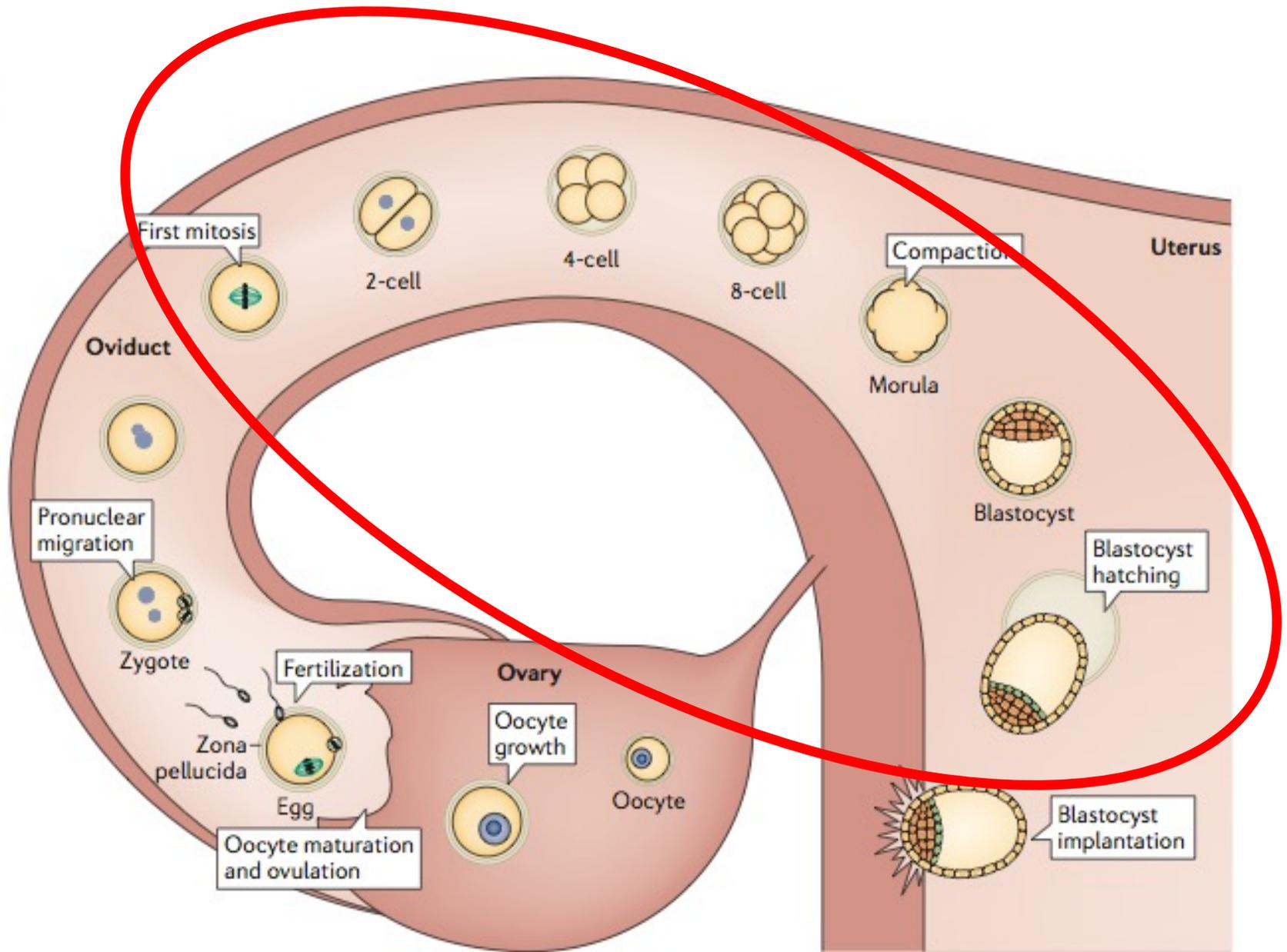


LA PRIMA SETTIMANA: LO SVILUPPO EXTRAUTERINO

a





Fertilized oocyte

Lo zigote va incontro ad una serie di divisioni cellulari senza aumento di dimensioni del citoplasma: aumenta il numero di cellule, ma queste saranno sempre più piccole. Le cellule che compongono l'embrione in questo stadio vengono chiamate **blastomeri**



2 cell embryo

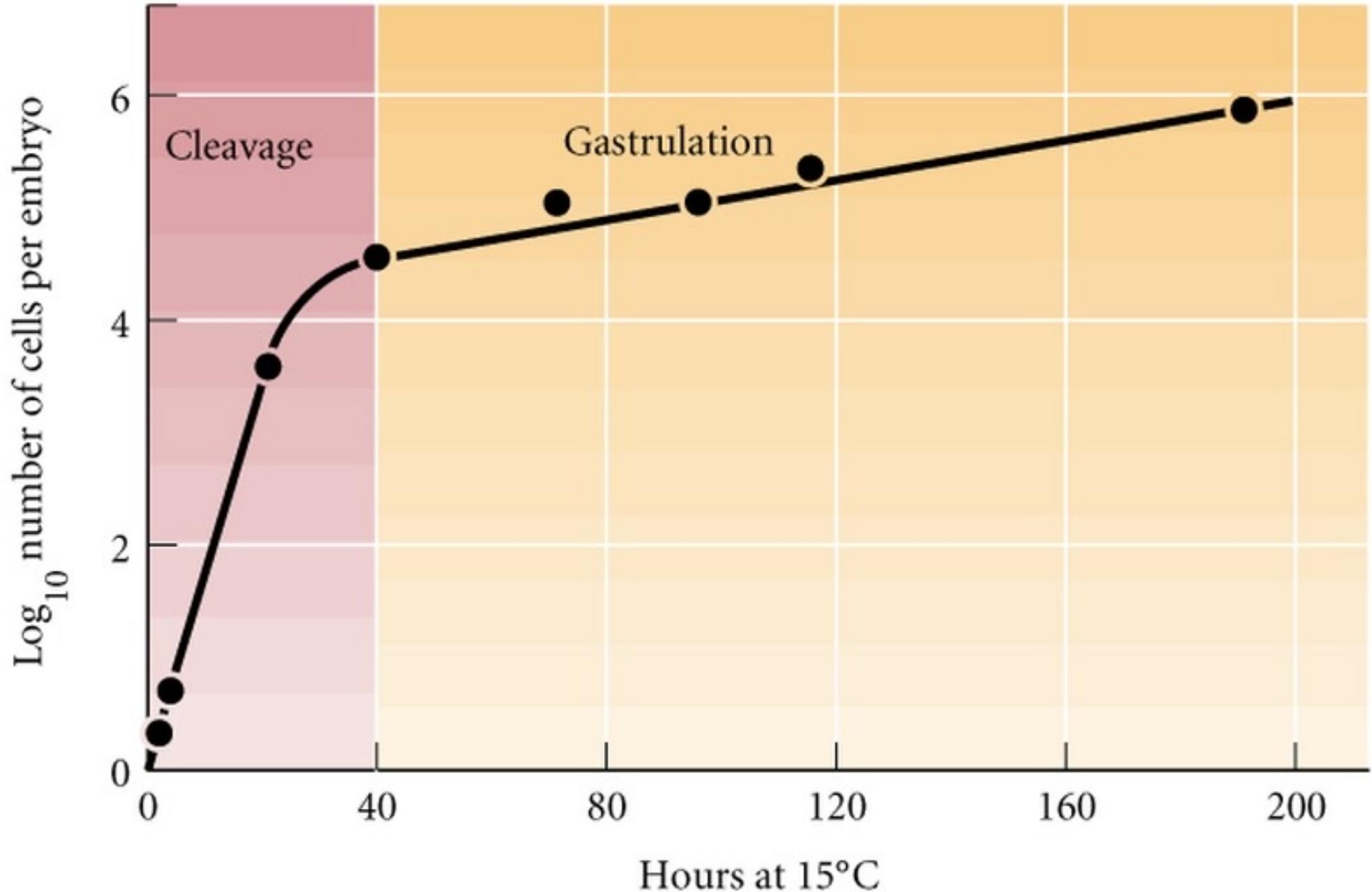


4 cell embryo

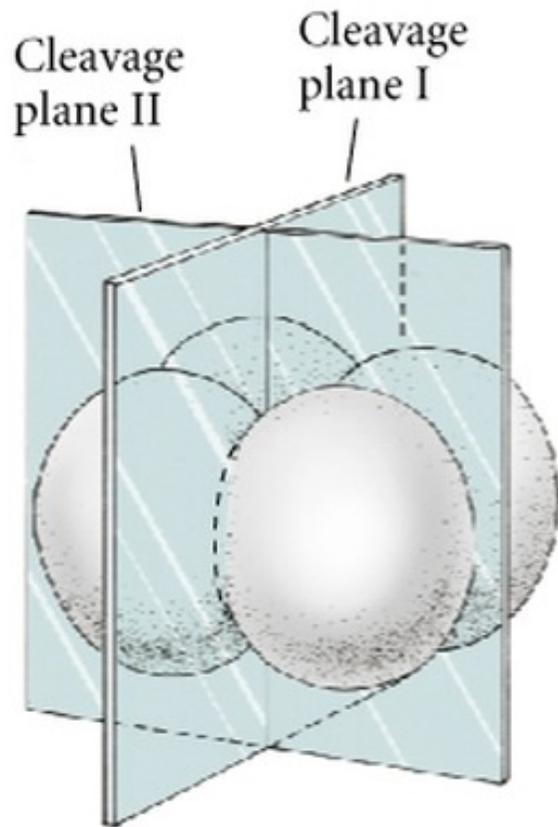


8 cell embryo

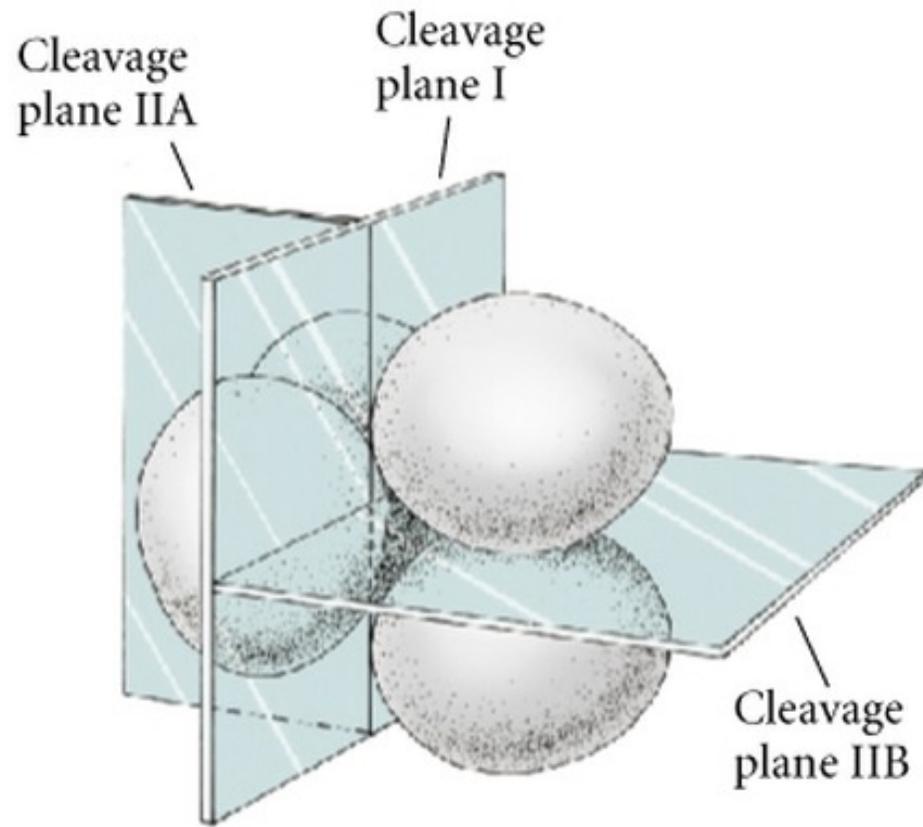
La divisione cellulare procede inizialmente a ritmo elevato, per poi diminuire durante lo sviluppo embrionale



Nei mammiferi placentati, uomo incluso, la seconda divisione di uno dei due blastomeri avviene su un piano perpendicolare a quella dell'altro. Le divisioni sono asincrone, per cui è possibile osservare embrioni con un numero dispari di blastomeri



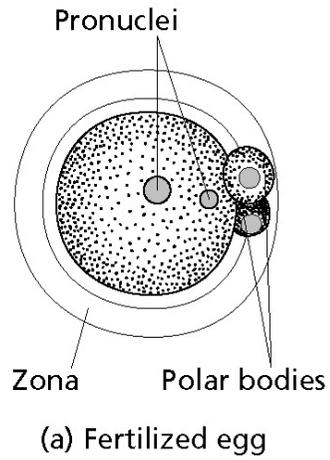
(A) ECHINODERM
AND AMPHIBIAN



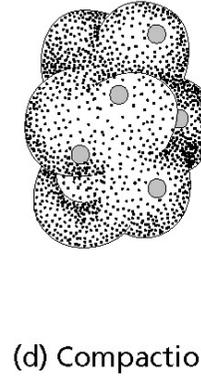
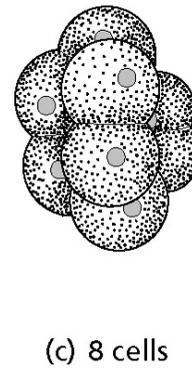
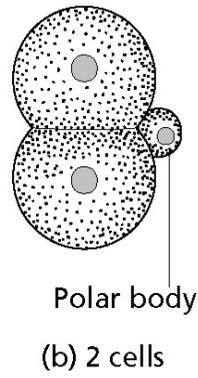
(B) MAMMAL

The pre-implantation stages of mammalian development

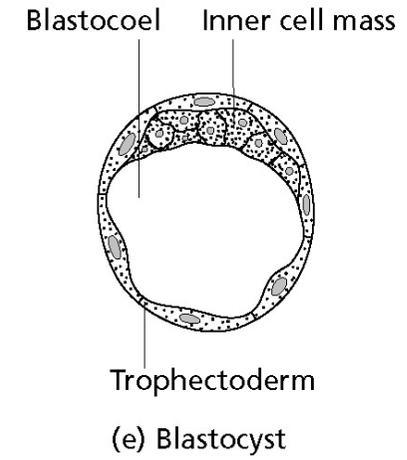
zigote

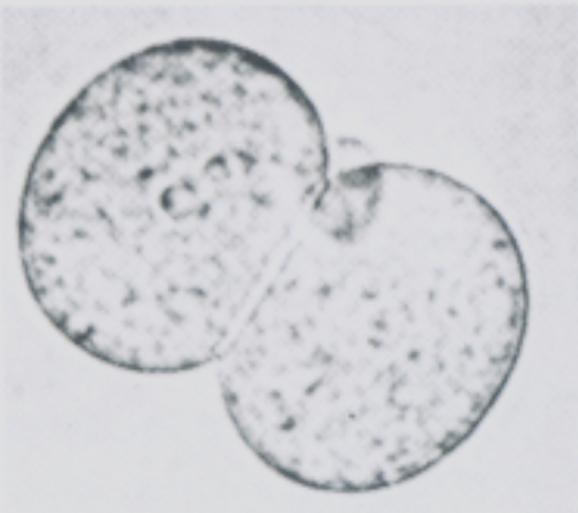


morula

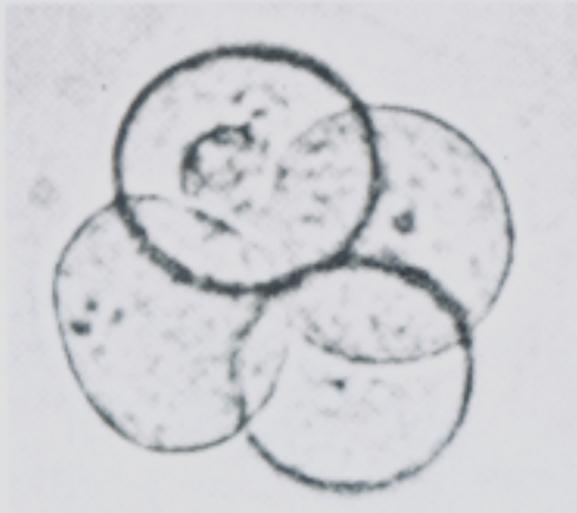


blastocisti





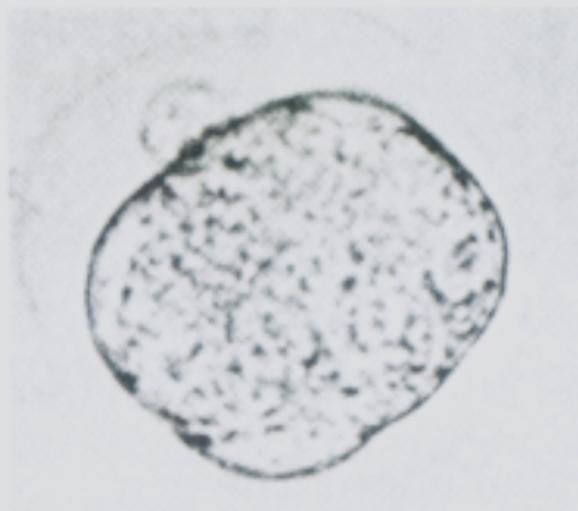
(A) 2 cellule



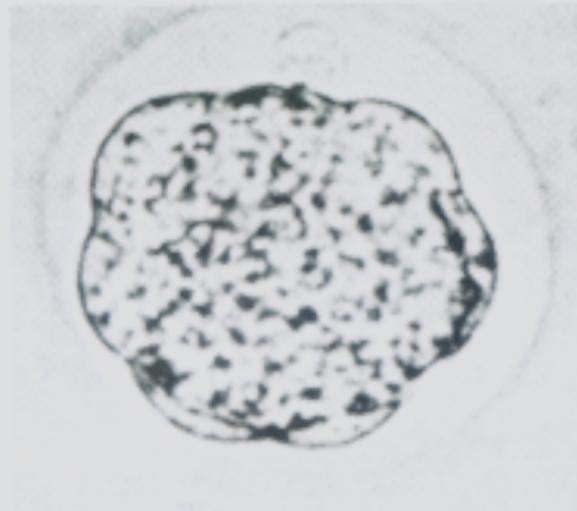
(B) 4 cellule



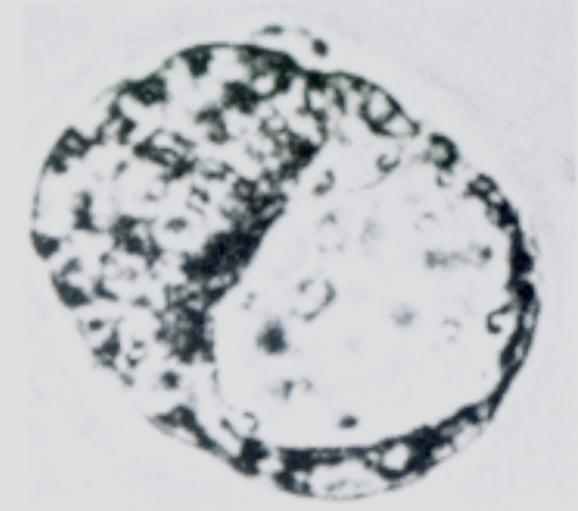
(C) 8 cellule



(D) morula

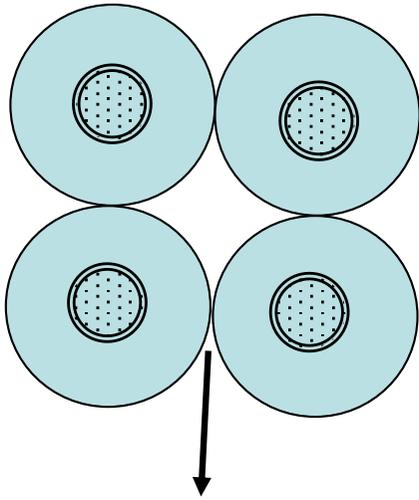
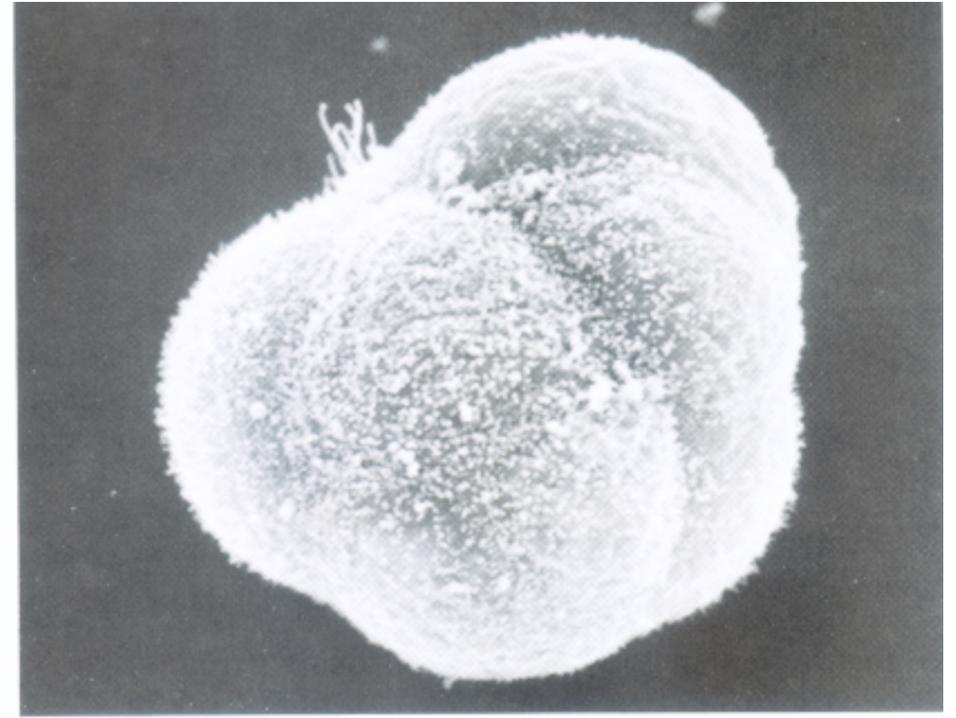
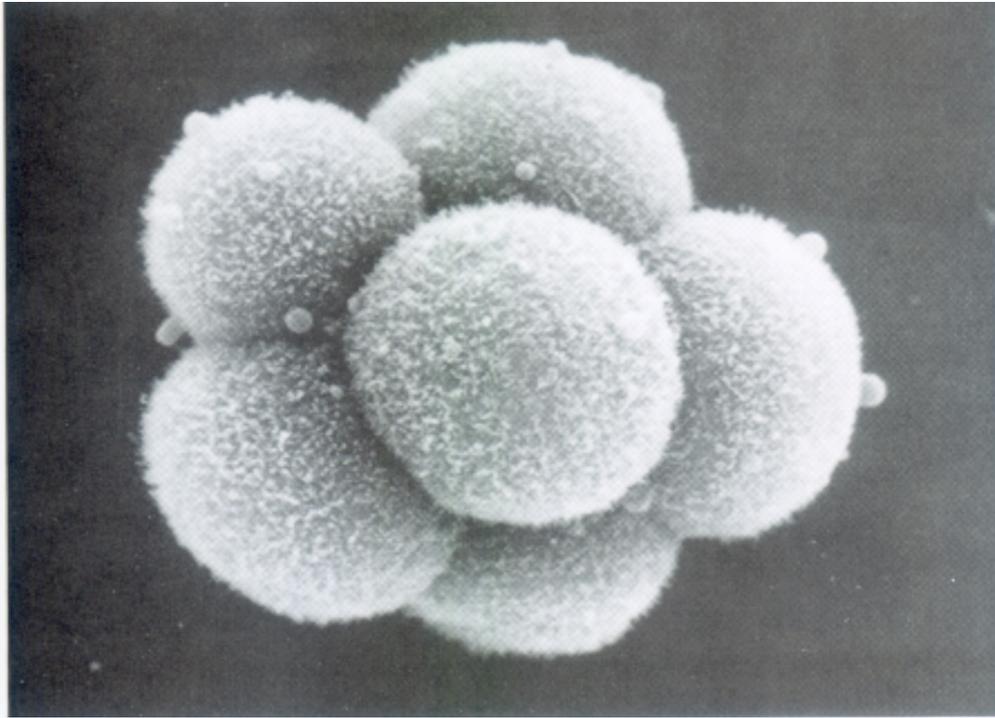


