

Regulační síť buněk blastocysty

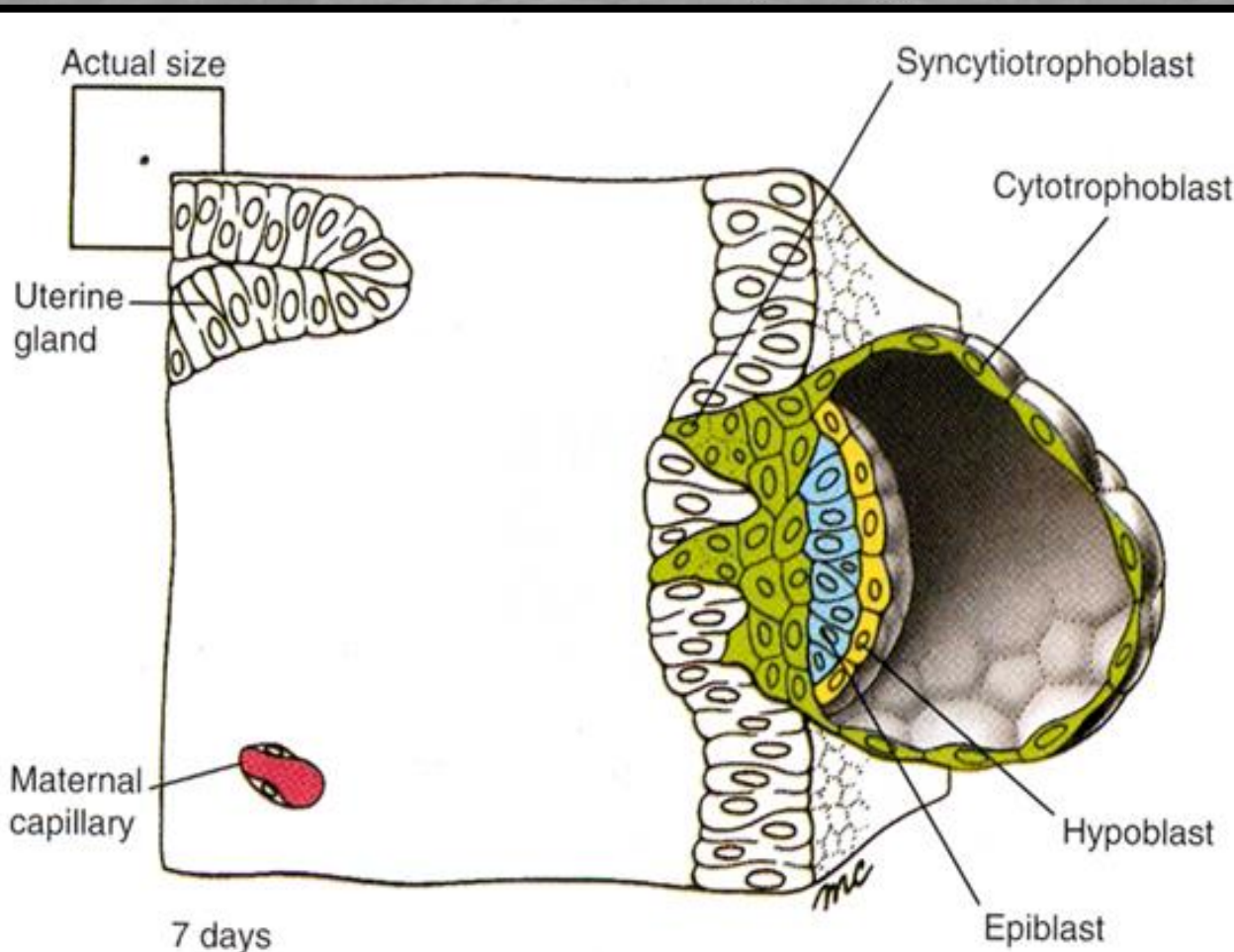
Transkripční faktory:

Oct4, Nanog => ICM/embryoblast
 Cdx2, Eomes => trofoblast

Implantace, notogeneze, iniciace vývoje tkání

Epiblast (primitivní ektoderm)
Hypoblast (primitivní endoderm)

7dpc, human



Implantace

A) Uvolnění blastocysty ze zony pellucidy - hatching

- pomocí trypsinu podobné proteáze sekretované buňkami trofoblastu

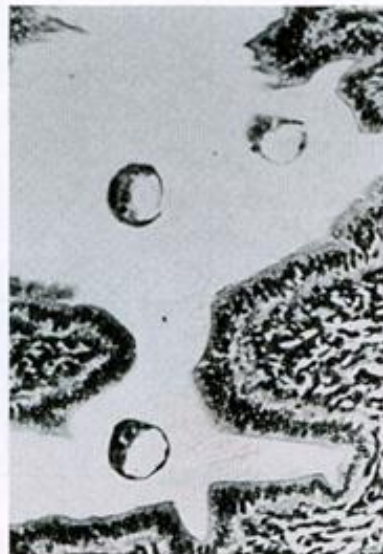
B) Myší blastocysty vstupující do dělohy

C) Počáteční krok implantace blastocysty (kočkodan)

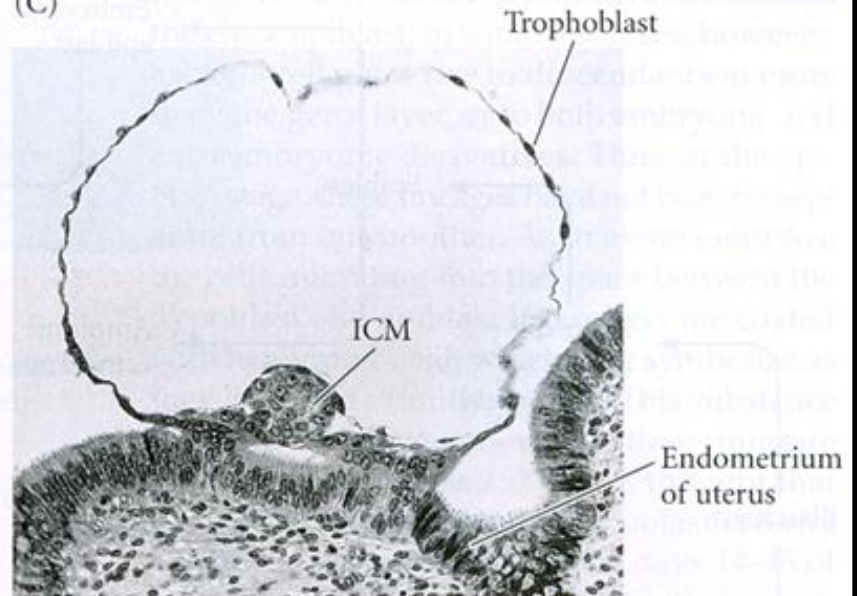
(A)



