
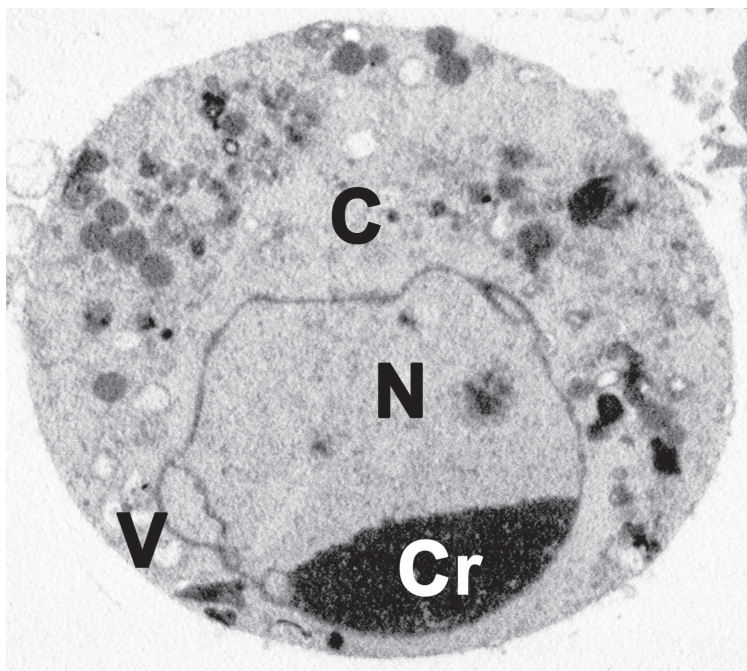


Tabella 3.1 Esempi di processi morfogenetici.

Processo morfogenetico	Esempi
proliferazione	sviluppo degli arti
morte cellulare	regressione dei somiti caudali, separazione delle dita per degenerazione delle membrane interdigitali, degenerazione dei primi abbozzi renali (rudimentale pronefro, mesonefro)
movimento citotropico	trasformazione del nodo embrionale in disco germinativo, intercalazione che porta all'allungamento del dotto cocleare
movimento sticotropico	formazione della membrana di Heuser, del canale cordale, delle lamine mesodermiche
movimento di massa	cellule degli sclerotomi e dei dermomiotori, cellule della cresta neurale che danno origine alla midollare surrenale
movimento di singole cellule	melanoblasti, neuroblasti che popolano il canale alimentare
polarizzazione	formazione dello strato esterno della morula
evaginazione	formazione dell'abbozzo dell'arto
invaginazione	formazione delle fosse nasali primitive, formazione della vescicola otica e di quella della lente
estroflessione	formazione della vescicola ottica (una forma di invaginazione perché la piega dell'epitelio ha la convessità sulla superficie basale)
<div>  </div> <div> introflessione Embriologia Umana </div>	formazione del calice ottico, formazione della capsula di Bowman (una forma di evaginazione perché la piega dell'epitelio ha la convessità sulla superficie apicale)
coalescenza (fusione, concrescenza)	formazione delle membrane bucco-faringea, cloacale e branchiali, saldatura del pavimento del canale cordale con la volta del sacco vitellino, saldatura dei dotti di Müller con il tubercolo sinusale
delaminazione	formazione della somatopleura e della splancnopleura intraembrionali a partire dal mesoderma della piastra laterale, segmentazione del mesoderma parassiale e di quello intermedio
deiscenza	formazione del canale neurenterico, apertura delle membrane faringea, anale e urogenitale
schizocelia	formazione della blastocisti, formazione delle vescicole nefrotomiche, formazione delle primitive cavità vascolari
secrezione	formazione di matrice extracellulare, processi di schizocelia
divisione cellulare asimmetrica	formazione dei neuroni dei vari strati retinici
transizione epitelio-mesenchimale	formazione del mesenchima comune, formazione del blastema metanefrico, sviluppo dello sclerotomo
transizione mesenchimo-epiteliale	formazione delle vescicole renali, formazione degli angioblasti



Embriologia Umana

Figura 3.1 Microfotografia elettronica di cellula in apoptosi.

La cellula ha perso le usuali proiezioni citoplasmatiche; il nucleo (N) mostra segni di cromatolisi e un addensamento omogeneo di cromatina (Cr) da un lato; il citoplasma (C) appare addensato, ma con alcuni vacuoli (V).

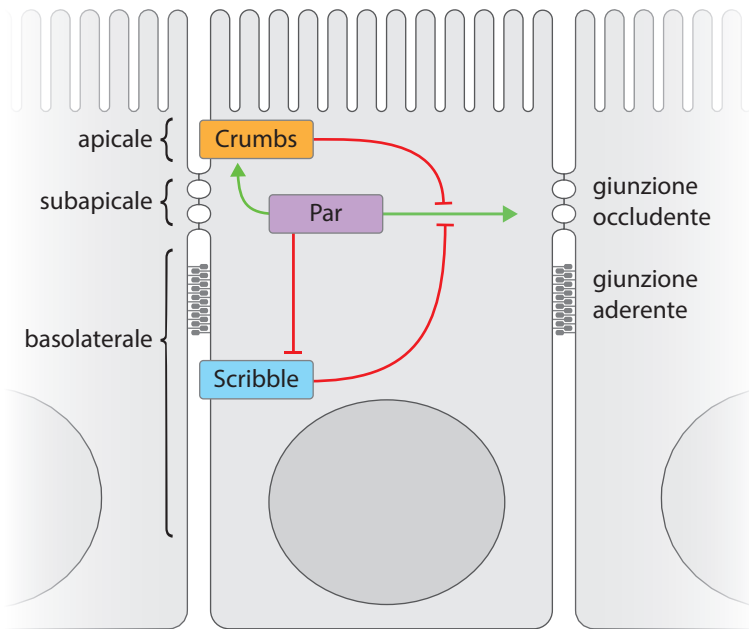


Figura 3.2 Polarità cellulare apico-basale.

Disposizione delle giunzioni occludenti e aderenti e delle proteine di polarità (Complessi Crumbs, Scribble e Par) in una cellula epiteliale. Sono anche indicate le interazioni positive (freccie verdi) e negative (linee rosse) tra i diversi complessi proteici. Il complesso SCRIB (proteine di membrana) restringe la localizzazione dei complessi CRB (proteine di membrana) e PAR (proteine prevalentemente del citoplasma corticale) alla regione apicale delle cellule epiteliali, dove collaborano per regolare la formazione delle giunzioni occludenti.

