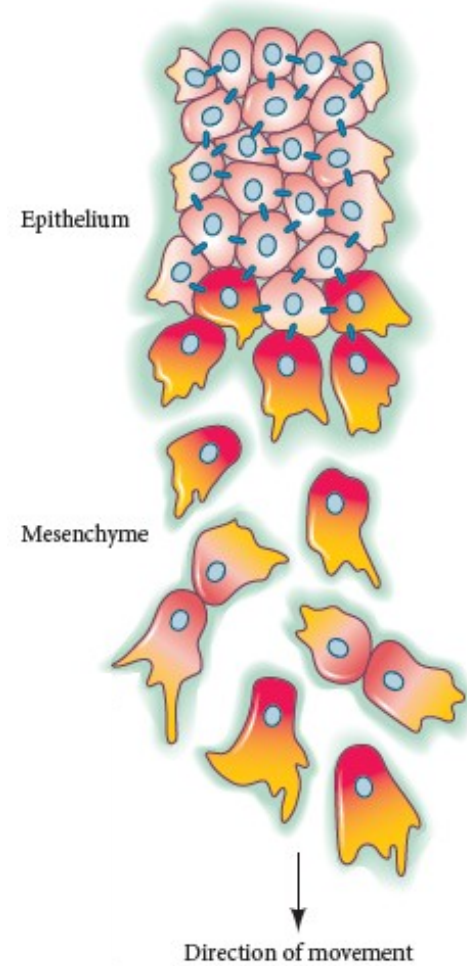


Epitelio-mezenchymální transformace ve vývoji



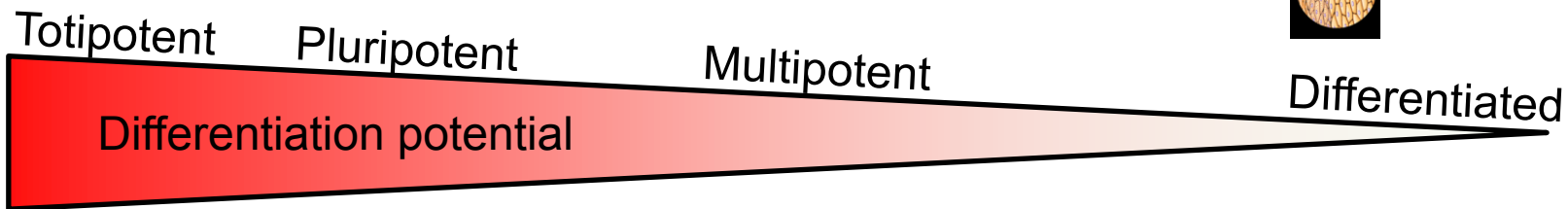
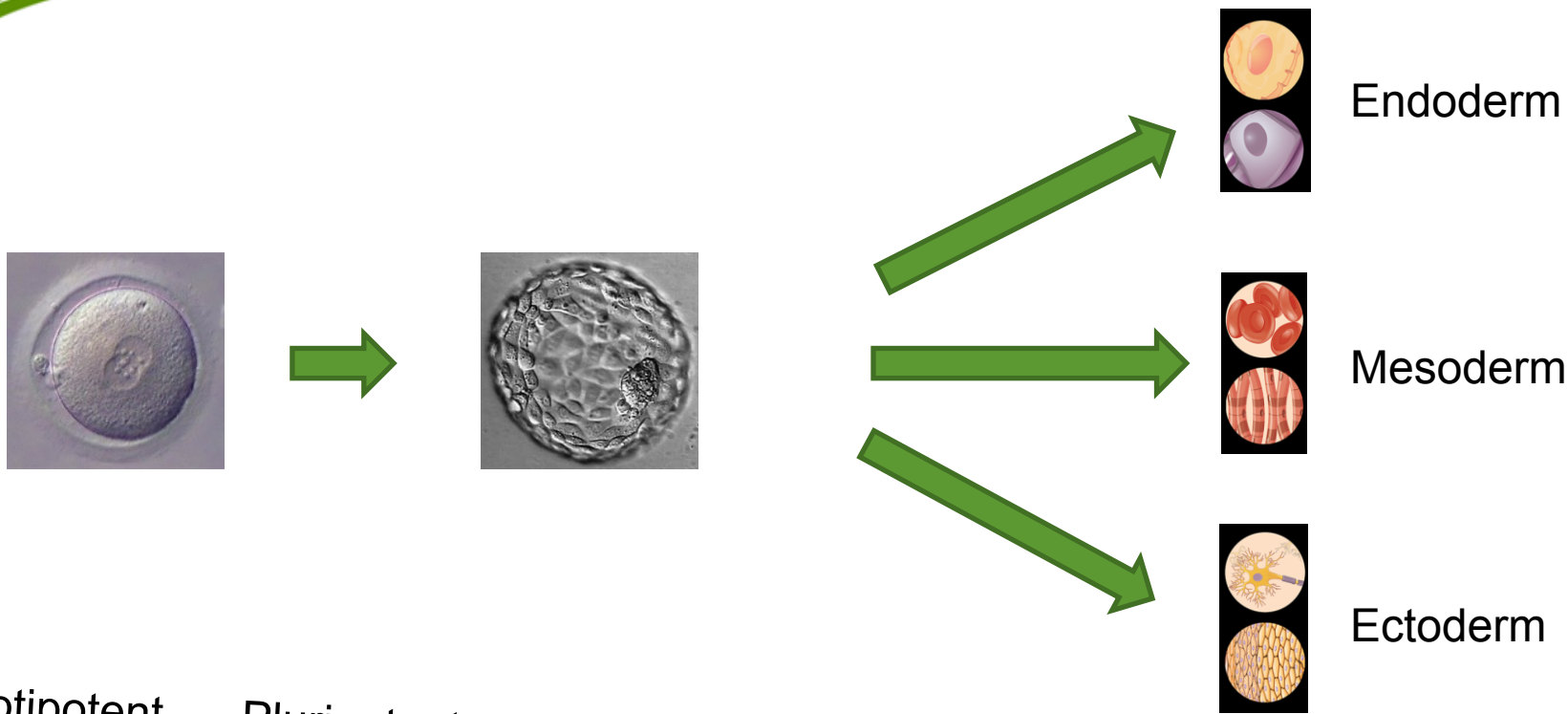
Tomáš Bárta
tbarta@med.muni.cz

Duševní vlastnictví a poskytované studijní materiály

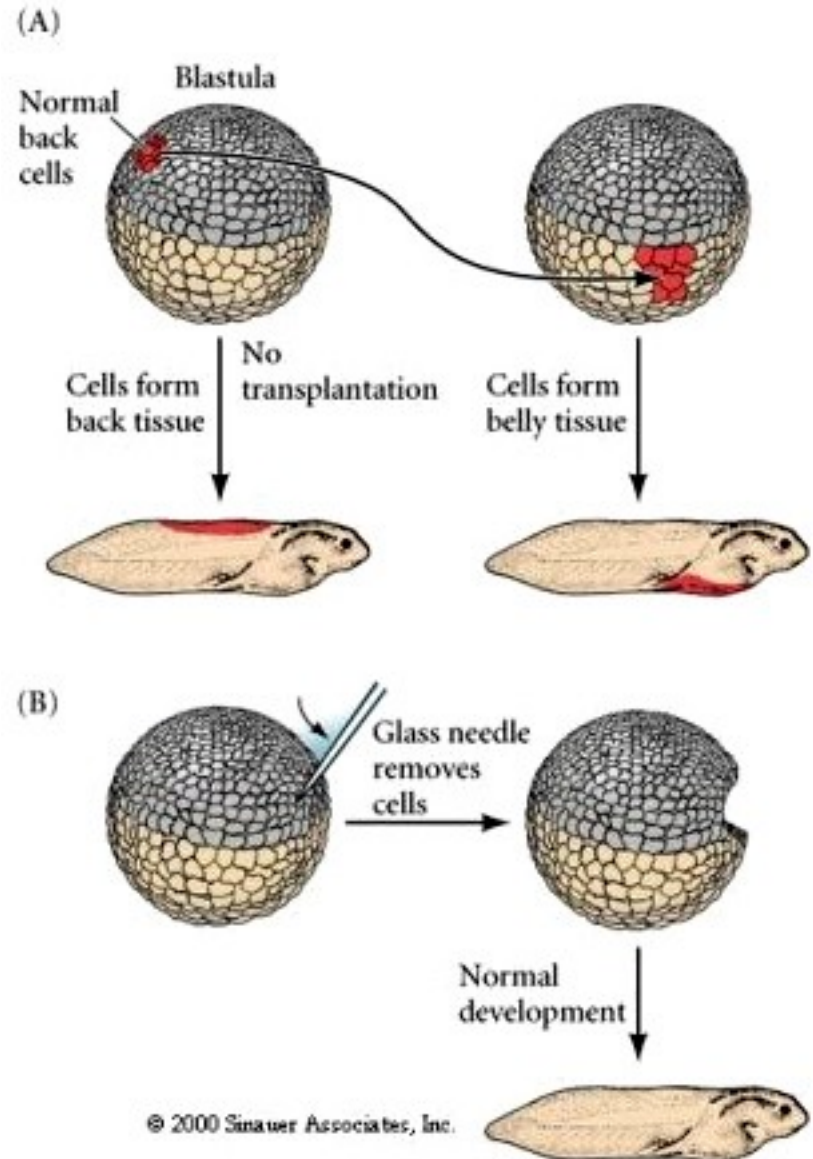
Copyright notice

- Tato prezentace je autorským dílem vytvořeným zaměstnanci Masarykovy univerzity.
 - Studenti kurzu/předmětu mají právo pořídit si kopii prezentace pro potřeby vlastního studia.
 - Jakékoliv další šíření prezentace nebo její části bez svolení Masarykovy univerzity je v rozporu se zákonem.
-
- The presentation is copyrighted work created by employees of Masaryk university.
 - Students are allowed to make copies for learning purposes only
 - Any unauthorised reproduction or distribution of the presentation or individual slides is against the law.

Differentiation potential

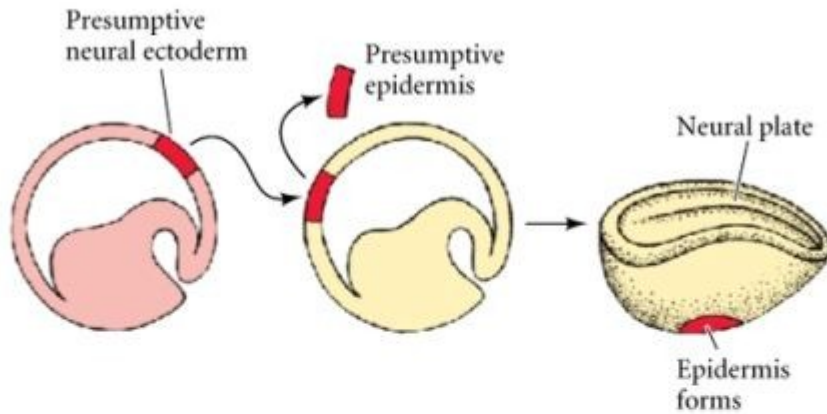


Diferenční potenciál v embryu

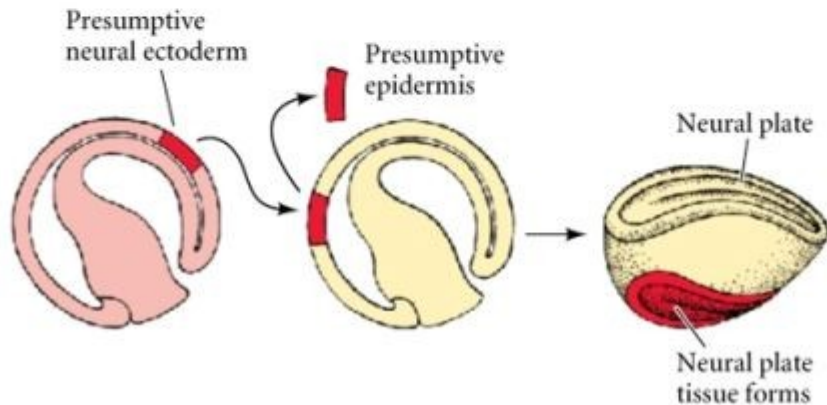


Diferenční potenciál v embryu

(A) EARLY GASTRULA



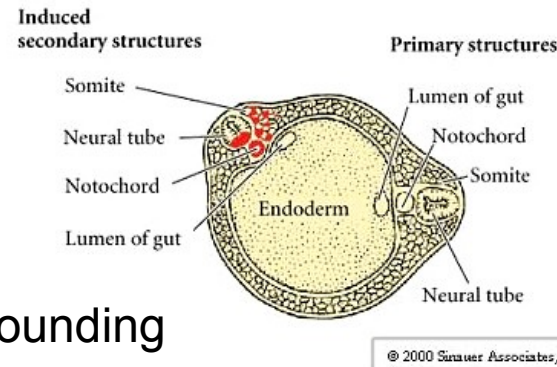
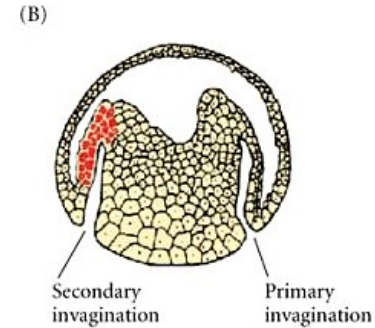
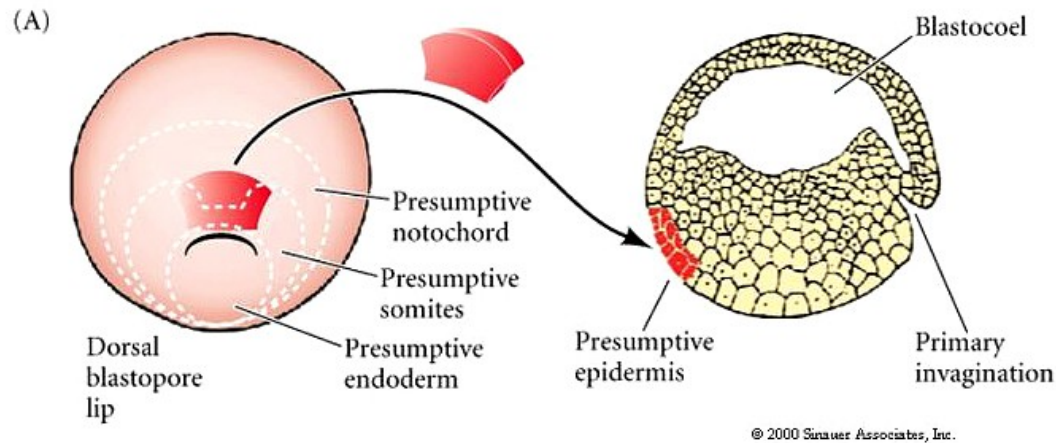
(B) LATE GASTRULA



- Early transplants result in cell fate determined by host position while late transplants result in fate determined by donor position.
- Thus between early and late gastrula cell fate is DETERMINED.

Diferenční potenciál v embryu

BUT!



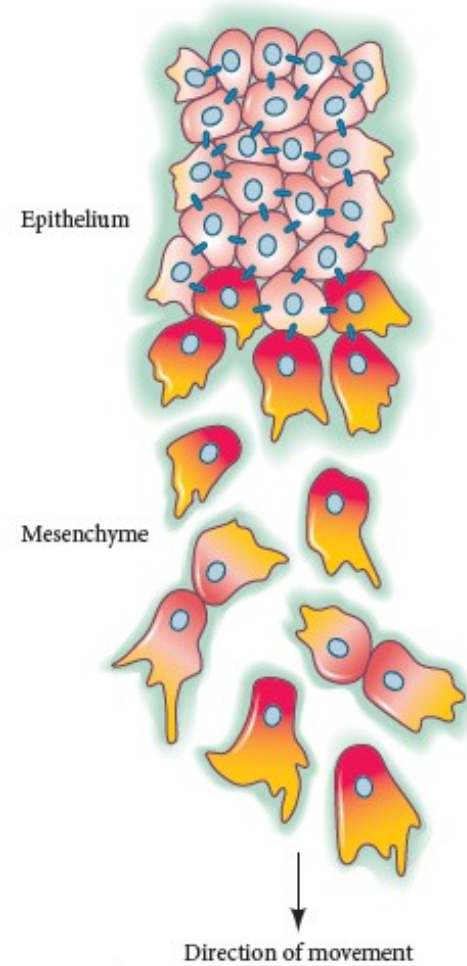
The dorsal lip region of the late blastula/early gastrula has unique properties.

- The transplantation of this tissue induced the surrounding host tissue to form a new embryonic axis.
- The dorsal lip of the blastopore is the only self-differentiating region in the early gastrula because when transplanted it can initiate gastrulation and affect the surrounding host tissue.

Vývojová biologie



Epitelio-mezenchymální transformace ve vývoji

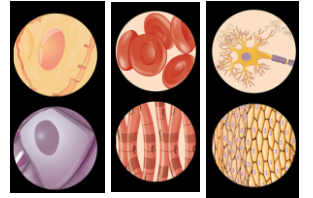


Tomáš Bárta
tbarta@med.muni.cz

Obsah

- Epitelio-mezenchymální a mezenchymálně-epiteliální transformace
- obecně
- Mechanismy
- Epitelio-mezenchymální a mezenchymálně-epiteliální transformace
- ve vývoji
- **BONUS:** Úloha epitelio-mezenchymální transformace v metastázi

Návaznost na předchozí přednášku.



Jsou buňky udržovány v permanentně diferencovaném stavu?