(E) morula

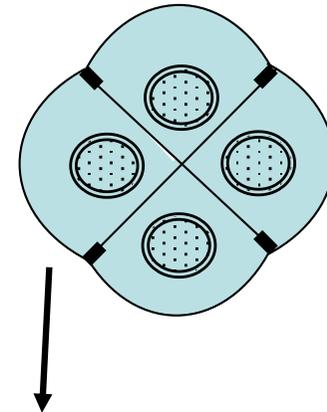
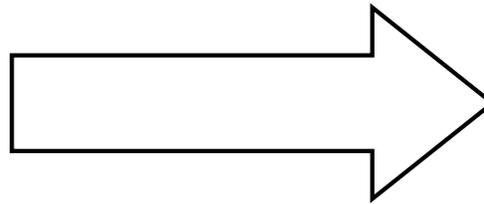


(F) blastocisti

LA COMPATTAZIONE



Zone di adesione cellula-cellula
prive di vere e proprie strutture giunzionali



Formazione di una struttura simile ad un epitelio con
giunzioni occludenti ma privo di lamina basale

Days post-fertilization

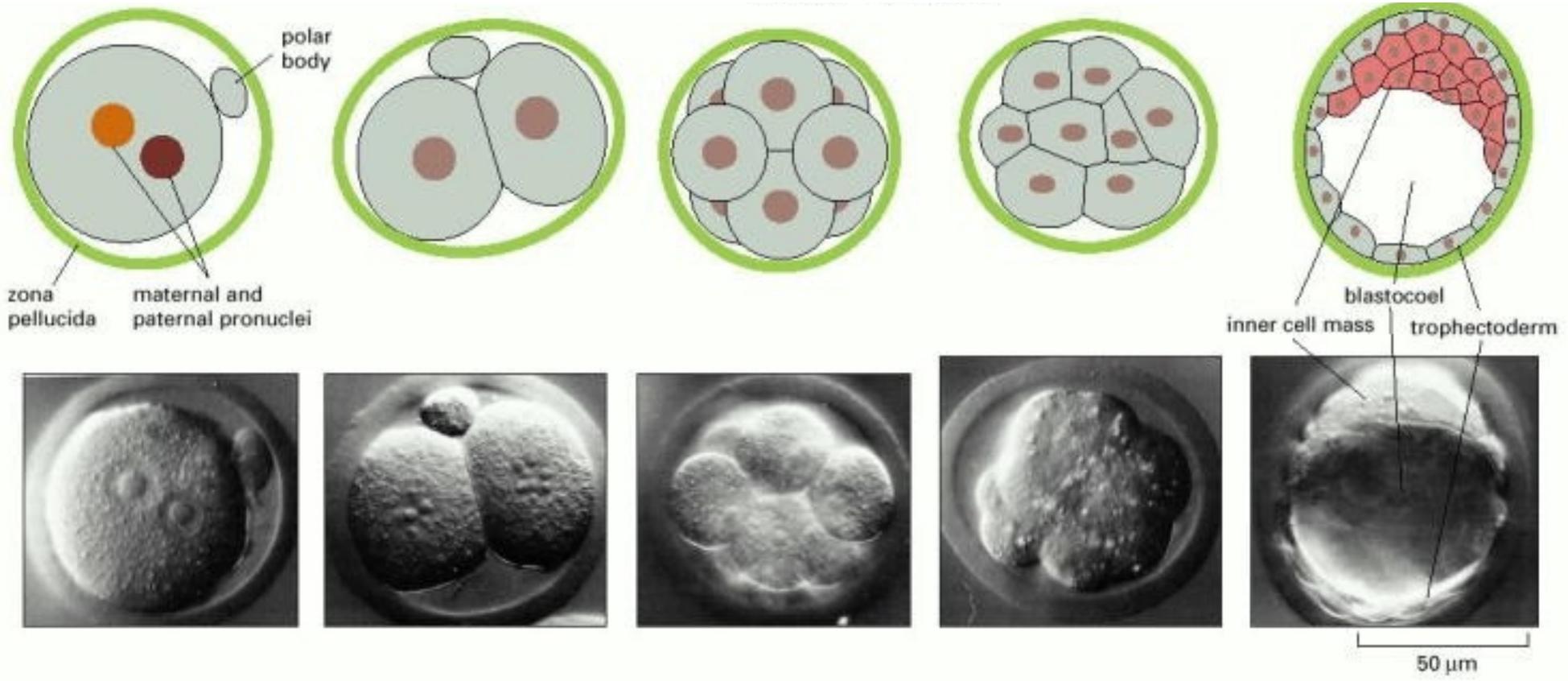
0

2

3

4

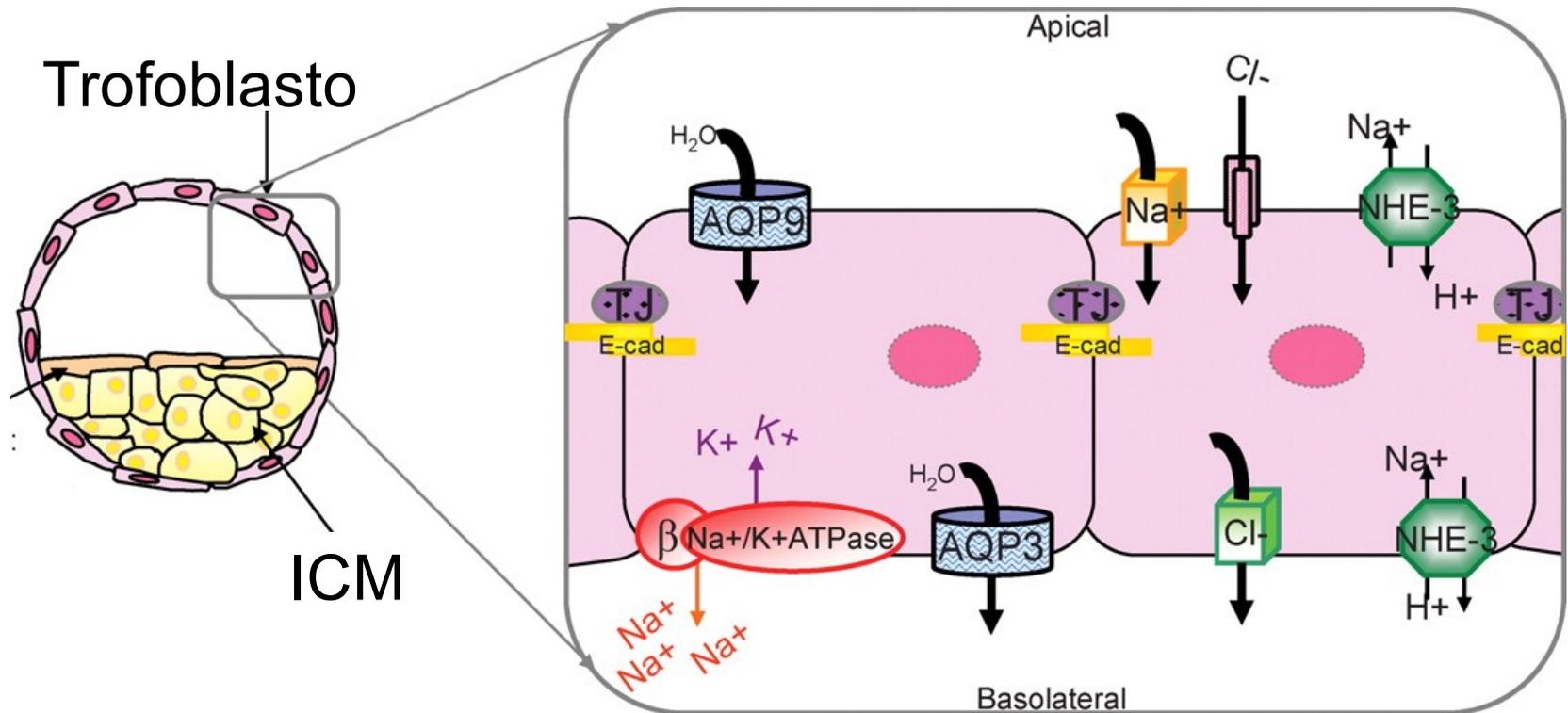
5





10/24/2008 15:31

La cavita' della blastocisti si forma per accumulo di NaCl che genera un gradiente osmotico che attira acqua

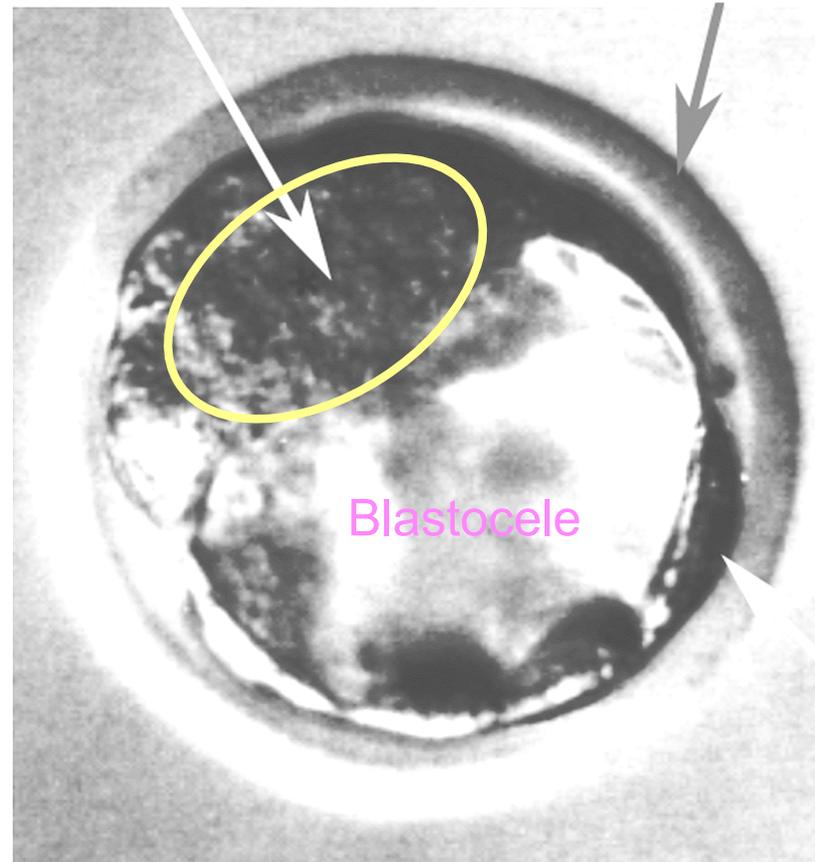


Il primo evento differenziativo determina la scelta del destino delle cellule

Tutte le cellule dell'embrione e dell'adulto derivano da essa.

Massa cellulare
Interna (ICM)

Zona pellucida



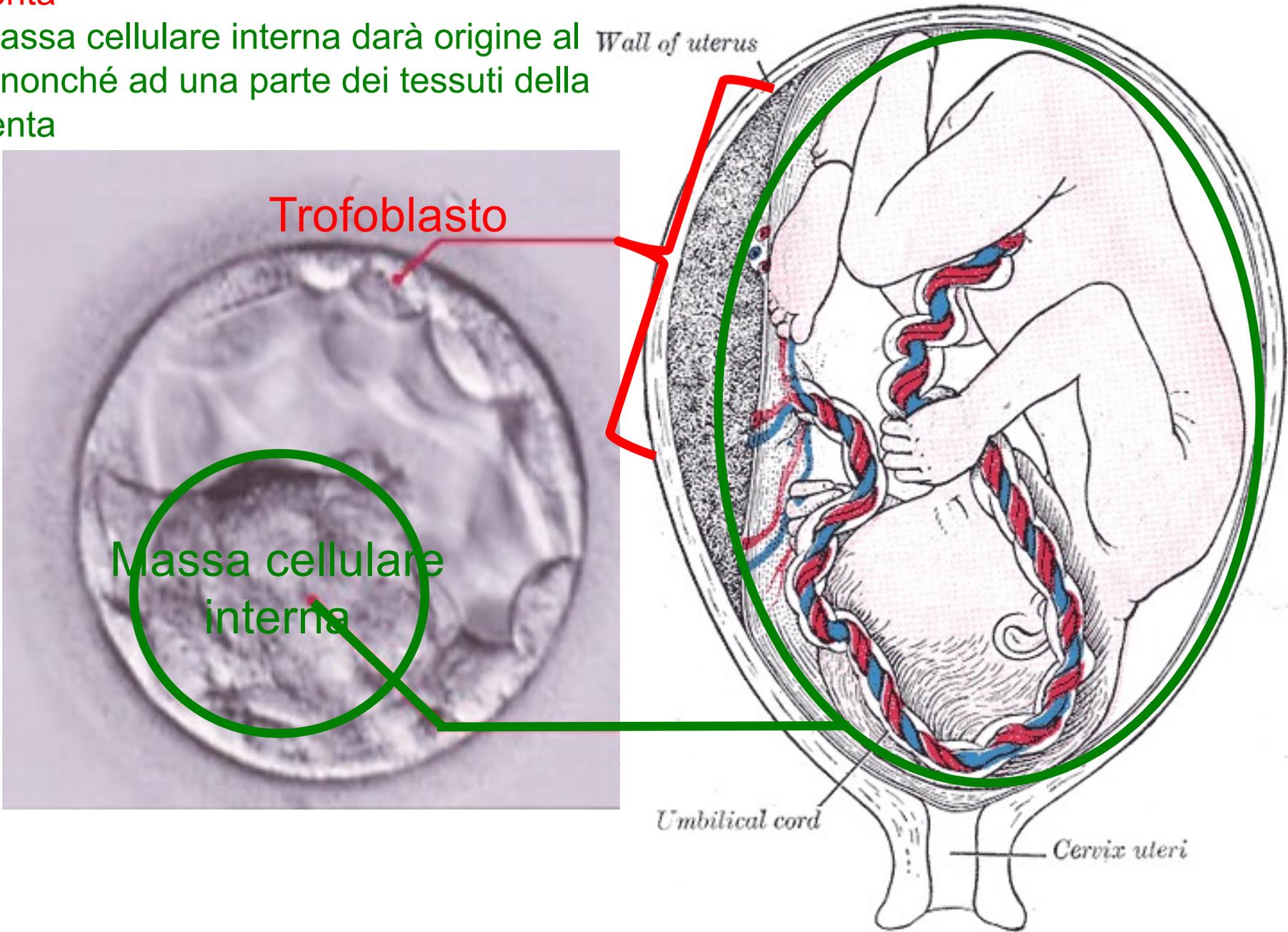
Trofoblasto

Una parte della
placenta deriva da
questo tessuto

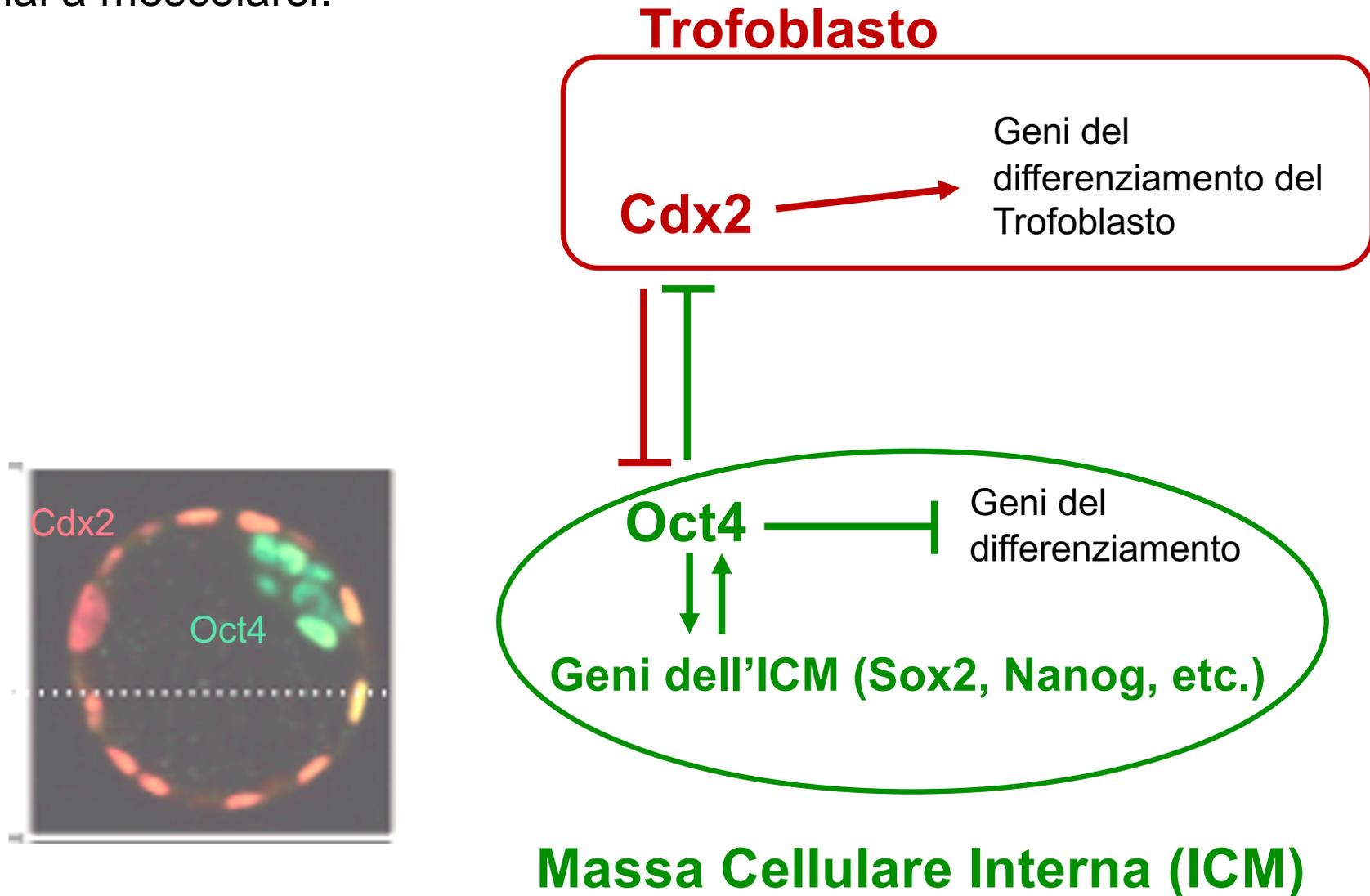
Il trofoblasto e' un epitelio pavimentoso semplice,
la massa cellulare interna e' un ammasso cellulare indifferenziato

Il trofoblasto darà origine a parte della placenta

La massa cellulare interna darà origine al feto, nonché ad una parte dei tessuti della placenta



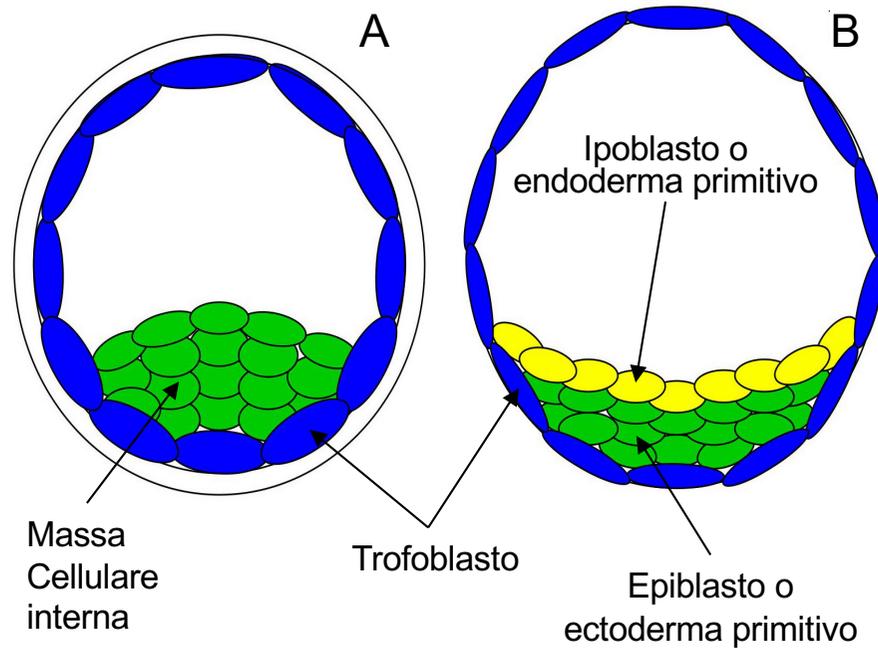
La distinzione dei due tipi cellulari (trofoblasto vs. massa cellulare interna) avviene grazie all'attività contrastante di due fattori di trascrizione: OCT4 nella massa cellulare interna e CDX2 nel trofoblasto. I due fattori si inibiscono vicendevolmente, portando le cellule dell'embrione ad assumere o un feto o l'altro, mai a mescolarsi.