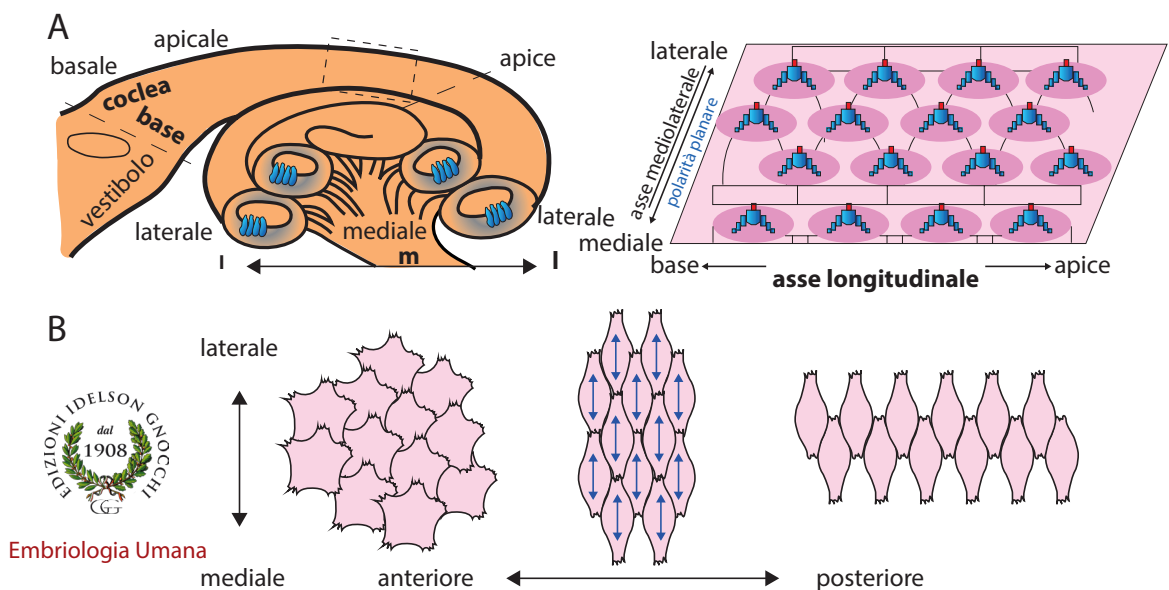


Figura 3.3 Esempi di polarità cellulare planare (PCP).

A) Polarizzazione delle ciglia sulle cellule sensoriali uditive. È schematizzata l'organizzazione della coclea e sono definiti gli assi anatomici. Le cellule sensoriali sono colorate in blu. Il pannello di destra, un ingrandimento della regione compresa nel rettangolo tratteggiato, mostra la superficie apicale delle cellule sensoriali (ellissi scure) con le stereociglia (in blu) disposte secondo una V con l'apice verso l'esterno dell'organo. B) Intervento della PCP nei meccanismi di intercalazione. A sinistra, le cellule emettono prolungamenti in tutte le direzioni. Successivamente, acquisendo una polarità planare, le cellule emettono lamellipodi lungo l'asse medio-laterale e si allargano in questa direzione (al centro). Infine, le cellule si muovono intercalandosi e la struttura si allunga lungo l'asse antero-posteriore (a destra).

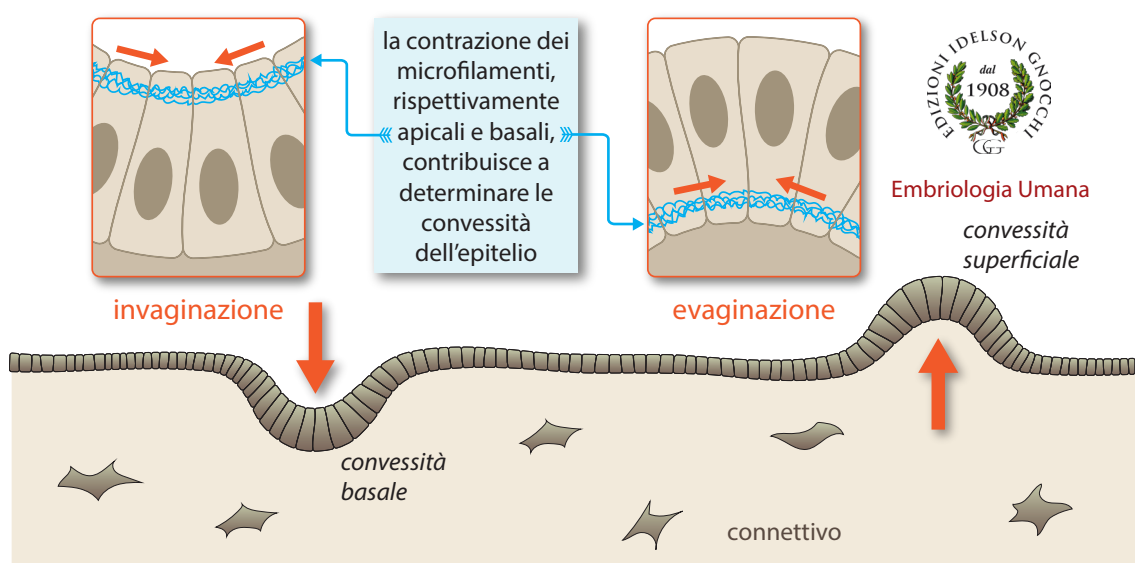
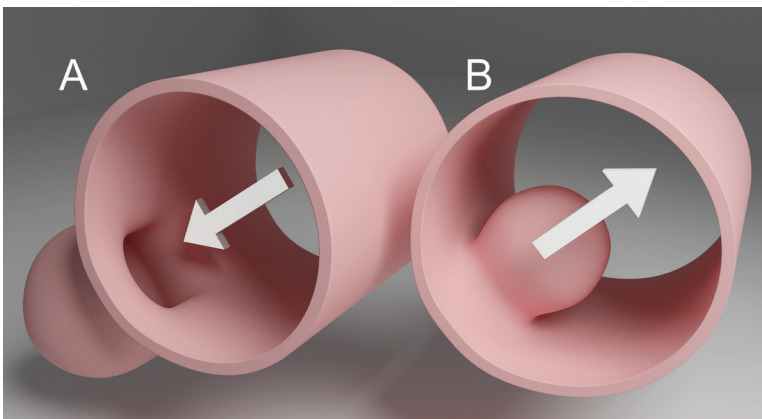


Figura 3.4 Schema dei processi di invaginazione e evaginazione.

In seguito a un locale aumento della proliferazione cellulare, il rivestimento epiteliale si può **invaginare** verso il sottostante connettivo (a **sinistra**), formando una convessità basale, oppure si può **evaginare** verso la superficie libera (a **destra**) formando una convessità superficiale. Lo schema mostra l'attivo intervento del citoscheletro nel determinare la direzione di tale convessità. Il meccanismo di invaginazione è all'origine, per esempio, dello sviluppo delle ghiandole e dell'albero tracheo-bronchiale; esempi di evaginazione includono la formazione della lingua, a partire dalla base della cavità orale, e degli arti, a partire dalla superficie esterna del corpo.



Embriologia Umana

Figura 3.5 Schema della estroflessione e della introflessione.

A) La invaginazione della superficie interna di una cavità può anche essere definita **estroflessione** (per esempio, un diverticolo intestinale è una locale estroflessione della parete dell'organo). B) La evaginazione della superficie interna di una cavità può anche essere definita **introflessione** (come nel caso di un polipo intestinale).

