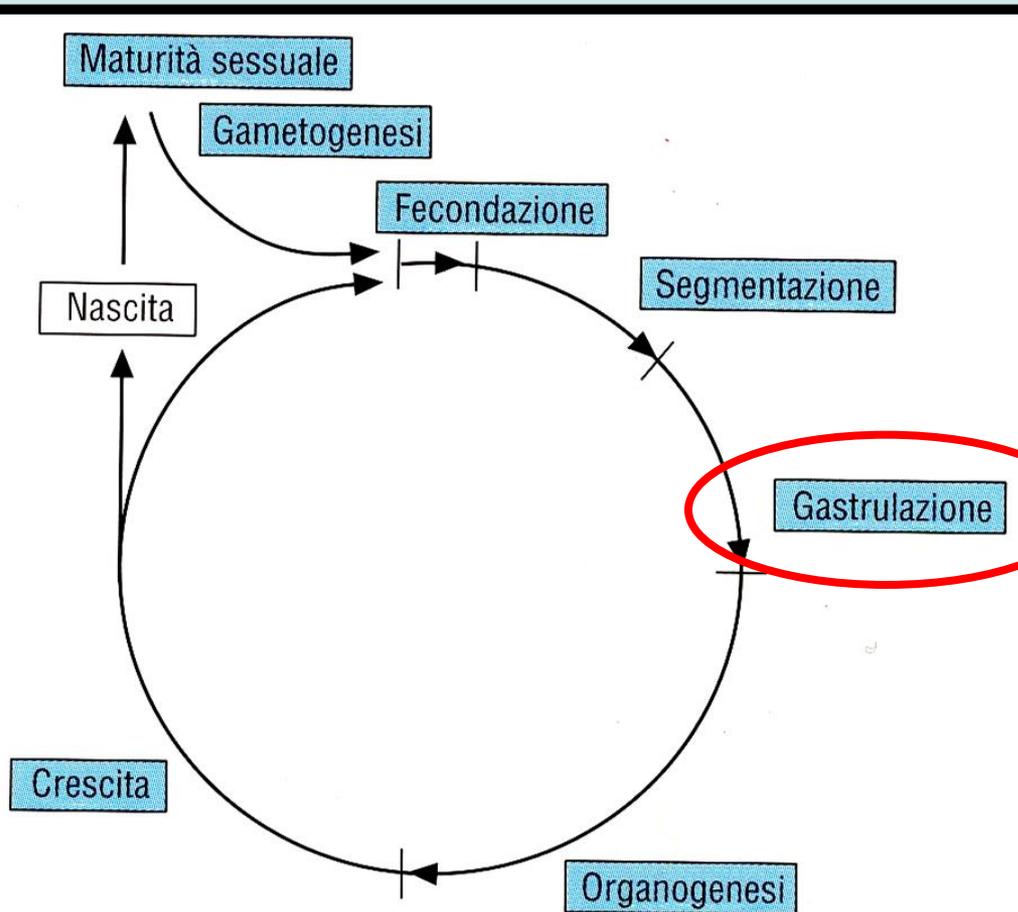
origina i tre foglietti:

ECTODERMA: epidermide,
tessuto nervoso

MESODERMA: connettivo,
derma, muscoli, rene, gonadi,
cuore, sangue

ENDODERMA: rivestimento
del tubo digerente e organi
annessi

DIFFERENZIAMENTO

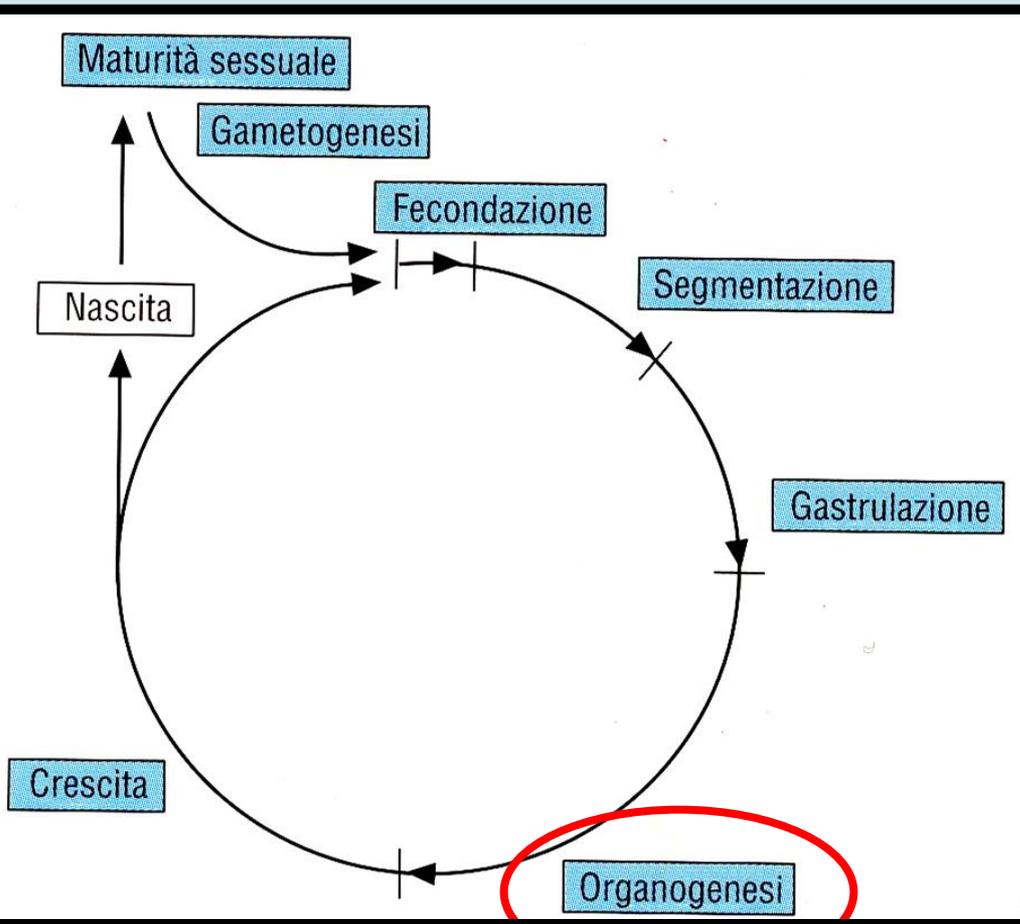


CICLO VITALE dei METAZOI

5. ORGANOGENESI: grandi cambiamenti morfogenetici

Il corpo dell'embrione viene suddiviso in **aree** dove vengono costruiti gli **abbozzi degli organi**. Si crea la **struttura tridimensionale** in cui si

possono riconoscere le varie parti del futuro organismo.