(B)

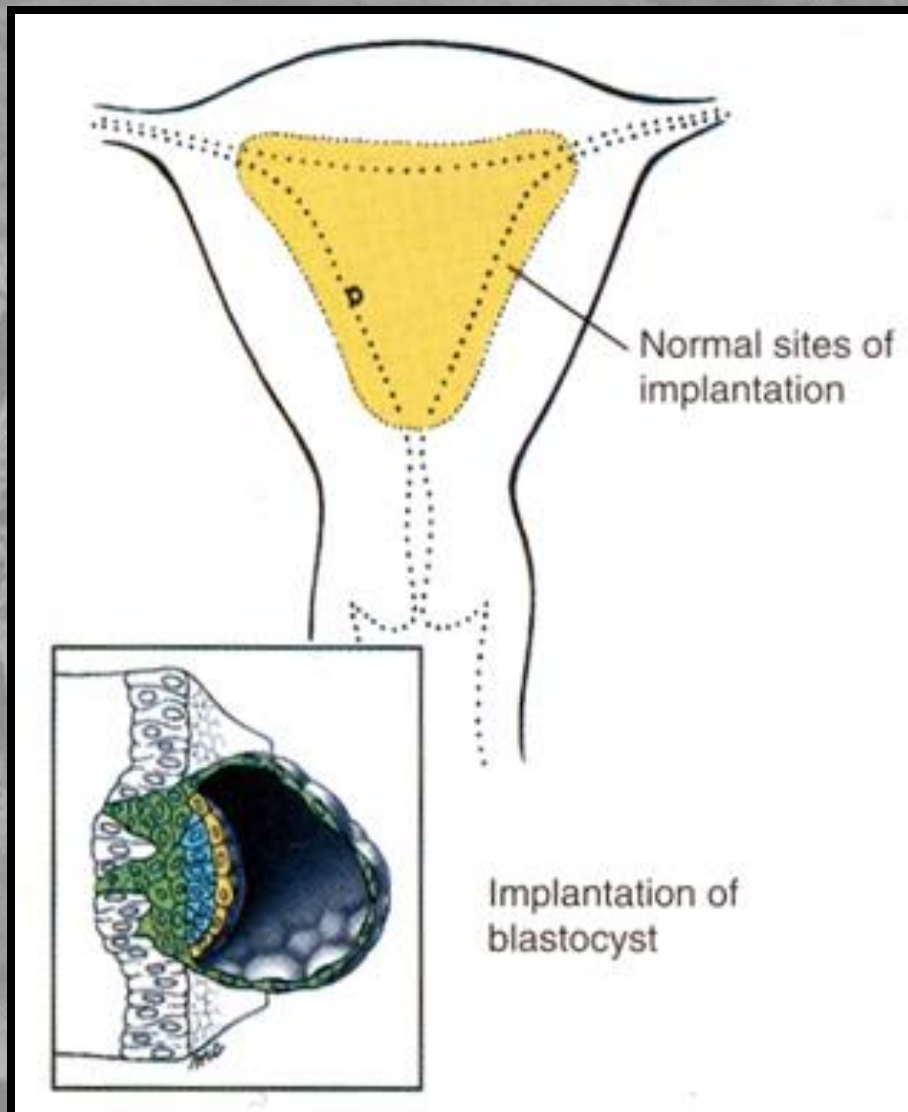
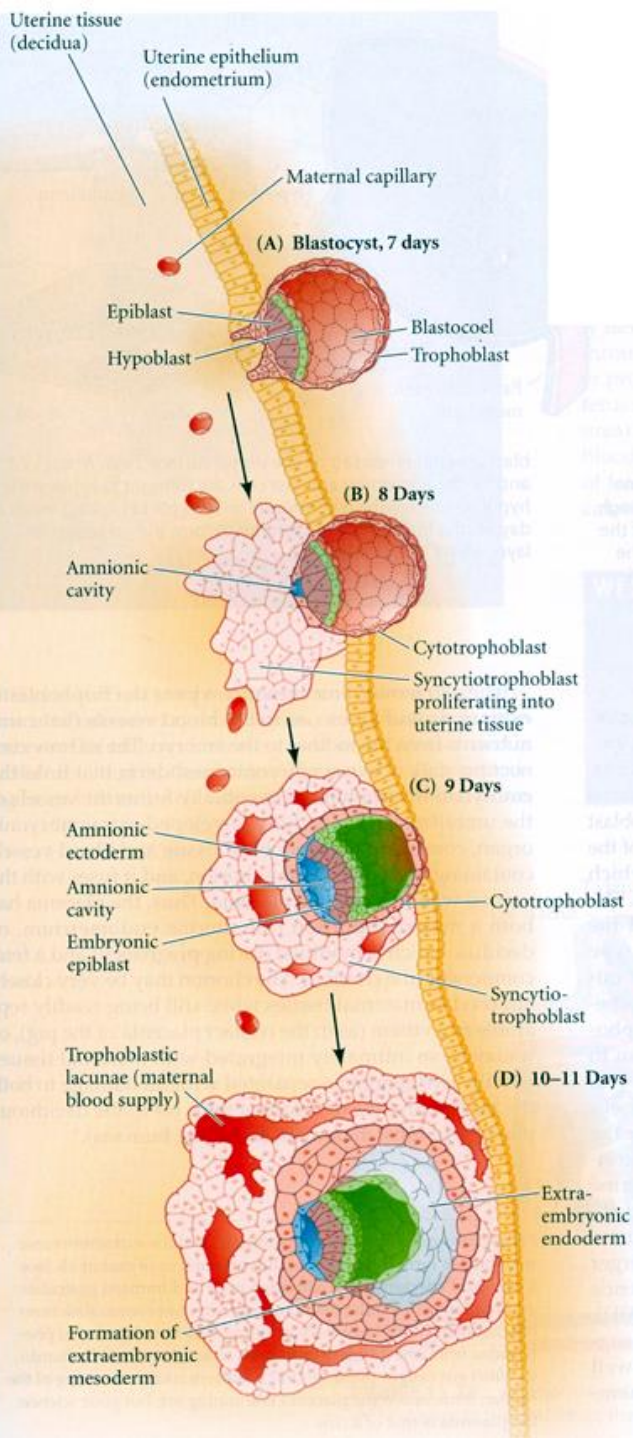