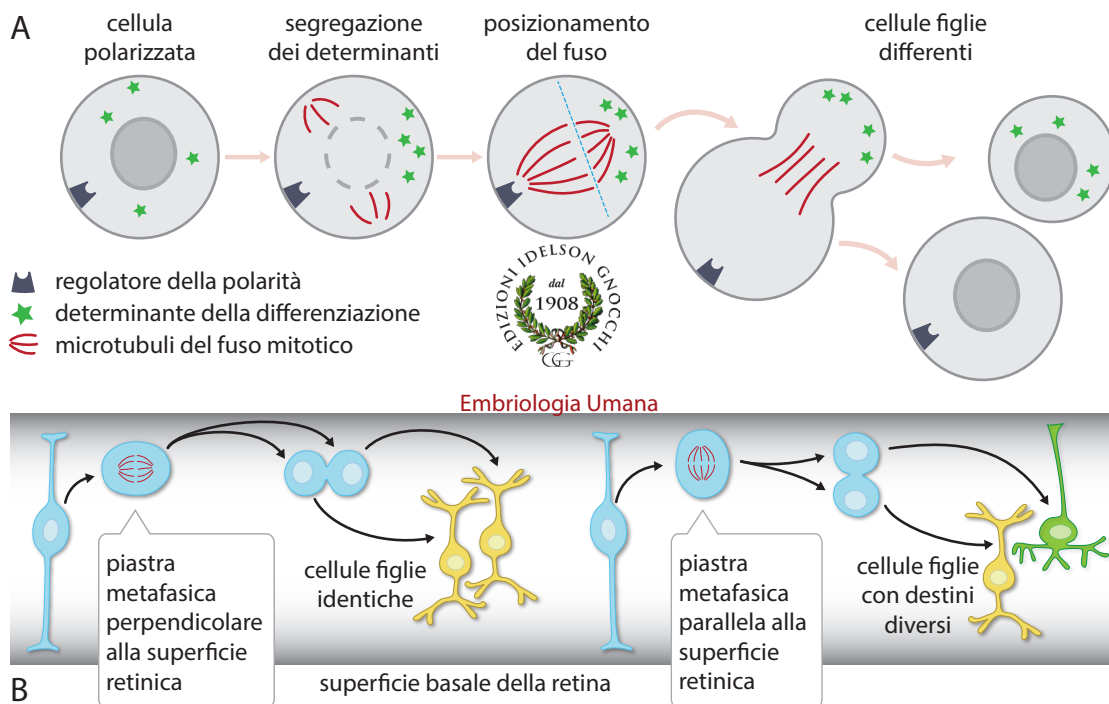


Figura 3.6 *Divisione cellulare asimmetrica e differenziamento.*

A) Schema generale di divisione asimmetrica: i determinanti citoplasmatici si accumulano ad un polo della cellula. Il fuso mitotico si orienta in modo che il piano di divisione faccia segregare i determinanti in una sola delle due cellule, che si differenzierà quindi in modo diverso dall'altra. B) Nella retina di ratto le cellule del neuroepitelio hanno la superficie apicale rivolta verso il lume del calice ottico e quella basale in contatto con l'epitelio pigmentato. A sinistra, il fuso mitotico è orientato perpendicolarmente all'asse apico-basale e i determinanti citoplasmatici si dividono equamente tra le due cellule, che avranno perciò lo stesso destino differenziativo, ad esempio diverranno neuroni identici. A destra, il fuso è parallelo all'asse apico-basale: i determinanti saranno segregati nella cellula apicale e le due cellule si differenzieranno, ad esempio, in neuroni di tipo diverso.

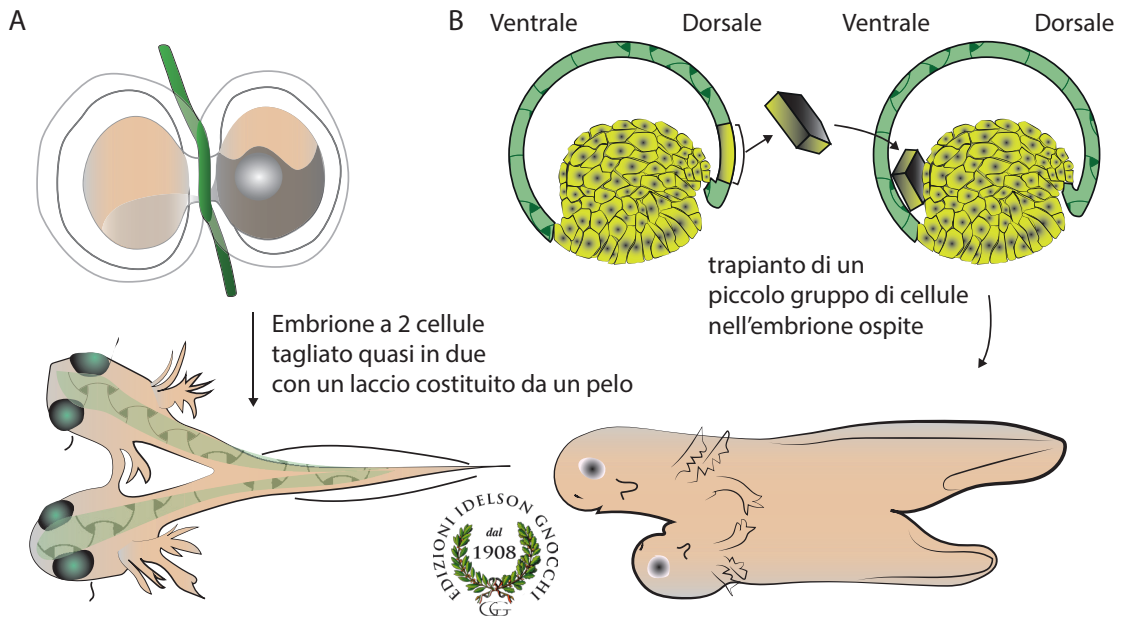


Figura 3.7 Sviluppo regolativo.

Embriologia Umana

Lo schema illustra due classici esperimenti, condotti agli inizi del novecento da Hans Spemann negli anfibii. A) I primi due blastomeri di un embrione vengono separati da un laccio. Si formano due girini siamesi, quindi ogni blastomero compensa la mancanza dell'altro ed è capace di sviluppare un intero individuo. B) Il labbro dorsale del blastoporo di un embrione allo stadio di gastrula viene trapiantato nella regione ventrale di un embrione allo stesso stadio. Il risultato è una coppia di girini siamesi. Il tessuto trapiantato è distinguibile perché marcato (indicato in grigio), tuttavia le cellule che formano il corpo dei due girini non sono marcate perché derivano prevalentemente dai tessuti dell'ospite: il tessuto trapiantato ha indotto un nuovo destino differenziativo nei tessuti circostanti. Il labbro dorsale del blastoporo è l'organizzatore (o induttore) primario degli anfibii.