NE!

Původní koncept, že terminálně diferencované buňky jen plní svou funkci a jsou „statické“ už neplatí

Buňky v terminálně diferencovaném epitelu skutečně mohou změnit svůj fenotyp aktivací programu EMT (epitelio-mezenchymální transformace), který umožňuje transdiferenciaci, což vede k převodu epitelialní buňky na mezenchymální deriváty **během vývoje a dospělosti**.

EMT vs MET

Epitelio-mezenchymální transformace

EMT

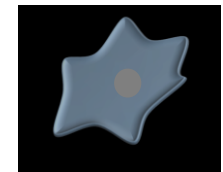
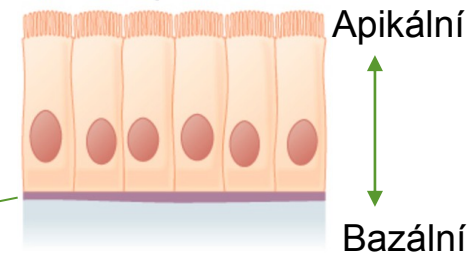
- Série událostí, kdy jsou epiteliální buňky transformovány do mezenchymálních buněk.
- Z polarizované stacionární epiteliální buňky, která svou bazální částí interaguje s bazální laminou, se stane mesenchymální buňka s vysokým migračním potenciálem, která dokáže pronikat do tkání.
- V průběhu embryogeneze proces odpovědný za tvorbu nových orgánů

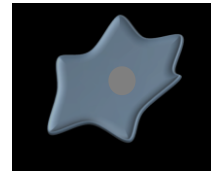
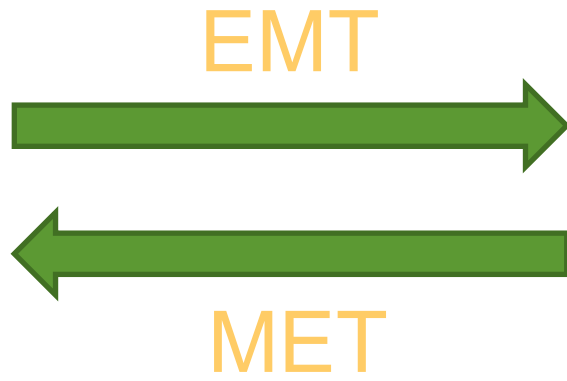
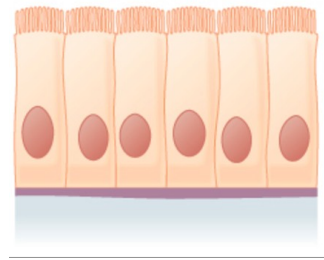
Mezenchymálně-epitheliální transformace

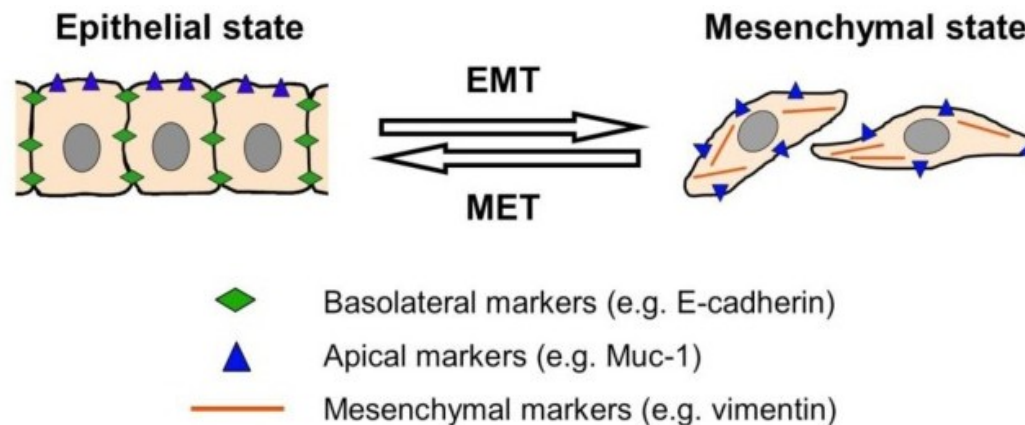
MET

- Série událostí, kdy jsou mesenchymální buňky transformovány do epiteliálních buněk.

Bazální lamina







- Polygonální/sloupovitý tvar buněk
- Apiko-basolaterární polarizace
- Silná interakce buňka-buňka
- Limitován migrační potenciál
- Markery (exprimované geny):
- E-cadherin, Cytokeratiny, Occludin, Claudin

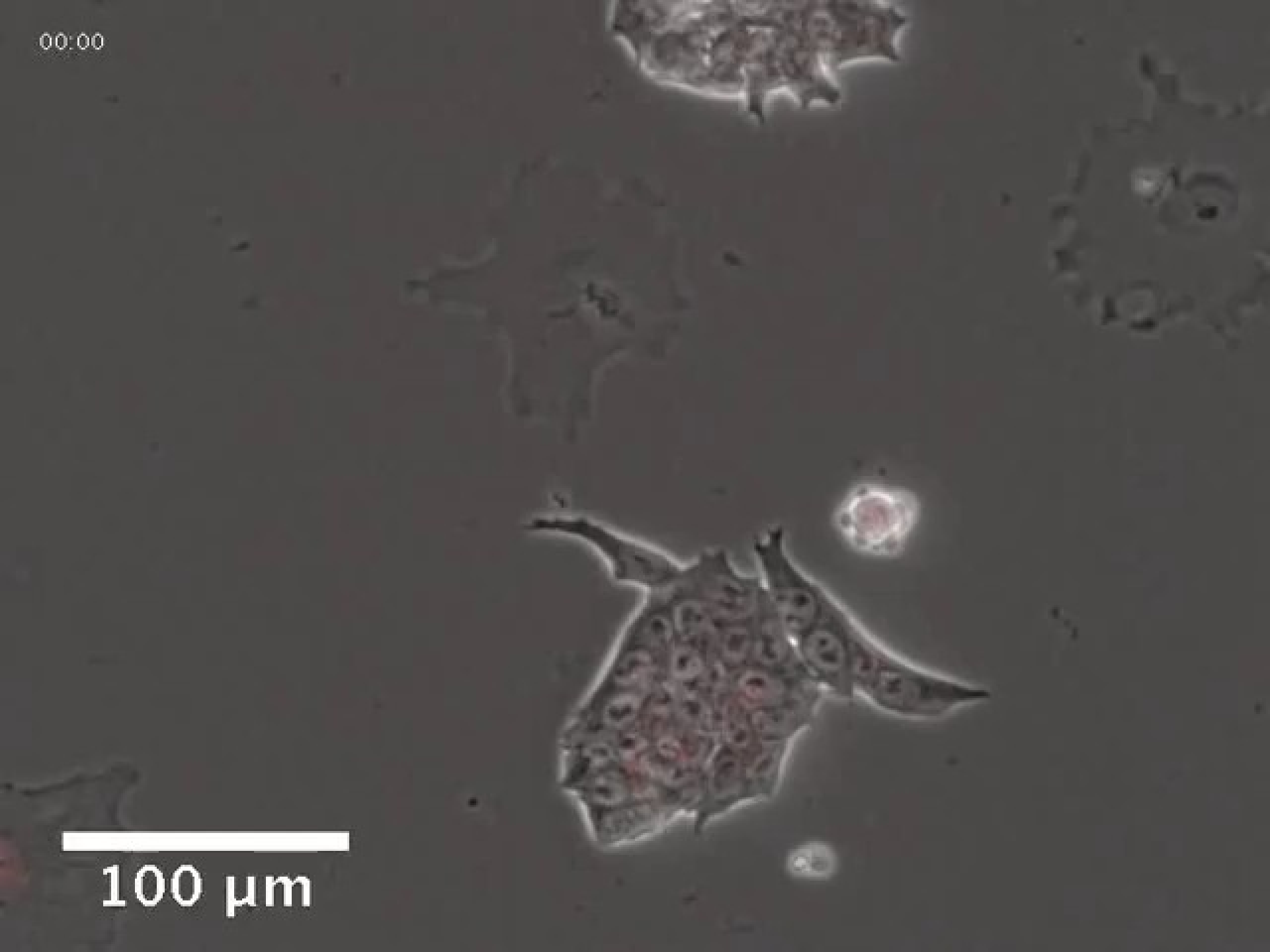
- Vřetenovitý tvar buněk
- Anterior-posterior polarizace
- Fokální interakce buňka-buňka
- Silný migrační potenciál
- Markery (exprimované geny):
- N-cadherin, Vimentin, Fibronectin

Epiteliální buňky typicky vykonávají nějakou tkáňově-specifickou funkci, zatímco mezenchymální buňky hrají spíše podpůrnou úlohu.

EMT

00:00

100 μm



Vývojová biologie

MET

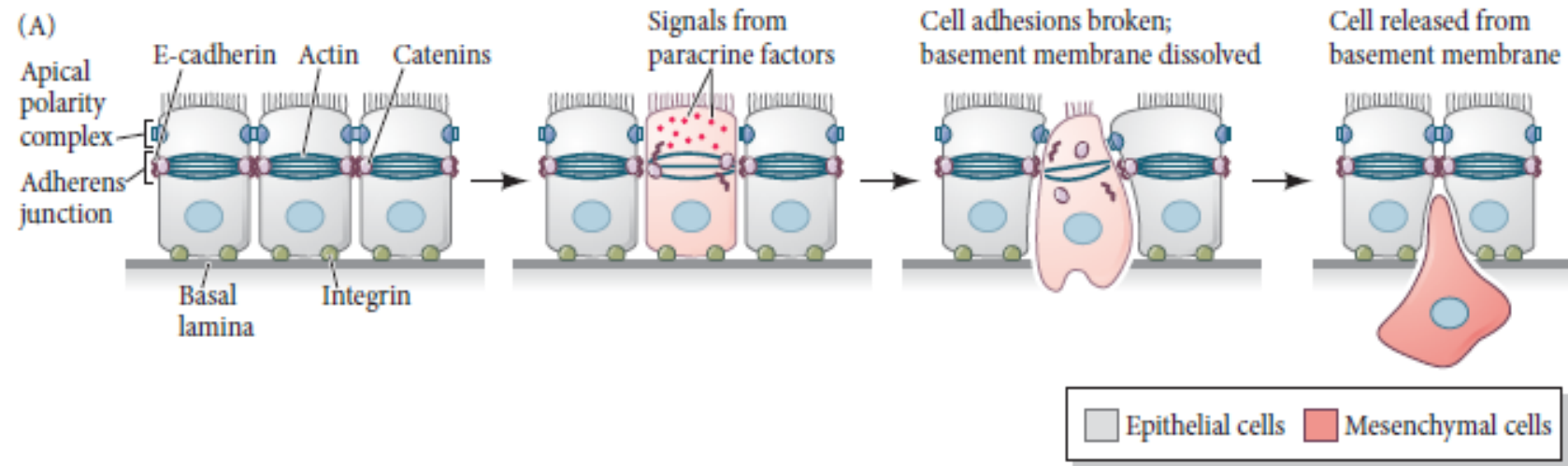


EMT vs MET - závěr

- Umět popsat EMT a MET
- Znát rozdíly mezi EMT a MET

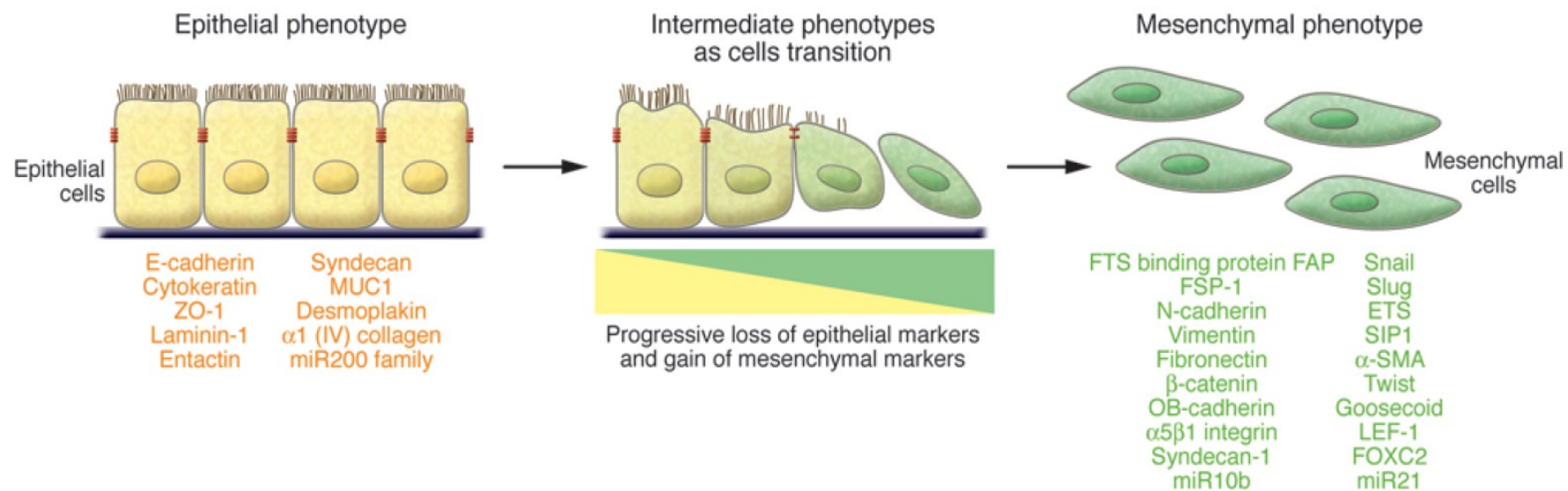
EMT vs MET – otázky?

EMT - mechanismus



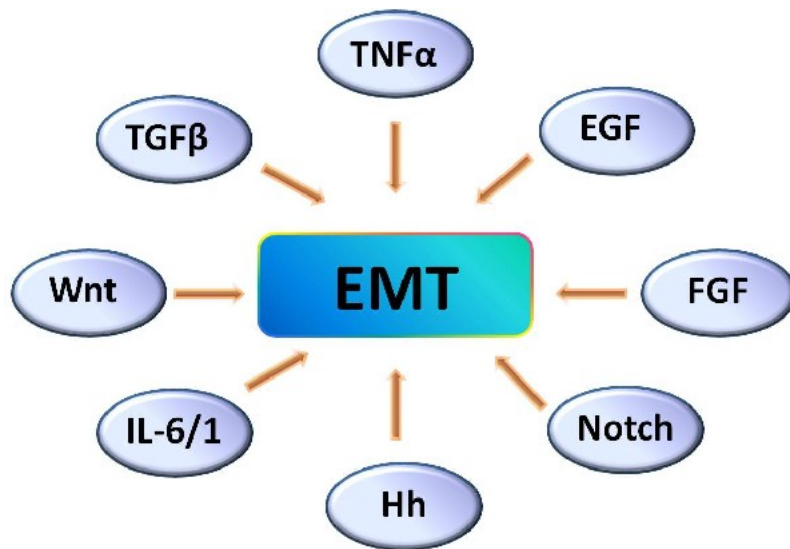
Neexistuje žádný „master regulátor“ EMT ani MET!