(C)

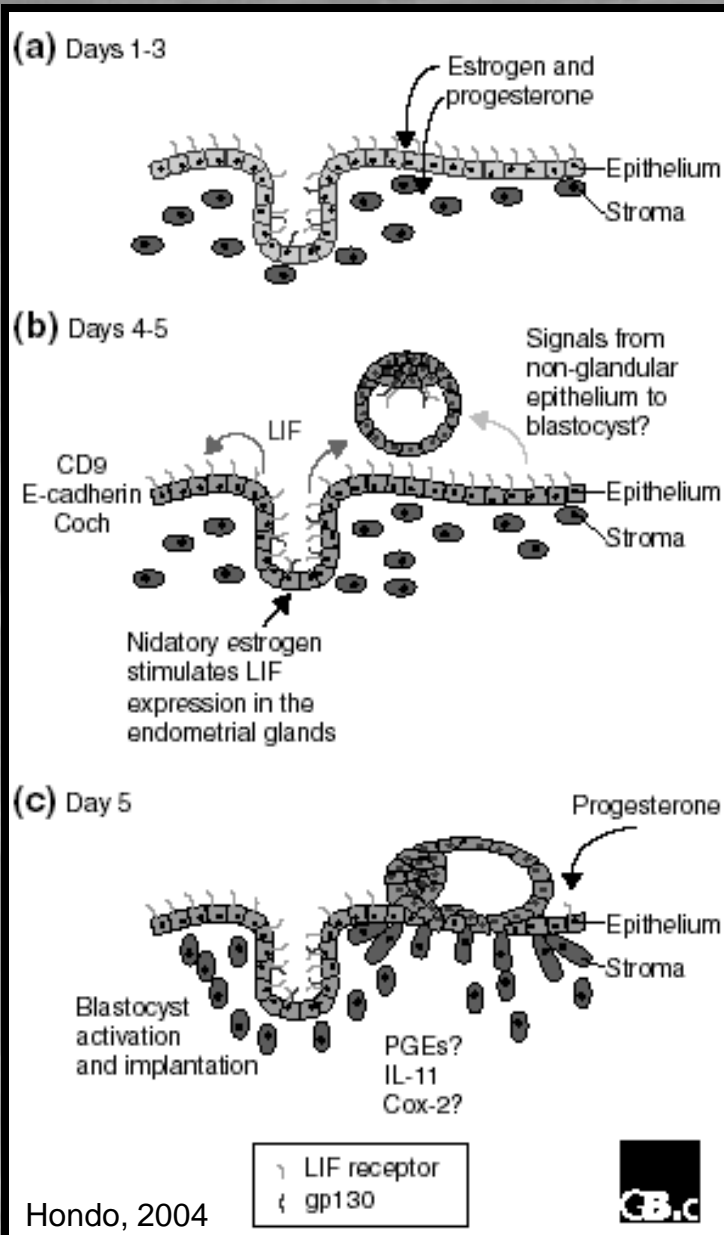


Formování embryonálních tkání v průběhu implantace

(člověk, 7-11 dpc)



Cytokiny LIF a IL-11 řídí zahnízdění (implantaci / nidaci) blastocysty ve sliznici dělohy (endometriu)



a) estrogen a progesteron, zvyšují proliferaci a diferenciaci buněk sliznice

b) Estrogen indukuje produkci LIF žlázkami endometria. LIF je produkován do lumen dělohy kde aktivuje buňky luminálního epitelu k produkci mnoha genů zahrnujících i faktory buněčné adheze jako jsou Coch a CD9 (tetraspanin).

c) Invaginující blastocysta spouští procesy decidualizace řízené prostaglandiny (produkovanými Cox-2) a IL-11

Časování - myš

Děložní sliznice - *zona basalis*

- *zona functionalis* - epitel děložní sliznice

- kompakta (~ 1/3 sliznice)