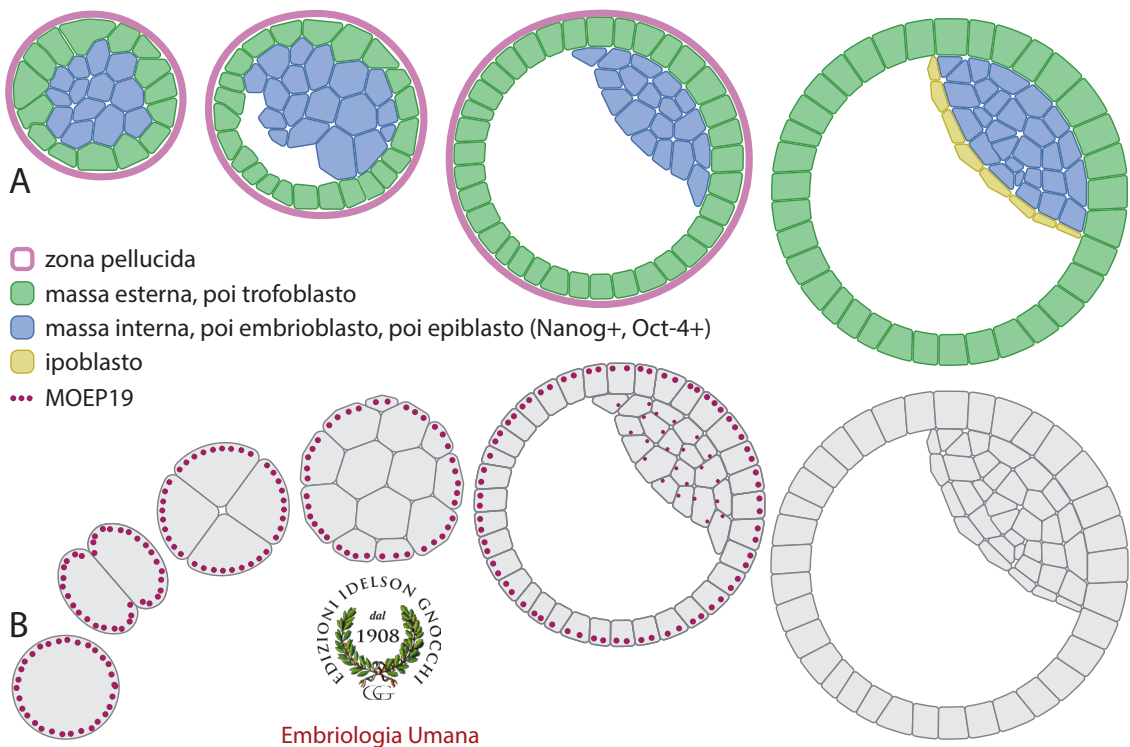
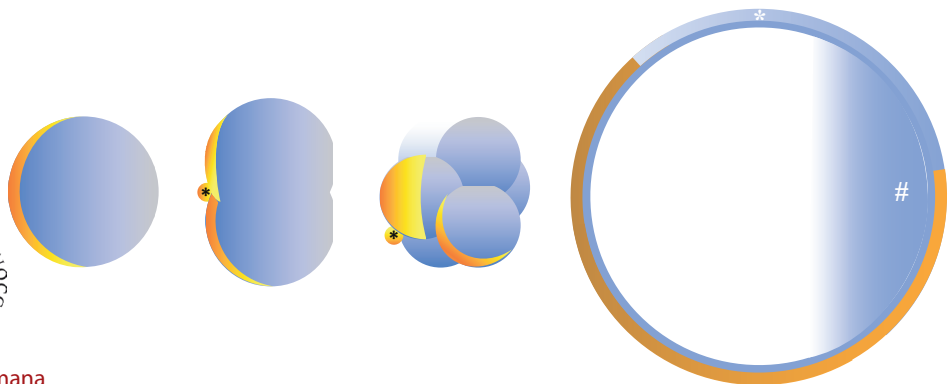


Figura 3.8 Espressione regolativa di alcuni geni in tappe precoci dello sviluppo.

A) Sia Nanog sia Oct-4, due fattori di trascrizione che regolano l'espressione genica, sono espressi allo stadio di morula nelle cellule della massa interna (probabilmente in risposta al fatto che queste cellule sono a contatto con altre su tutto il loro contorno) e non in quelle dello strato esterno, che sono a contatto con la membrana vitellina con una delle loro superfici che diventa quella basale delle cellule stesse. La differenza di espressione di questi geni si mantiene allo stadio di blastocisti, tra embrioblasto e trofoblasto, e successivamente all'interno del disco germinativo, ove l'espressione prosegue nelle cellule dell'epiblasto (caratterizzate dall'essere situate tra l'ipoblasto e il trofoblasto) e si perde in quelle dell'ipoblasto, che su una delle sue superfici è aperto verso il blastocoele. B) MOEP19, una proteina capace di legare RNA e probabilmente per questo tramite di influenzare l'espressione genica, è espressa nel citoplasma superficiale ("cell cortex") dell'ovocita e dei blastomeri, ma è esclusa dalle zone in corrispondenza delle quali i blastomeri sono in contatto tra loro. È possibile che questo derivi da interazione con proteine di membrana coinvolte nell'adesione intercellulare. Allo stadio di blastocisti precoce questa proteina è espressa nel citoplasma superficiale del trofoblasto dal lato basale - cioè quello esterno - e, debolmente, sul contorno delle cellule dell'embrioblasto; nella blastocisti in fase avanzata l'espressione di MOEP19 si perde.



Embriologia Umana

Figura 3.9 *Distribuzione asimmetrica di molecole tra i blastomeri.*

La molecola leptina, che nella vita postnatale è secreta dal tessuto adiposo come molecola segnale (adipochina) e che attiva il fattore di trascrizione STAT3, è localizzata nel citoplasma corticale della cellula uovo in maniera non uniforme e si ripartisce solo fra alcune delle cellule della morula e della blastocisti (l'asterisco indica il trofoblasto, il cancelletto l'embrioblasto).



Embriologia Umana

Tabella 3.2 Fattori di crescita che fungono ripetutamente da induttori nello sviluppo embrionale.

Via di segnale	Ligando	Famiglia recettoriale	Inibitori/modulatori
Recettori ad attività tirosin-chinasica	EGF FGF (Branchless) Ephrin (Eph) BDNF	Recettori per EGF Recettori per FGF (Breathless) Recettori per Eph RET	Argos, Eparina
TGFβ	TGFβ Activin BMP (Dpp) Nodal	Recettori per TGFβ Recettori per Activina Recettori per BMP Activina e recettori simil-Activina	Fibrillin, Emilin Chordin (Sog), Noggin
WNT	Wnt (Wingless)	Frizzled	Dickkopf, Cerberus
Hedgehog	Hedgehog	Patched → Smoothened	
Notch	Delta	Notch	Fringe

Tra parentesi sono riportati i nomi delle corrispondenti molecole nella Drosophila