Il fattore di trascrizione Oct4 nel differenziamento della ICM

- Presente in blastomeri di embrioni precoci e nelle cellule della linea germinale.
- Presente nella massa cellulare interna e nell' epiblasto, ma non nel trofoblasto.
- Presente nelle cellule embrionali staminali ed embrionali germinali, è necessario alla loro pluripotenza.
- Regola la trascrizione di numerosi geni interagendo con altri fattori di trascrizione presenti in cellule pluripotenti (ad es Sox2, Nanog).

La blastocisti tardiva

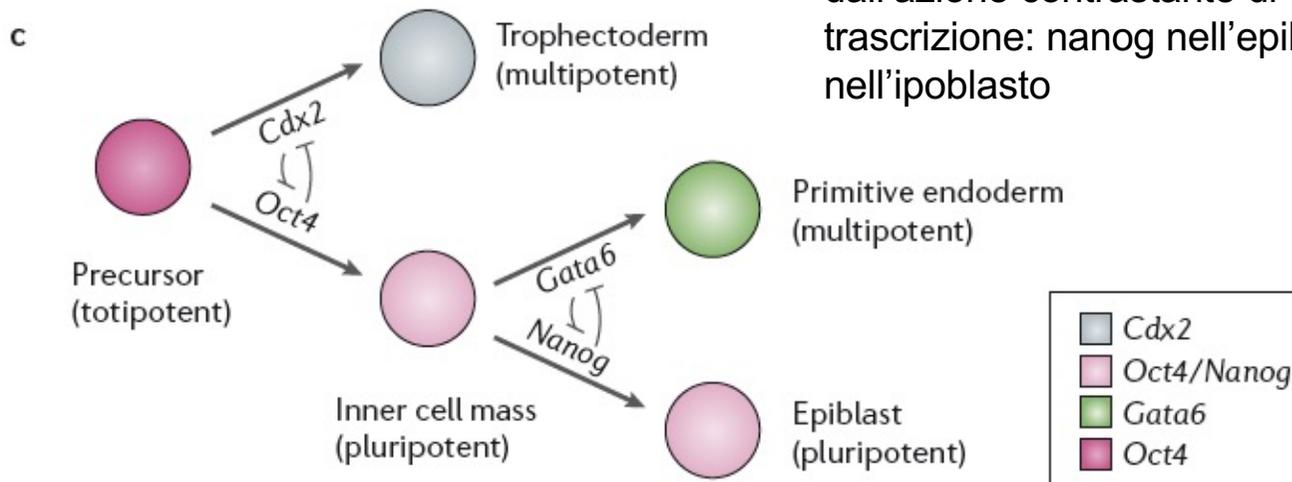


Nella blastocisti tardiva, la massa cellulare interna si suddivide in due tipi cellulari:

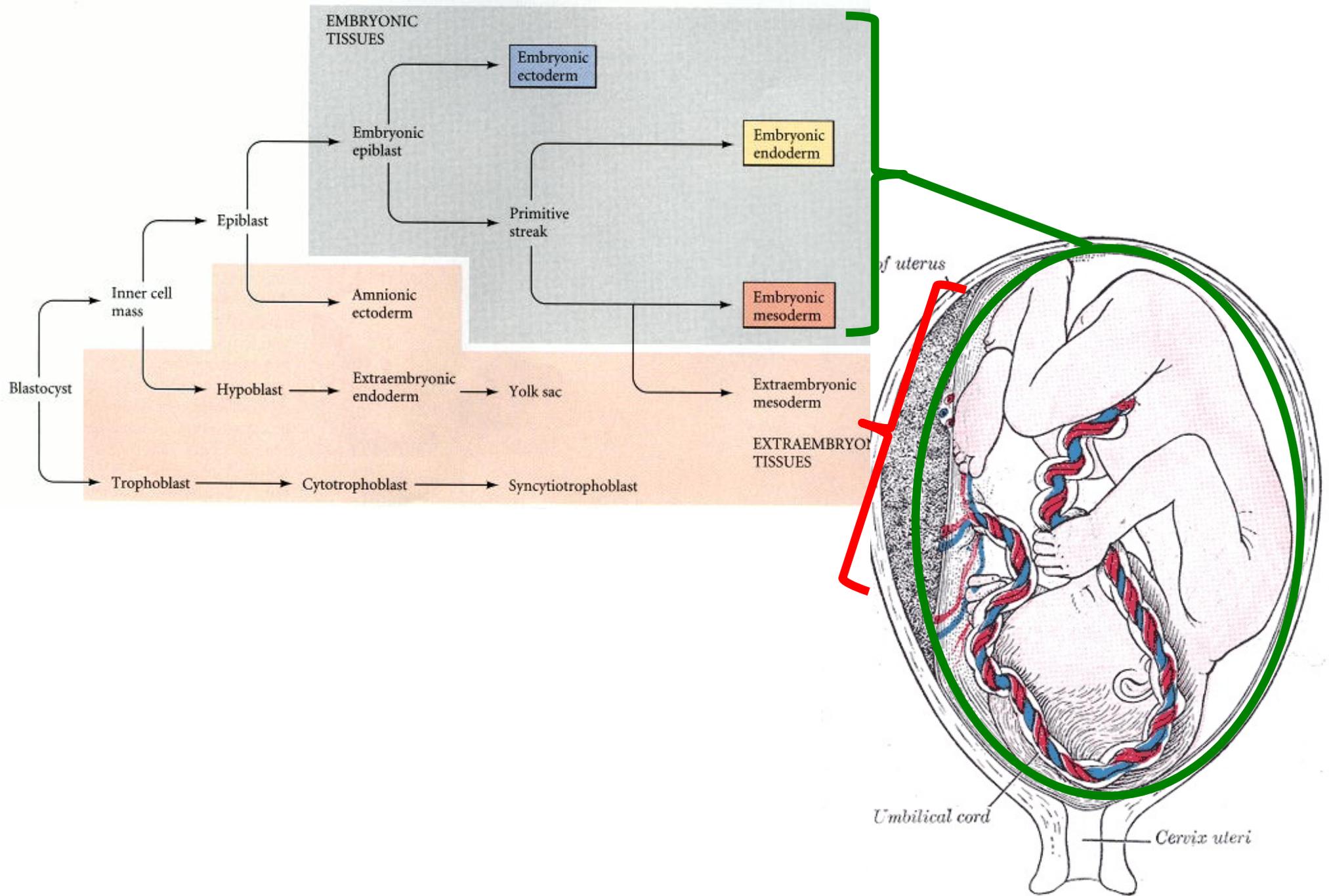
Ipoblasto o endoderma primitivo costituito da uno strato di cellule delimitanti il blastocele ad un polo dell'embrione

Epiblasto, situato tra l'ipoblasto e il trofoblasto polare

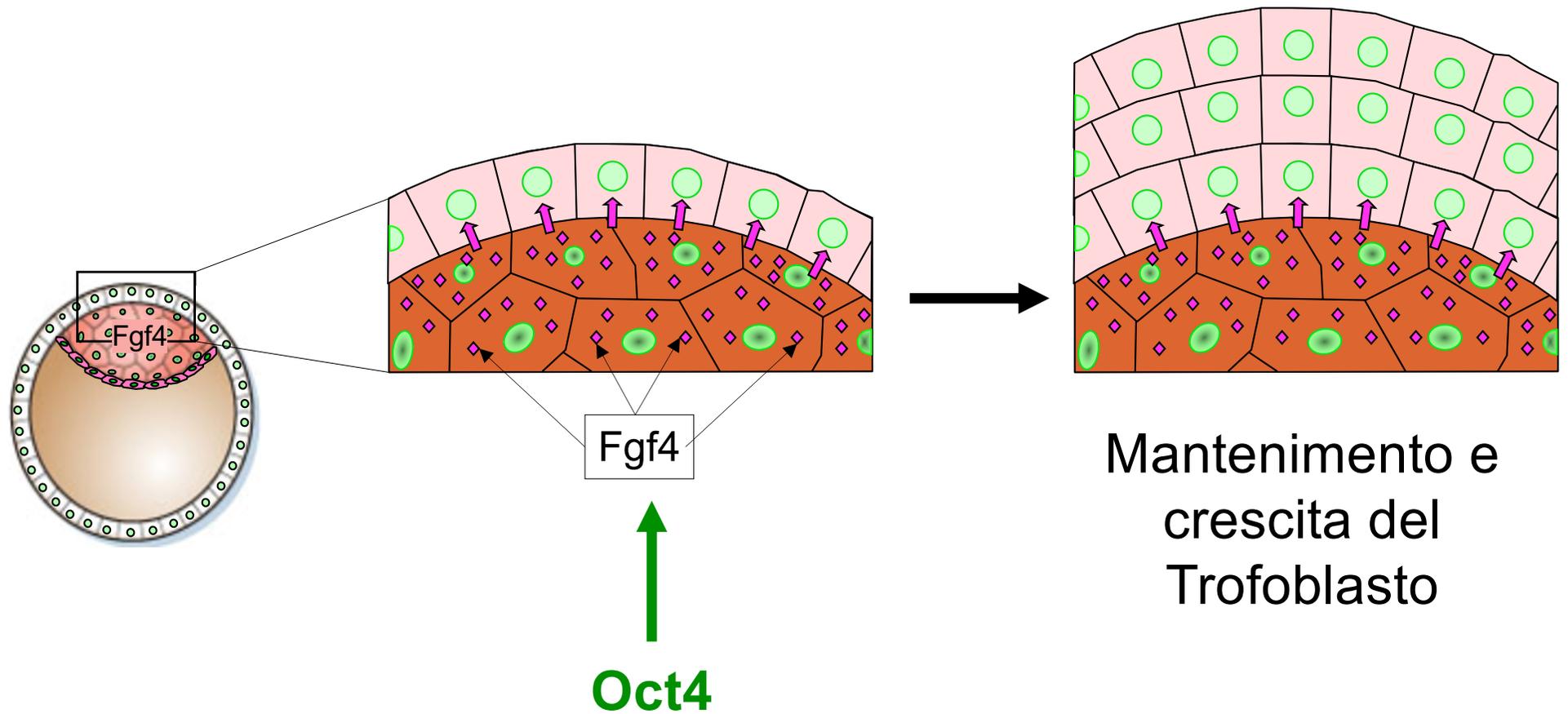
Anche questo differenziamento cellulare dipende dall'azione contrastante di due fattori di trascrizione: *nanog* nell'epiblasto e *GATA6* nell'ipoblasto



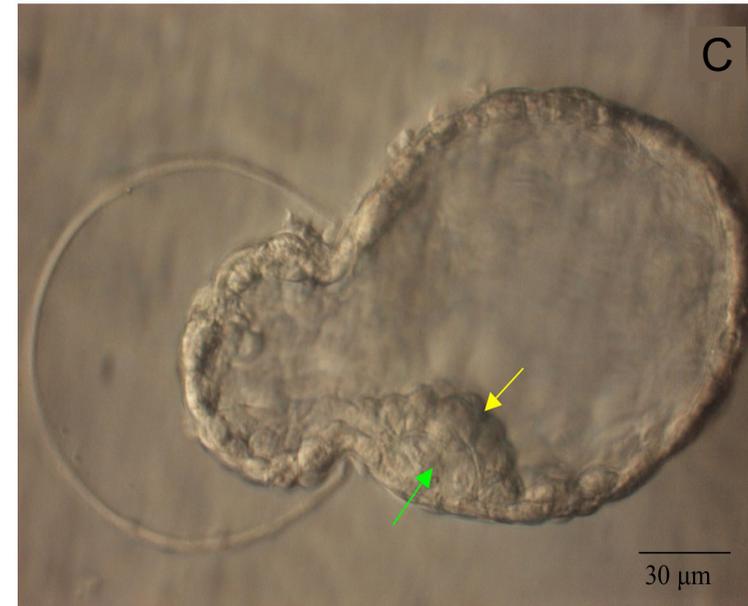
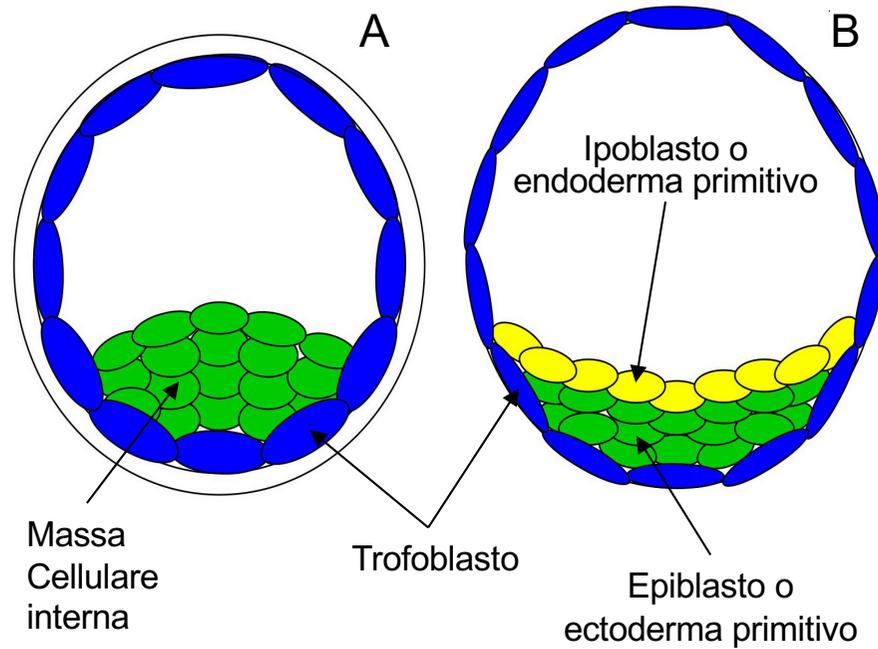
■	<i>Cdx2</i>
■	<i>Oct4/Nanog</i>
■	<i>Gata6</i>
■	<i>Oct4</i>



Nella blastocisti tardiva l'epiblasto e il trofocderma collaborano:
l'epiblasto fa proliferare il trofoblasto polare



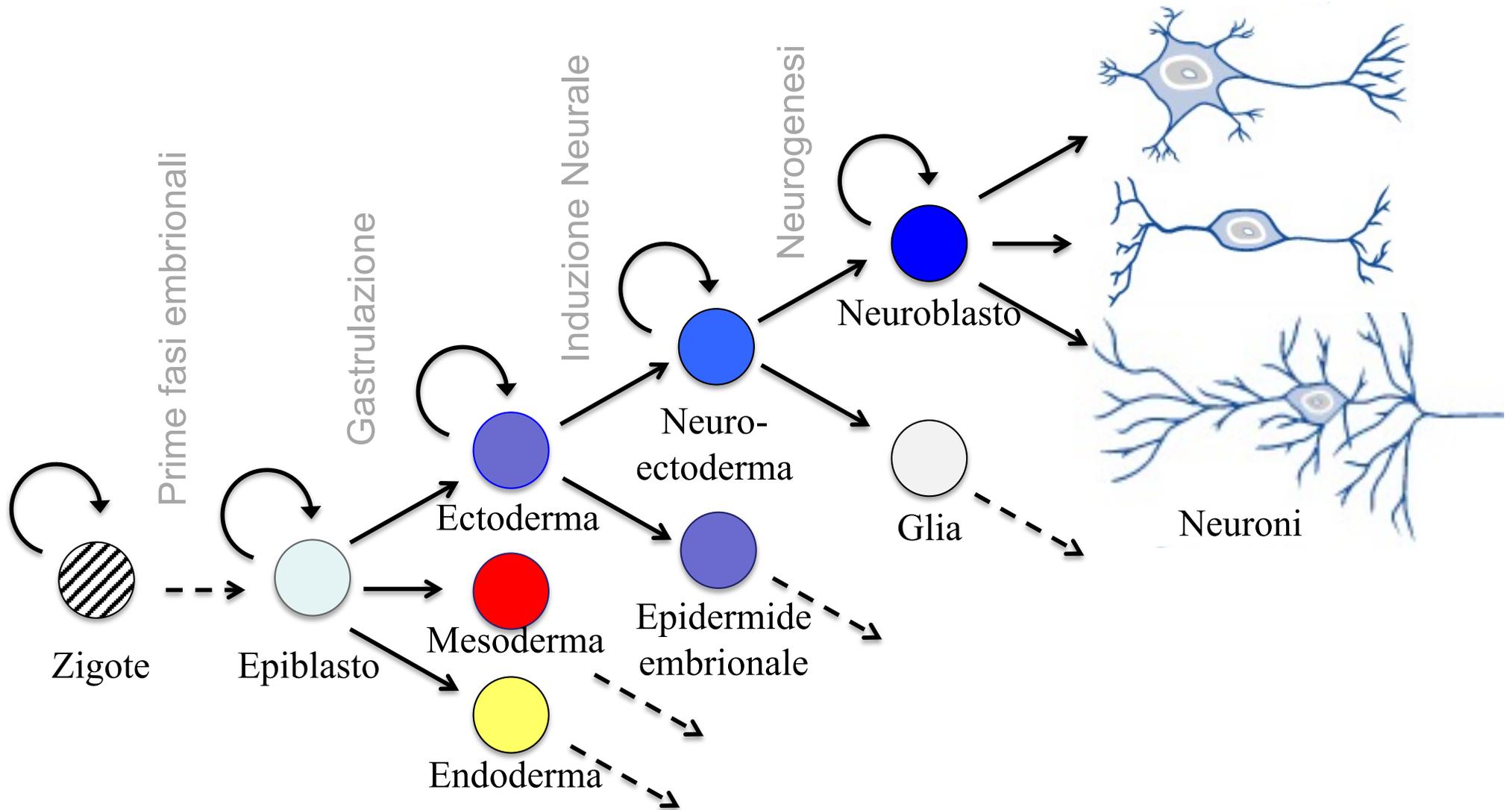
La blastocisti tardiva



La blastocisti tardiva si contrae varie volte e poi rompe la Zona Pellucida fuoriuscendo da essa (“sgusciando”).