- spongióza

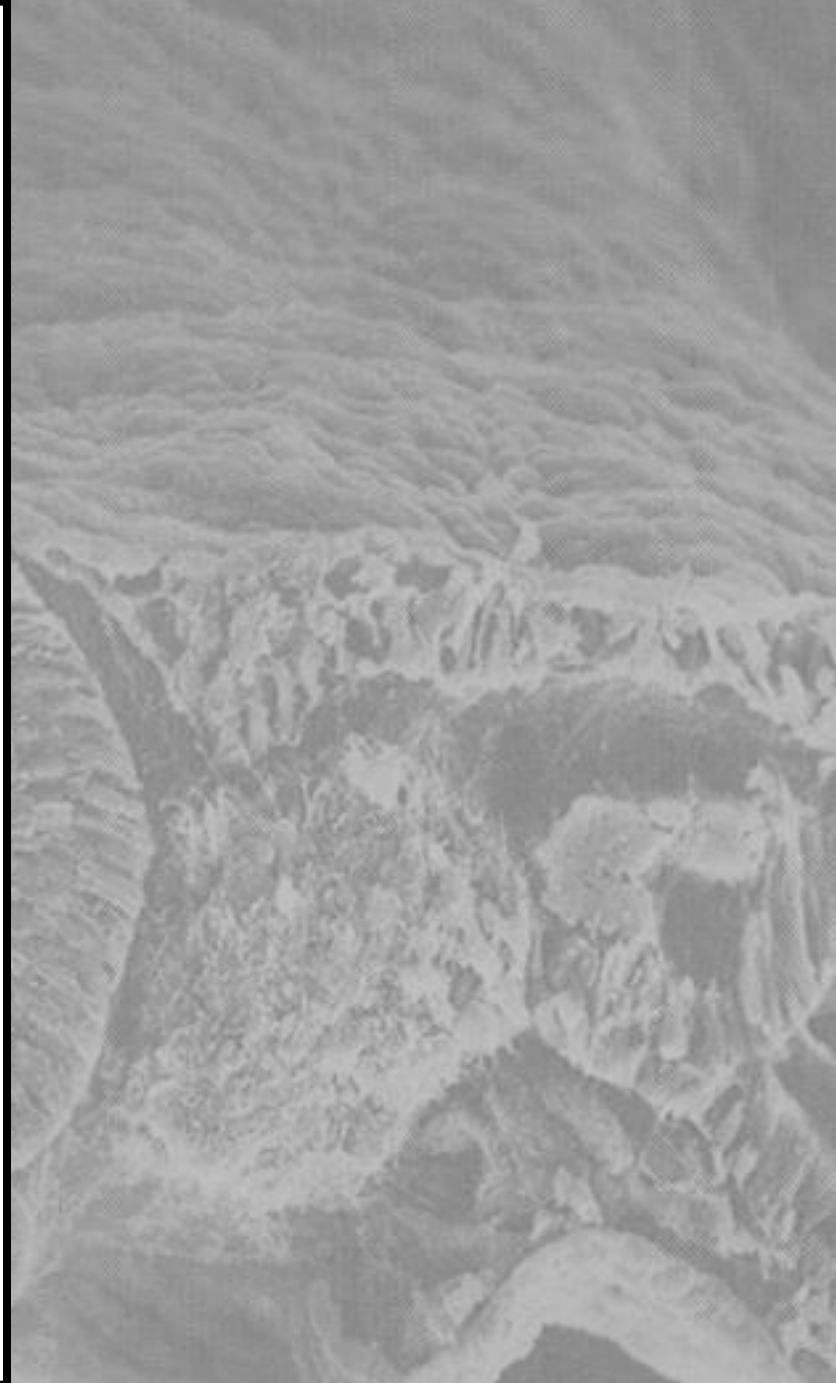
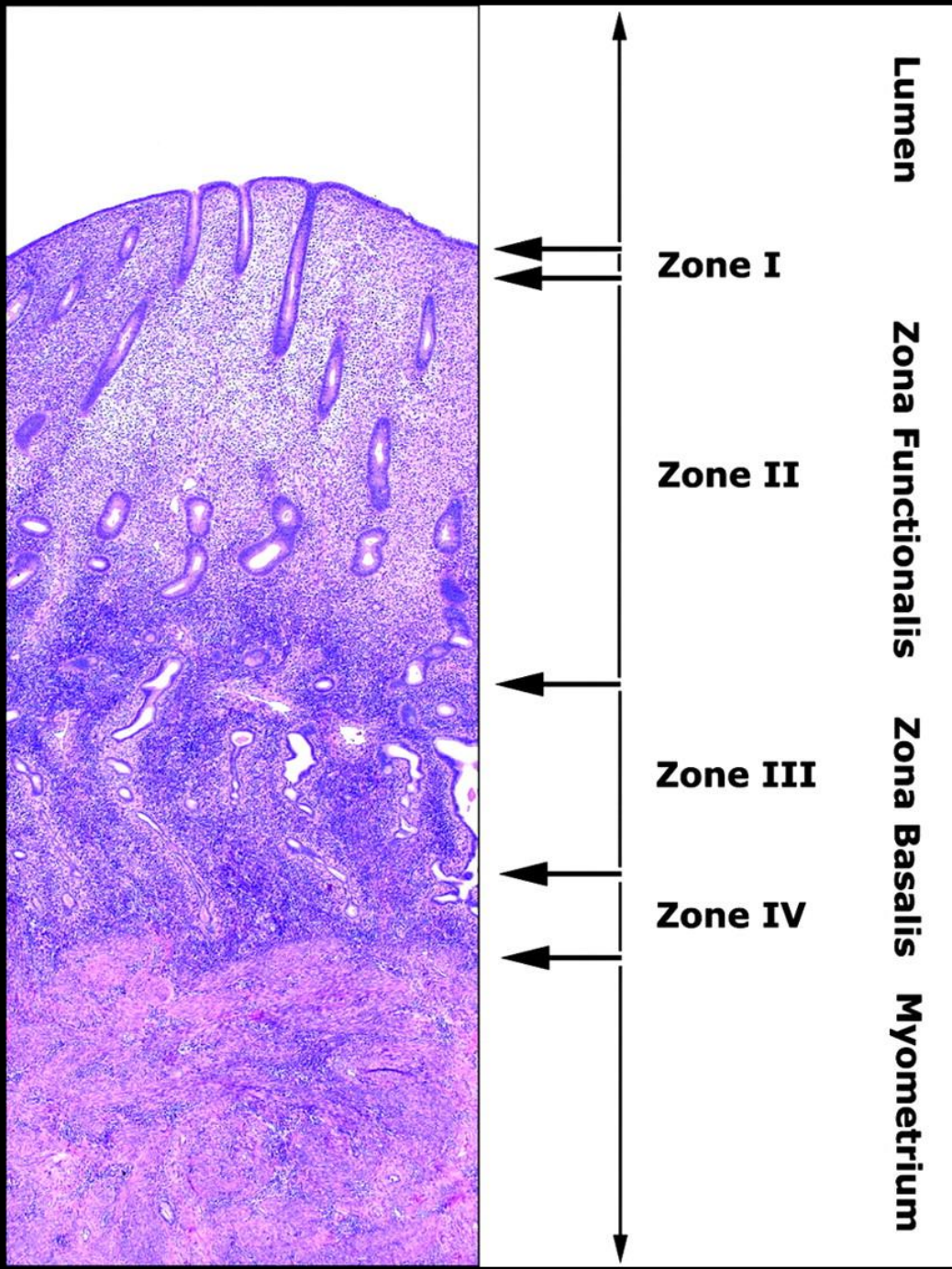
Kompakta - metabolicky aktivní fibroblasty měnící se na deciduální buňky (deciduální reakce, vznik deciduálních buněk, velké vakuoly s intenzivním metabolismem a akumulací glykogenu a lipidů)
- vývody děložních žlázek