EMT - mechanismus

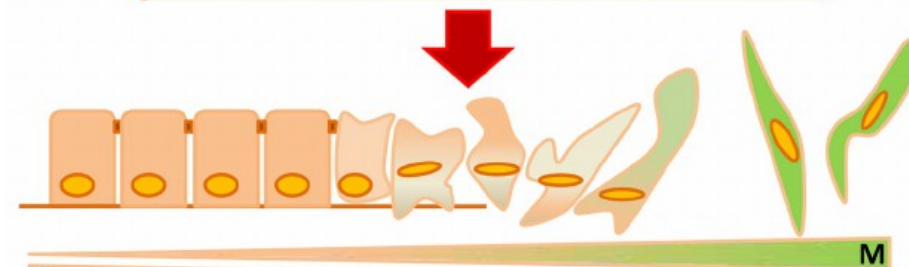
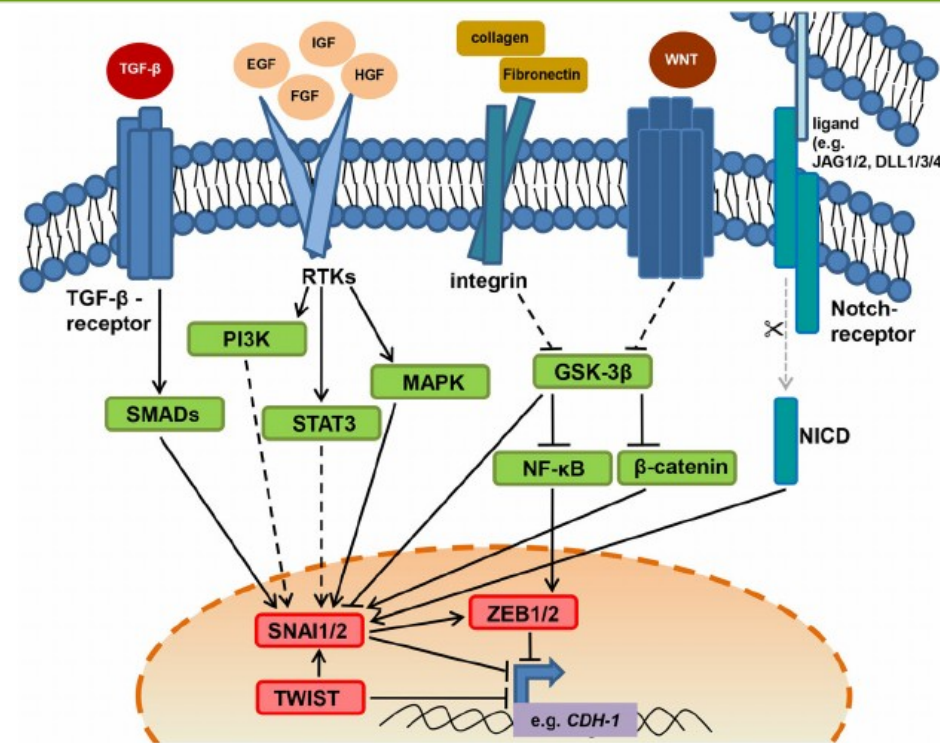


- Snížení exprese Cadherinů
- Reorganizace cytoskeletárního aktinu
- Sekrece enzymů, které narušují a degradují basální laminu (metaloproteinázy)
- Buněčná proliferace

EMT - mechanismus



Pamatujte si 5 hlavních drah

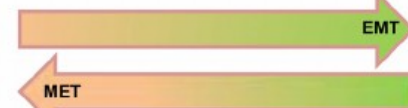


epithelial state

E-cadherin/CDH-1
Occludin
Claudin
Desmoplakin
miR-34/miR-200

mesenchymal state

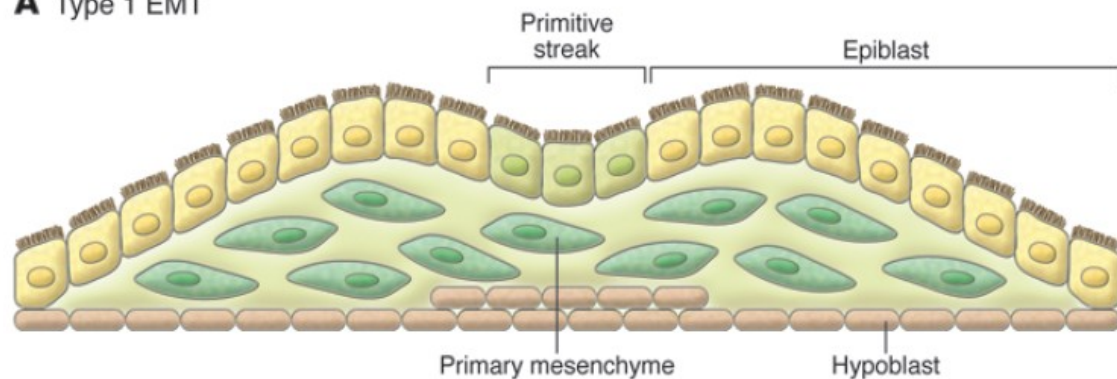
SNAI1/2
ZEB1/2
TWIST
Vimentin
Fibronectin



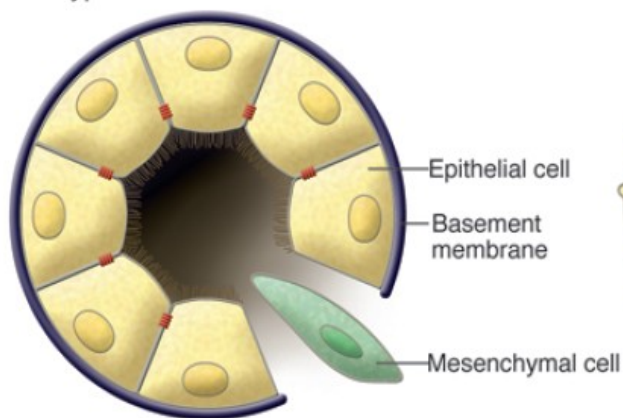
EMT - mechanismus

Kde/kdy se EMT může odehrávat:

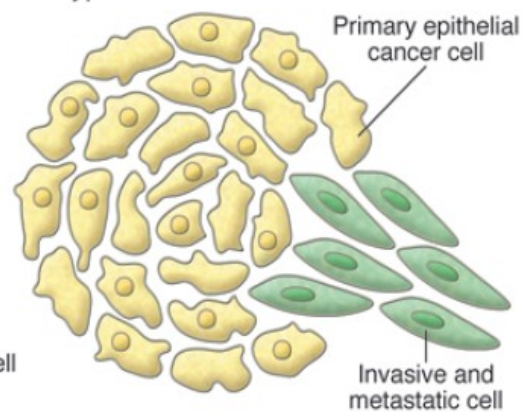
A Type 1 EMT



B Type 2 EMT



C Type 3 EMT



EMT v

- Embryonálním vývoji
- Rakovině (resp. metastázích)
- Zánětu a fibróze

EMT – v embryonálním vývoji

- Během vývoje jsou některé buňky epitelu „plastické“ – jsou schopny přecházet epitel \leftrightarrow mezenchym prostřednictvím procesů EMT a MET
 - **Implantace embrya**
 - **Embryogeneze**
 - **Vývoj orgánů**
 - **Regenerace a homeostáza**

EMT – ve vývoji

Klíčová úloha EMT ve vývoji – bez ní by nebyl vývoj vůbec možný.

Uvedeme si 4 Příklady:

- Implantace embrya
- Gastrulace a tvorba mesodermu
- Formování neurální lišty
- Formování obratlů ze somitů

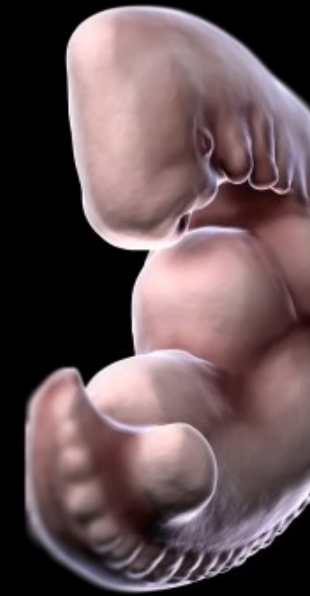
EMT – ve vývoji

Klíčová úloha EMT ve vývoji – bez ní by nebyl vývoj vůbec možný.

Uvedeme si 4 Příklady:

- **Implantace embrya**
- Gastrulace a tvorba mesodermu
- Formování neurální lišty
- Formování obratlů ze somitů

EMT – implantace embrya



Embryology at a Glance

Second Edition

Samuel Webster
Rhiannon de Wreede



WILEY Blackwell

EMT – ve vývoji

Klíčová úloha EMT ve vývoji – bez ní by nebyl vývoj vůbec možný.

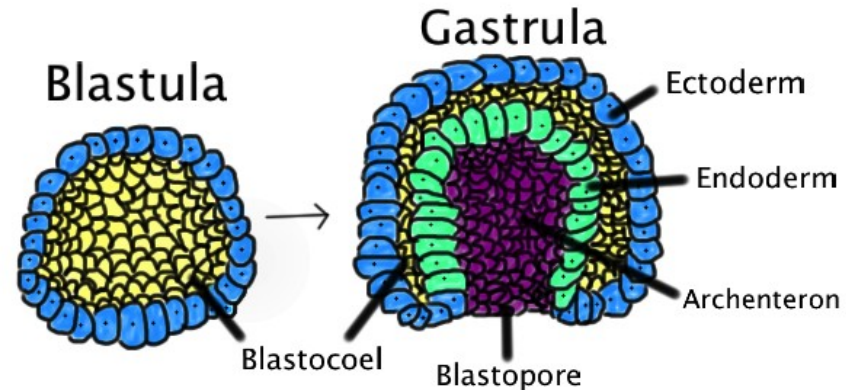
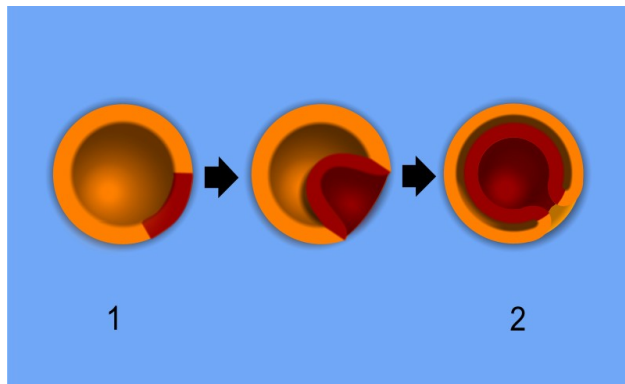
Uvedeme si 4 Příklady:

- Implantace embrya
- **Gastrulace a tvorba mesodermu**
- Formování neurální lišty
- Formování obratlů ze somitů

EMT – ve vývoji gastrulace

Gastrulace:

- Proces kdy dochází k přeměně blastuly (resp. blastocysty) na gastrulu
- Před gastrulací je embryo tvořeno jen jednou vrstvou epiteliálních buněk.
- Vrstvy gastruly se transformují na zárodečné listy ekto-, endo- a mezoderm -> nutná EMT
- U strunatců poté následuje neurulace
- Před gastrulací je embryo závislé jen na maternální mRNA, poté už si dokáže syntetizovat svou vlastní mRNA

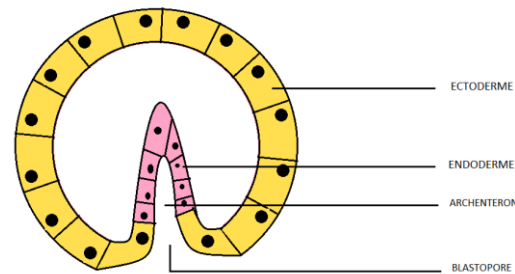


EMT – ve vývoji gastrulace

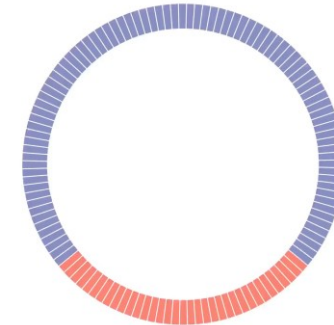
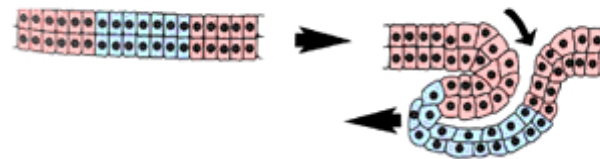
Obecně existuje asi pět základních mechanismů, díky nimž dochází ke gastrulaci:

- **invaginace** – vchlipování určité skupiny buněk, podobně jako se promačkává propíchnutý míč (Tunicata)
- **involute** – zavinutí vnější vrstvy buněk tak, že zcela překryje vnitřní povrch této vrstvy buněk
- **ingrese** – migrace jednotlivých buněk z povrchové do hlubší vrstvy
- **delaminace** – rozdělení jedné vrstvy buněk do dvou víceméně paralelních
- **epibolie** – vnější epiteliální vrstva zvnějšku přeroste a překryje budoucí entoderm

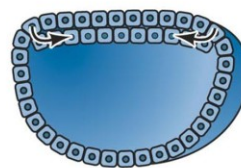
INVAGINATION



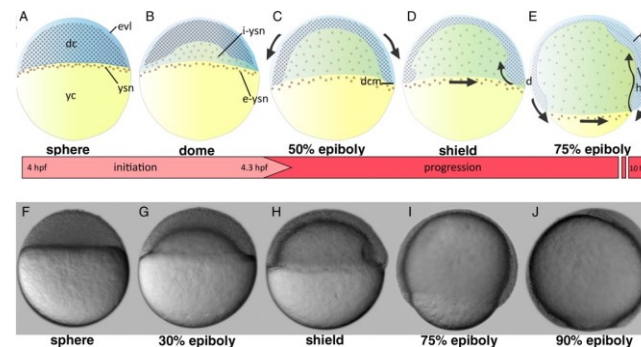
Involution



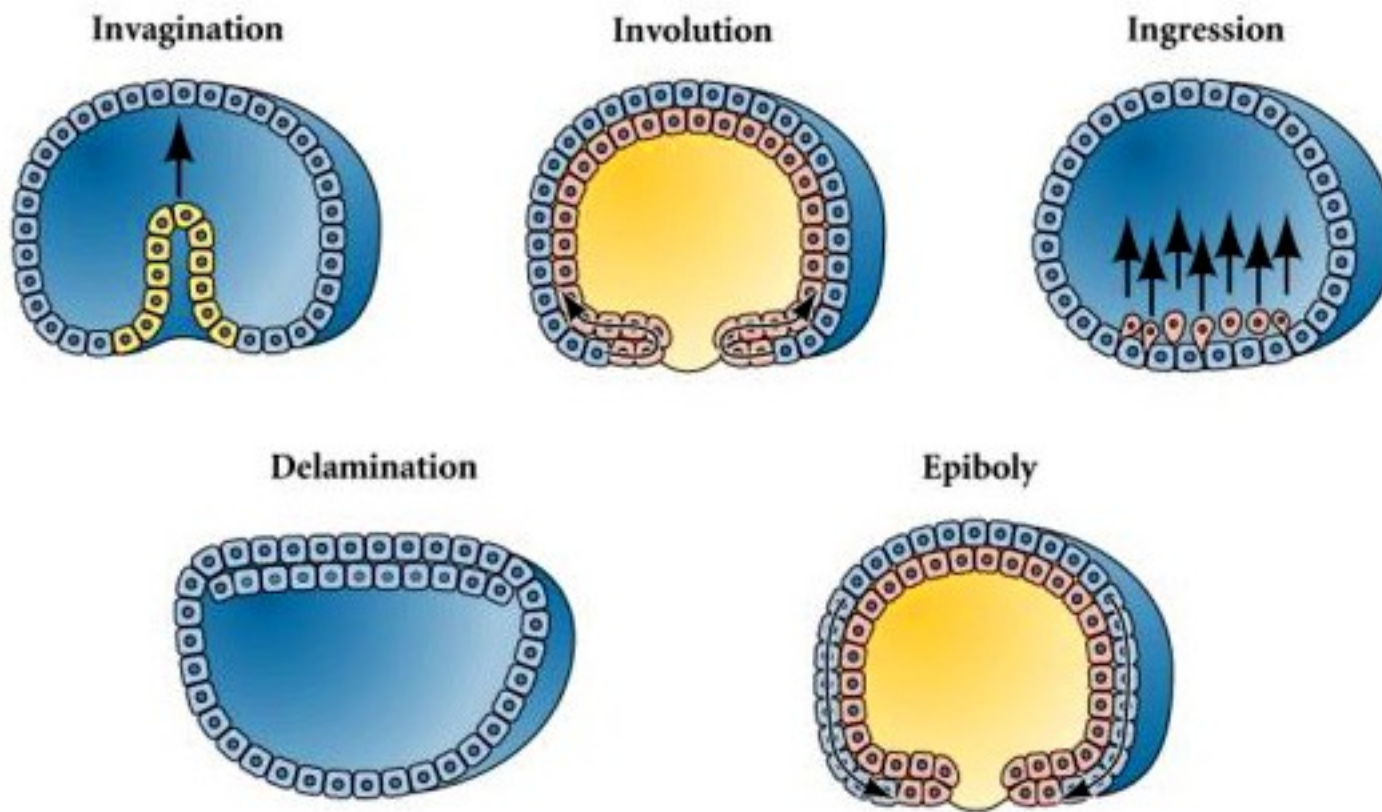
Delamination



Delamination- the splitting of one sheet of cells into two parallel sheets of cells



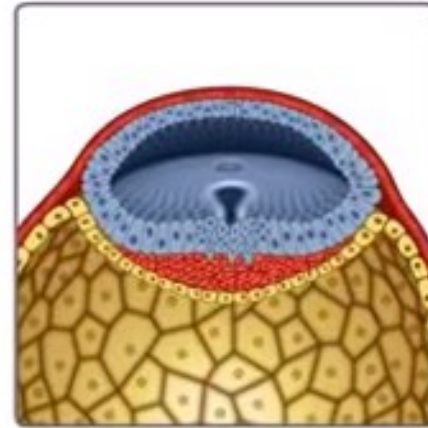
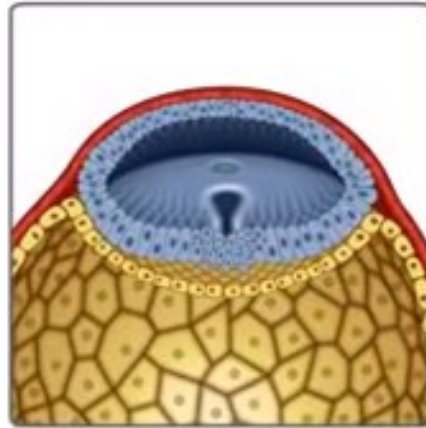
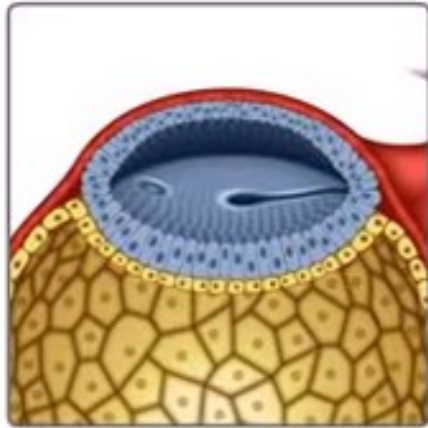
EMT – ve vývoji gastrulace