STAMINALITA' E PLURIPOTENZA

Il differenziamento dei tipi cellulari del corpo è un processo graduale che avviene tramite una serie di scelte successive



Le cellule embrionali rimangono totipotenti fino allo stadio di morula

La fusione di due embrioni precoci porta alla formazione di embrioni ed individui chimerici, in cui tutti i tessuti contengono cellule originatesi da un embrione o dall'altro, che quindi avranno genomi differenti

Se separate, le cellule di un singolo embrione precoce possono formare embrioni distinti, che però avranno lo stesso genotipo

8-cell-stage mouse embryo whose parents are white mice



8-cell-stage mouse embryo whose parents are black mice



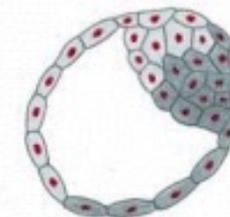
zona pellucida of each egg is removed by treatment with protease



embryos are pushed together and fuse when incubated at 37°



development of fused embryos continues *in vitro* to blastocyst stage

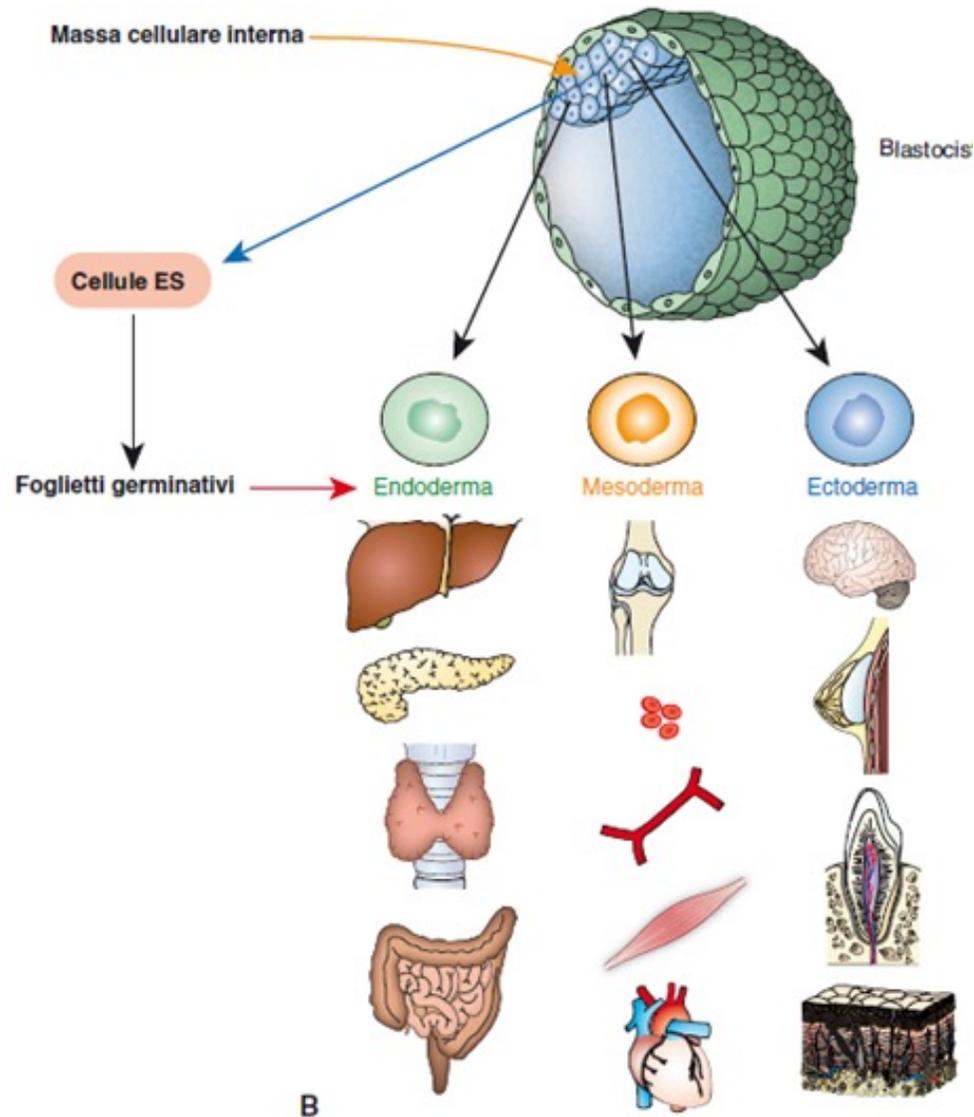


blastocyst transferred to pseudopregnant mouse, which acts as a foster mother

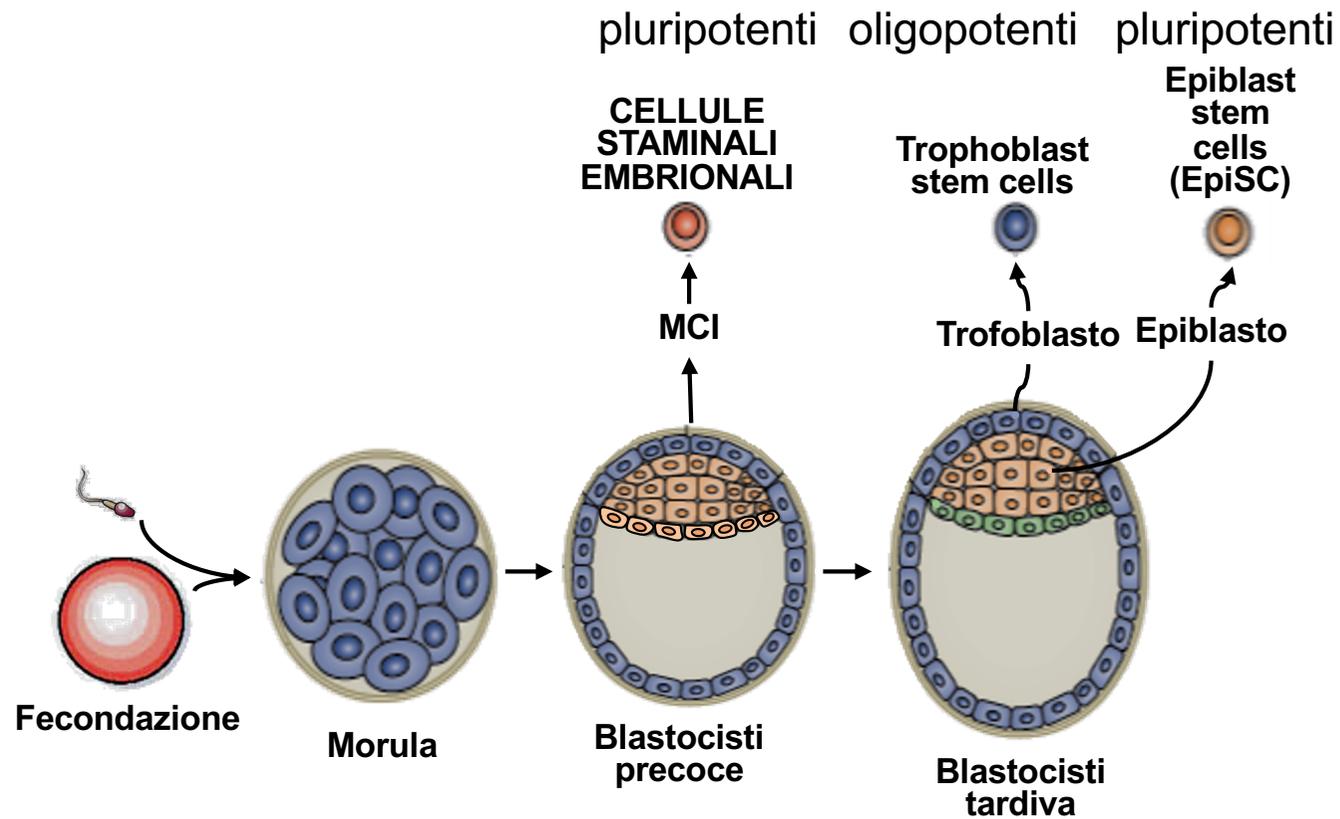


the baby mouse has four parents (but its foster mother is not one of them)

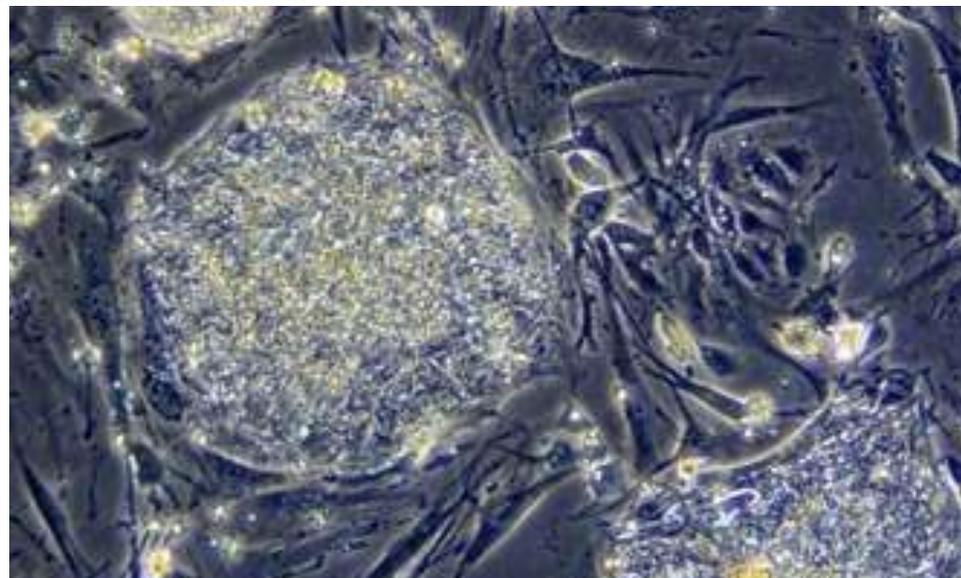
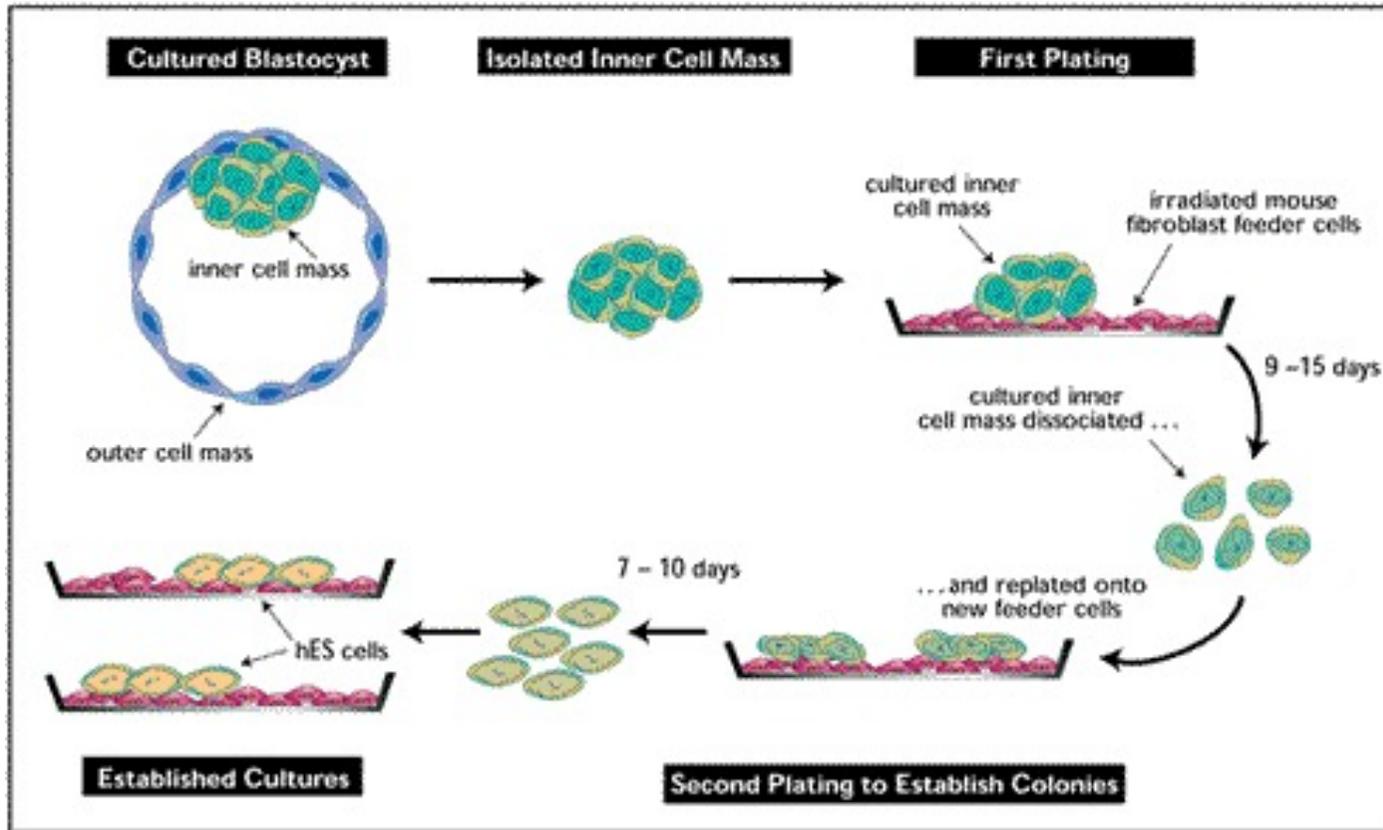
Pluripotenti: cellule embrionali della massa cellulare interna; possono dare origine alle cellule **somatiche e germinali** di un organismo ma non al trofoblasto



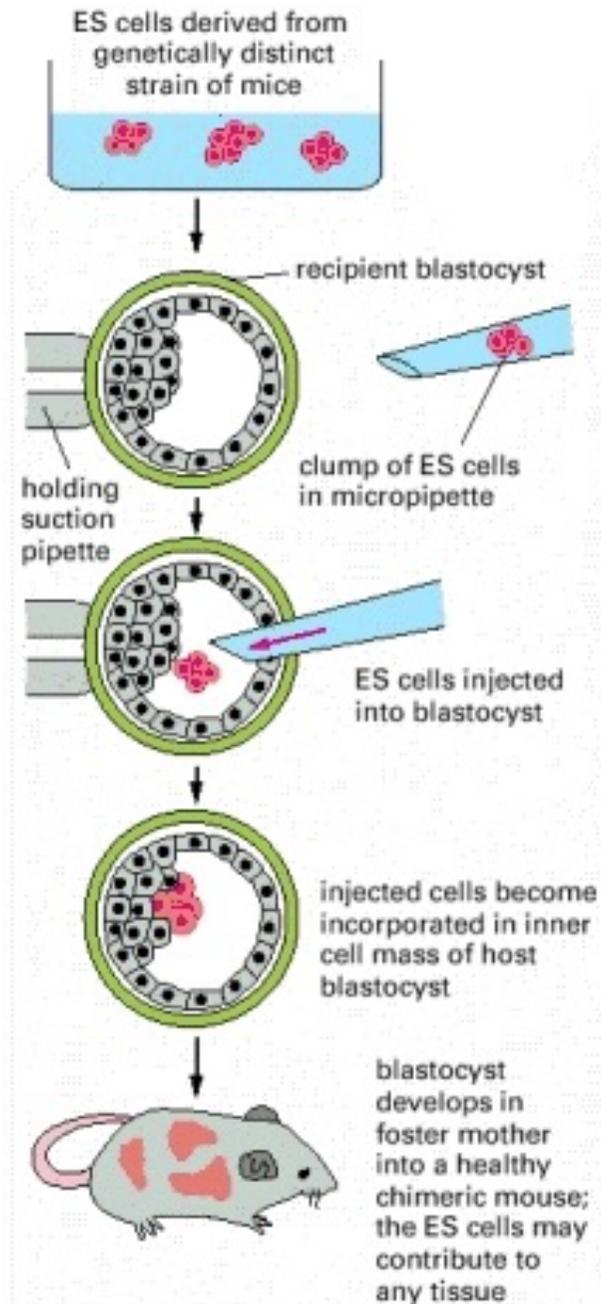
Dalla blastocisti si possono derivare cellule con proprietà staminali molto diverse



CELLULE STAMINALI EMBRIONALI

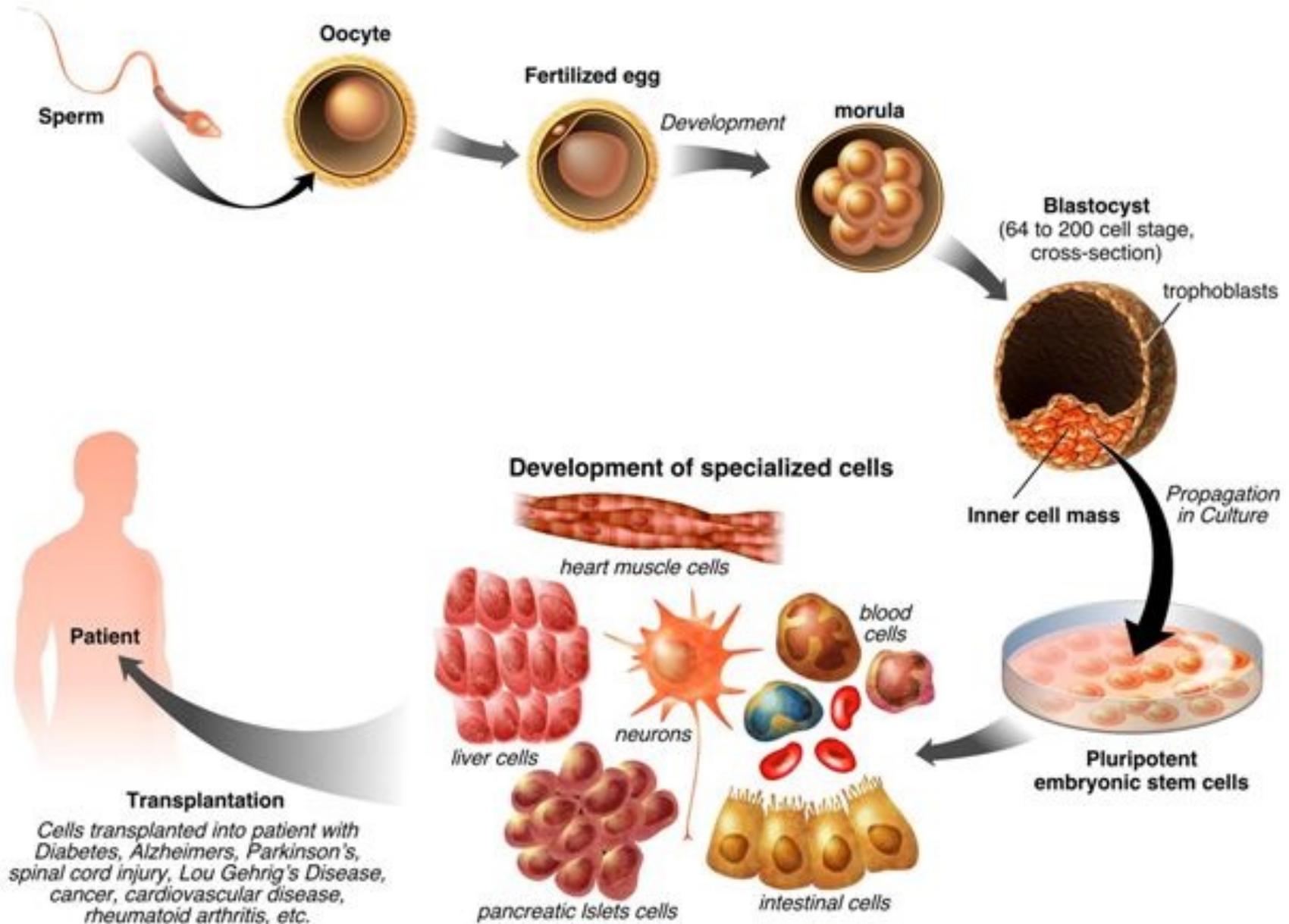


Le cellule staminali embrionali possono dare origine a tutte le cellule del corpo dell'adulto, incluse quelle germinali



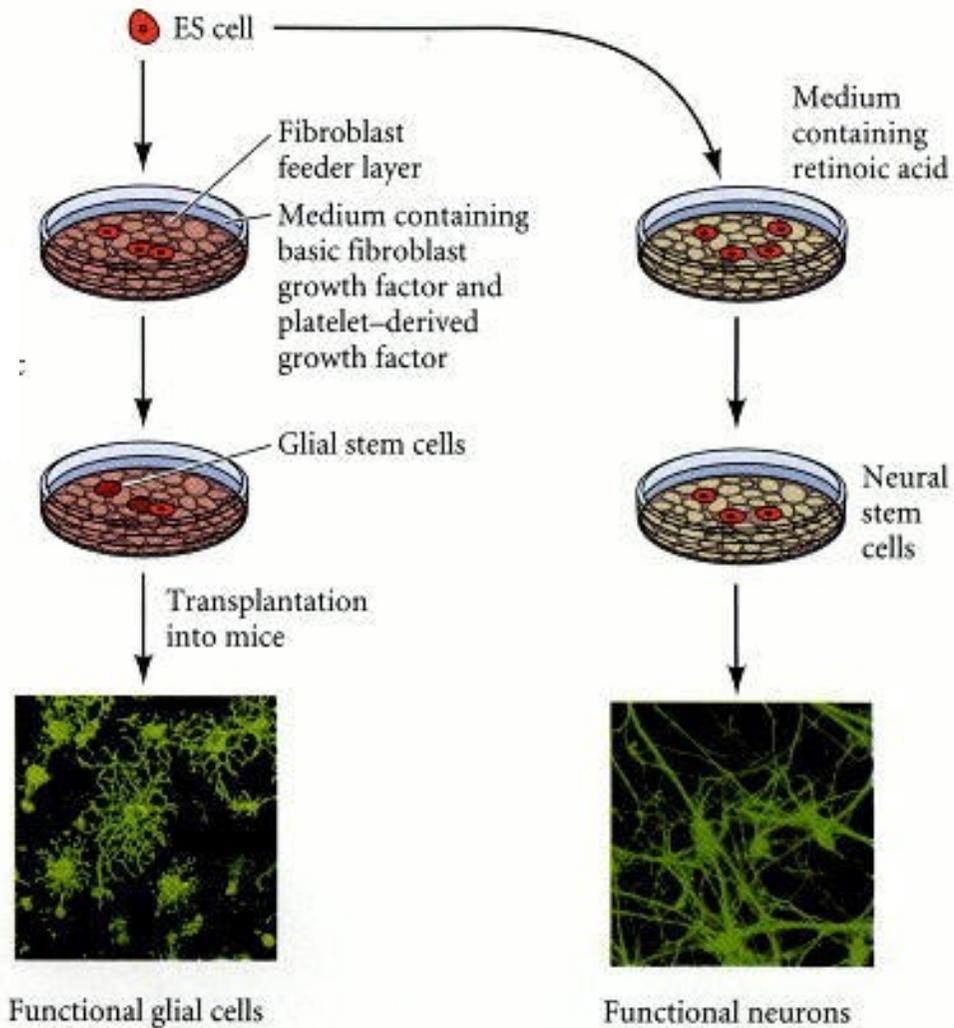
Se entrano nella linea germinale alcuni dei figli della chimera deriveranno dal genoma delle ES

Stem Cell Therapy



OBIETTIVO: FARE CELLULE O TESSUTI DA TRAPIANTARE

(B)



Vantaggi delle ES cells:

- permettono di rigenerare tessuti e cellule per i quali non sono disponibili sistemi come il trapianto da donatori
- possono essere modificate per risanare persone colpite da malattie degenerative di origine genetica

Svantaggi delle ES cells:

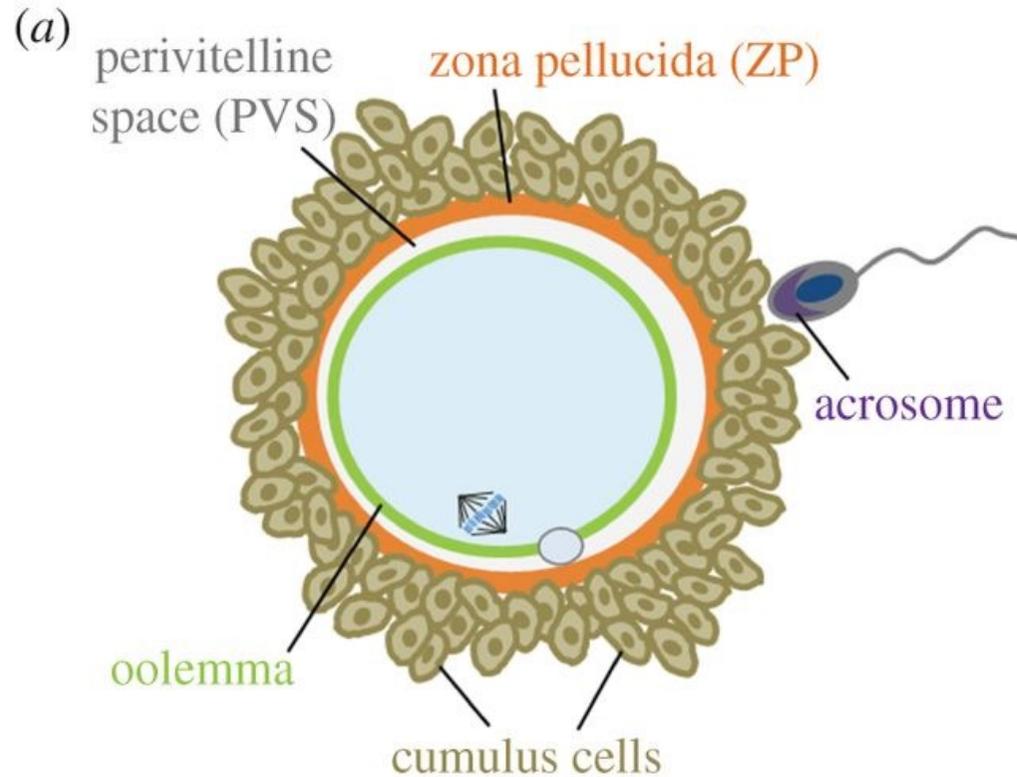
- per ottenerle bisogna distruggere delle blastocisti (problema etico: la blastocisti e' o no un essere umano?)
- il protocollo di differenziamento deve essere molto efficace: le cellule ES non differenziate possono formare tumori (teratocarcinomi)
- il protocollo di trapianto deve essere molto efficace: le cellule differenziate potrebbero non sopravvivere
- devono essere compatibili dal punto di vista immunologico con il ricevente, se no si avra' un rigetto

Per risolvere questo ultimo punto si sono cercate svariate strade

- la clonazione terapeutica
- la riprogrammazione delle cellule somatiche

Gameti: cellule estremamente specializzate che derivano da staminali unipotenti (c. germinali)

Embrione precoce totipotente



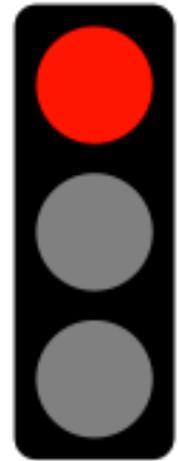
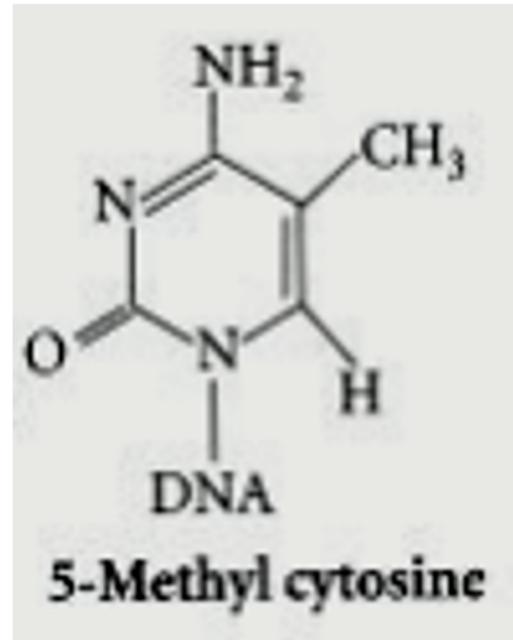
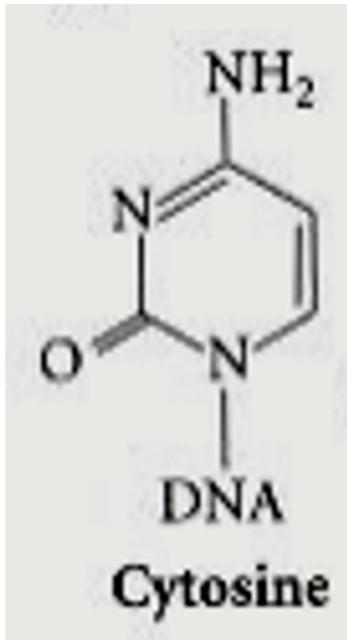
Come è possibile che lo stesso genoma di una cellula specializzata riacquisisca totipotenza?

Controllo epigenetico dell'espressione genica

DEFINIZIONE

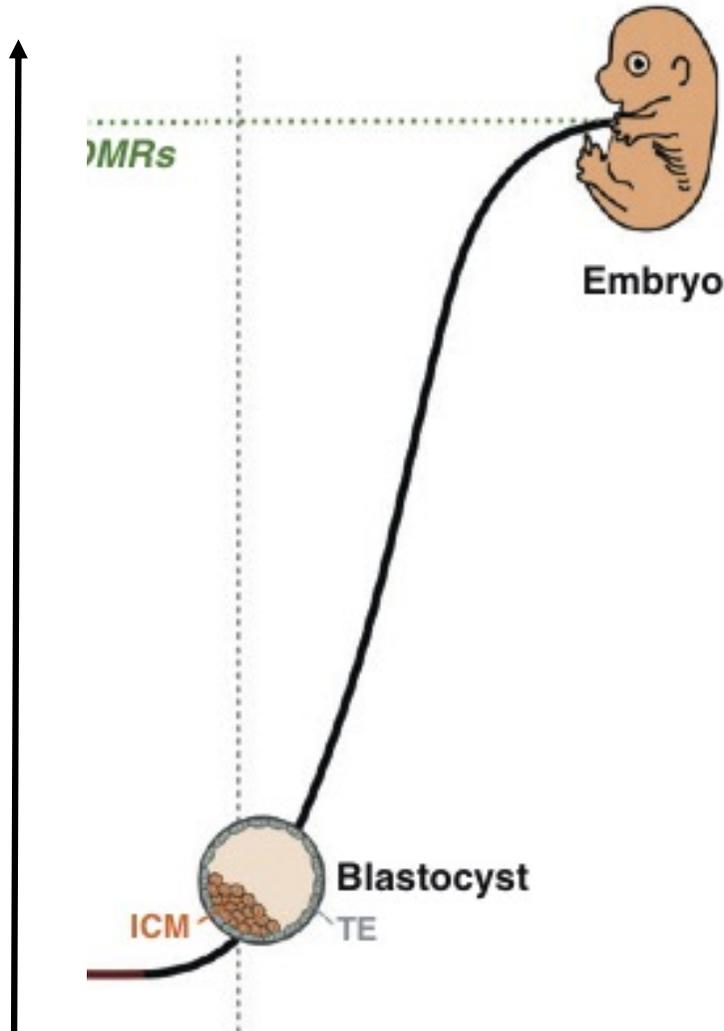
variazione della attività e funzione genica, ereditabile attraverso la mitosi/meiosi, che non può essere spiegate da differenze della sequenza del DNA (controllo genetico)

methylation



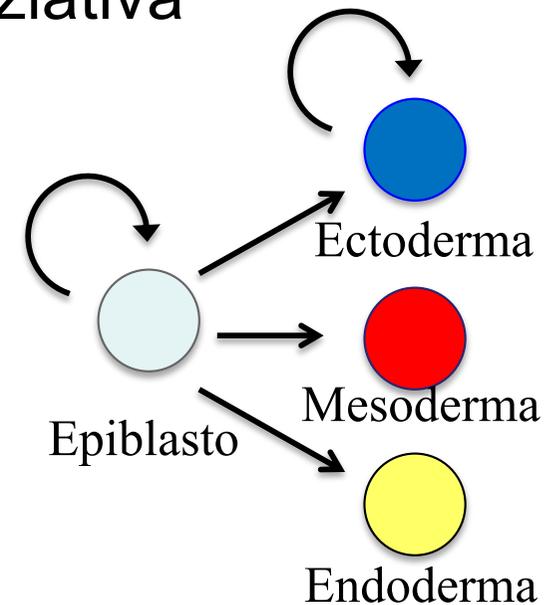
demethylation

metilazione del DNA

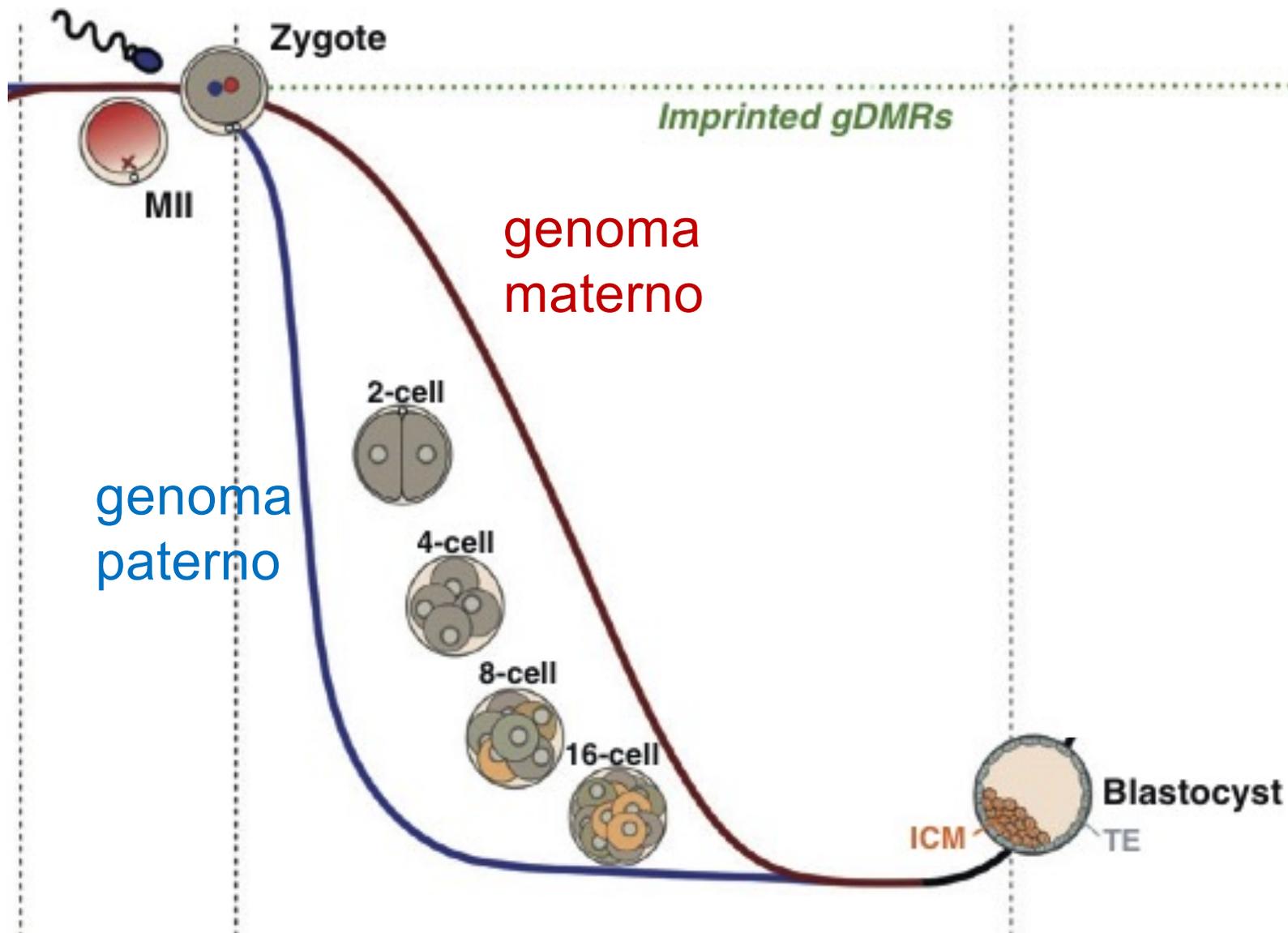


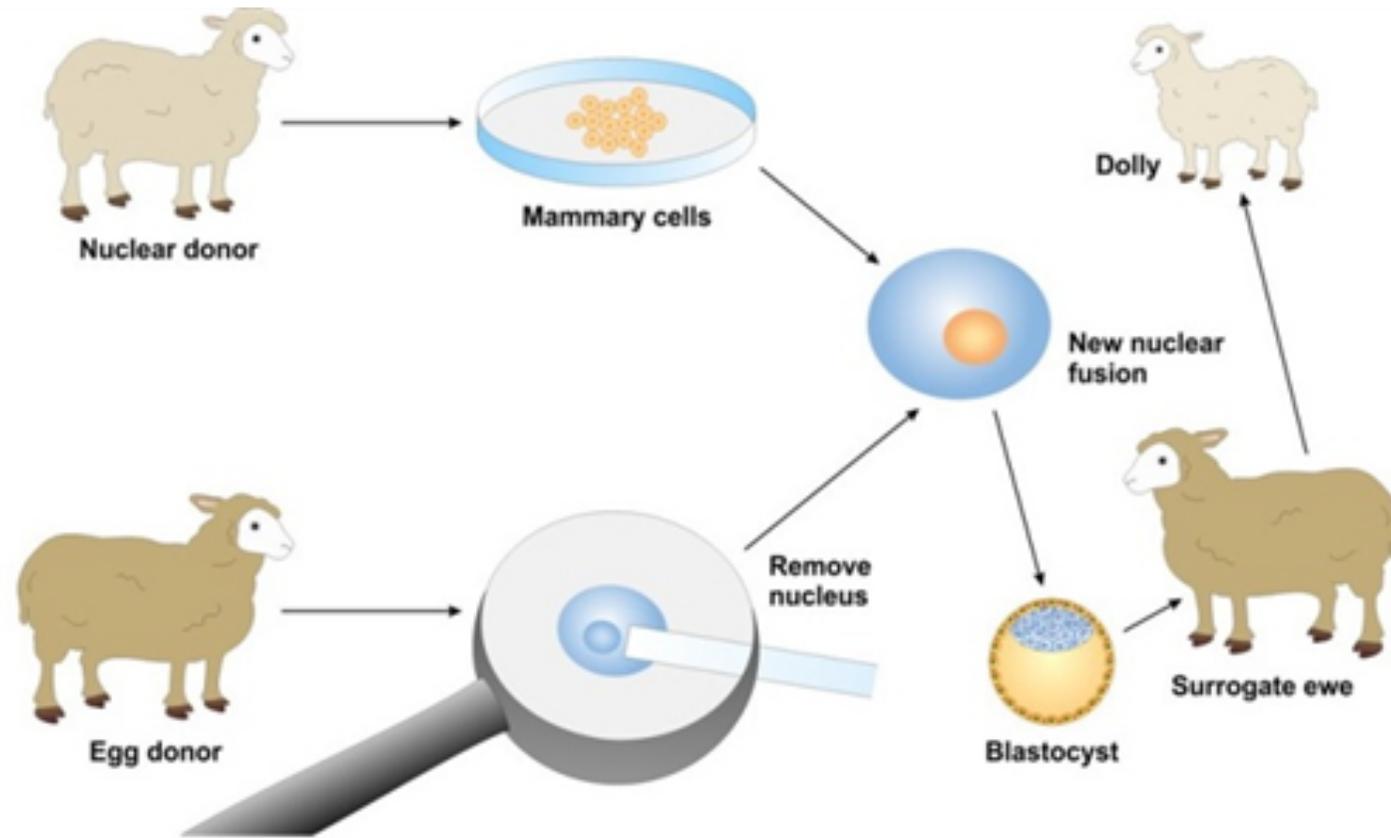
Durante il differenziamento la metilazione del DNA aumenta

La metilazione avviene in regioni differenti a seconda della linea differenziativa



I gameti hanno un alto livello di metilazione (c. specializzate)
il genoma viene demetilato durante le prime fasi dello sviluppo
l'embrione acquisisce totipotenza

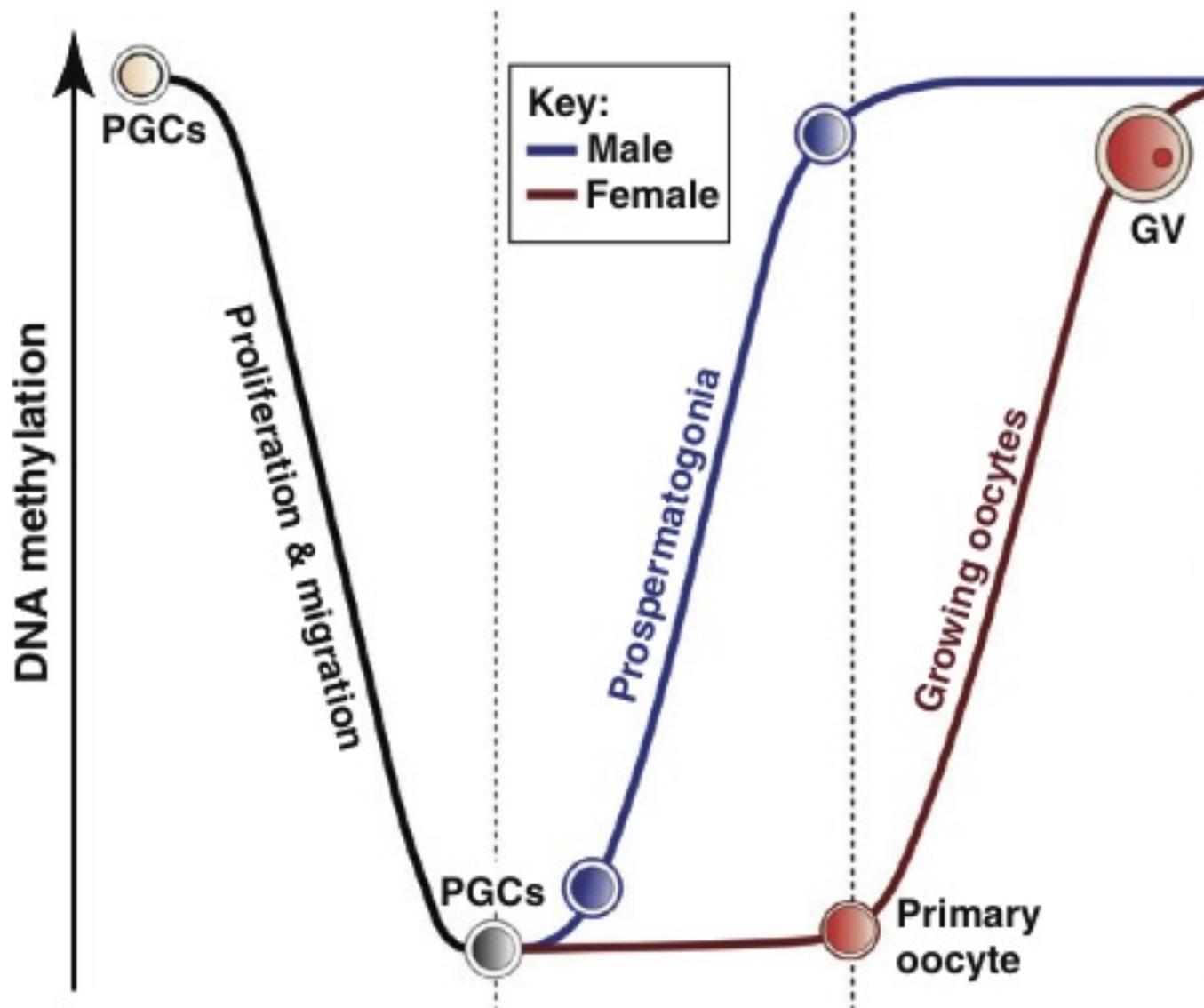




La incompleta demetilazione del DNA e' la causa primaria del frequente insuccesso del clonaggio tramite nuclear transfer in oociti nei mammiferi

La demetilazione del DNA è necessaria per la trascrizione di Oct4, essenziale per la blastocisti

Anche le cellule germinali primordiali (PGCs) vanno incontro a demetilazione del proprio genoma
Il genoma dei gameti viene *rimetilato* in maniera SPECIFICA