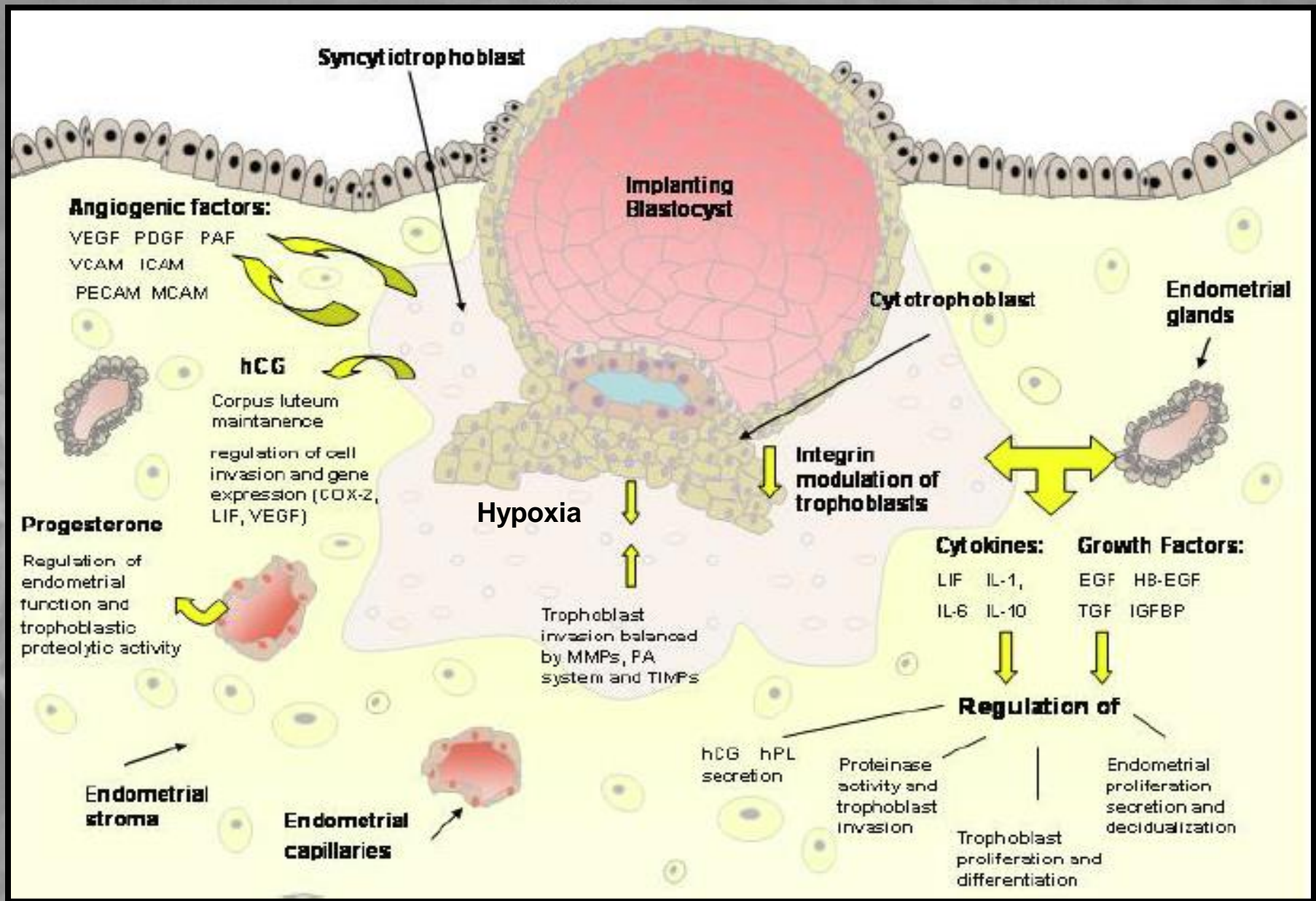
Spongióza - děložní žlázy (tvorba sekretu bohatého na glykogen)
- vazivové stroma

A) blastocysta je kotvena „integriny“ na „laminin“ v epitelu děložní sliznice

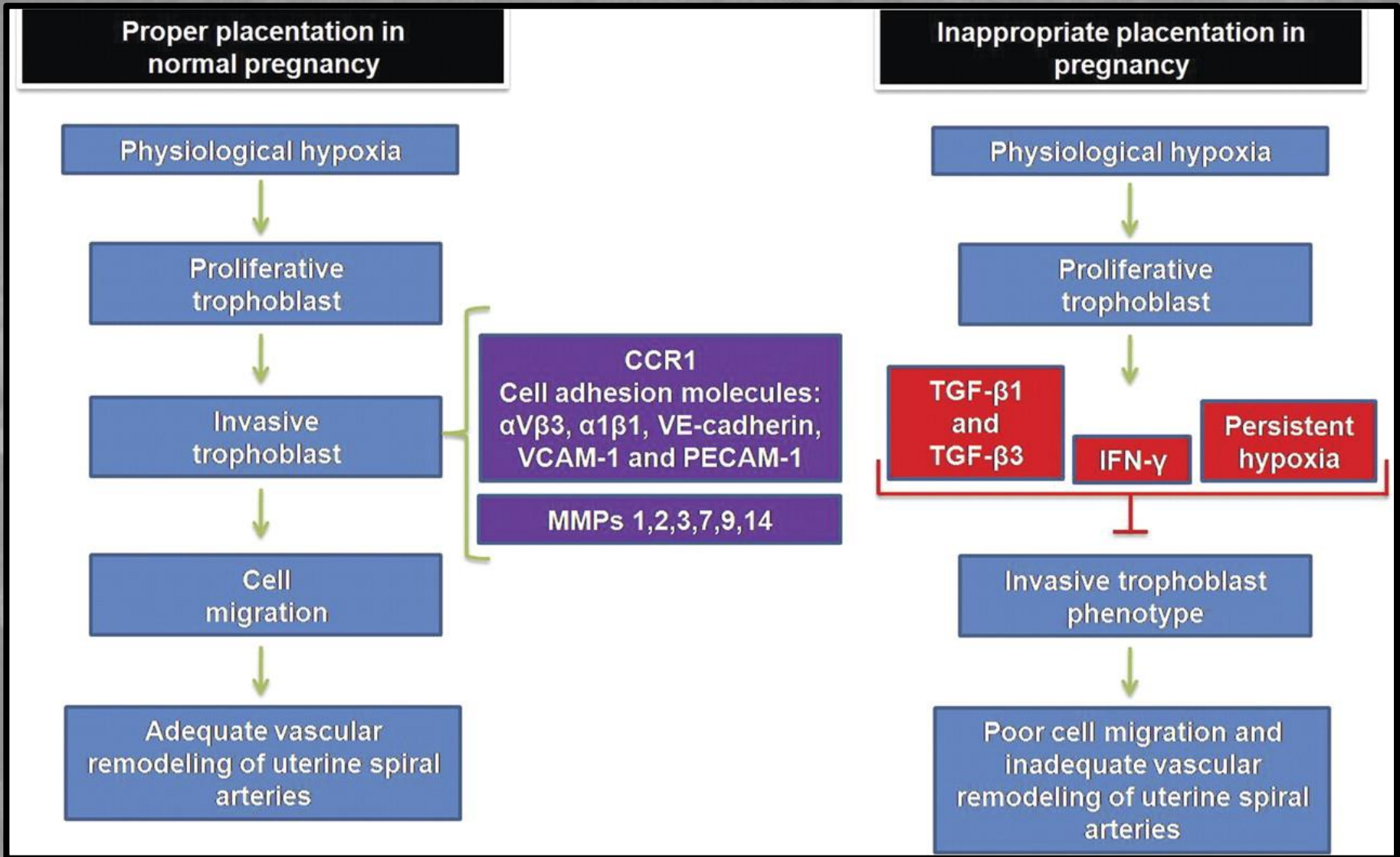
B) interkce a invaze do kompakty zprostředkované vazbou integrinů na „fibronektin“

laminin a fibronektin - proteiny extracelulární matrix (ECM) produkované zejména přítomnými fibroblasty