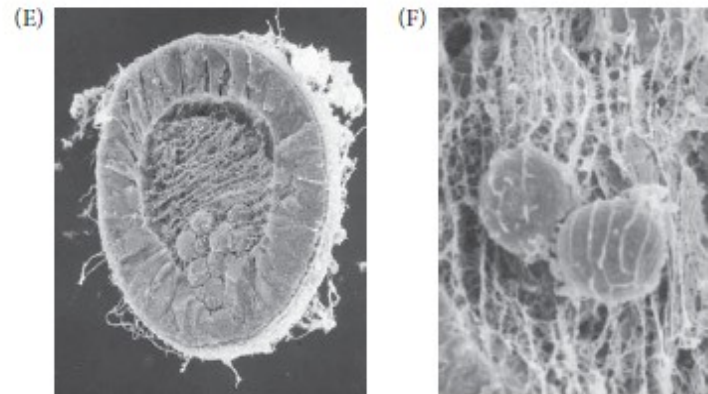
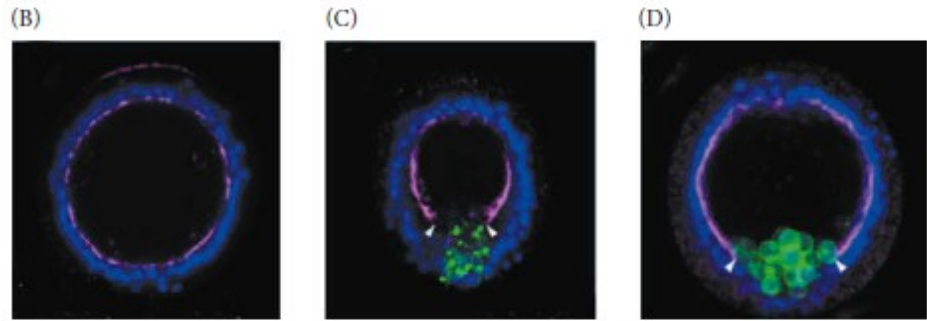
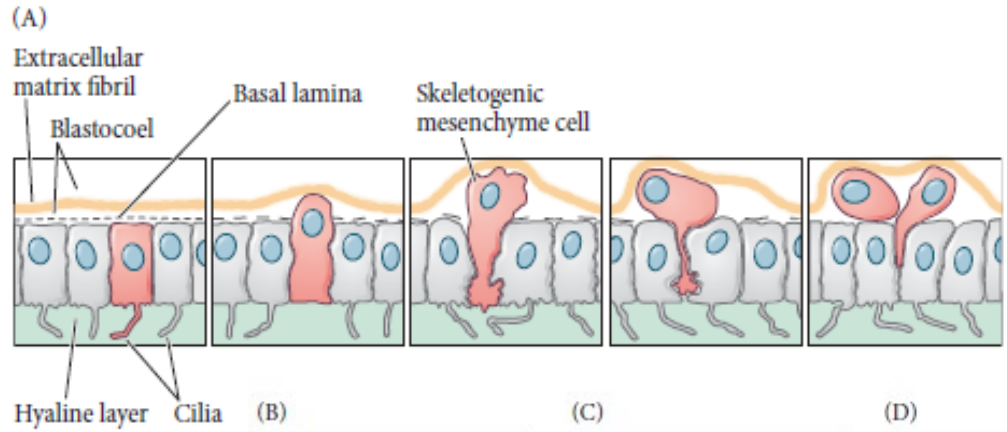
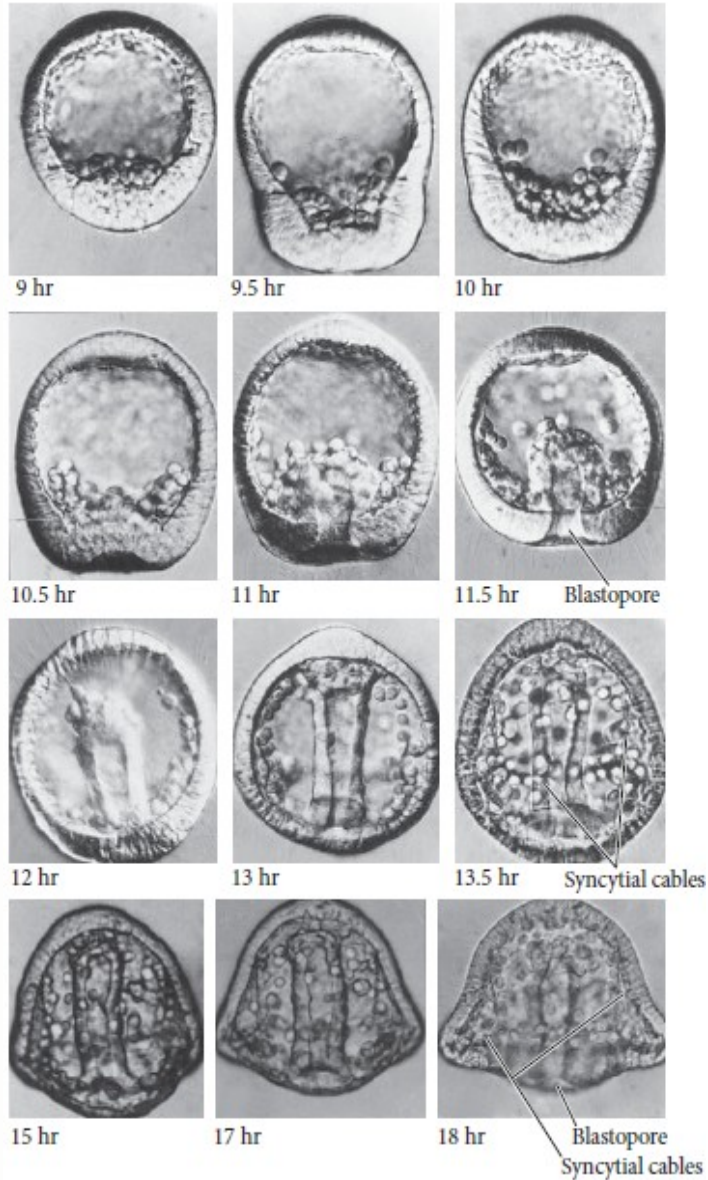
EMT – gastrulace

Gastrulation

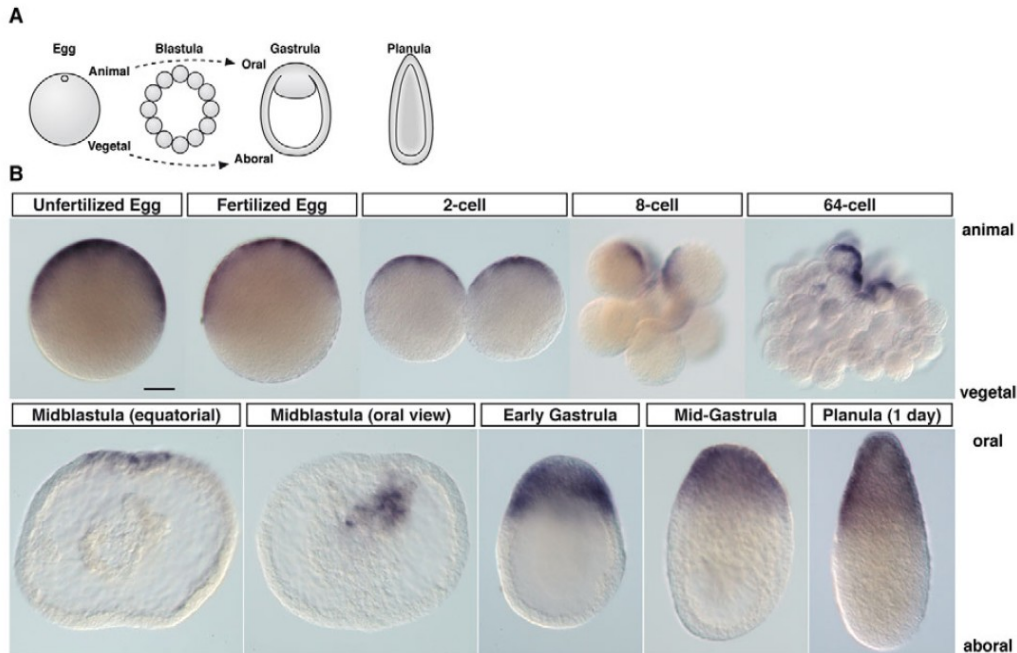
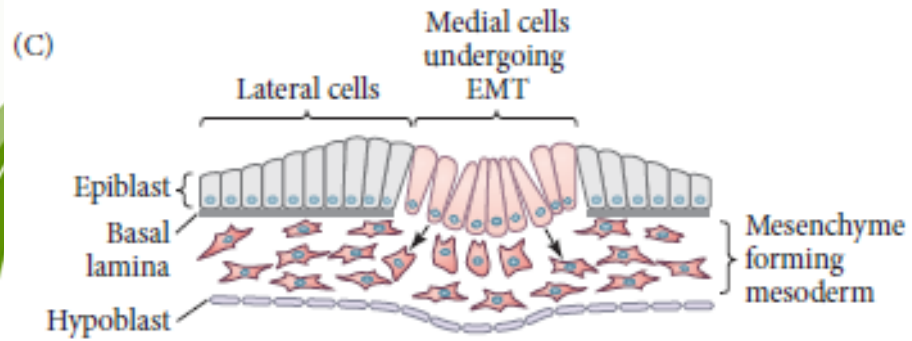
Gastrulation is the process whereby the bilaminar embryonic disc undergoes reorganization to form a trilaminar disc.



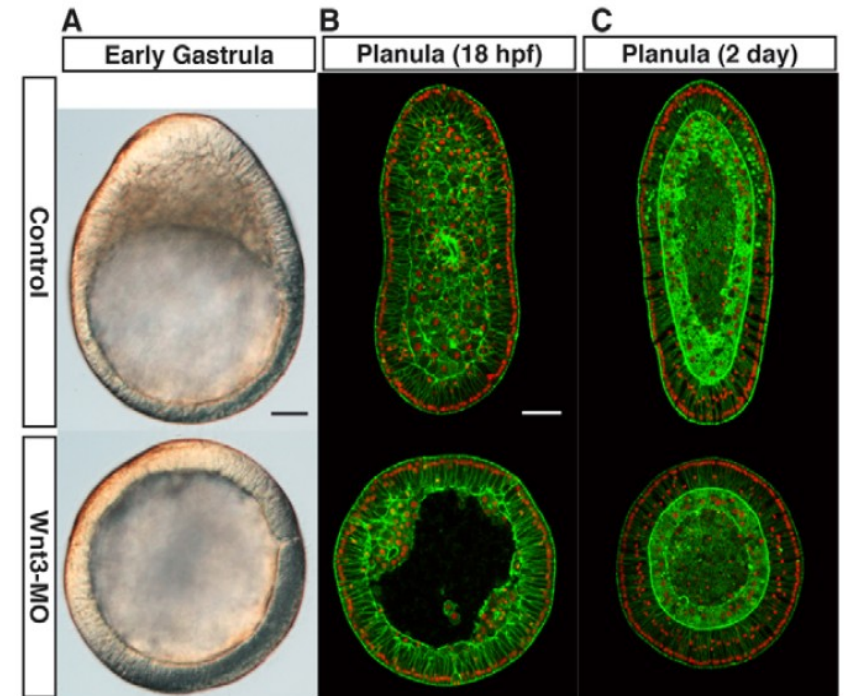
EMT – gastrulace



EMT – gastrulace

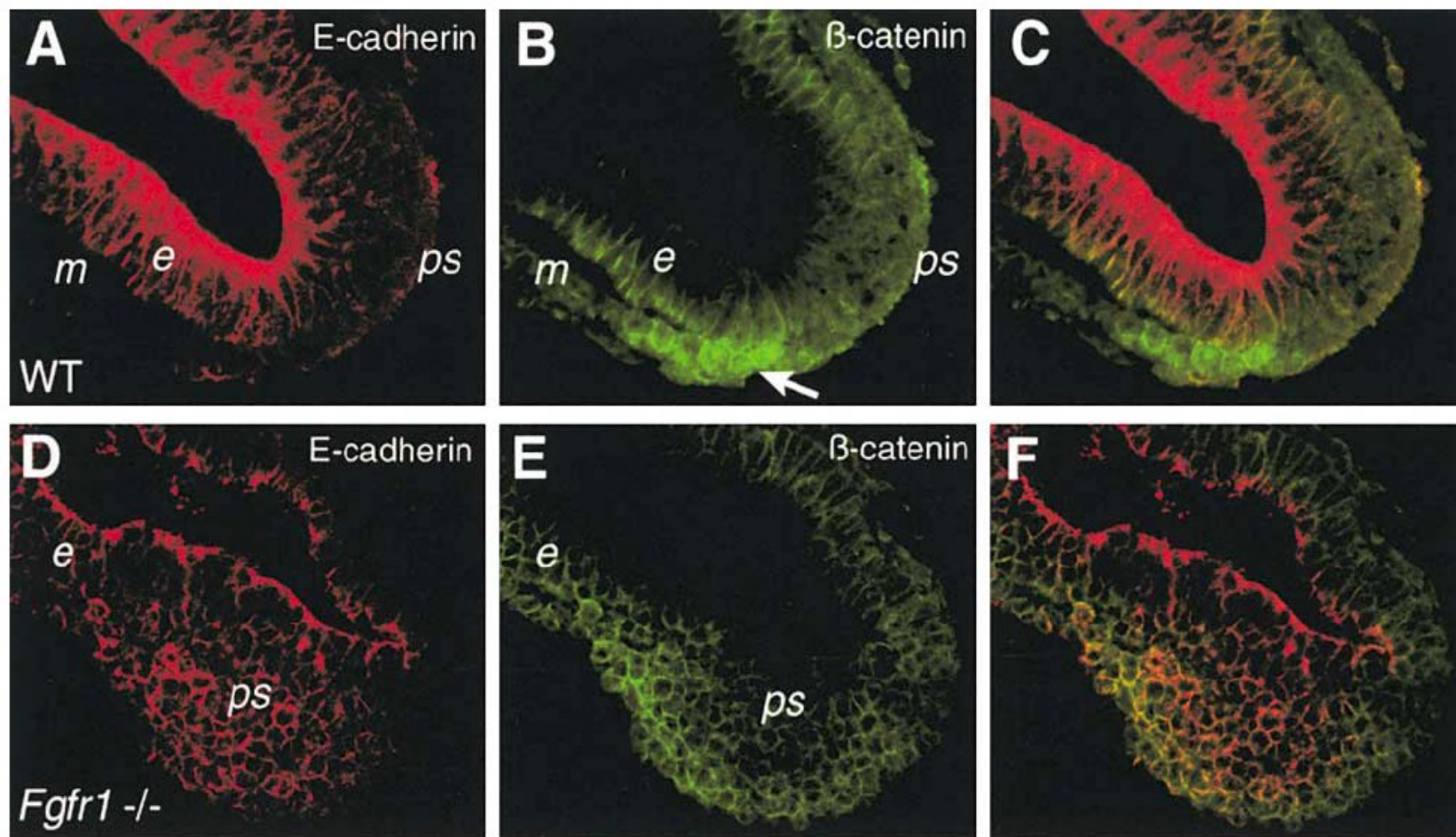


Řízeno kanonickým Wnt – Wnt3, TGF- β (Nodal, Vg1) a FGF



EMT – gastrulace

FGF



Netvoří se mesoderm – selhání EMT (akumulace E-cad⁺ buněk)

Ciruna, 2001

EMT – ve vývoji

Klíčová úloha EMT ve vývoji – bez ní by nebyl vývoj vůbec možný.

Uvedeme si 4 Příklady:

- Implantace embrya
- Gastrulace a tvorba mesodermu
- **Formování neurální lišty**
- Formování obratlů ze somitů

• EMT – Formování neurální lišty

Co je to neurální lišta?