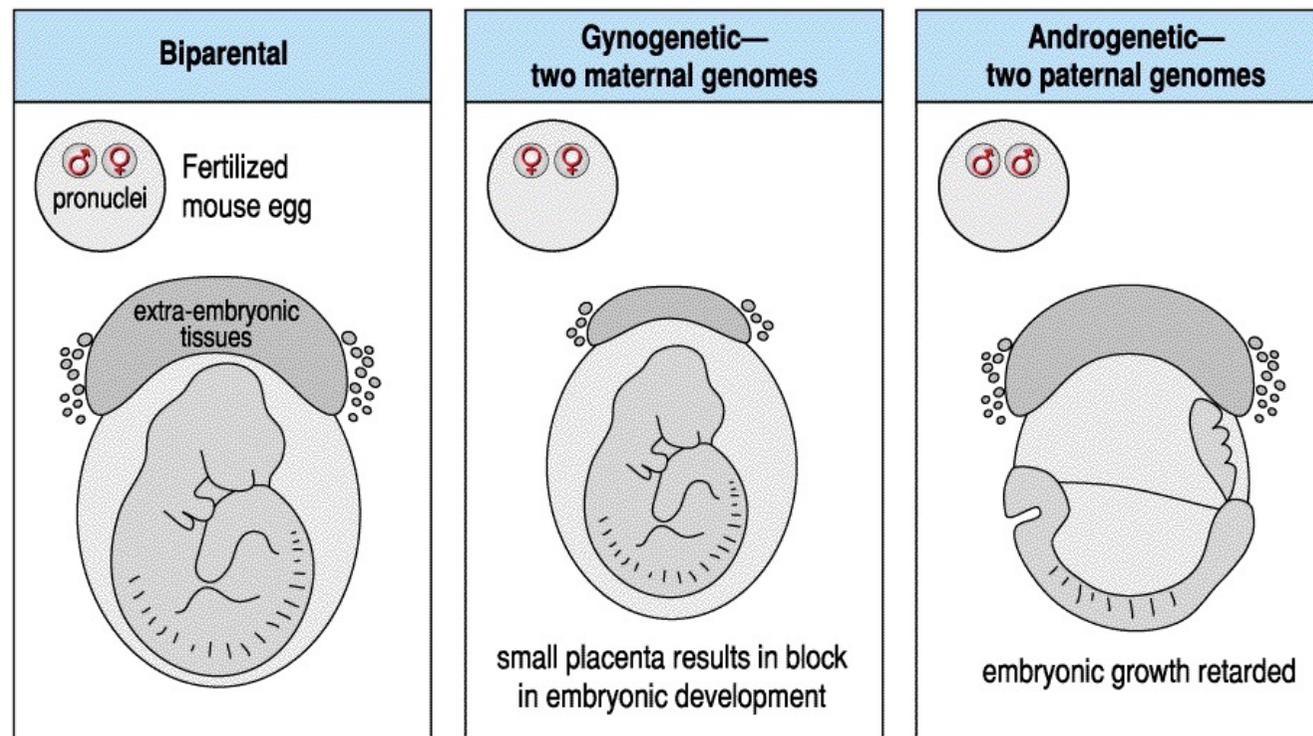


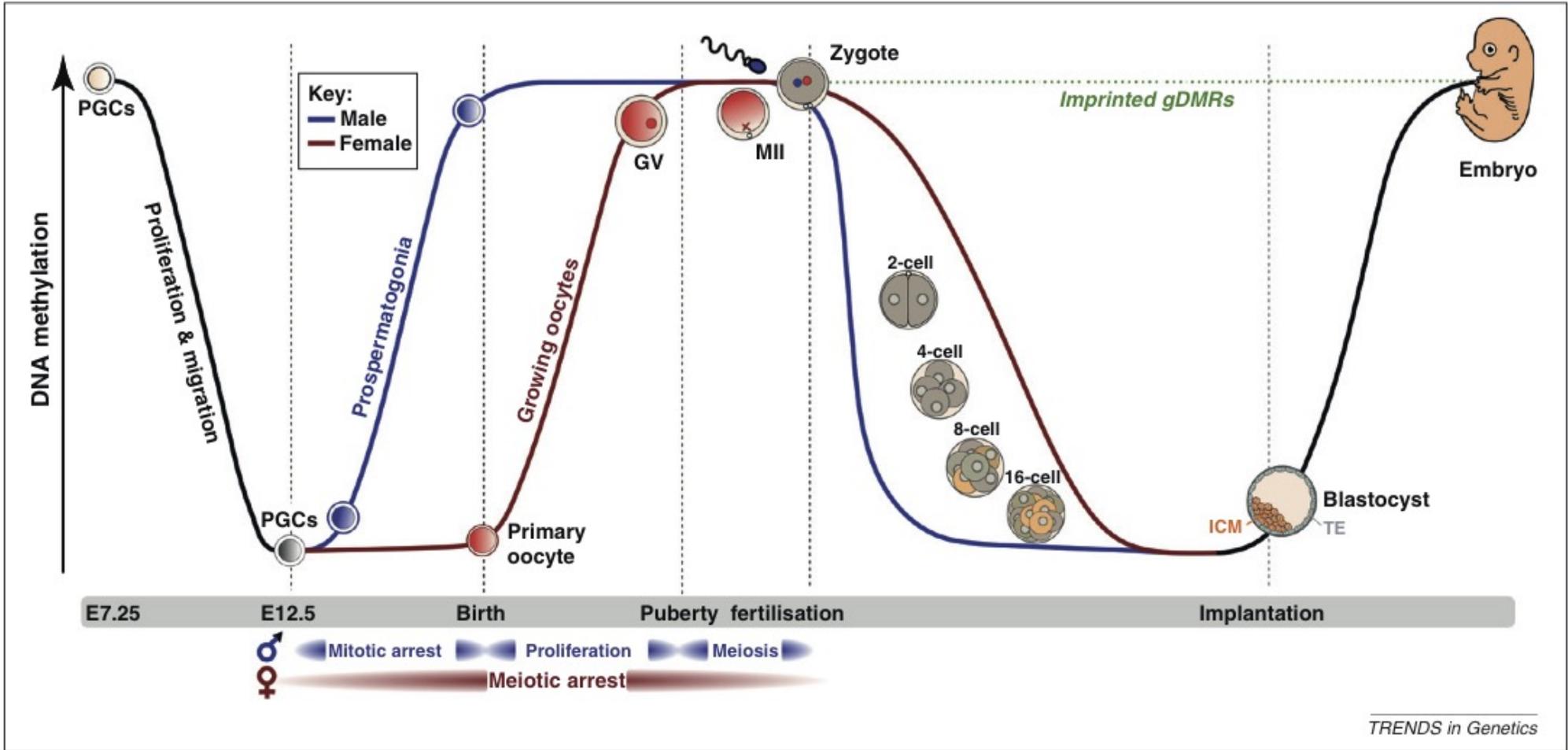
IMPRINTING GENOMICO

Fenomeno per il quale è richiesta una appropriata combinazione di geni paterni e materni per lo sviluppo embrionale

L' imprinting dei genomi parentali durante la gemetogenesi porta a **differenti potenziali dei genomi materni e paterni** nello sviluppo dei tessuti embrionali ed extraembrionali

Alcuni di questi geni imprinted regolano la crescita dei tessuti extraembrionali ed embrionali in modo differenziale





Developmental potential

Totipotent
Zygote

Pluripotent
ICM/ES cells, EG cells,
EC cells, mGS cells
iPS cells

Multipotent
Adult stem cells
(partially
reprogrammed cells?)

Unipotent
Differentiated cell
types

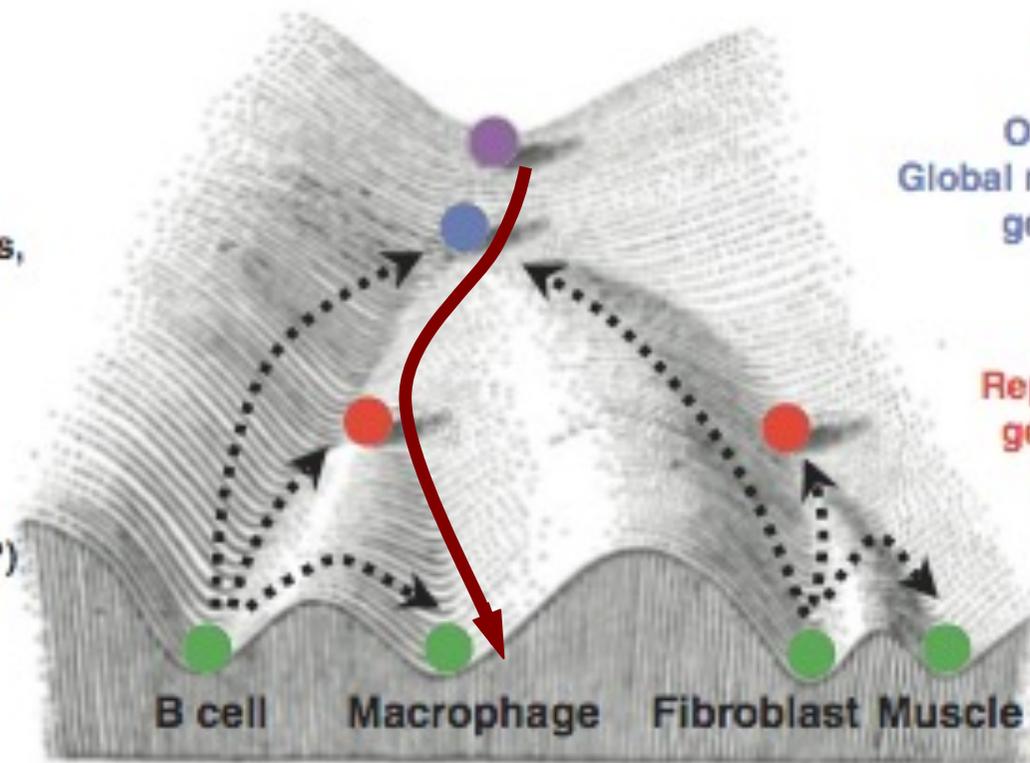
Epigenetic status

Global DNA demethylation

Only active X chromosomes;
Global repression of differentiation
genes by Polycomb proteins;
Promoter hypomethylation

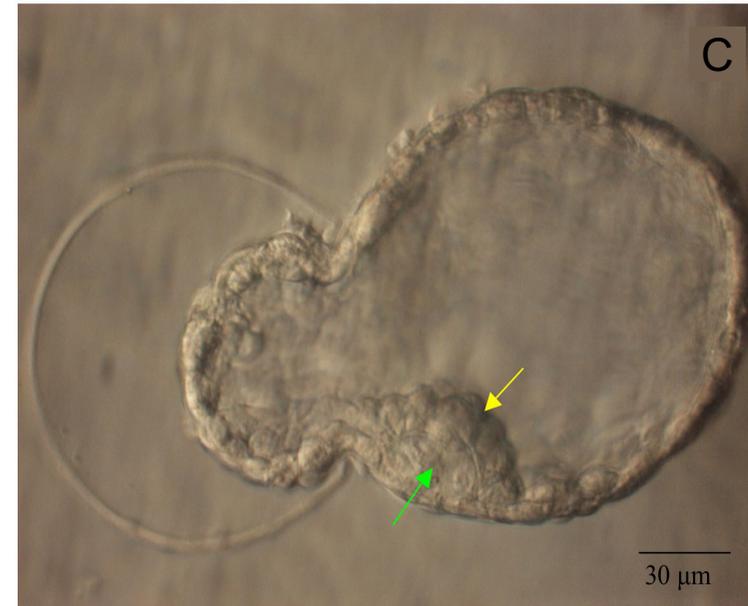
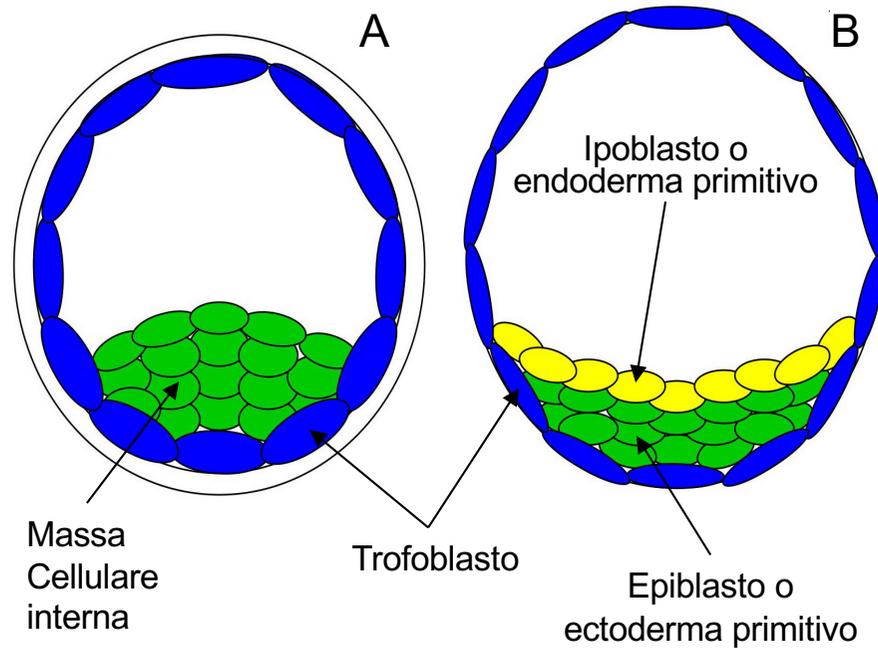
X inactivation;
Repression of lineage-specific
genes by Polycomb proteins;
Promoter hypermethylation

X inactivation;
Derepression of
Polycomb silenced
lineage genes;
Promoter hypermethylation



L'IMPIANTO

La blastocisti tardiva

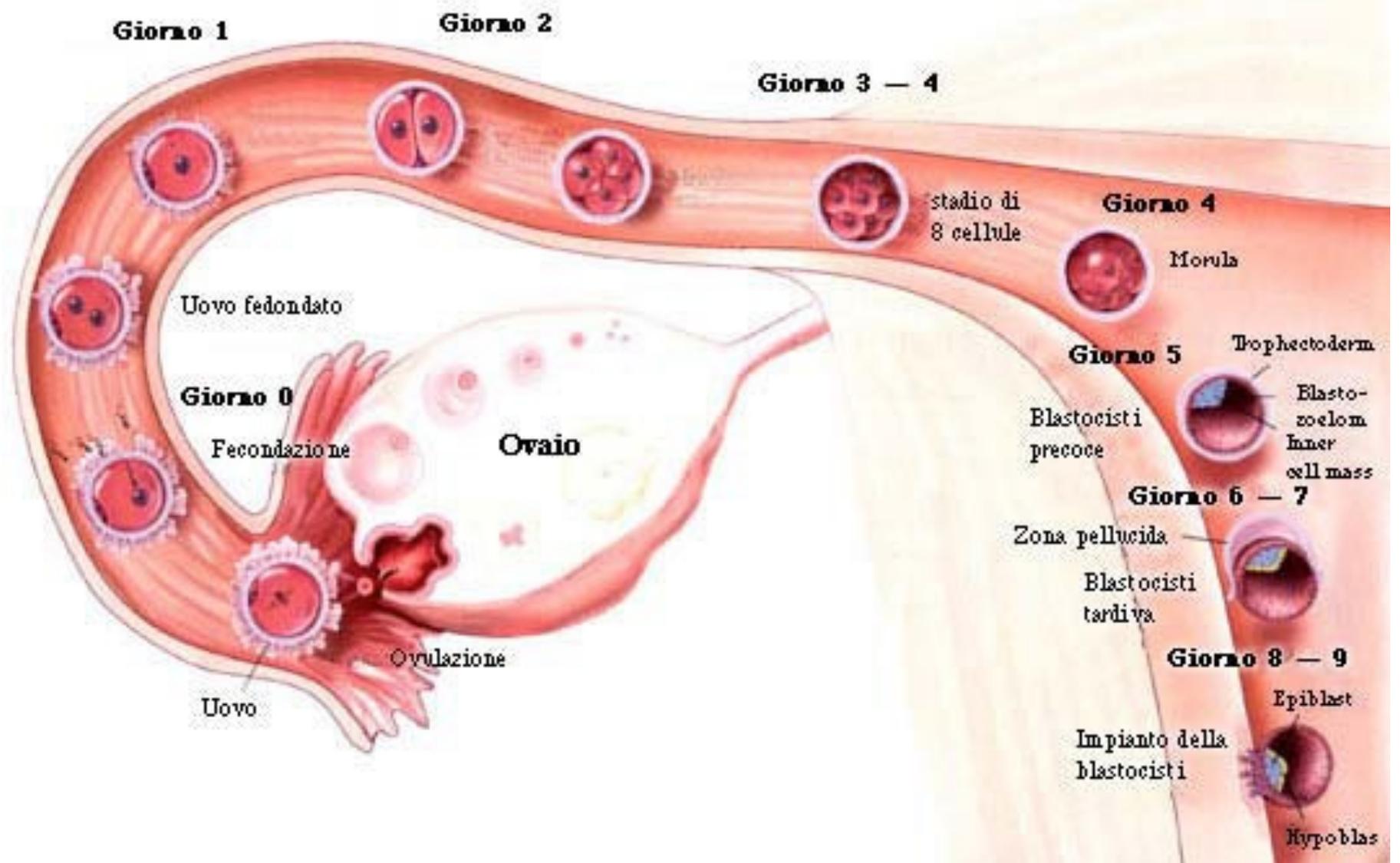


- L'Ipoblasto o Endoderma Primitivo è fondamentale perchè:
- “contiene” l'epiblasto quando le sue cellule migreranno
 - comunica con l'epiblasto e aiuta a stabilire la polarità dei tessuti embrionali
 - costituisce il rivestimento interno del blastocele (futura cavità vitellina)

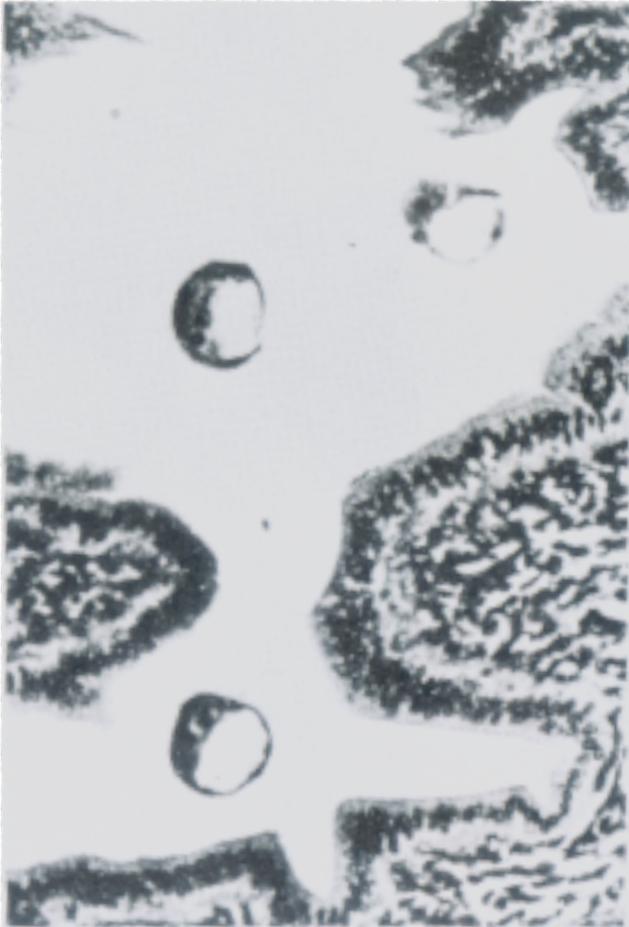
Nell'uomo gli embrioni sgusciati dalla Zona non proseguono nello sviluppo se non si impiantano nella parete uterina della madre.