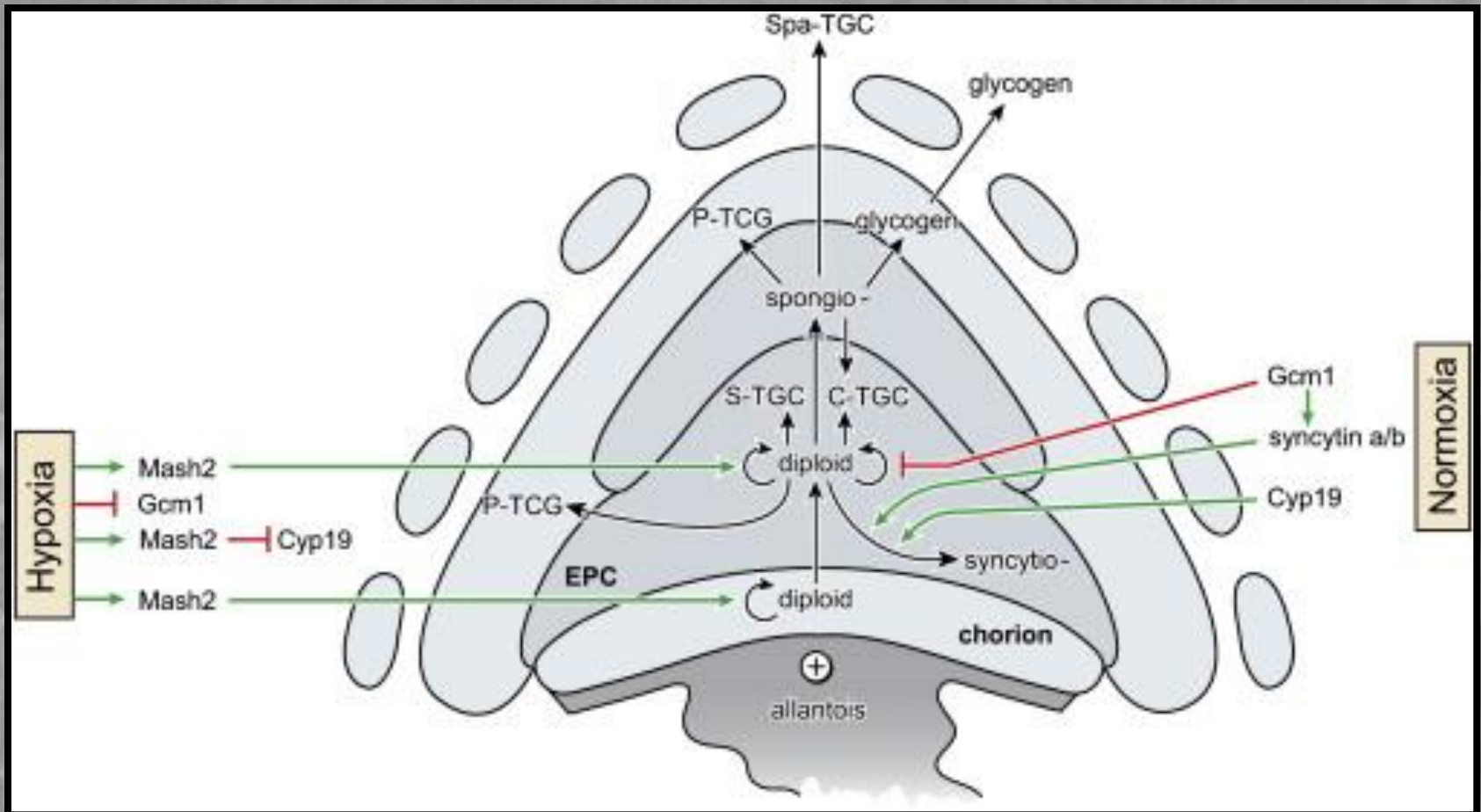




Fyziologická hypoxie indukuje proliferaci buněk trofoblastu – první týden gravidity