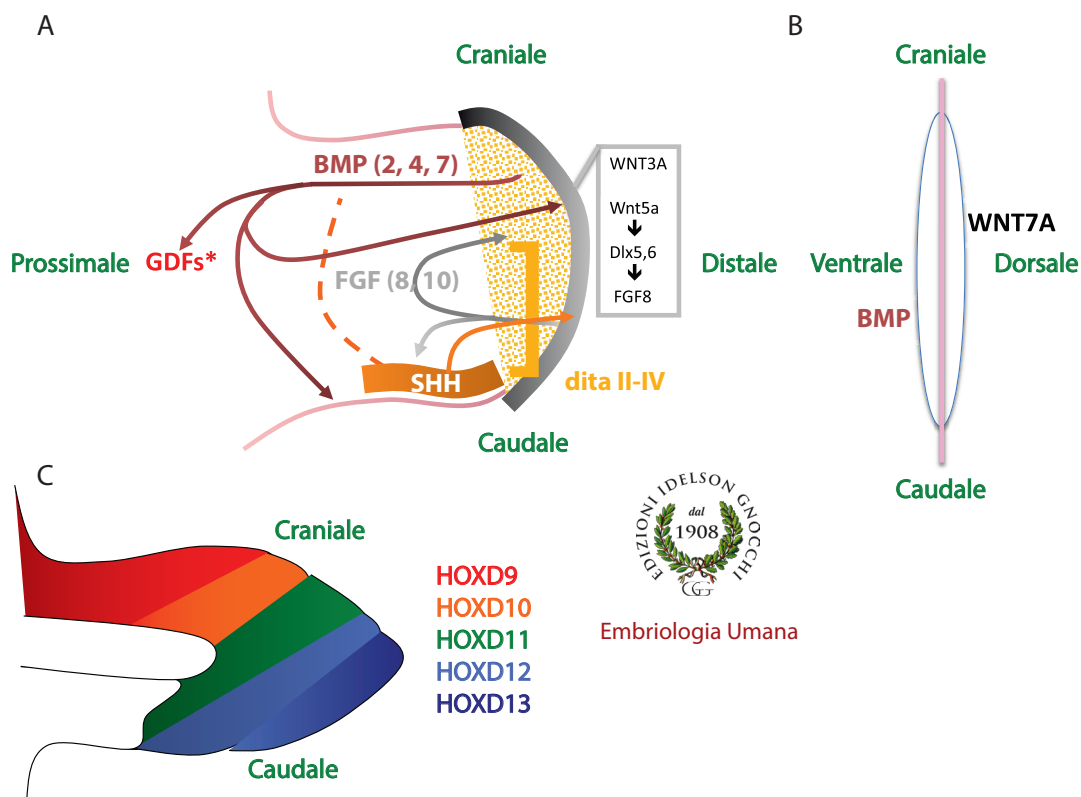
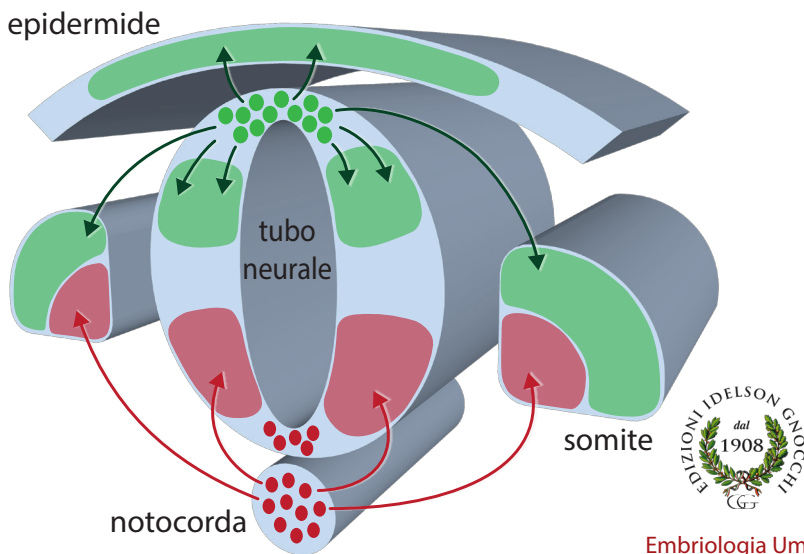


Figura 3.10 Schema dello sviluppo degli arti.

Nello sviluppo degli arti intervengono vari organizzatori che definiscono i tre assi di morfogenesi e di differenziamento: quello prossimo-distale, quello cranio-caudale e quello dorso-ventrale. A) Lo sviluppo dell'arto è indotto da un ispessimento ectodermico lineare disposto in senso cranio-caudale lungo il fianco dell'embrione e detto cresta ectodermica apicale. Nelle cellule di questa cresta sono espresse molecole del gruppo WNT, che attraverso passaggi intermedi portano alla secrezione di fattori di crescita fibroblastici (FGF) che promuovono la crescita del mesenchima. Allo sviluppo e al differenziamento del mesenchima concorrono proteine morfogenetiche dell'osso (BMP) secrete dal mesenchima prossimo alla cresta ectodermica apicale. L'acido retinoico è invece un segnale per l'estremità prossimale della gemma dell'arto: si determina così l'asse prossimo-distale. Sul margine caudale della cresta ectodermica si trova una zona ad attività polarizzante le cui cellule secernono *Sonic hedgehog* (SHH), il cui gradiente determina l'asse cranio-caudale della gemma dell'arto. Nelle aree raffigurate a colore pieno sono prodotti i fattori indicati, in quelle punteggiate sono espressi i recettori per tali fattori; i colori sono diversi a seconda dei fattori. B) Nella cresta ectodermica apicale sono inoltre secrete BMP sul versante ventrale, che inibiscono qui l'espressione di WNT7A così che questo fattore è espresso solo nella metà dorsale della cresta ectodermica: si determina in questo modo l'asse dorso-ventrale. C) Di seguito al gradiente di SHH è attivata una espressione differente di geni omeotici delle famiglie HOX, che determina la configurazione dei vari raggi: quelli indicati nel pannello sono stati dimostrati negli arti di pollo ma è ragionevole ritenere che un simile schema valga anche per l'uomo (per questo sono indicati in tutte lettere maiuscole). La figura indica il margine craniale di espressione di ciascun gene Hox, che continua anche nei raggi più caudali, così che nel pollo il quinto raggio esprime tutti i geni da Hoxd9 a Hoxd13.



Embriologia Umana

Figura 3.11 *Fattori coinvolti nella definizione dell'ordine dorso-ventrale nel tubo neurale e dei somiti.*

Nello sviluppo del tubo neurale si genera un gradiente dorso-ventrale di WNT (verde) e uno ventro-dorsale di SHH (rosso). I due fattori sono prodotti nelle aree punteggiate, mentre nelle aree a colore pieno sono espressi i rispettivi recettori. In particolare, i fattori WNT sono secreti dalla lamina del tetto, sono dorsalizzanti e stimolano il differenziamento dei neuroni in senso associativo, compresi quelli che si trovano lungo le vie sensitive. SHH è secreto dalla notocorda e dalla lamina del pavimento, è ventralizzante e stimola sia l'accrescimento della parte ventrale del tubo neurale sia il differenziamento dei neuroni in senso motorio. Dal gradiente dei due fattori dipende l'ordinata disposizione dei neuroni in senso dorso-ventrale, ben riconoscibile nel midollo spinale e nel tronco encefalico: sensitivi somatici, sensitivi viscerali, motori viscerali, motori somatici. L'azione di WNT e SHH si esercita anche sui somiti, inducendo il differenziamento tra sclerotomo e dermomiotomo e quello di alcuni loro derivati.