Nell'uomo questo stadio è raggiunto

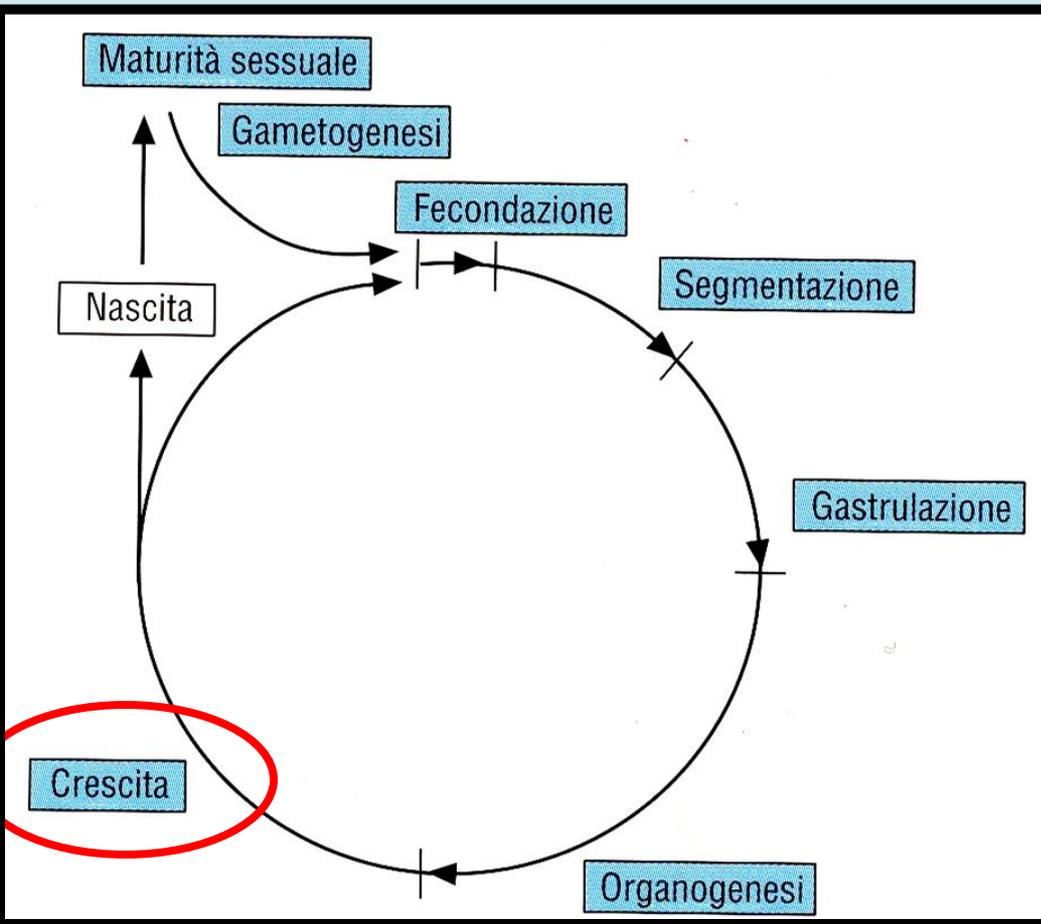
all'inizio del terzo mese: FETO

CICLO VITALE dei METAZOI

6. CRESCITA

Gli abbozzi aumentano di volume → **ORGANI**

Le cellule acquistano nuova struttura e funzione



DIFFERENZIAMENTO

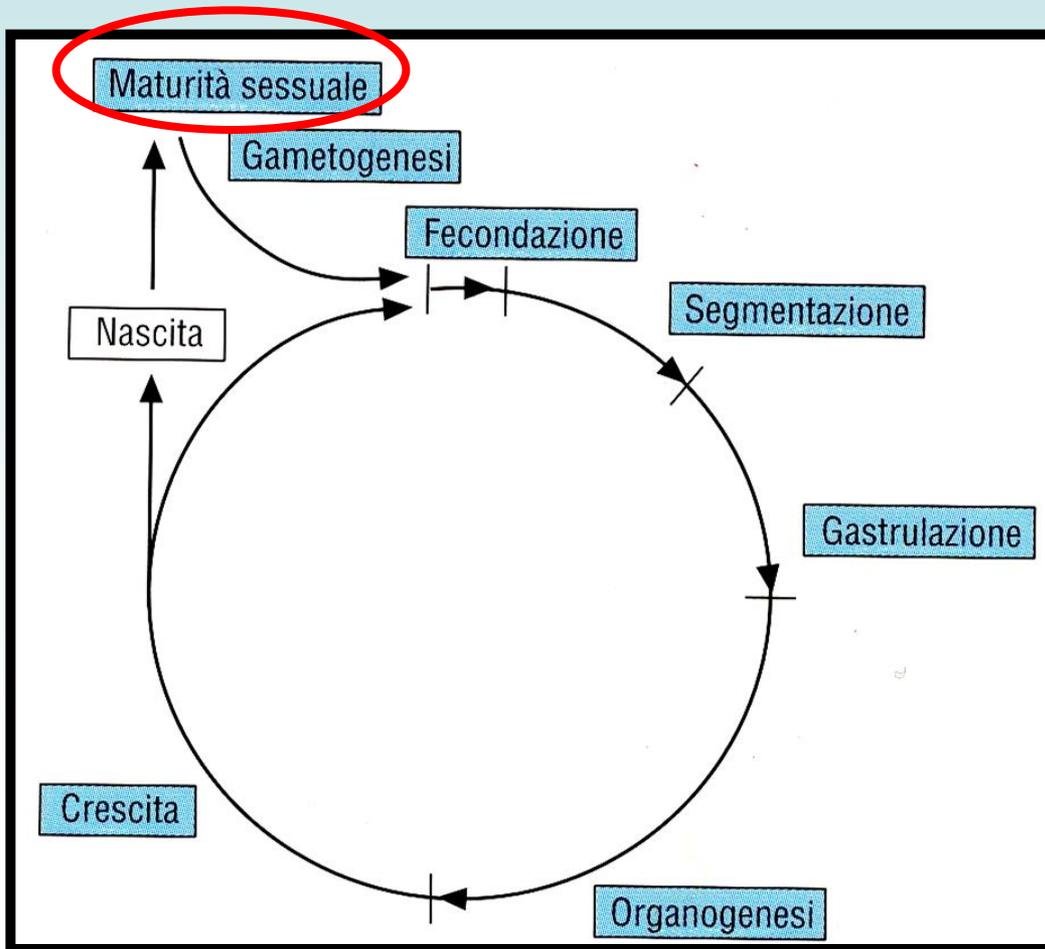
AI TERMINE

L'organismo diventa capace di vita indipendente

CICLO VITALE dei METAZOI

7. MATURITA' SESSUALE

L'organismo acquista la capacità di produrre gameti e di riprodursi. Inizia un nuovo ciclo vitale



ANNESSI EMBRIONALI

VERTEBRATI SUPERIORI (RETTILI; UCCELLI; MAMMIFERI): solo una piccola parte dei blastomeri forma l'embrione; il resto forma strutture che avvolgono, nutrono e proteggono l'embrione