Regulace expanze a invaze trofoblastu v závislosti na hypoxii a normoxii



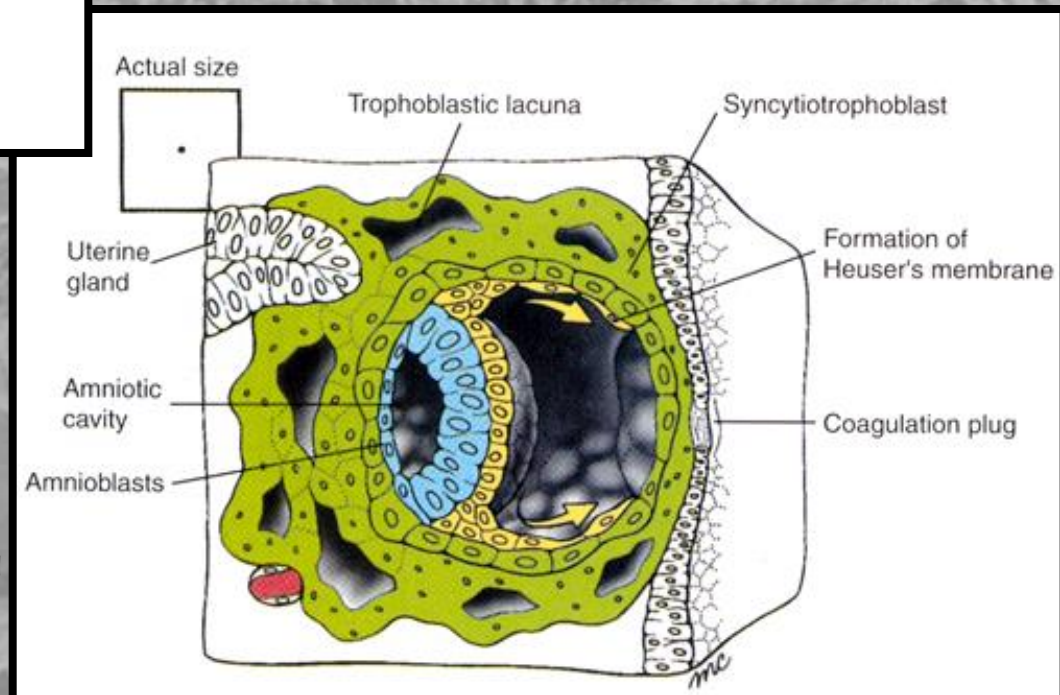
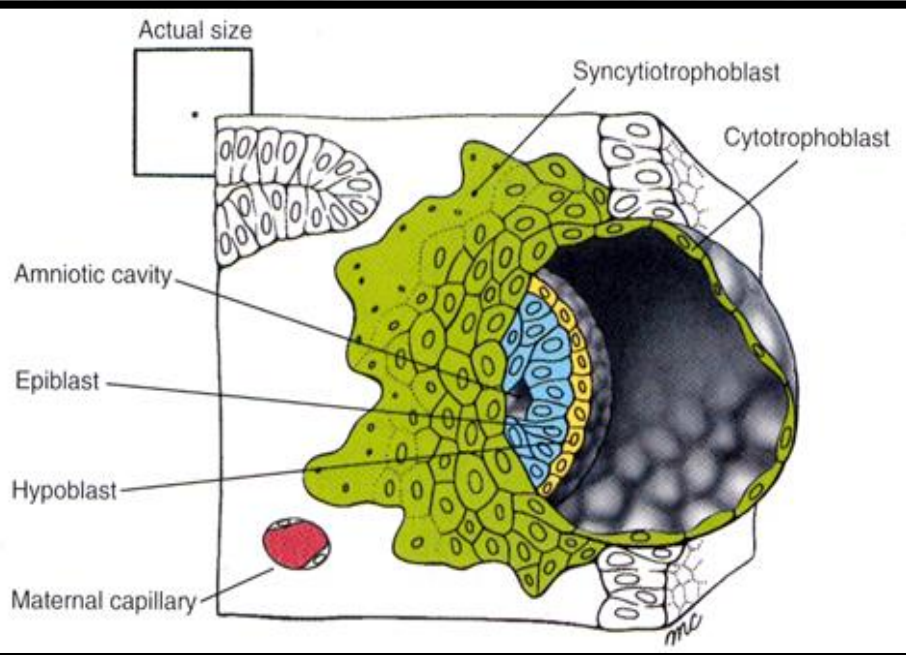
primary parietal trophoblast giant cells (TGC; oval-shaped). Syncytio-, syncytiotrophoblast; S-TGC, sinusoidal TGC; C-TGC, canal TGC; spungio-, spongiotrophoblast; glycogen, glycogen trophoblast; P-TGC, parietal TGC; Spa-TGC, spiral artery TGC

Vznik amniotické dutiny a lakun trofoblastu

8 a 9 dpc, human

Invaze syncytiotrofoblastu

- enzymatické rozrušení tkáně sliznice
- resorpce živin syncytiotrofoblastem
(histiotrofé - tkáňová výživa)

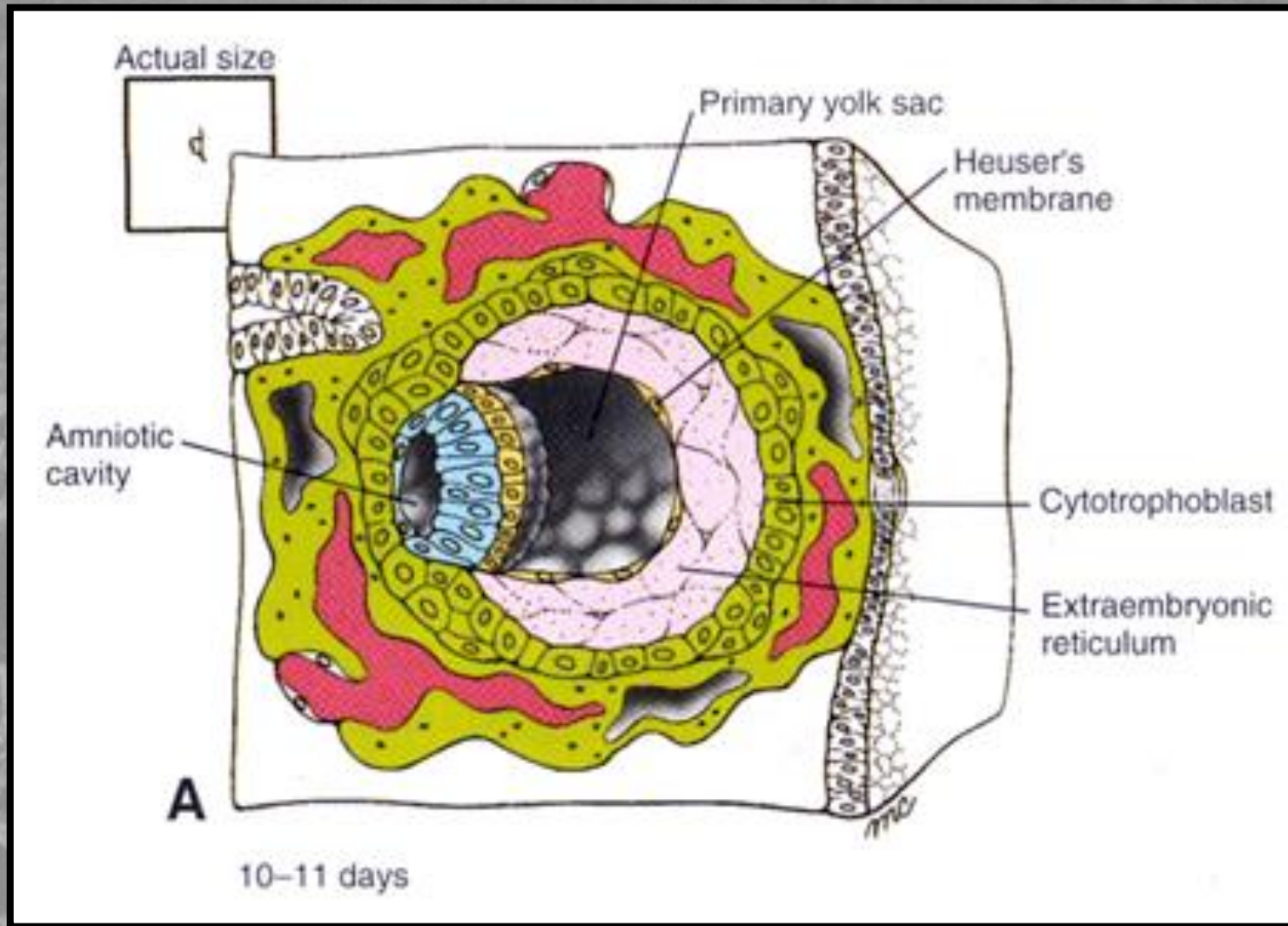


Imunologická tolerance

- choriový gonadotropinu (hCG)
- steroidní hormony
- imunosupresivní cytokiny
- další proteiny produkované sliznicí patřící k hlavnímu antigennímu systému matky (HLA-G)