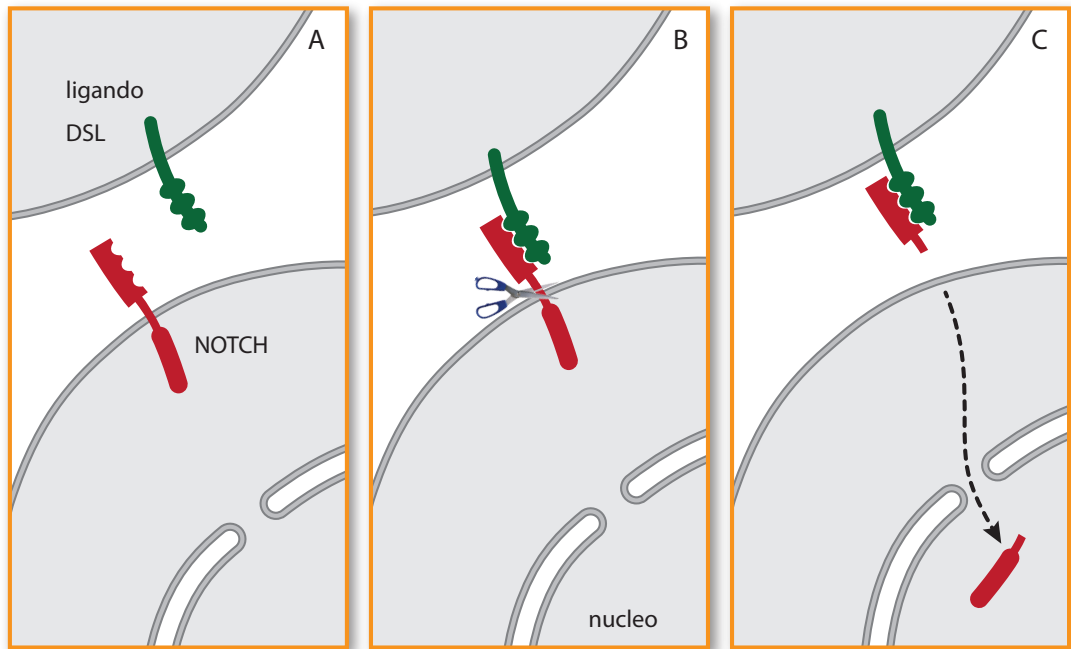


Figura 3.12 Segnali mediati da NOTCH.

Un segnale responsabile della inibizione laterale, e di altri eventi morfogenetici, è mediato dai recettori NOTCH; nei mammiferi ce ne sono quattro (NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3 e NOTCH4). I ligandi sono della famiglia DELTA e SERRATE. Tutti questi nomi derivano dall'effetto di mutazioni degli omologhi geni di *Drosophila*. I ligandi sono molecole di membrana; quando si legano alla porzione extracellulare di NOTCH è attivata la proteolisi di quest'ultimo: il frammento intracellulare si libera e si sposta nel nucleo dove insieme ad altre molecole funziona da fattore di trascrizione, il frammento extracellulare rimane unito al ligando e viene endocitato e degradato dalla cellula segnalatrice.



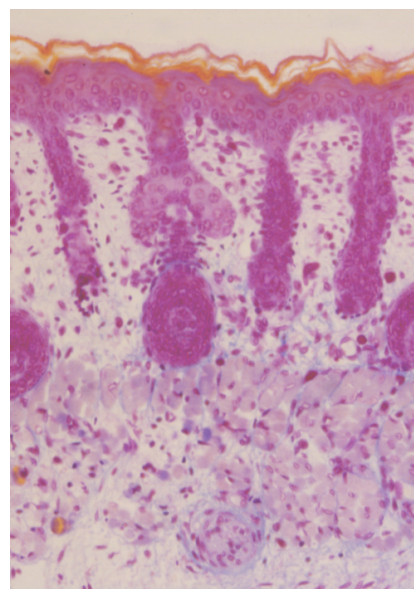
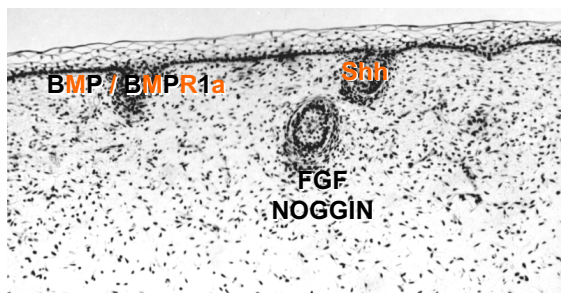
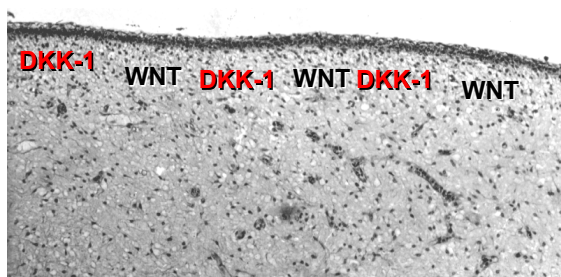


Figura 3.13 Interazioni epitelio-mesenchimali nello sviluppo dei peli.

Nel mesenchima si genera un bilanciamento tra l'espressione di WNT, che induce intorno a sé quella di DKK-1 (Dickkopf-1, il nome deriva dal gene omologo di *Drosophila*) che invece inibisce l'espressione di WNT. Si generano così zone di induzione dei peli regolarmente spaziate tra loro, ove compare un addensamento di cellule mesenchimali che precede lo sviluppo di un abbozzo epiteliale. Le cellule dell'abbozzo epiteliale esprimono poi SHH, quelle della papilla dermica esprimono fattori di crescita fibroblastici (FGF) e NOGGIN, un inibitore del segnale delle proteine morfogenetiche dell'osso (BMP). Nella gemma del pelo e nella papilla dermica sono espressi sia BMP che il loro recettore BMPR1a. Dall'interazione di tutti questi segnali deriva il corretto sviluppo di questi annessi cutanei. Le immagini microscopiche (originali degli autori) sono tratte da cute di maiale, ma le tappe di sviluppo corrispondono a quelle umane.



Embriologia Umana

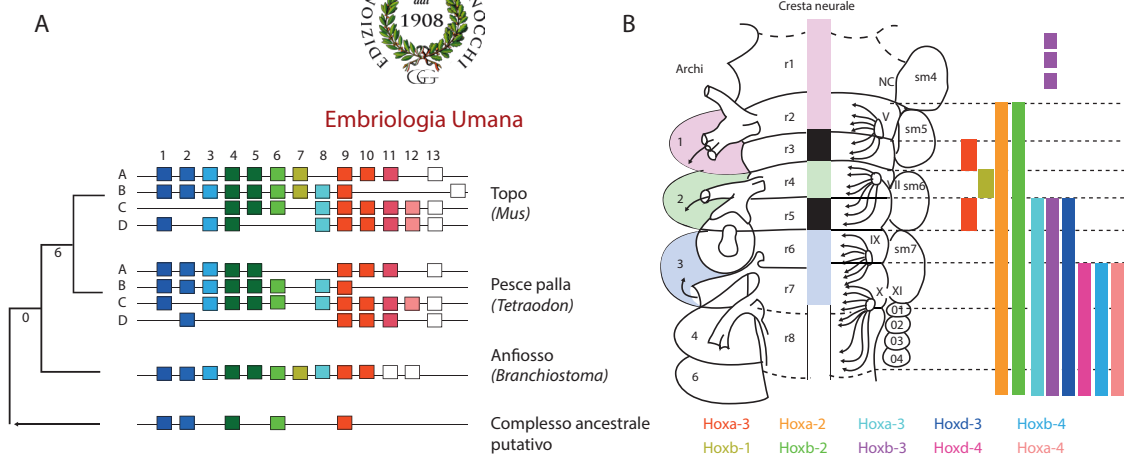


Figura 3.14 Geni omeotici.