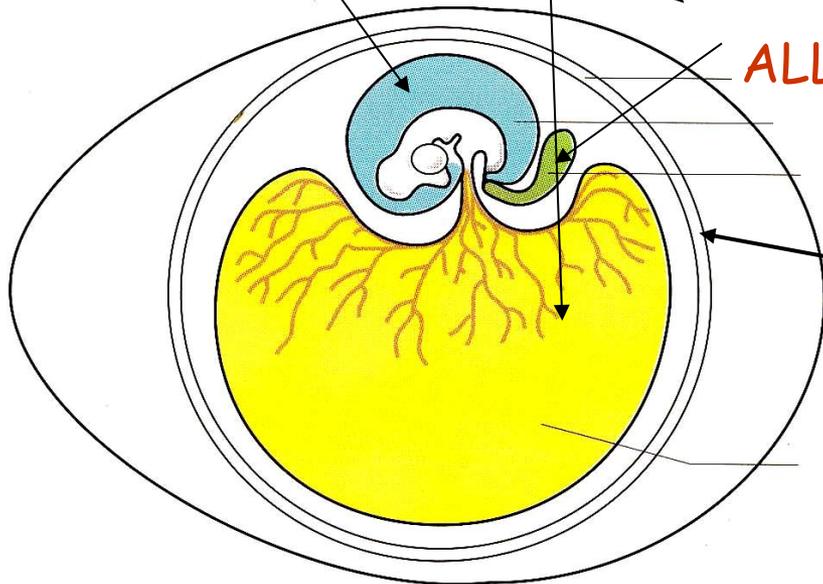
Nei rettili e negli uccelli sono 4:

AMNIOS - sacco che avvolge l'embrione e gli permette di crescere nel liquido amniotico