- „Čtvrtá zárodečná vrstva“ - “the only interesting thing about vertebrates is the neural crest” (Thorogood 1989)
- Ektodermální původ
- Transientní – není u dospělého
- Vzniká z neurální trubice prostřednictvím EMT a buňky migrují podél anterior-posteriorní osy a diferencují (změna prostředí A-P osy vede ke tvorbě rozdílných buněčných typů)

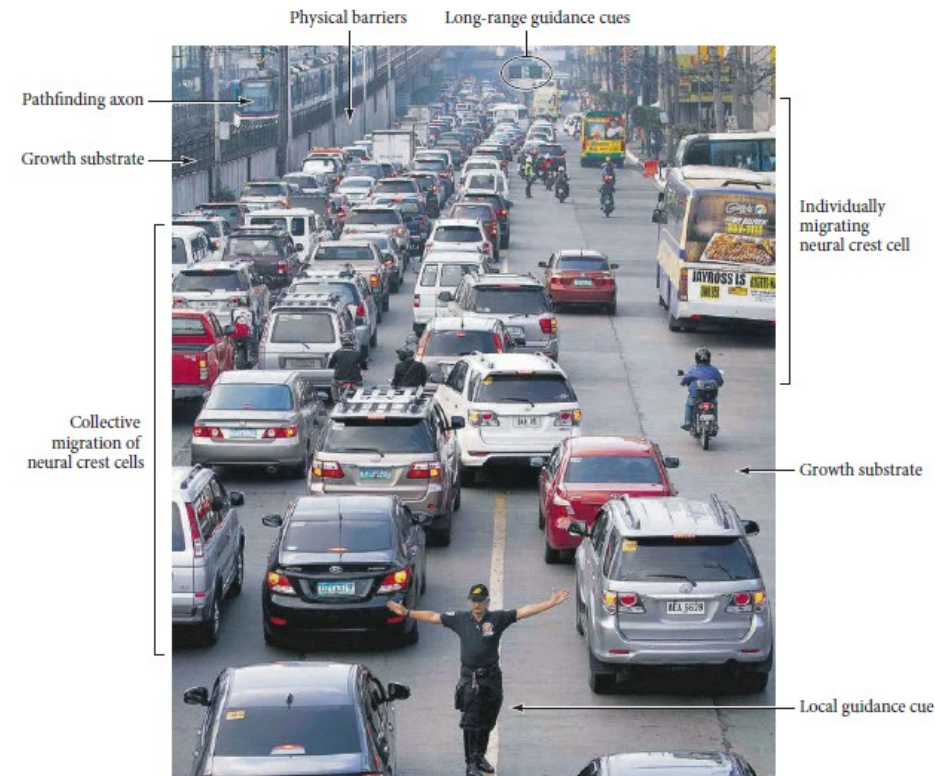
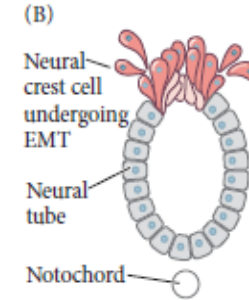
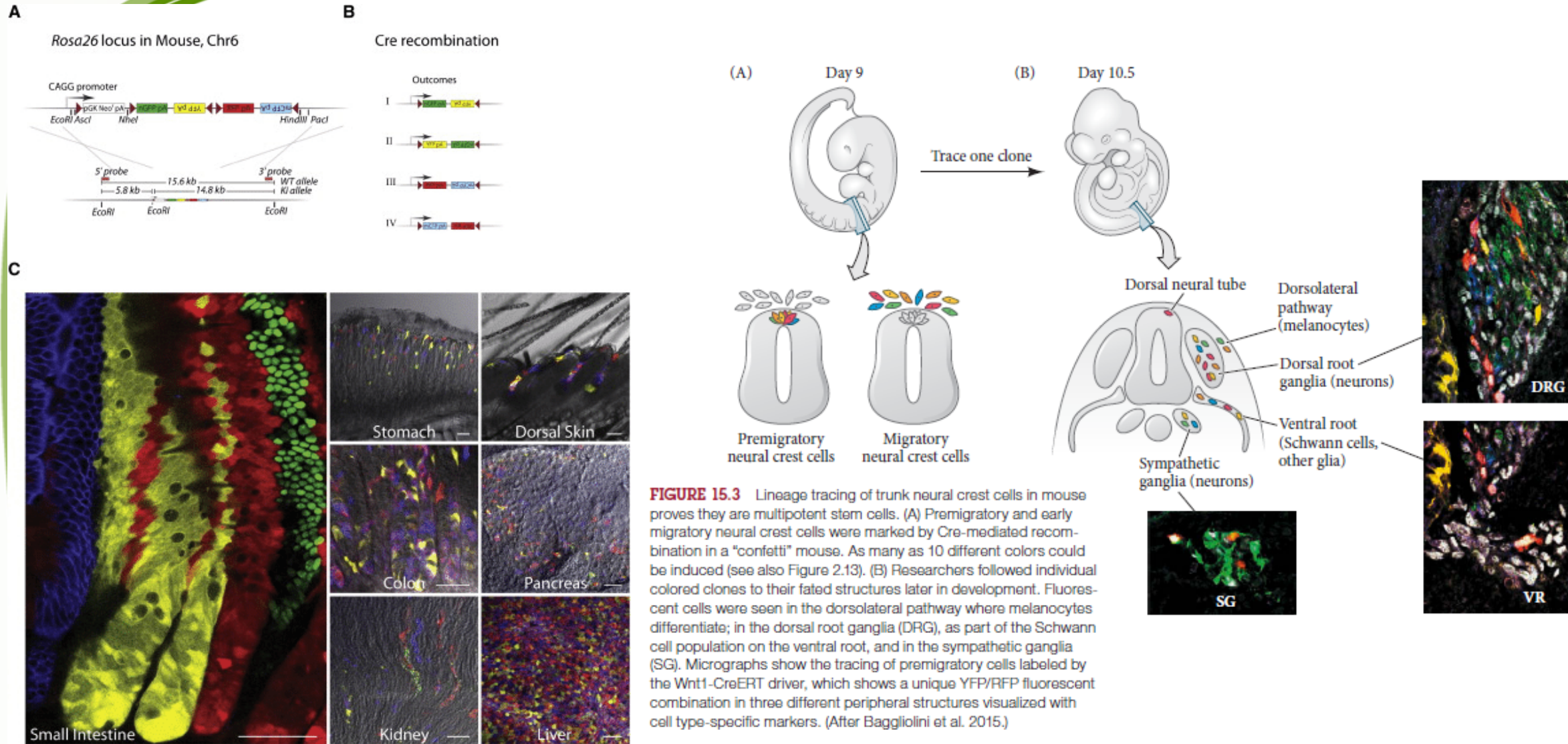


TABLE 15.1 Some derivatives of the neural crest

Derivative	Cell type or structure derived
Peripheral nervous system (PNS)	Neurons, including sensory ganglia, sympathetic and parasympathetic ganglia, and plexuses Neuroglial cells Schwann cells and other glial cells
Endocrine and paraendocrine derivatives	Adrenal medulla Calcitonin-secreting cells Carotid body type I cells
Pigment cells	Epidermal pigment cells
Facial cartilage and bones	Facial and anterior ventral skull cartilage and bones
Connective tissue	Corneal endothelium and stroma Tooth papillae Dermis, smooth muscle, and adipose tissue of skin, head, and neck Connective tissue of salivary, lachrymal, thymus, thyroid, and pituitary glands Connective tissue and smooth muscle in arteries of aortic arch origin

• EMT – Formování neurální lišty



• EMT – Formování neurální lišty

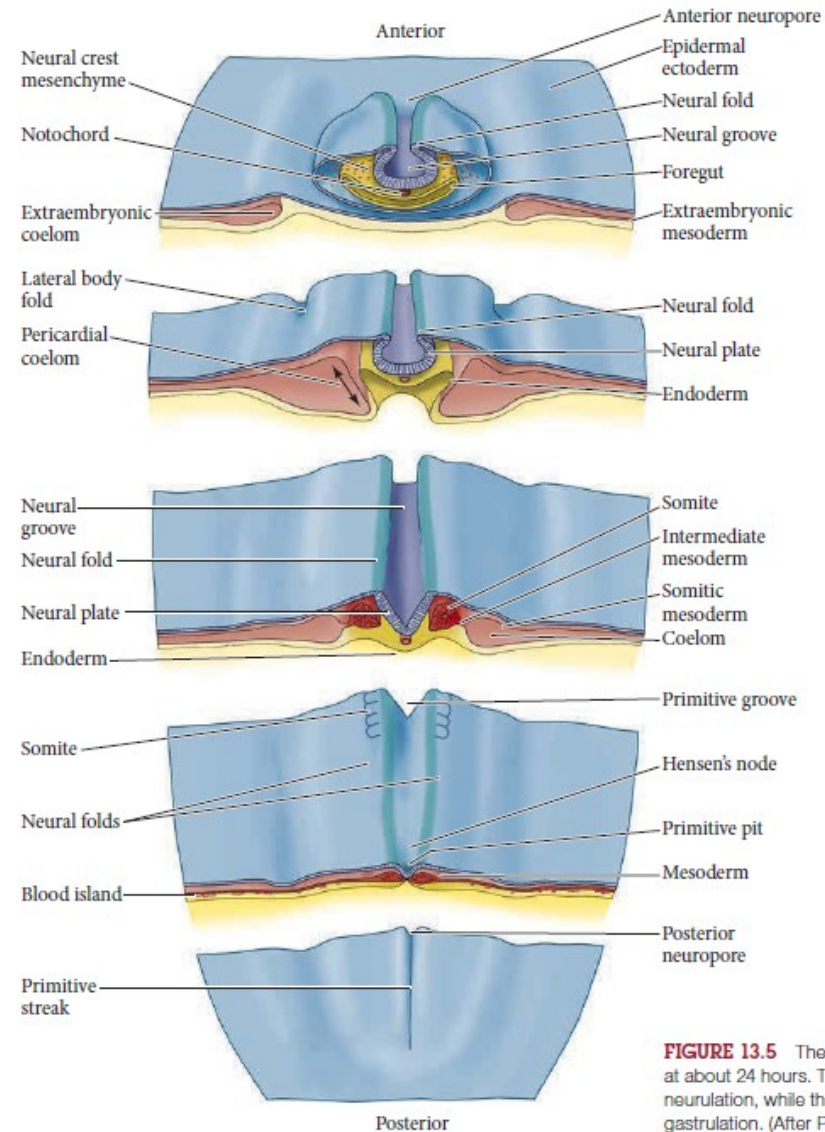
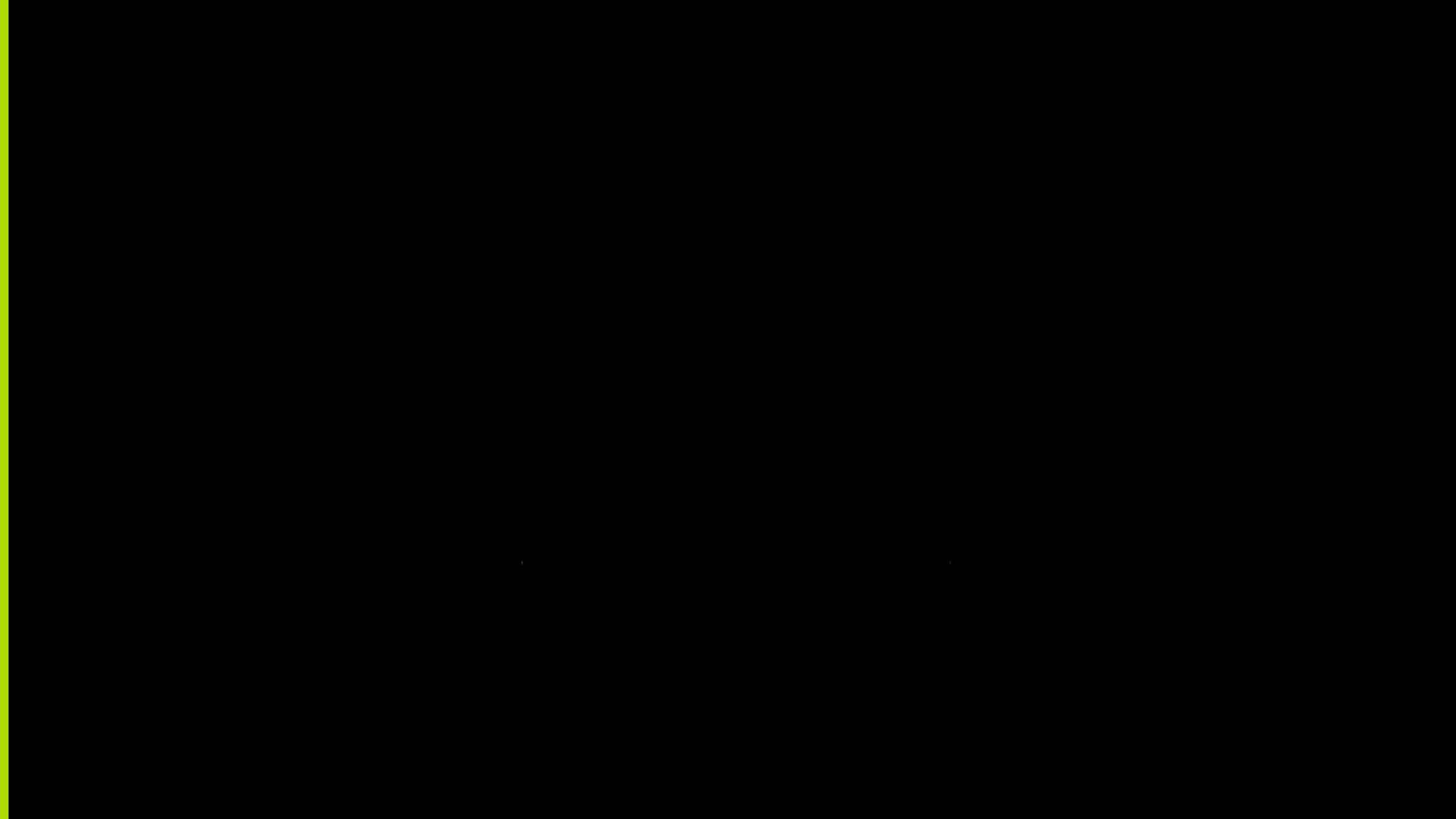
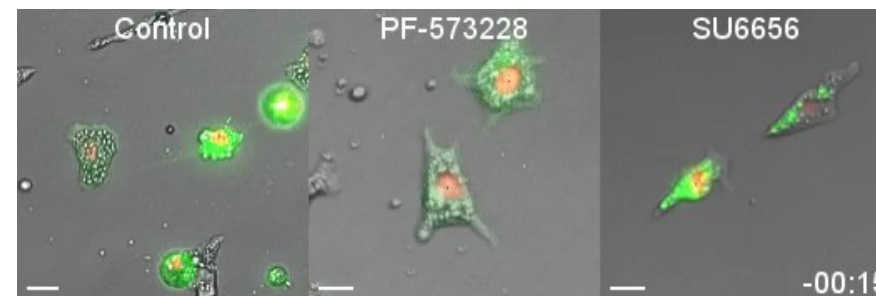
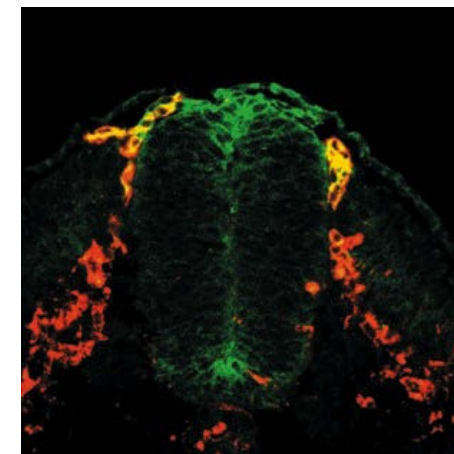
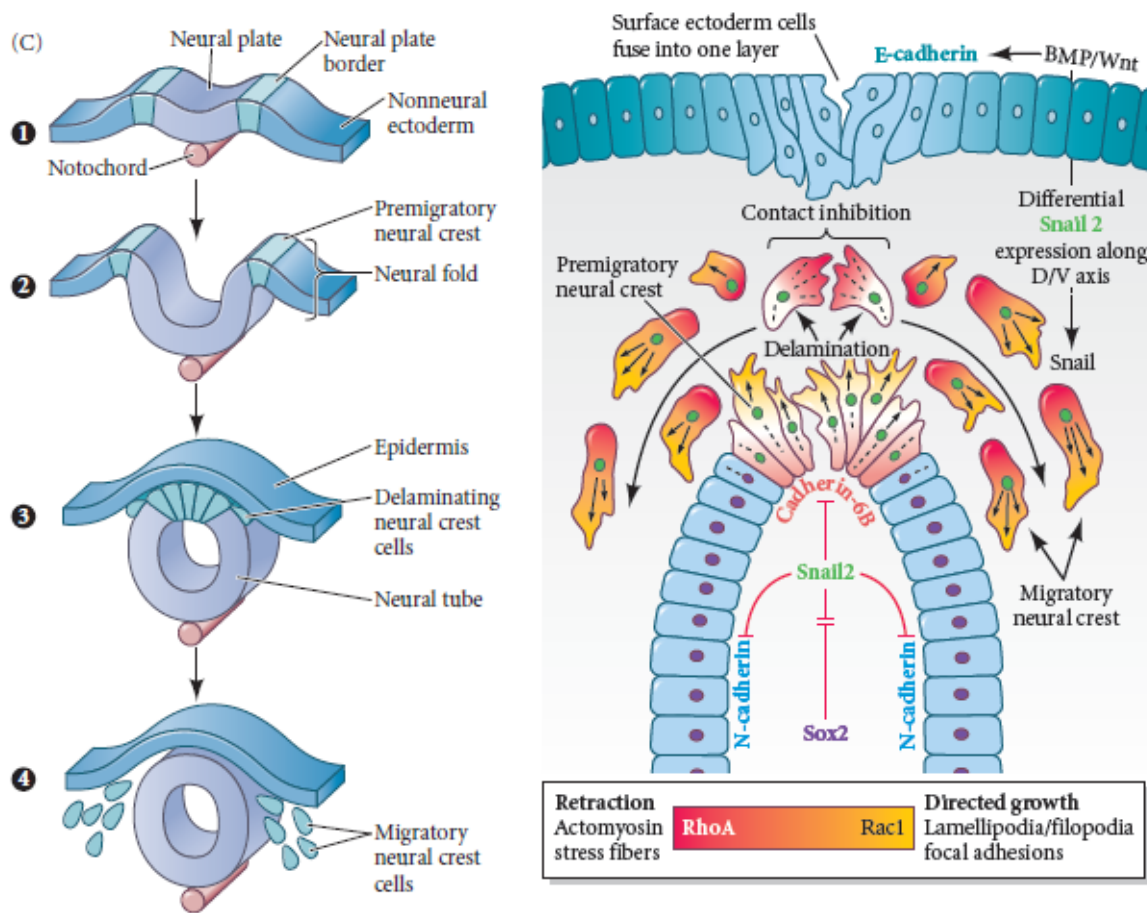


FIGURE 13.5 The neurulating chick embryo (dorsal view) at about 24 hours. The cephalic (head) region has undergone neurulation, while the caudal (tail) region is still undergoing gastrulation. (After Patten 1971.)