A) Organizzazione genomica e colinearità dell'espressione dei geni omeotici di differenti cordati lungo la scala evolutiva. La situazione nell'anfiosso è prossima a quella della *Drosophila*. È indicato anche un ipotetico complesso omeotico ancestrale. Ogni gene è rappresentato da un quadratino colorato. B) I domini di espressione dei geni Hox lungo l'asse antero-posteriore sono mostrati a livello della cresta neurale rombencefalica e degli archi faringei di topo (a destra); r = rombomeri; NC = nervi cranici; sm = somitomeri. I colori dei geni nel pannello di destra non corrispondono a quelli del pannello di sinistra.

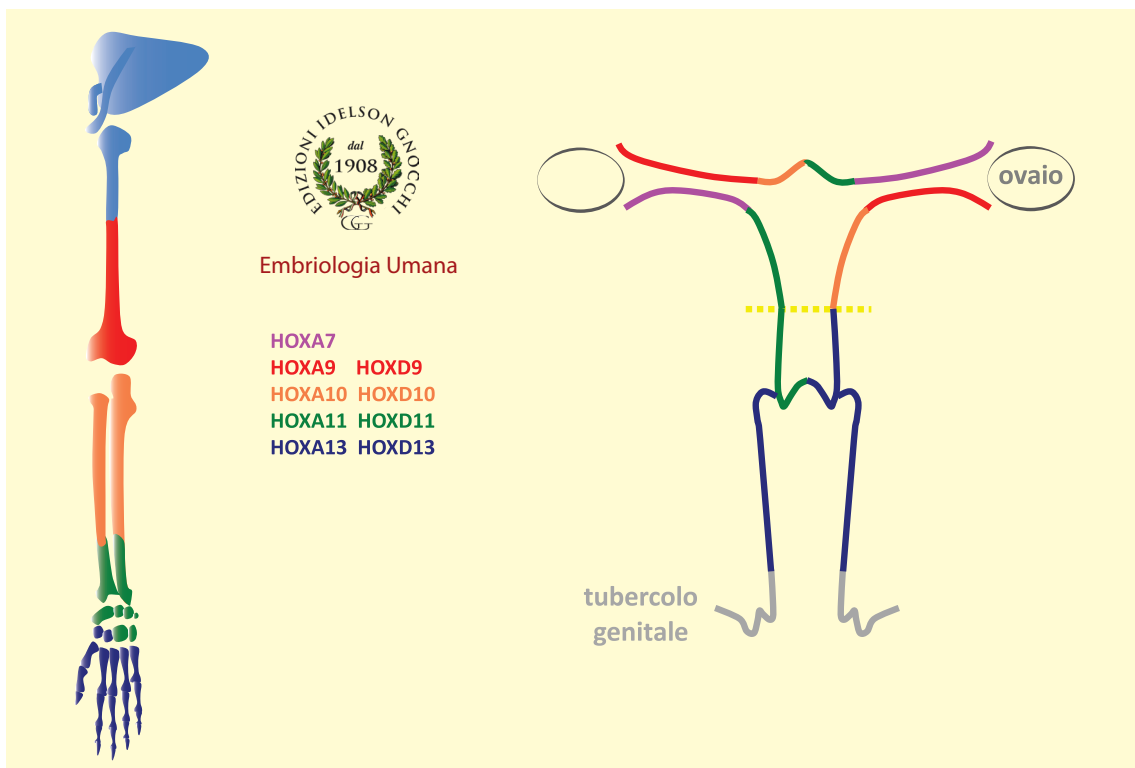


Figura 3.15 Geni omeotici nello sviluppo degli arti e delle vie genitali femminili.

Domini di espressione caratteristici di geni omeotici lungo l'asse prossimo-distale dell'arto superiore (a sinistra) e lungo le vie genitali femminili (a destra). A colore uguale corrisponde un gene come indicato nella lista al centro.

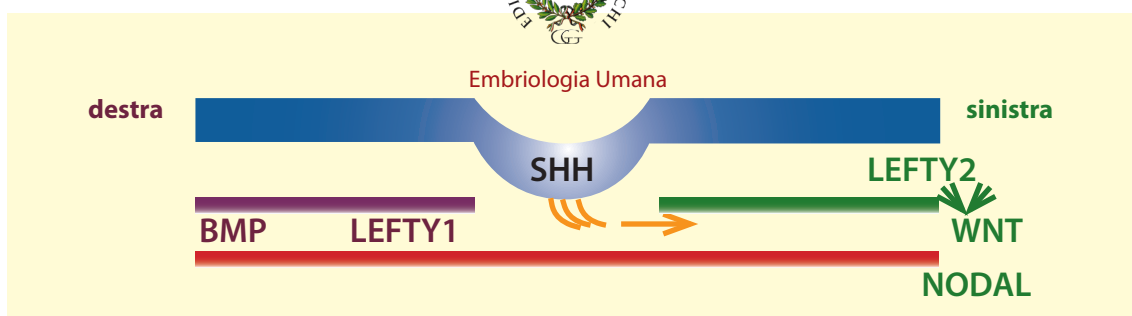


Figura 3.16 La rottura della simmetria bilaterale avviene precocemente durante la gastrulazione.

Il lato sinistro del corpo è specificato tramite l'espressione di Nodal e Lefty-2. Nodal determina le caratteristiche del lato sinistro del corpo, Lefty-2 porta a restringere l'espressione di Nodal dal lato sinistro. L'espressione di Nodal è innescata da un componente della famiglia WNT (Wnt3a nel topo). La asimmetria di queste molecole dipende dal flusso verso sinistra di fluidi generato da speciali ciglia nella regione del nodo embrionale (Figura 3.16). Proteine morfogenetiche dell'osso (BMP) specificano invece il lato destro del corpo, mentre Lefty-1 inibisce da questo lato l'espressione di Nodal. L'espressione di SHH nel nodo primitivo concorre alla funzione di questo organizzatore embrionale, seppure in modo non ancora chiarito. Sono ancora da definire le tappe che portano al differenziamento e al movimento delle speciali ciglia di questa regione, così come quelle che portano alla espressione localizzata dei fattori menzionati.

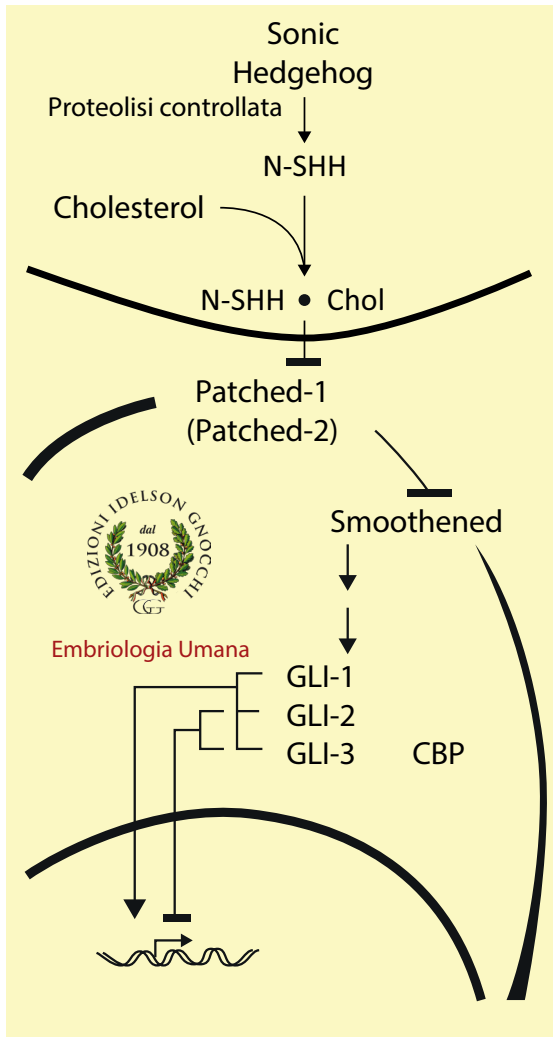


Figura 3.17 Via di segnale di Hedgehog (semplificata).