SACCO VITELLINO contiene il tuorlo,
- sostanze che nutrono l'embrione

ALLANTOIDE - formerà, con altri ts, cordone ombelicale

CORION - membrana che avvolge tutti gli altri, media gli scambi gassosi

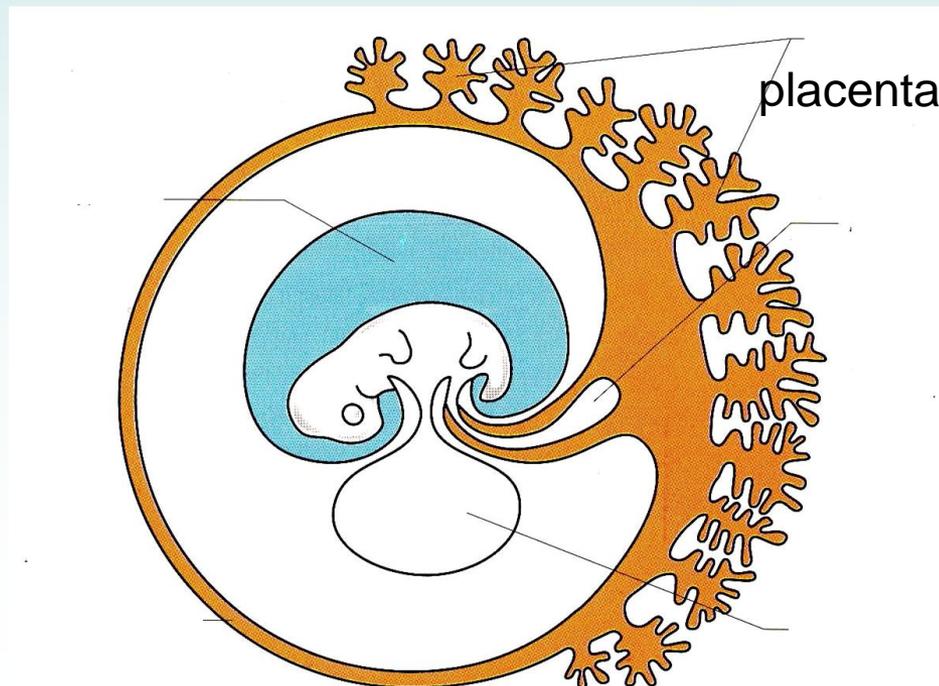


Mammiferi placentati

Sono i mammiferi più evoluti ed hanno un 5° annesso embrionale:
la **PLACENTA**

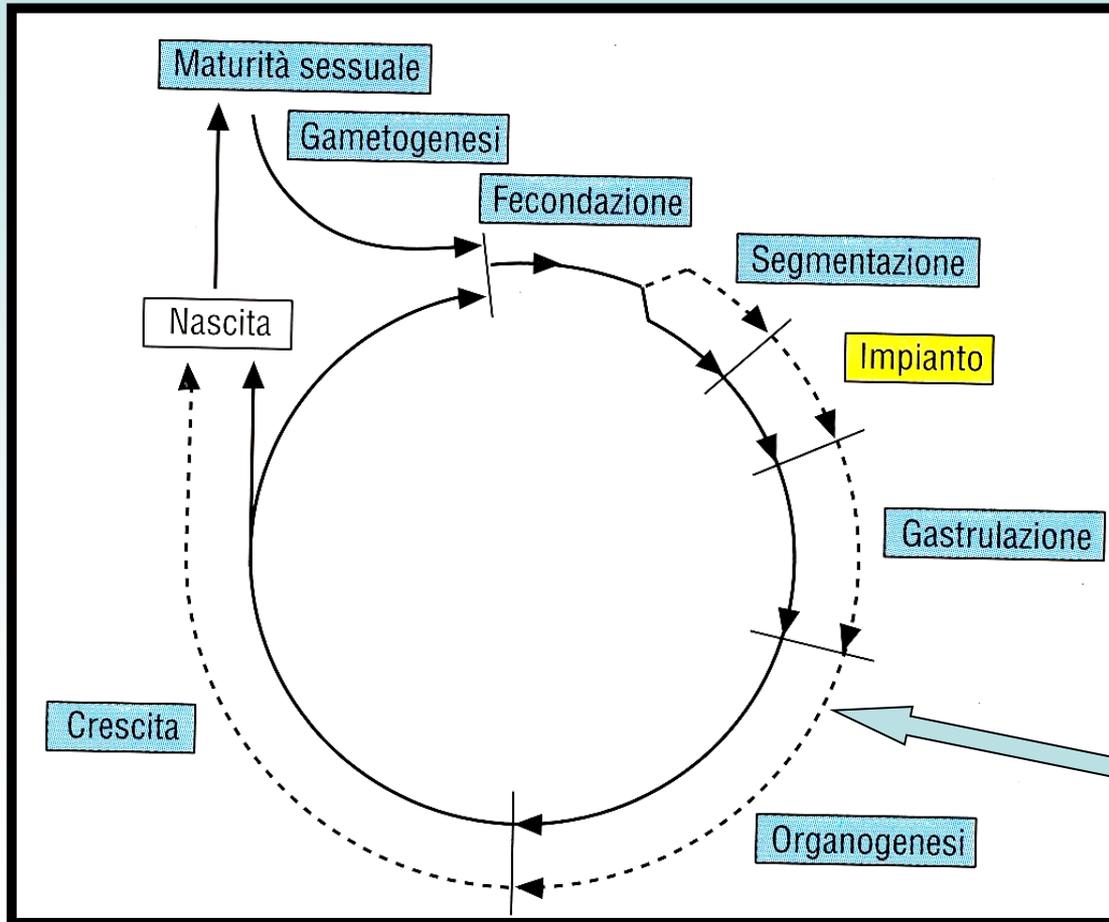
Alla sua formazione contribuiscono sia la madre che l'embrione.

Lo sviluppo dell'individuo avviene all'interno del corpo della madre
che attraverso la placenta fornisce nutrimento



Riprendiamo il CICLO VITALE: nei MAMMIFERI

Nei mammiferi segmentazione e gastrulazione sono separate da una fase di **IMPIANTO dell'embrione nell'utero**.



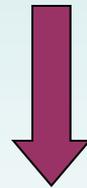
L'impianto realizza il contatto fisico tra embrione e utero

La riga tratteggiata indica che parallelamente allo sviluppo dell'embrione si sviluppano gli annessi

CICLO VITALE: nei MAMMIFERI

N.B: Nei mammiferi segmentazione e gastrulazione sono separate da una fase di **IMPIANTO dell'embrione nell'utero**.

Questa separazione significa che non può cominciare la gastrulazione se non è avvenuto l'impianto



Il primo scopo dell'impianto è produrre un segnale (**la gonadotropina corionica**) che entra nel circolo sanguigno della madre, raggiunge le gonadi e modifica la secrezione ormonale in modo da impedire la mestruazione e con essa l'eliminazione dell'embrione stesso.

«Il genoma rappresenta un DIZIONARIO completo dell'individuo, ma da tale dizionario non possiamo costruire un organismo più di quanto possiamo costruire un'opera di Shakespeare da un dizionario delle parole inglesi»



COMPITO DELL'

EMBRIOLOGIA

Scoprire come viene usato il dizionario del genoma per scrivere il libro del corpo umano!