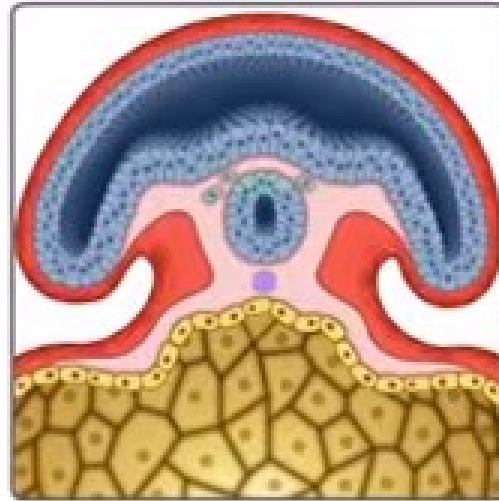
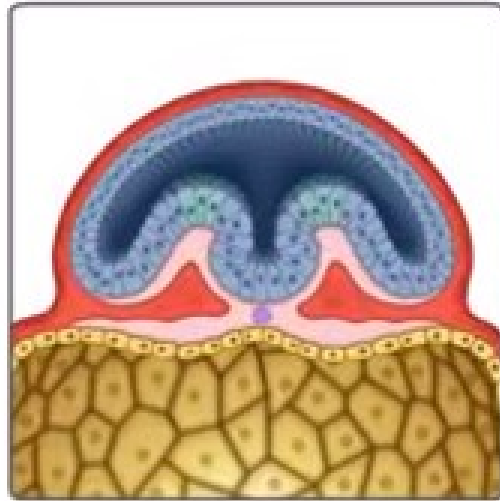
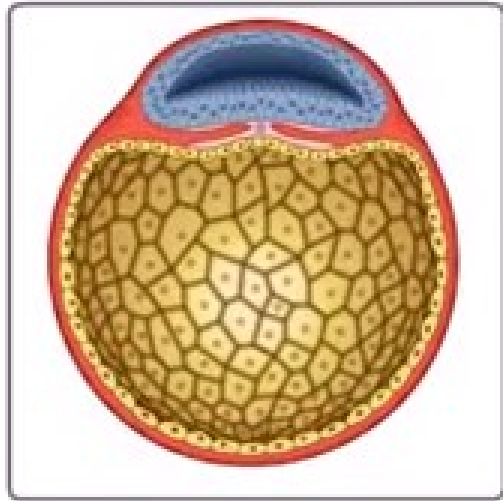
• EMT – Formování neurální lišty

Buňky neurální lišty ztrácejí adhezivní spoje a oddělují se od epitelu – tento proces se nazývá **delaminace**

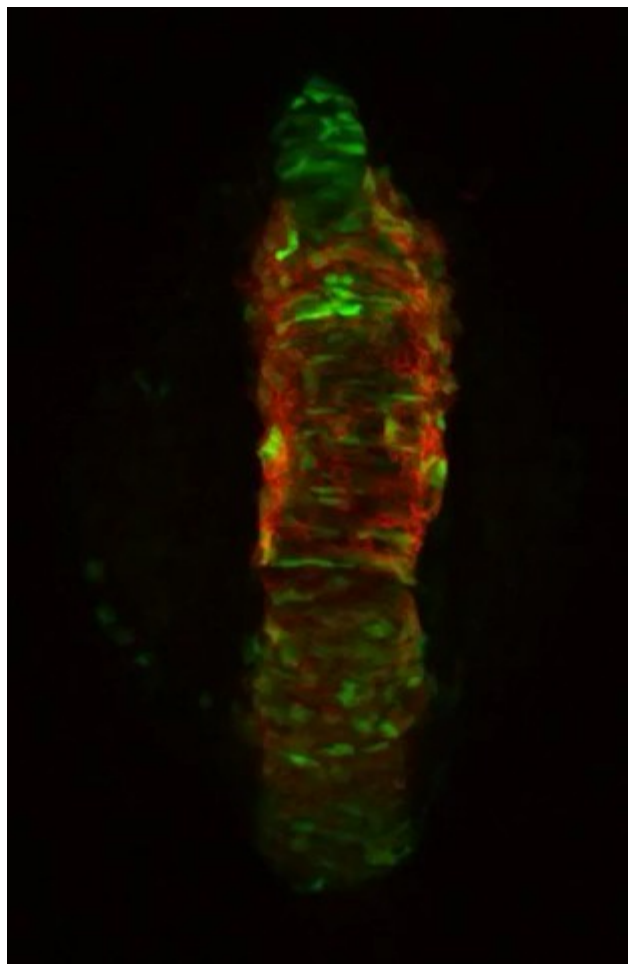


Neurulation

Neurulation marks the beginning of the formation of the central nervous system and is the process whereby the neural plate forms into a neural tube.



- EMT – Formování neurální lišty



- EMT – Formování neurální lišty



EMT – ve vývoji

Klíčová úloha EMT ve vývoji – bez ní by nebyl vývoj vůbec možný.

Uvedeme si 4 Příklady:

- Implantace embrya
- Gastrulace a tvorba mesodermu
- Formování neurální lišty
- **Formování obratlů ze somitů**

EMT – formování obratlů ze somitů

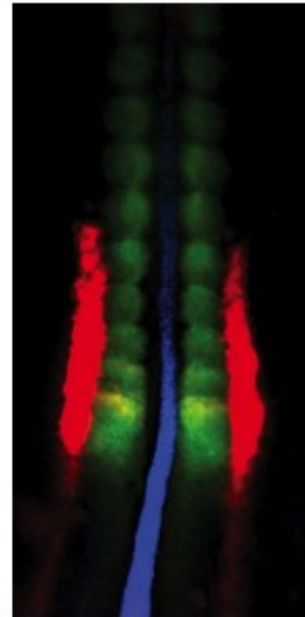
Somity a segmentace těla

„How can a tissue be developmentally cut up into precisely sized segments?
How can snakes have some 300 segments while humans have only about 35?“
– Gilbert and Barresi

Somity jsou epiteliální bloky (klastry) buněk, které jsou umístěny v blízkosti neurální trubice.

- Článkování těla - obratle

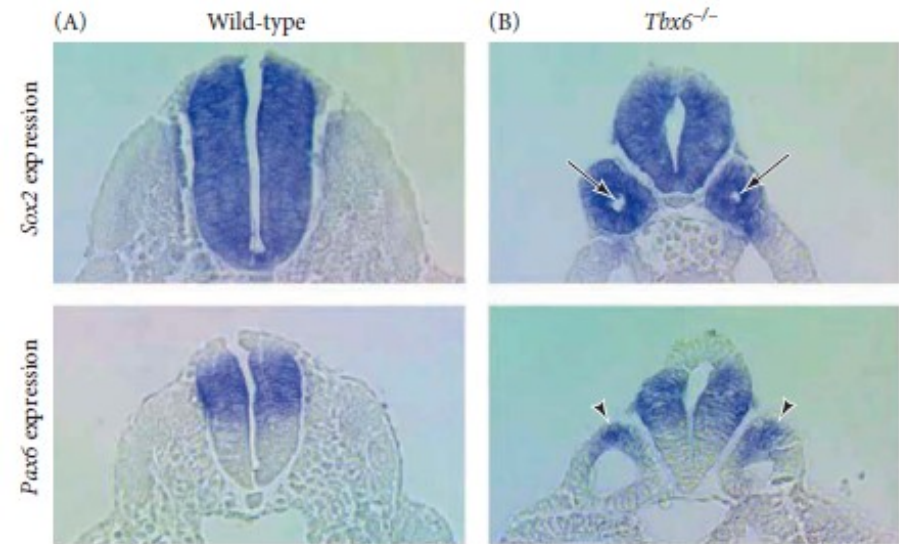
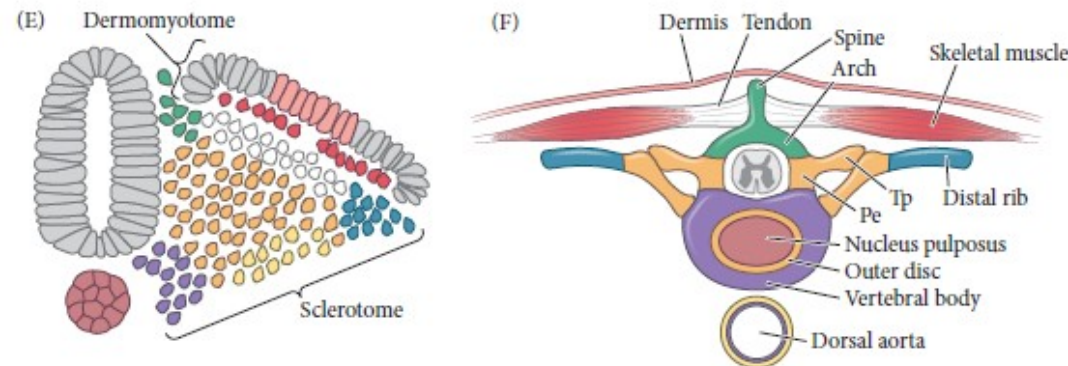
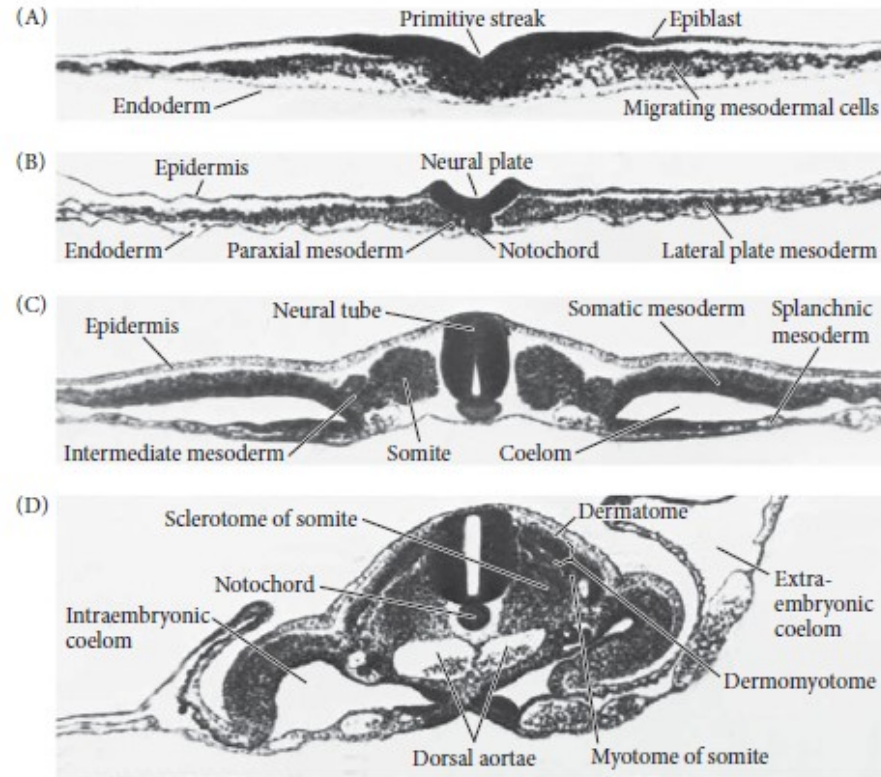
(A)



(B)



EMT – formování obratlů ze somitů



MET – ve vývoji – vznik somitů

- Architekturu somitů tvoří epiteliální bloky, ale pre-somitický mezoderm je tvořen mezenchymálními buňkami

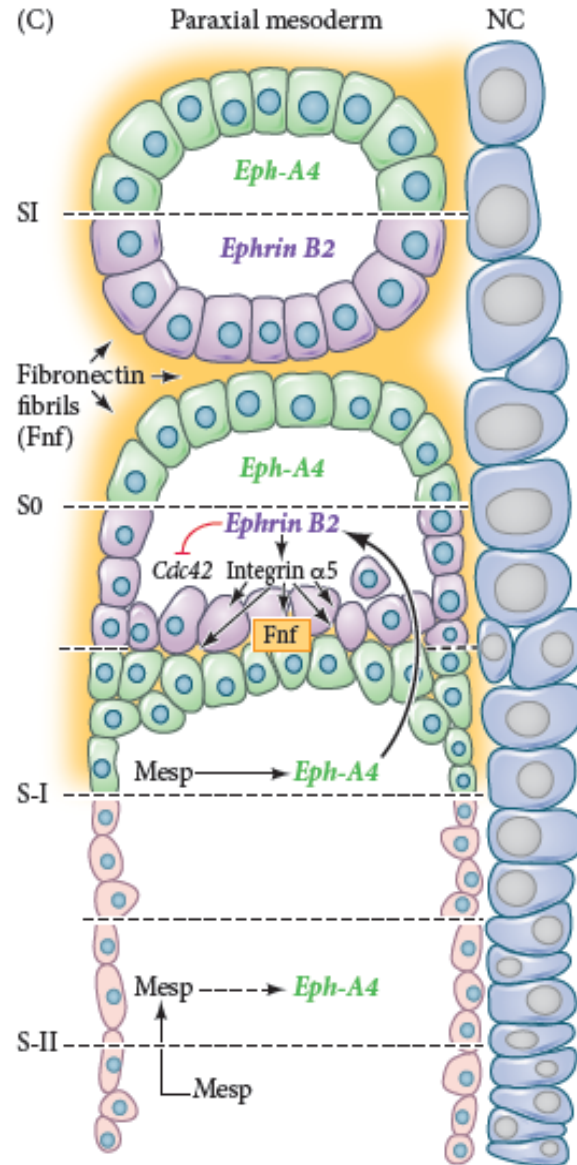


- Proto se musí mezenchymální buňky transformovat do epiteliálních buněk => MET



Mesp (Mesodermal posterior)