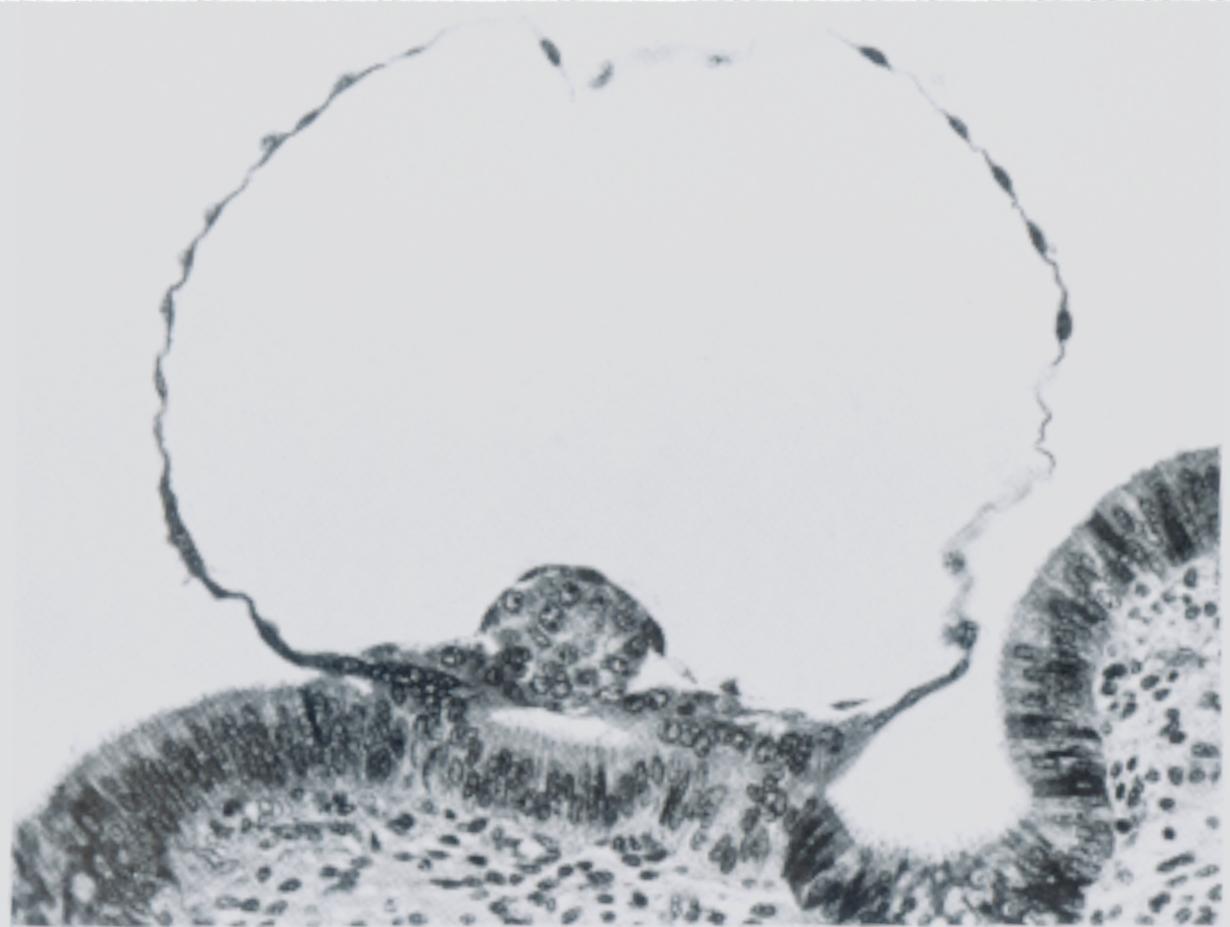
L'impianto e' importante come la fecondazione. Solo 1 embrione su 3 si impianta



Gli embrioni si impiantano dalla parte del trofoblasto polare

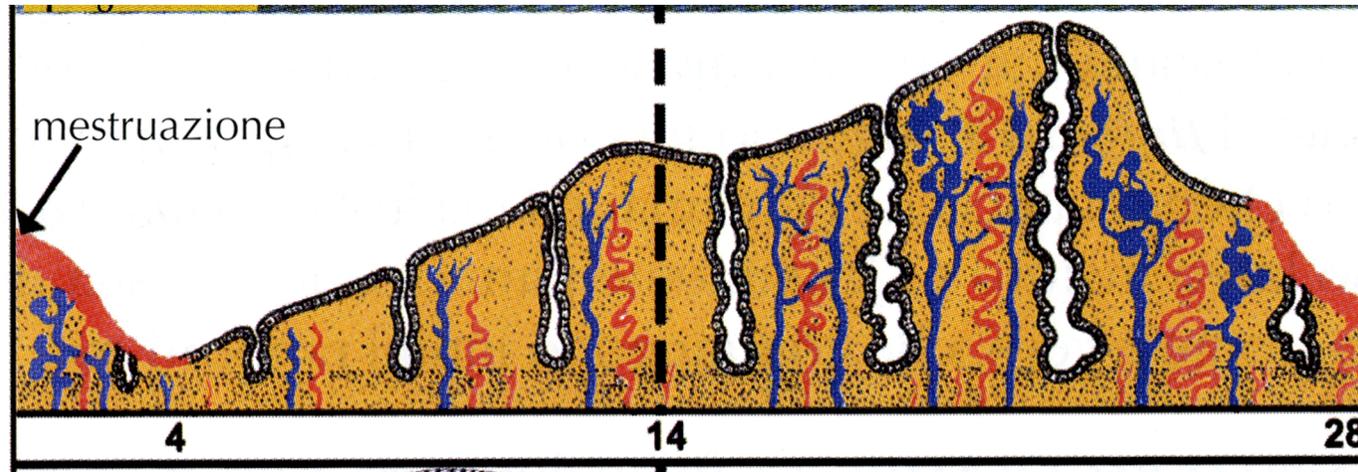


(A)

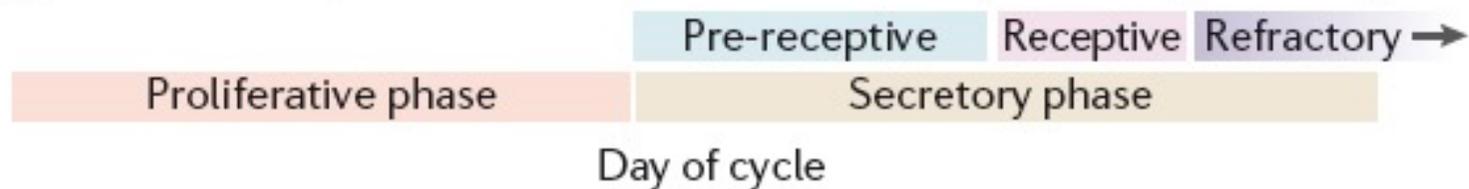
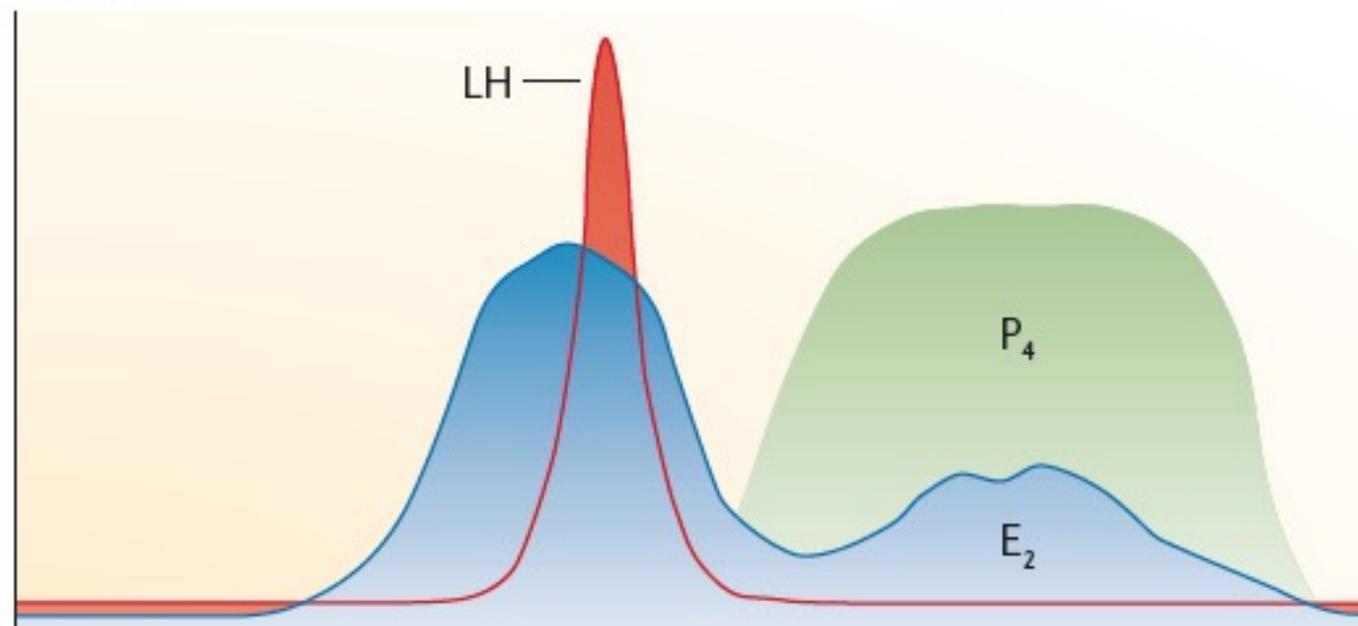


(B)

Il "periodo critico" per l'impianto dell'embrione

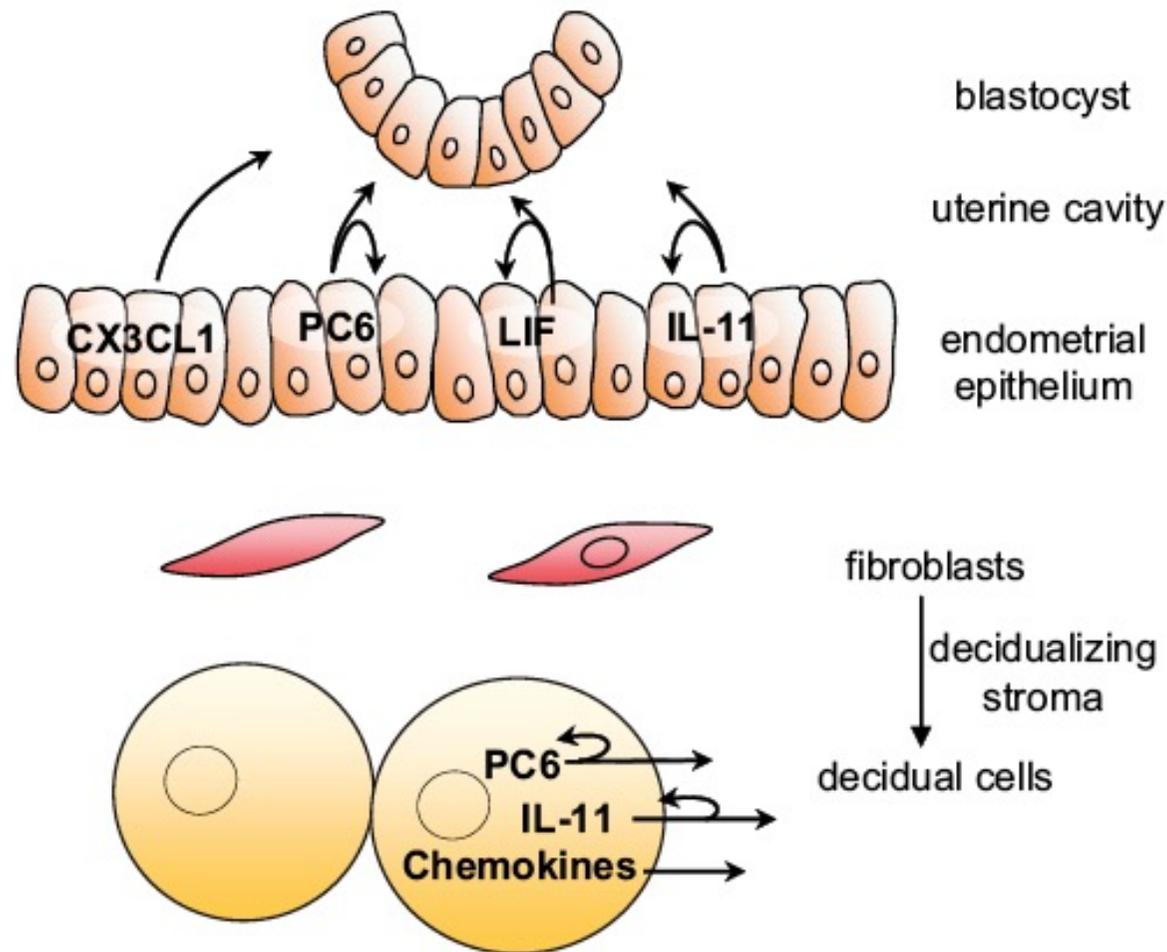


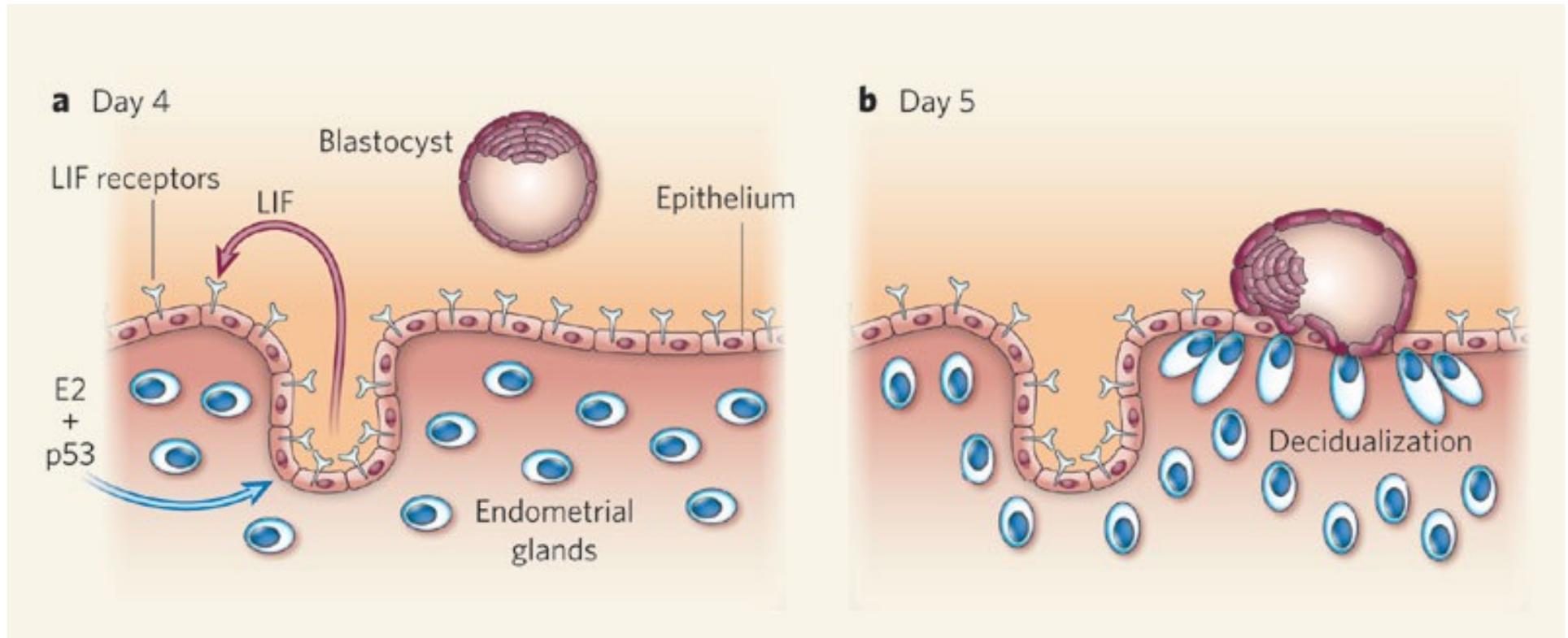
Human



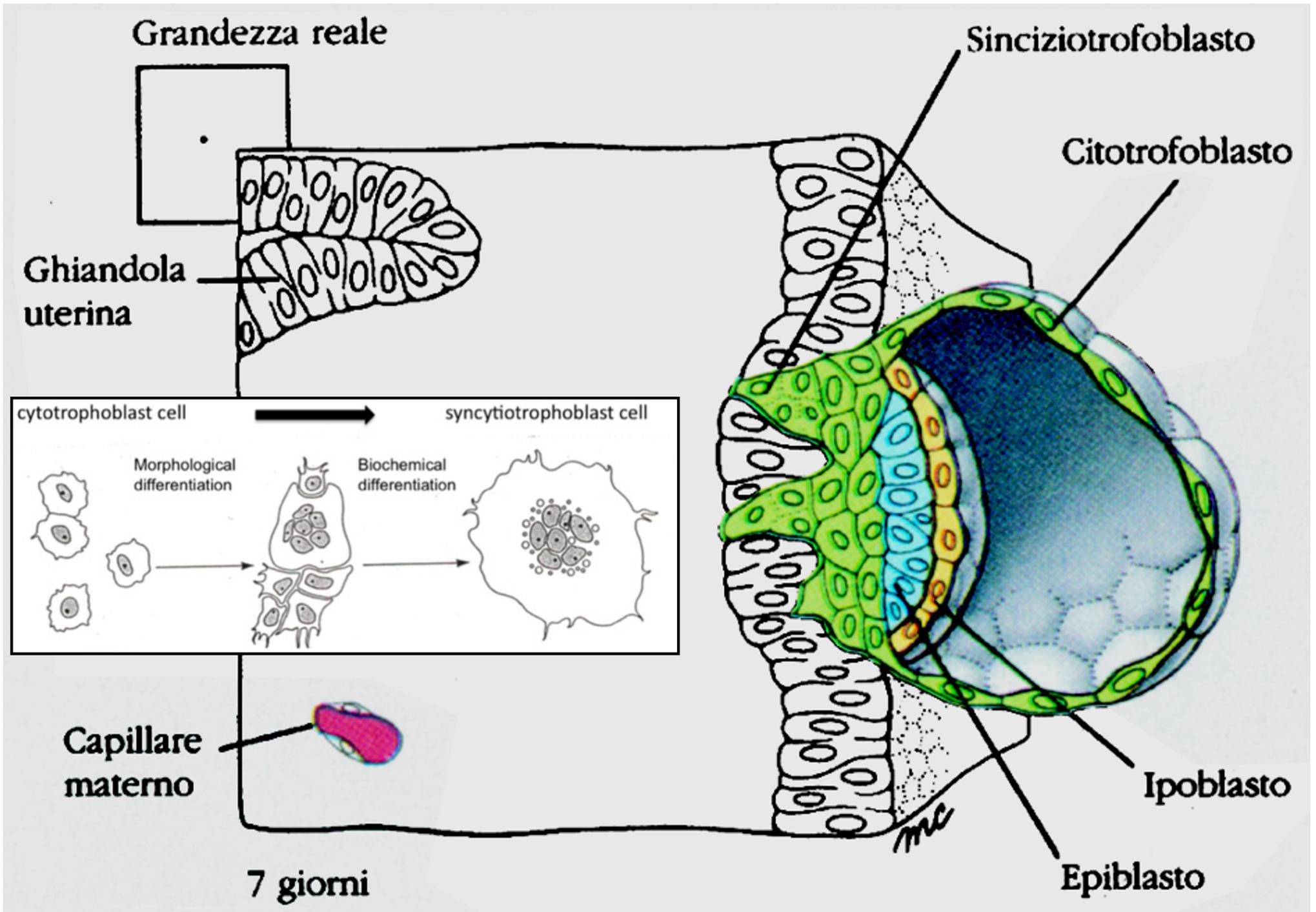
L'endometrio e lo stroma sottostante (la futura decidua) promuovono attivamente lo sviluppo dell'embrione.

Similmente l'embrione promuove un cambiamento nella struttura della parete uterina che porta alla **reazione deciduale** o **decidualizzazione**