Esistono più molecole di questa famiglia, la più diffusa delle quali è *Sonic Hedgehog* (SHH). Dopo la sintesi SHH è modificato mediante proteolisi controllata e mediante unione con colesterolo e poi viene secreto. Il suo recettore è Patched (PTCH), che in condizioni basali interagisce con un'altra molecola di membrane, Smoothened (SMO), che è a sua volta inibita. È probabile che le due molecole, PTCH e SMO, segreghino in zone diverse della membrana e siano endocitate per vie differenti – PTCH tramite “coated vesicles” e SMO tramite *caveolae* – e che si incontrino in endosomi prima di essere riciclati e sulla membrana. Il legame con SHH inibisce PTCH e di conseguenza viene sbloccato SMO, il quale si attiva e attraverso tappe intermedie porta alla generazione di isoforme di GLI, che si portano nel nucleo e regolano la trascrizione genica. I nomi di queste molecole, tranne GLI, derivano dall'aspetto di larve o adulti di *Drosophila* mutanti per il rispettivo gene; GLI è stato così denominato perché esageratamente espresso in gliomi, che sono particolari tumori del tessuto nervoso.

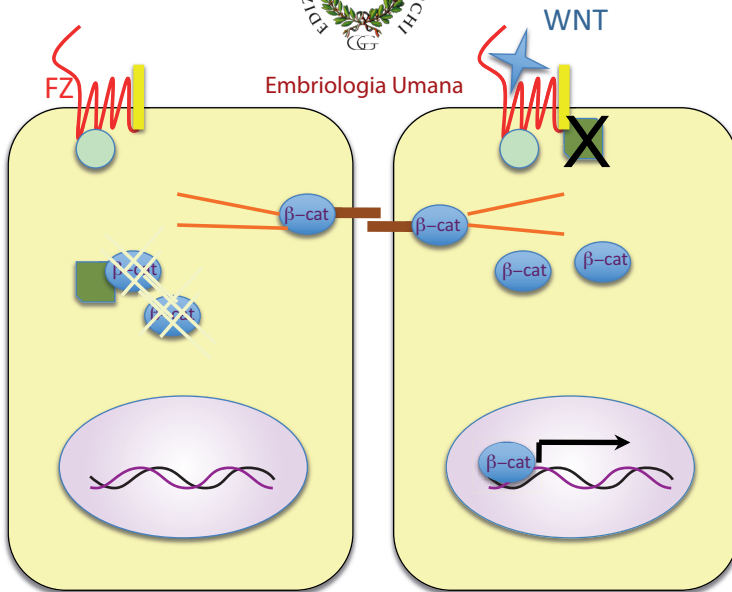


Figura 3.18 Via canonica di trasduzione del segnale di WNT (semplificata).

La beta-catenina è normalmente degradata nel citoplasma, così che ne resta solo quella che, unendosi alla estremità di microfilamenti, serve ad ancorare questi ultimi alla membrana cellulare nelle giunzioni aderenti a tipo fascia adherens. Quando WNT interagisce con il suo recettore Frizzled (FZ) viene bloccato il sistema di degradazione della beta-catenina e questa molecola, diventata in eccesso nel citoplasma, può spostarsi dal citoplasma al nucleo e – unendosi ad altre molecole – diventa un fattore di trascrizione, cioè regola l'espressione genica.

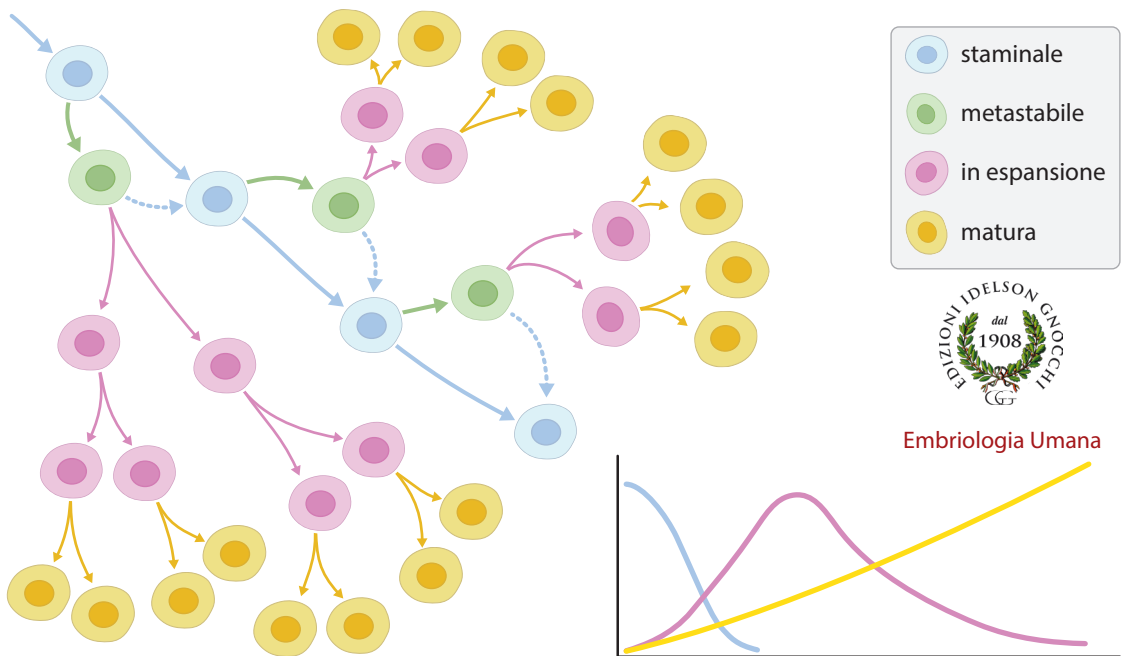


Figura 3.19 Le cellule staminali mantengono la capacità di proliferare indefinitamente, con un ciclo cellulare assai lungo.

Dalle divisioni delle cellule staminali si originano cellule in espansione (cellule in amplificazione transitoria), che possono moltiplicarsi molto vivacemente – cioè compiono cicli cellulari brevi – prima di perdere la capacità proliferativa e finire di differenziarsi (cellule terminalmente differenziate). Il passaggio da cellule staminali a cellule in amplificazione probabilmente comprende uno stadio metastabile, che a seconda degli influssi microambientali può tornare a quello di cellula staminale o progredire a cellula in espansione. Si definiscono cellule progenitrici quelle in grado di proliferare e di dare origine a una progenie differenziata, senza distinguere tra cellule staminali e cellule in espansione. Il grafico in basso a destra rappresenta il rapporto tra capacità di autoperpetuazione (azzurro), vivacità della proliferazione (rosa), e differenziamento (giallo), nel passaggio da cellule staminali a cellule in espansione e infine a cellule terminalmente differenziate.