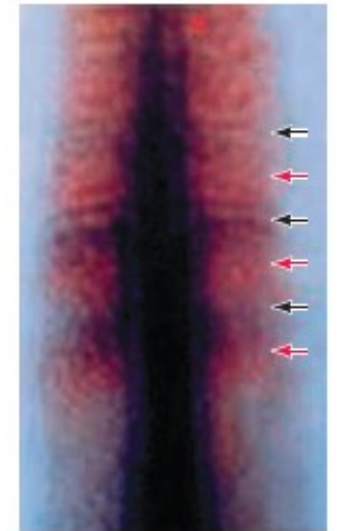
MET – ve vývoji – vznik somitů



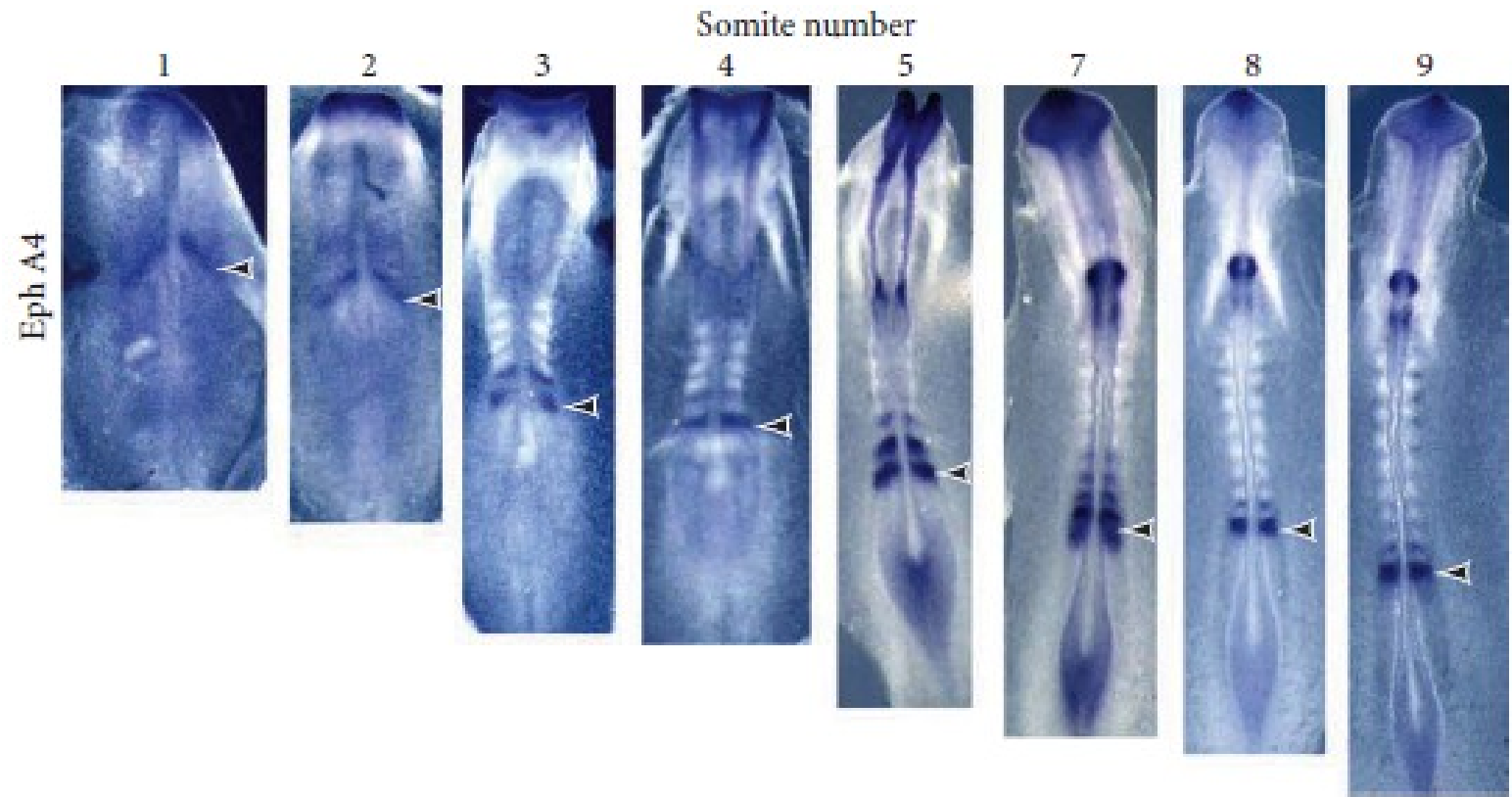
(A) *Mesp-a*



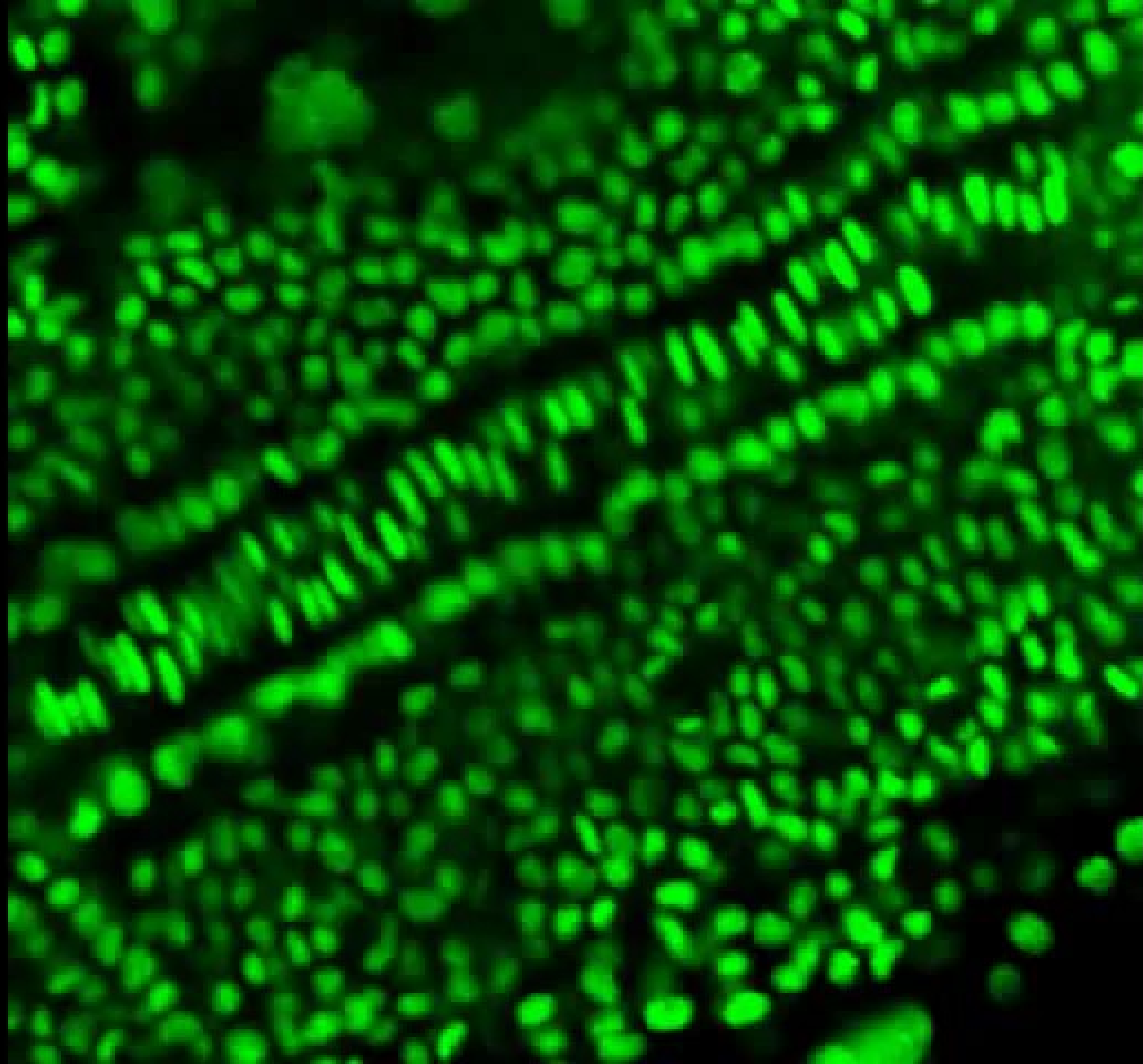
(B) *eph-A4, ephrin-B2*



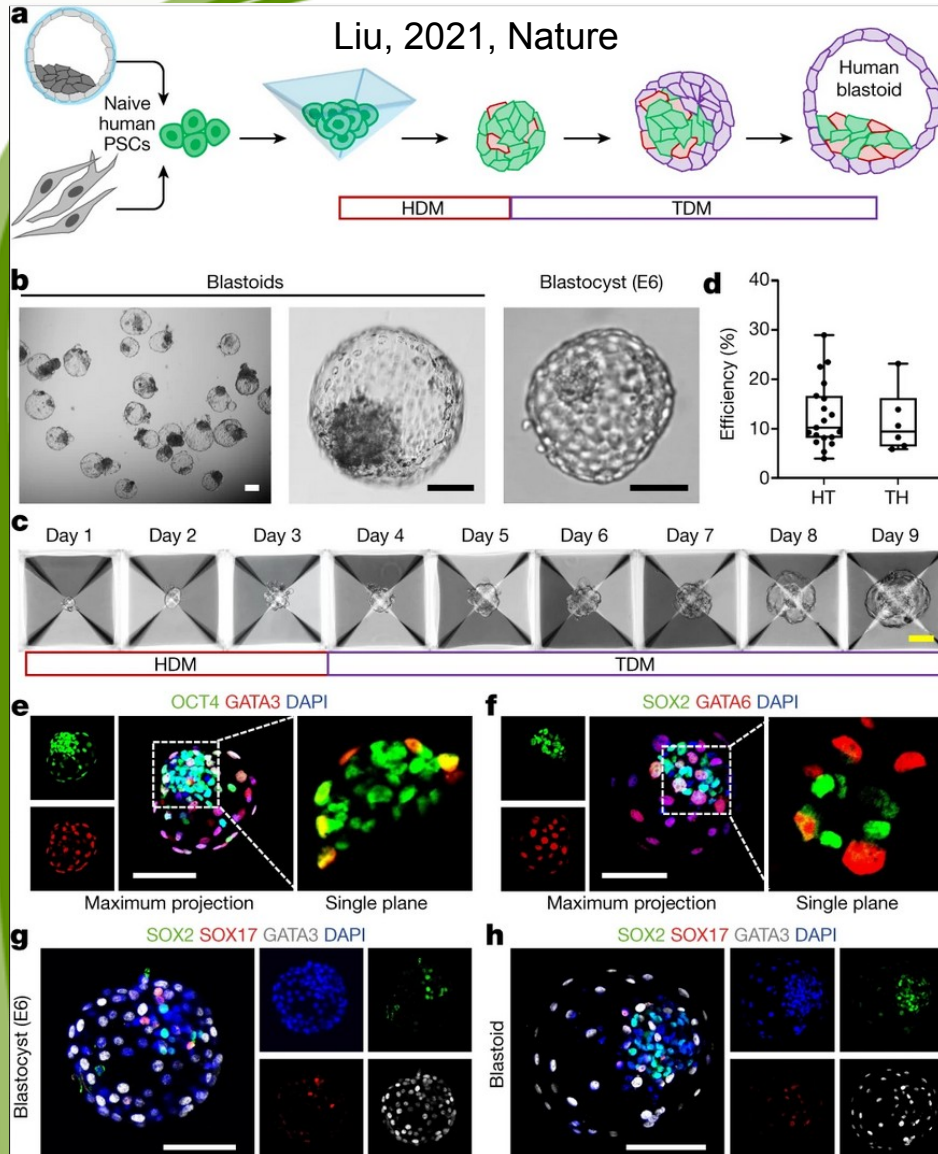
MET – ve vývoji – vznik somitů



Vývojová biologie

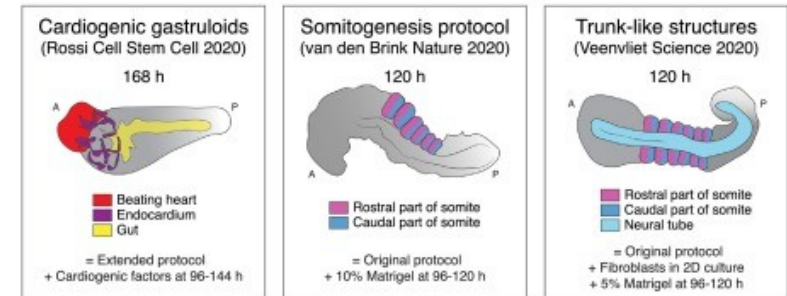
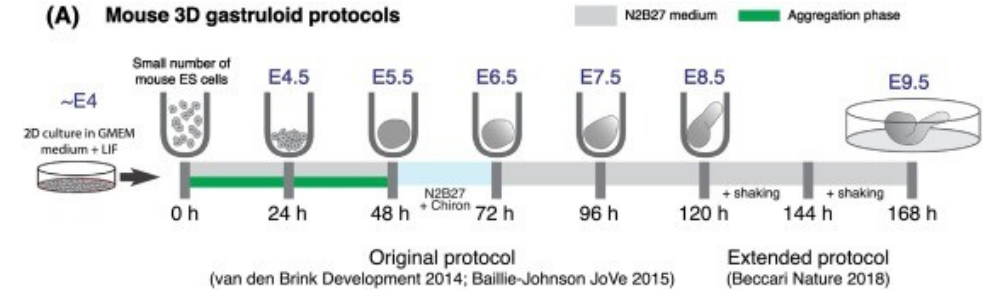


Link na předchozí předášku: Pamatujete si blastoidy?

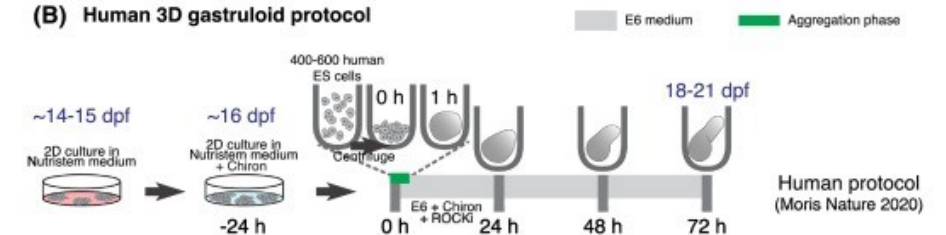


Tak jsou i gastruloidy!