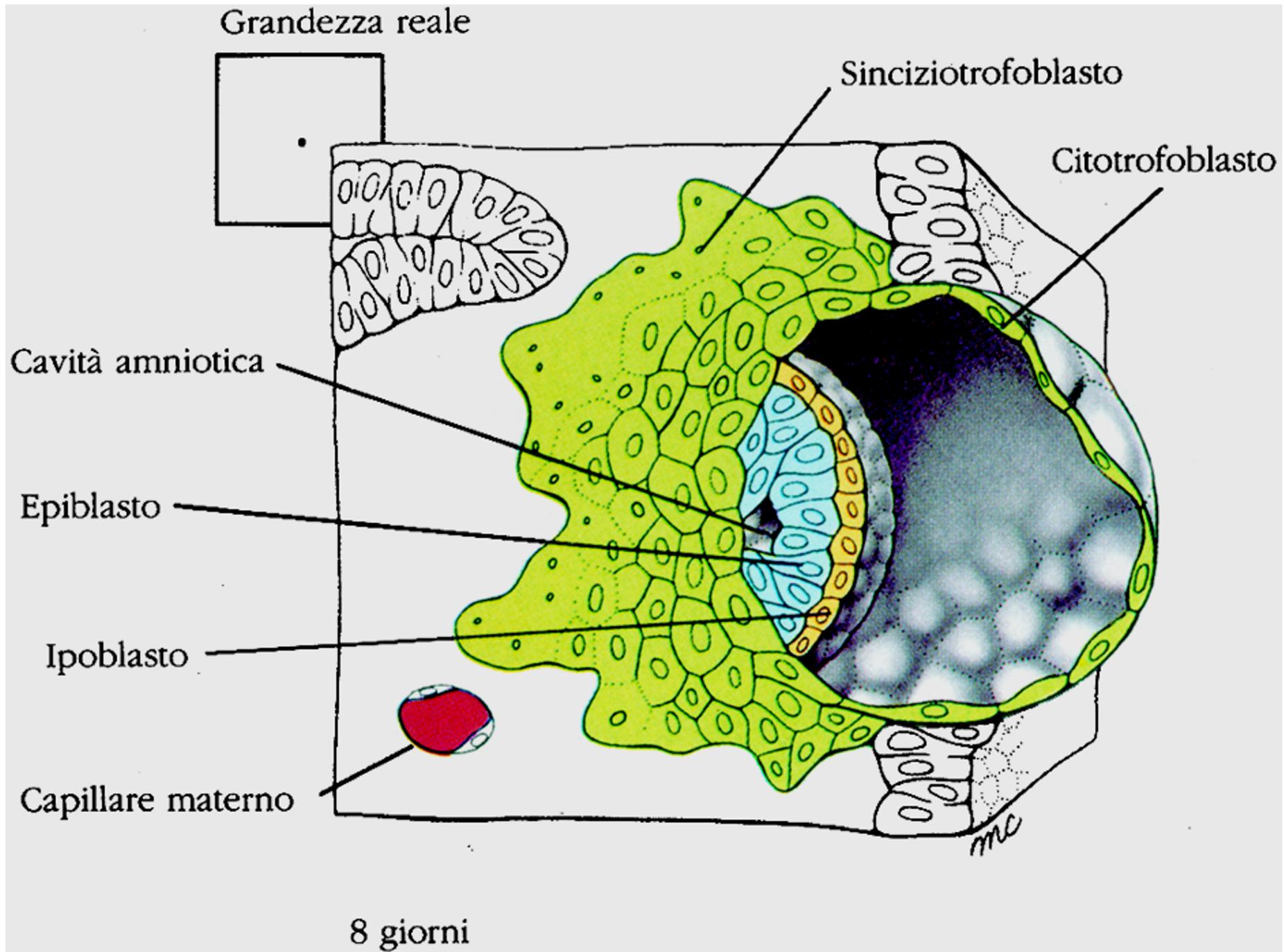




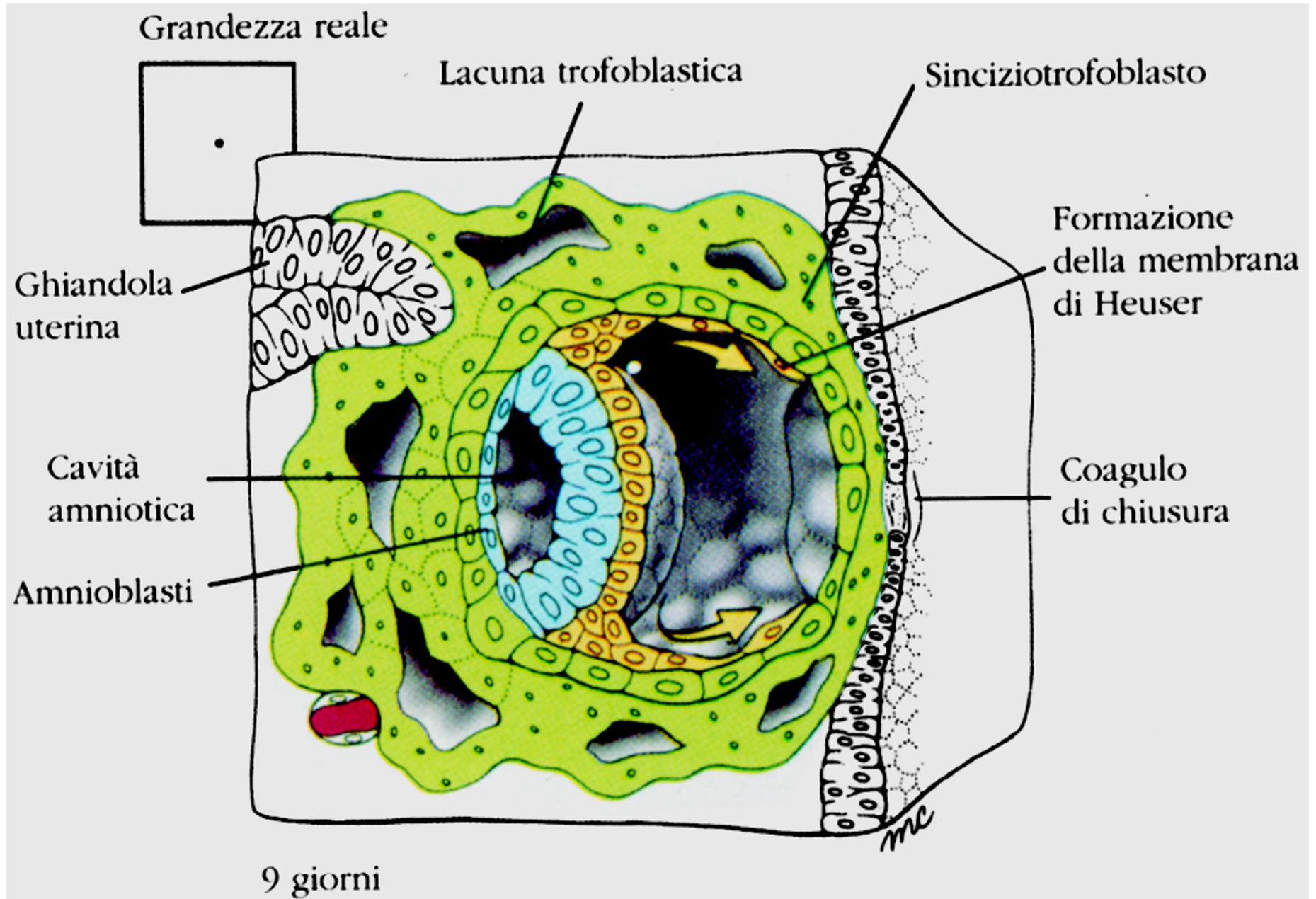
Reazione deciduale



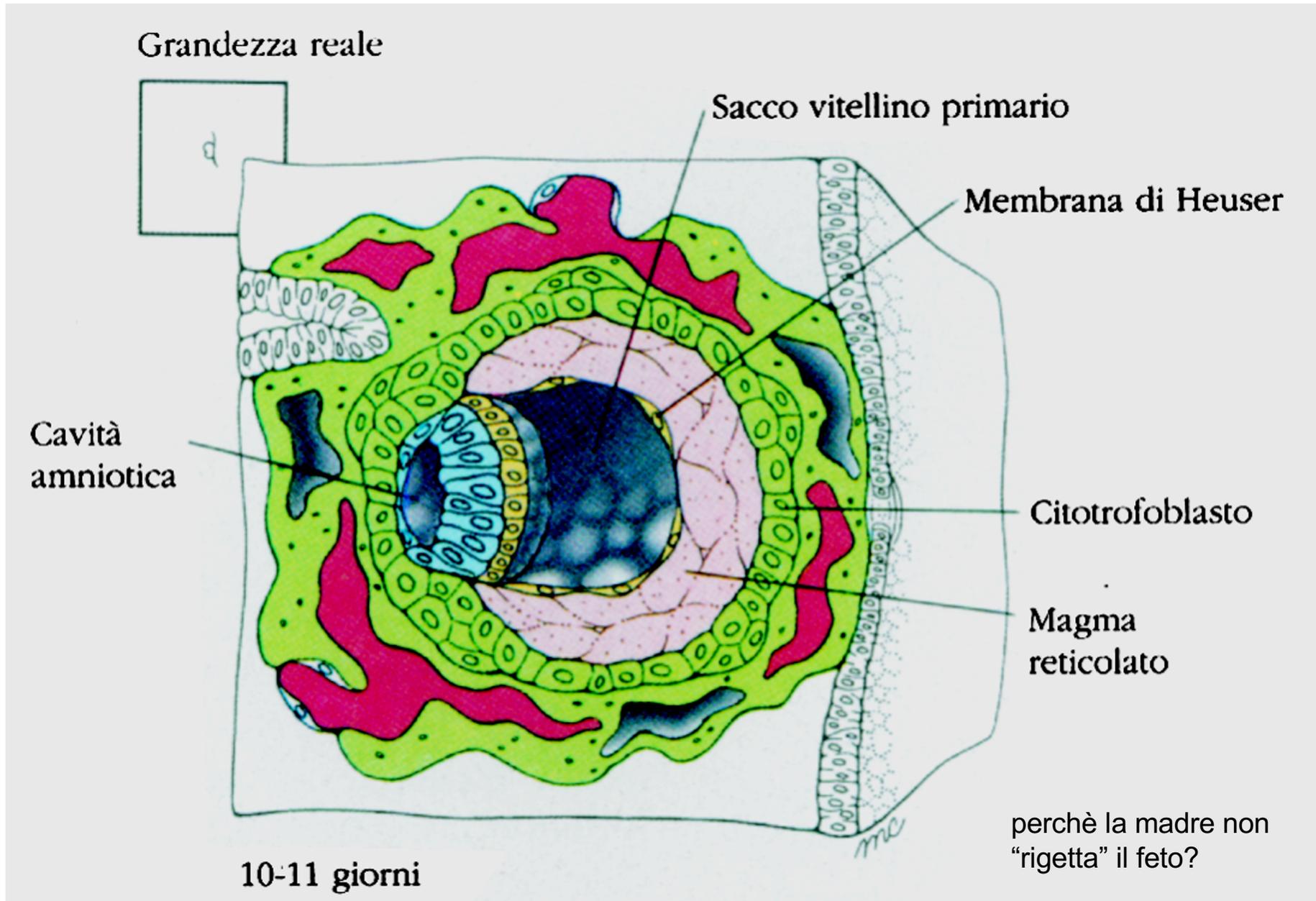
Il S.trofoblasto "trascina" l'embrione nello strato funzionale dell'endometrio



L'embrione penetra interamente nello stroma dell'endometrio
Il S.trofoblasto avvolge interamente l'embrione
Il S.trofoblasto forma delle lacune e "cerca" i vasi sanguigni materni

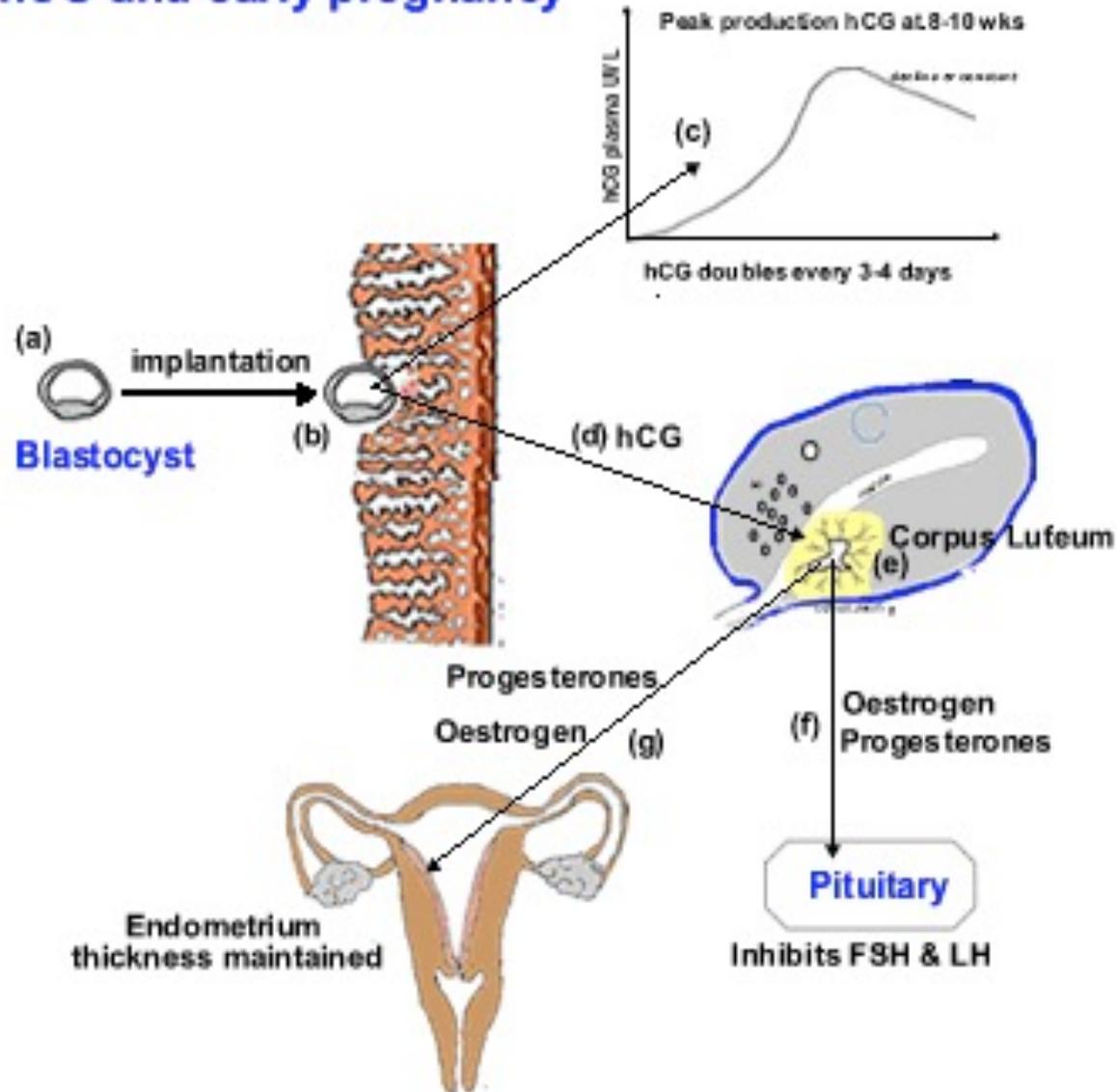


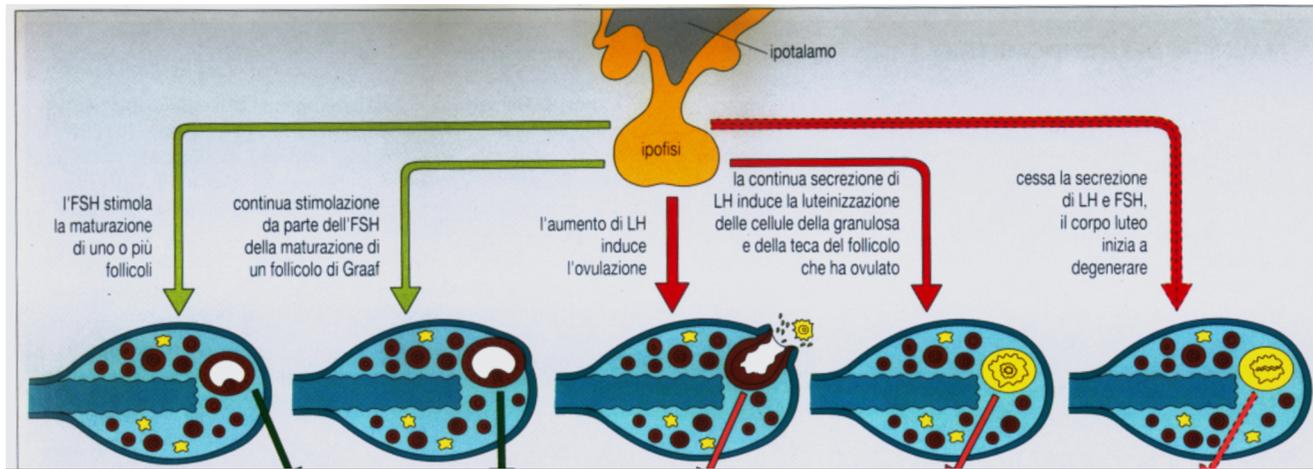
Le lacune del sinciziotrofoblasto si fondono con il lume dei capillari materni: le cellule endoteliali aderiscono al bordo esterno del trofoblasto e il sangue materno penetra all'interno del sinciziotrofoblasto.



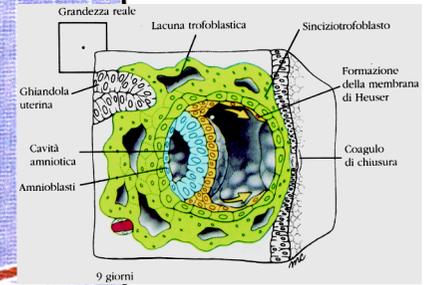
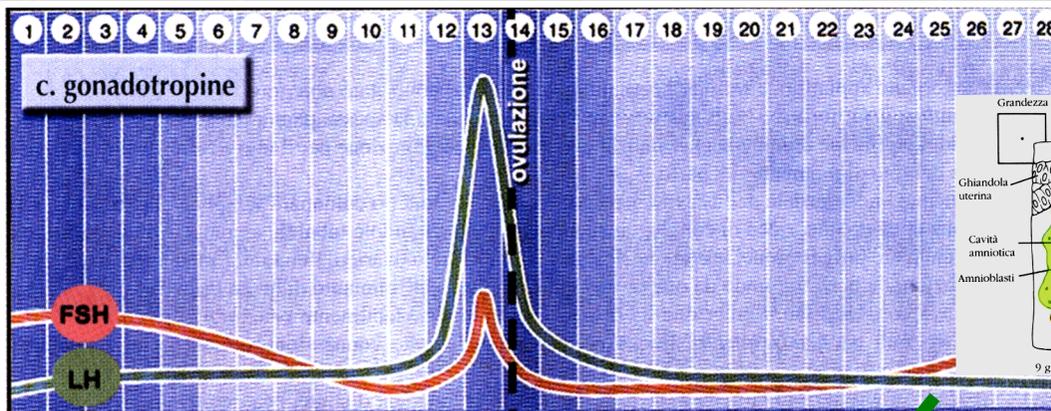
Il Sinciziotrofoblasto produce la Gonadotropina Corionica, che, mantenendo il corpo luteo in vita (e quindi, tramite questo, alti livelli di Progesterone), evita la ripresa dei cicli ovarico e uterino

hCG and early pregnancy

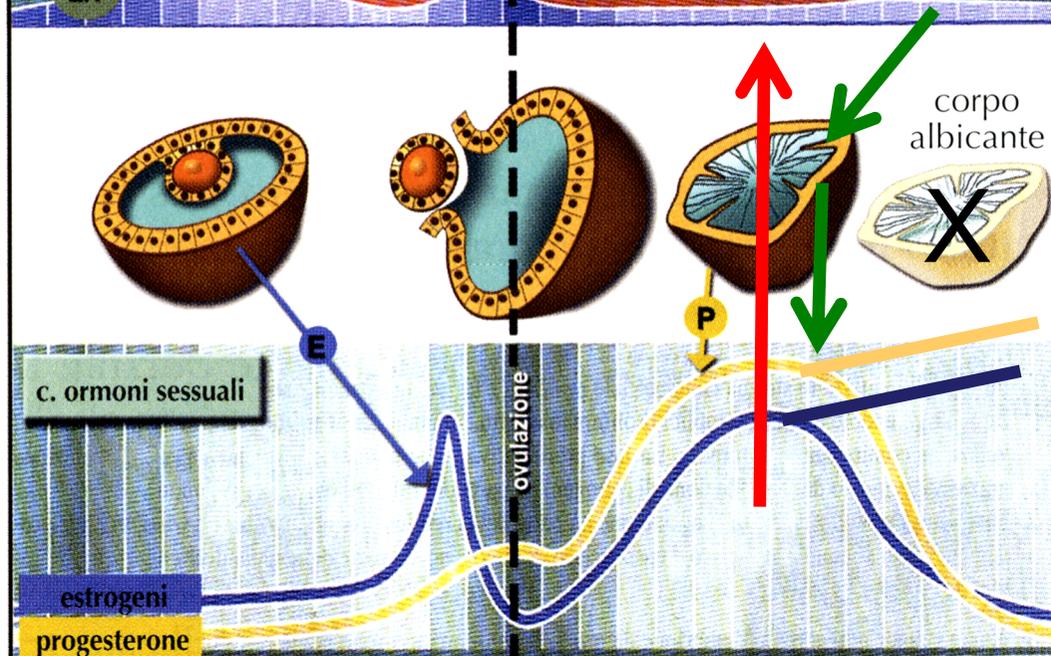




ciclo delle gonadotropine



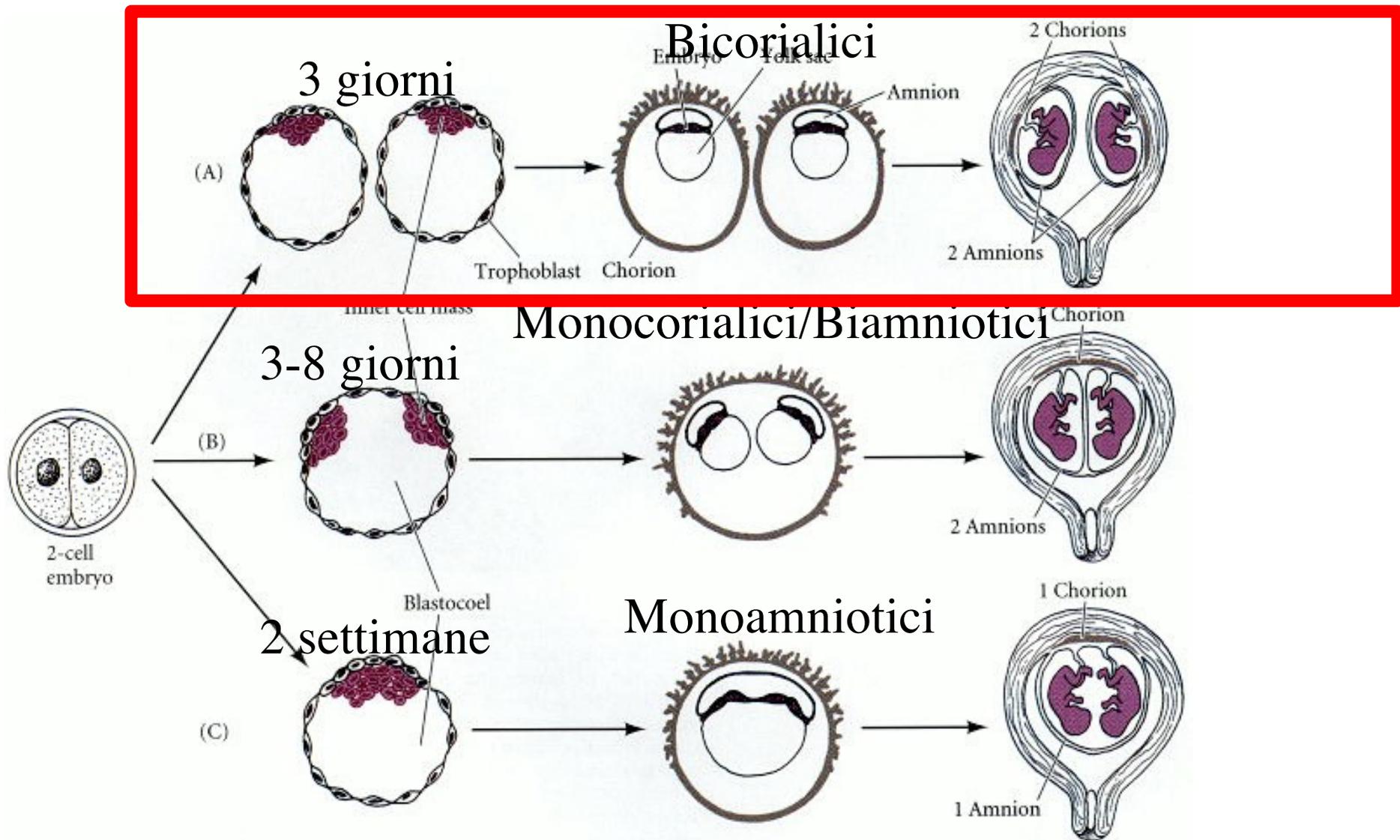
ciclo della zona corticale dell'ovaia



ciclo degli ormoni sessuali

I Gemelli monozigoti bicorialici derivano dalla produzione di 2 blastocisti da una stessa morula

Corion=parte della placenta derivata dal trofoblasto e dalla massa cellulare interna
2 embrioni= 2 trofoblasti e 2 ICM = 2 corion e 2 feti (amnios)



I Gemelli monozigoti monocoriali e biamniotici derivano dalla produzione di 2 ICM da una stessa blastocisti

Corion=parte della placenta derivata dal trofoblasto e dalla massa cellulare interna
1 embrione con 2 ICM= 1 trofoblasto e 2 ICM = 1 corion e 2 feti (amnios)