(A) Mouse 3D gastruloid protocols



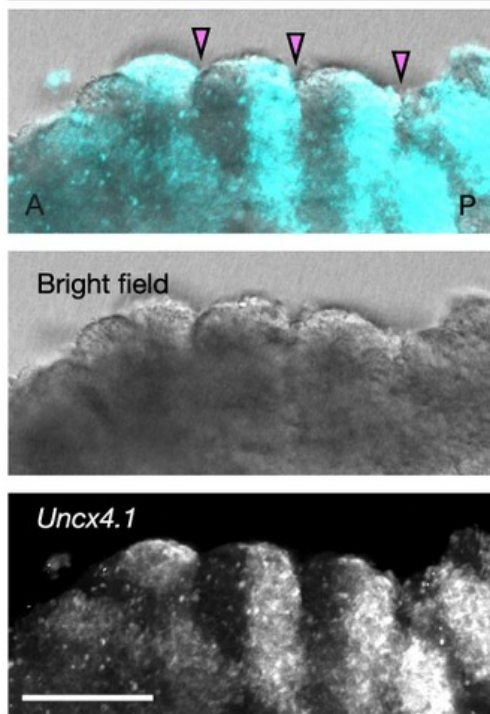
(B) Human 3D gastruloid protocol



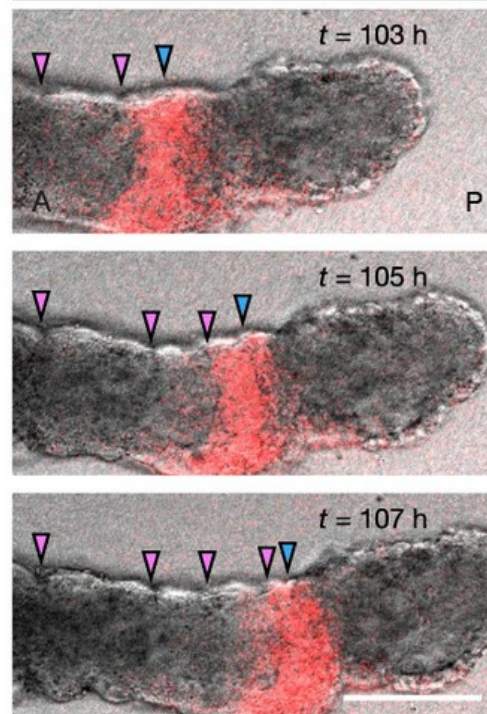
Van der Brink, 2021

Stainings and time-lapse imaging of somite formation in gastruloids

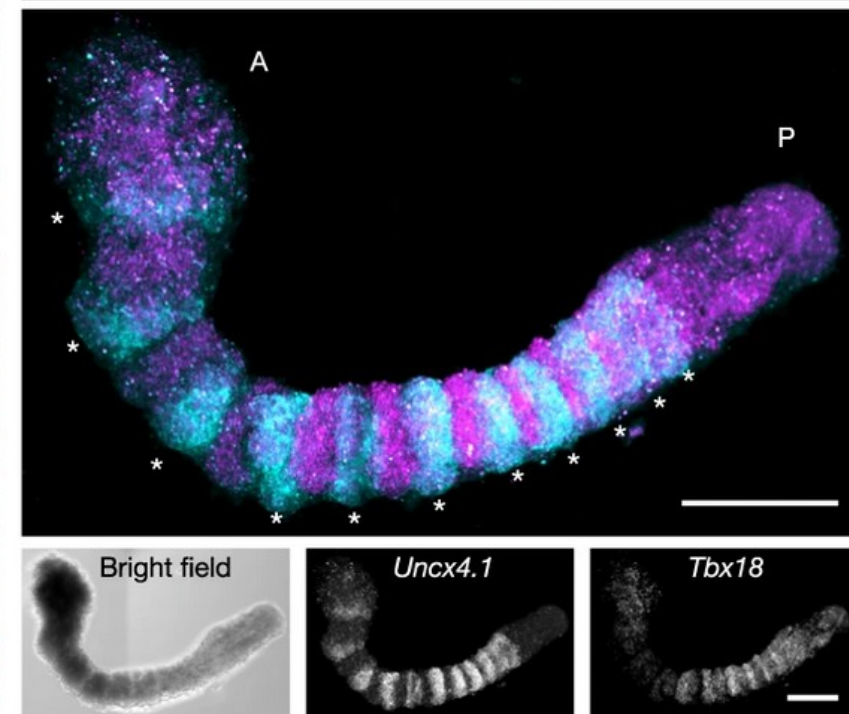
a 10% Matrigel Bright field *Uncx4.1*



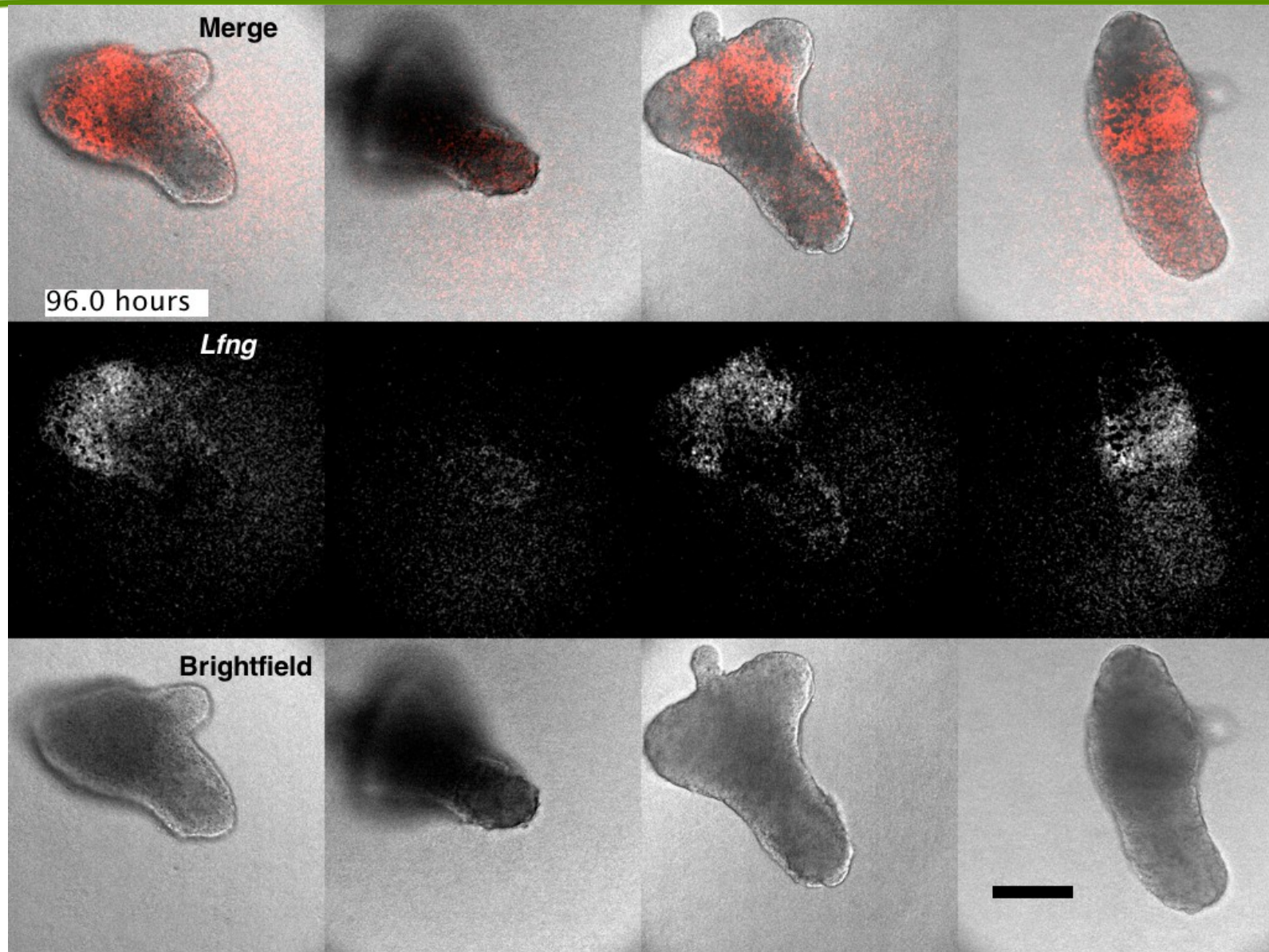
b 10% Matrigel Bright field *Lfng*



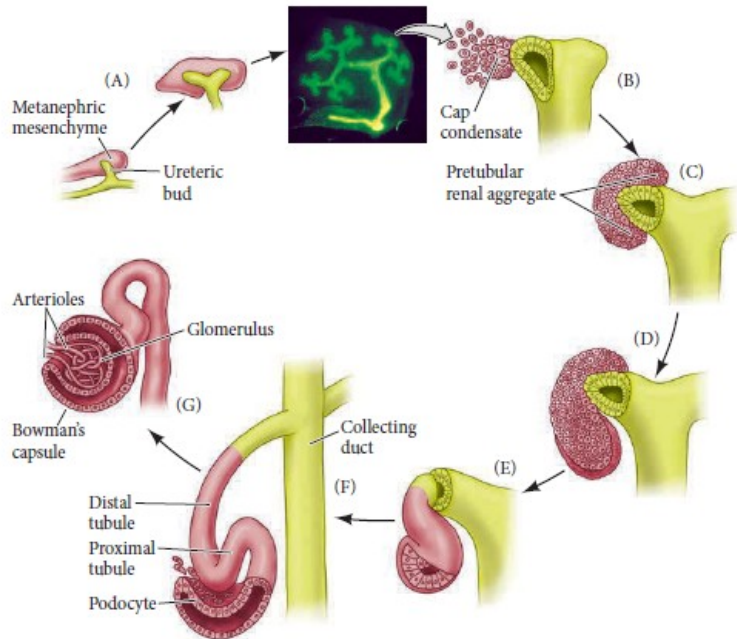
c 10% Matrigel *Uncx4.1* *Tbx18*



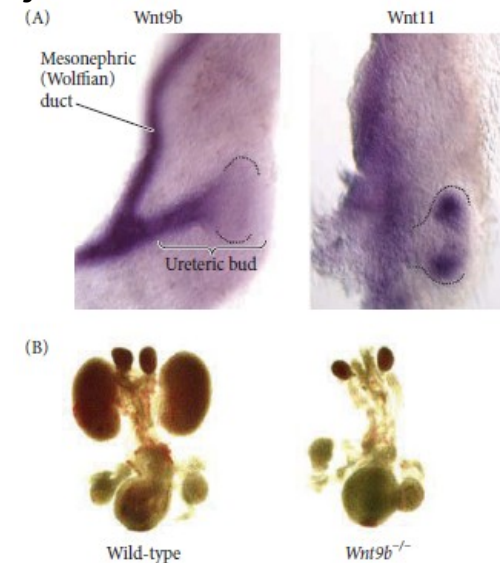
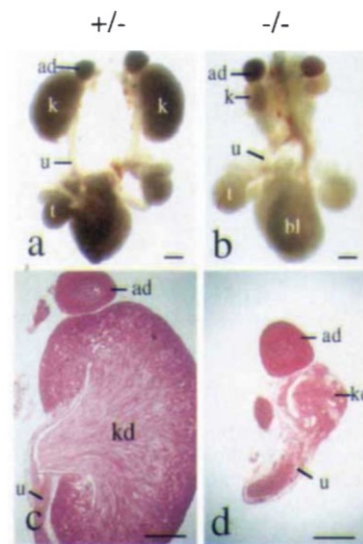
Vývojová biologie



Příklad MET – Vývoj nefronu

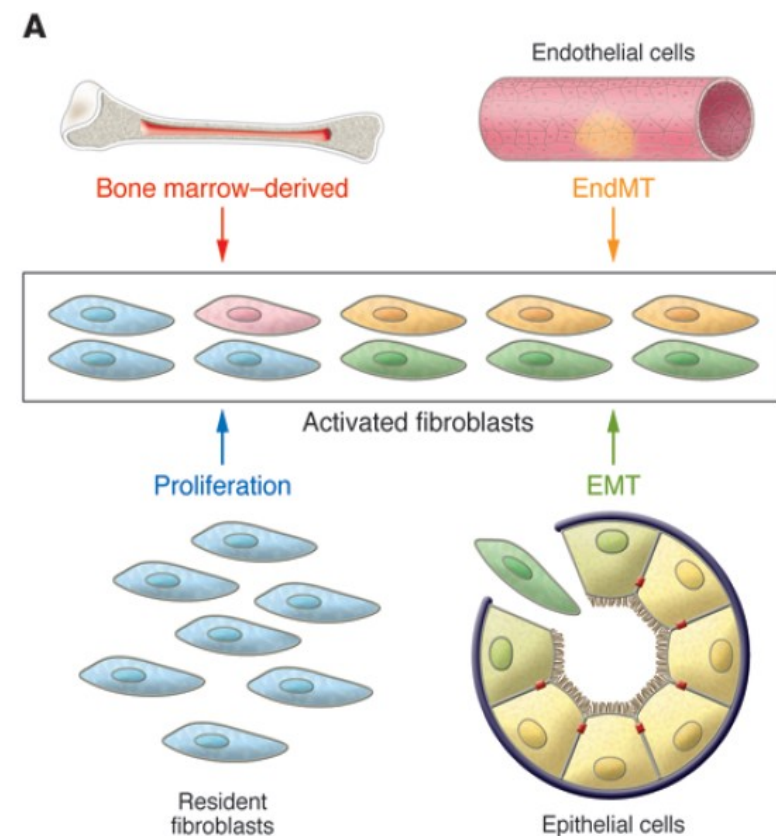
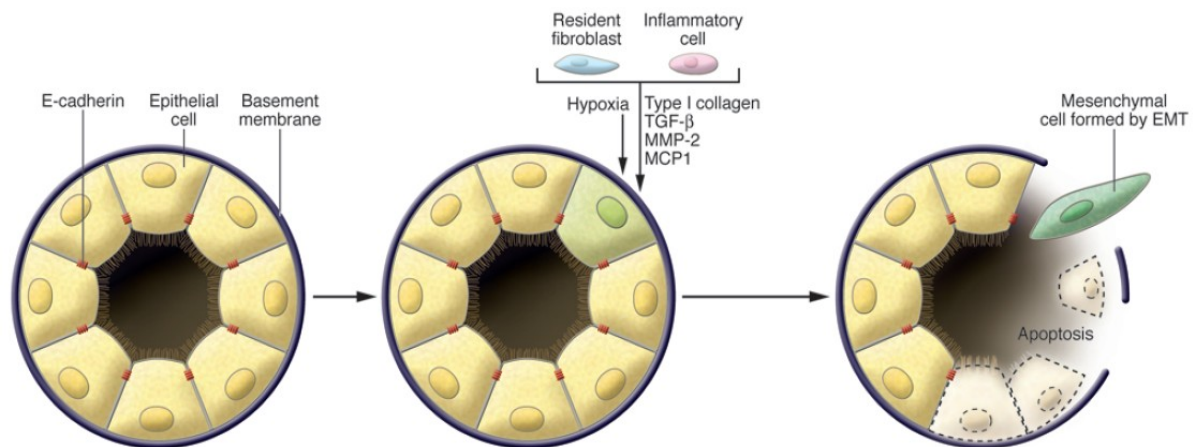


- Buňky mezenchymu mohou diferencovat v progenitorové buňky nefronu.
- Odpovídají na Wnt9b and Wnt6 produkovaný z „ureterického pupenu“.
- Wnt9b and 6 jsou klíčové pro transformaci metanefrického mezenchymu v tubulární epitel.
- Mezenchym má receptory pro tyto Wnt, což vede k produkci Wnt4, která dokončí transformaci.
- Bez Wnt4 mezenchym je kondenzován, ale neformuje se epitelium

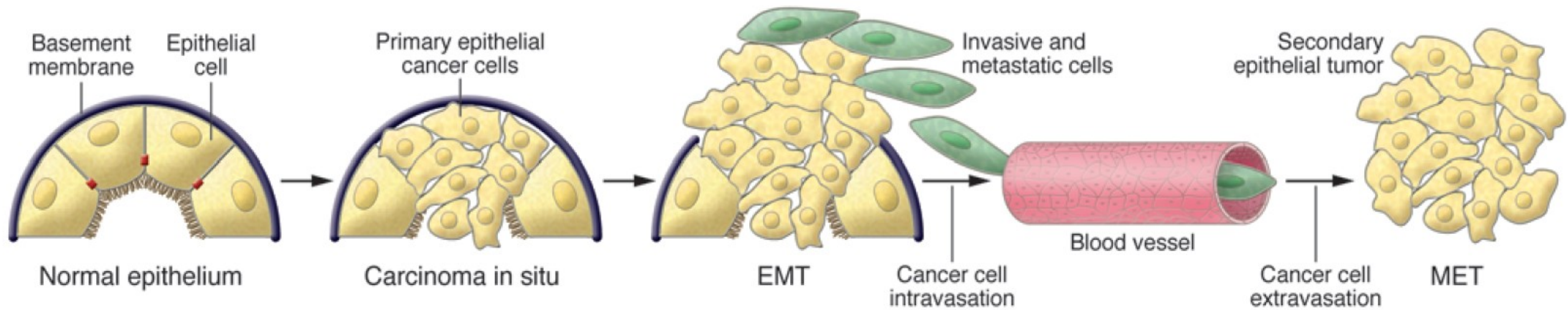


Otázky?

EMT – zánět a fibróza

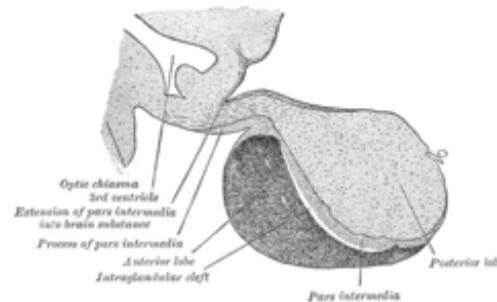
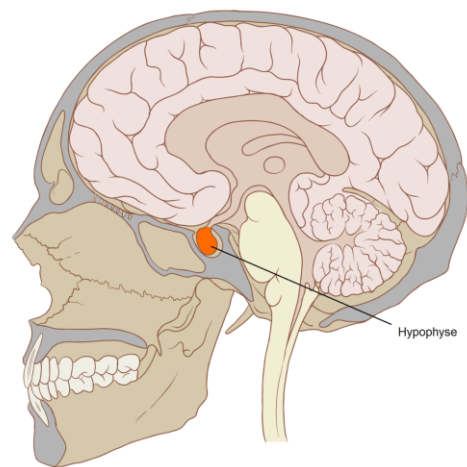


BONUS: EMT - rakovina





BONUS: Embryonální původ adenohypofýzy



Median sagittal through the hypophysis of an adult monkey. Semidiagrammatic.

Details

Precursor	neural and oral ectoderm, including Rathke's pouch
Artery	superior hypophyseal artery, infundibular artery, prechiasmatal artery, inferior hypophyseal artery, capsular artery, artery of the inferior cavernous sinus ^[1]

Identifiers

Latin	<i>hypophysis, glandula pituitaria</i>
MeSH	D010902
NeuroLex ID	birmlex_1353
TA98	A11.1.00.001
TA2	3853
FMA	13889

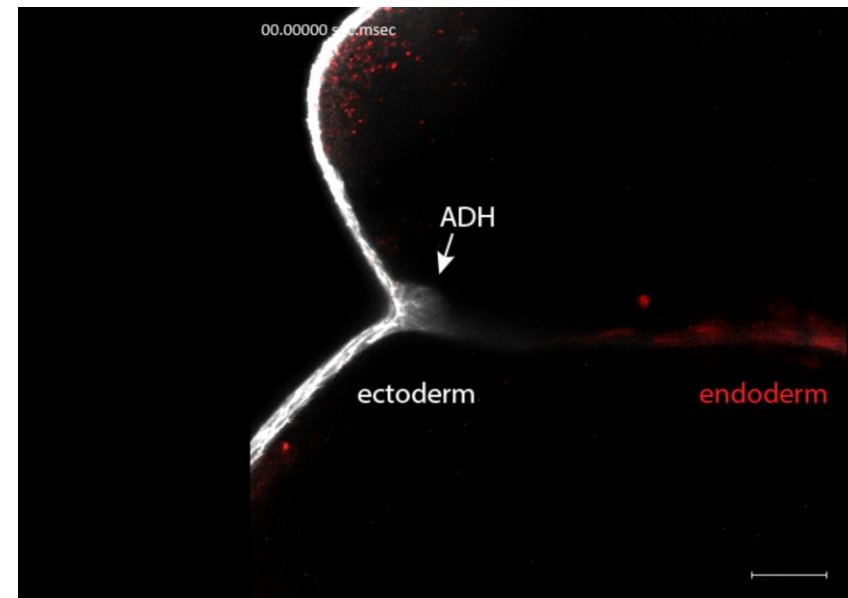
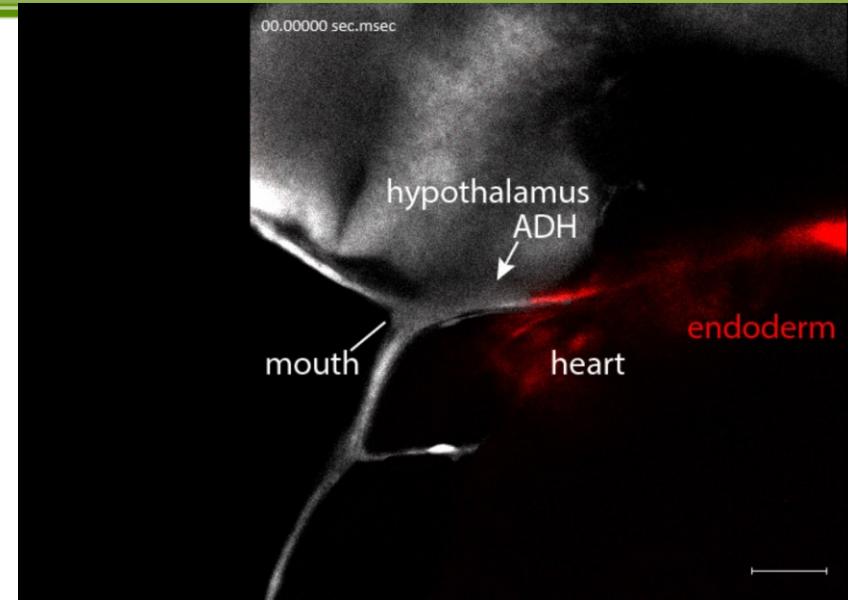
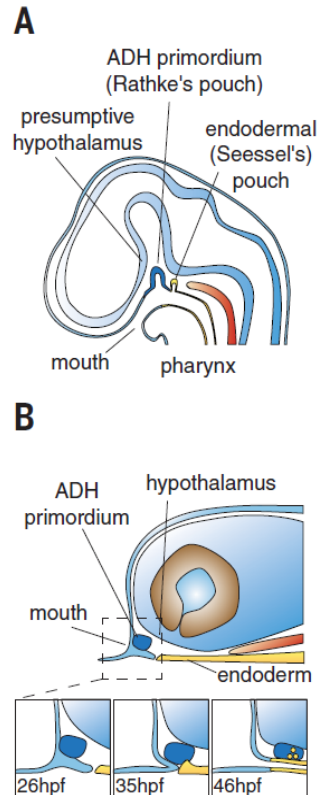
BONUS: Embryonální původ adenohypofýzy

RESEARCH

DEVELOPMENTAL BIOLOGY

Lineage analysis reveals an endodermal contribution to the vertebrate pituitary

Peter Fabian¹, Kuo-Chang Tseng¹, Joanna Smeeton^{1,2}, Joseph J. Lancman³, P. Duc Si Dong^{3,4}, Robert Cerny⁵, J. Gage Crump^{1*}



Díky za pozornost



SCIENCE REPORT Summer HALF, 1949.

NAME GURDON Division D22 Subject Biology.

Place $\frac{15}{15}$ $\frac{17}{15}$ $\frac{15}{15}$ Marks $\frac{231}{550}$

It has been a disastrous half. His work has been far from satisfactory. His prepared stuff has been badly learnt, and several of his test pieces have been torn over; one of such pieces of prepared work scored 2 marks out of a possible 50. His other work has been equally bad, and several times he has been in trouble, because he will not listen, but will insist on doing his work in his own way. I believe he has ideas about becoming a Scientist; on his present showing this is quite ridiculous, if he can't learn simple Biological facts he would have no chance of doing the work of a Specialist, and it would be sheer waste of time, both on his part, and of those who have to teach him.

Refused.

Tomáš Bárta
tbarta@med.muni.cz