Žloutkový váček a chorion

10 - 13 dpc, human



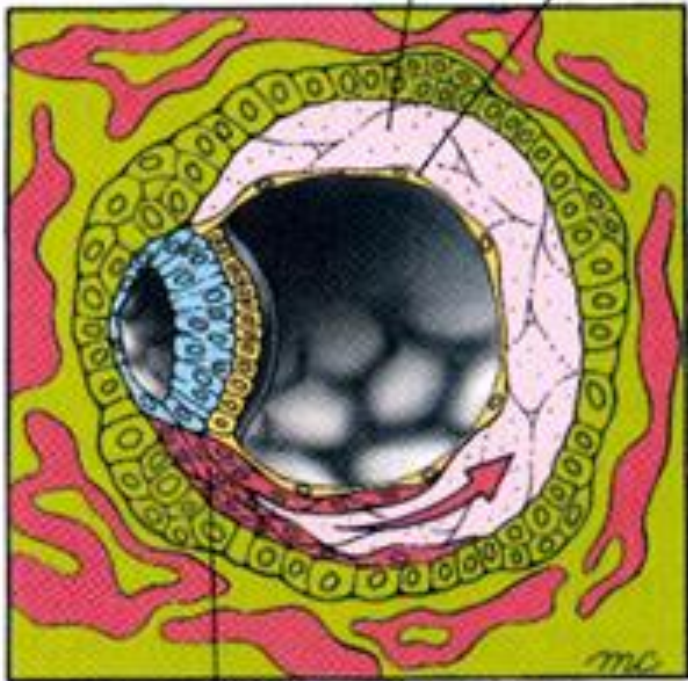
Heuserova membrána = membrána exocélomu

Primární žloutkový váček = dutina exocélomu

Extraembryonální retikulum = extracelulární matrix produkovaná buňkami H. membrány

10-11 dpc

Extraembryonic reticulum Heuser's membrane



Epiblast proliferating to form extraembryonic mesoderm

12 dpc



Extraembryonic mesoderm

12-13 dpc



Extraembryonic mesoderm

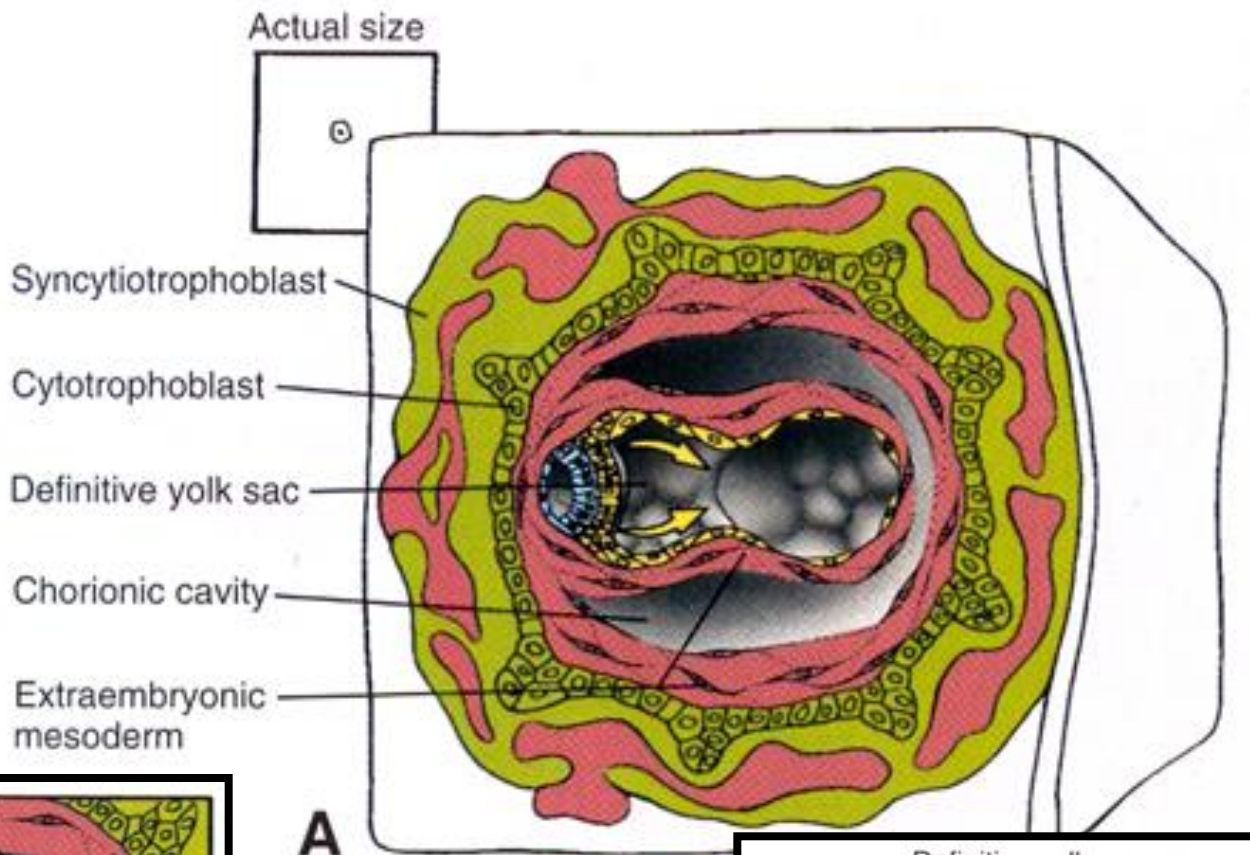
Chorionic cavity

human

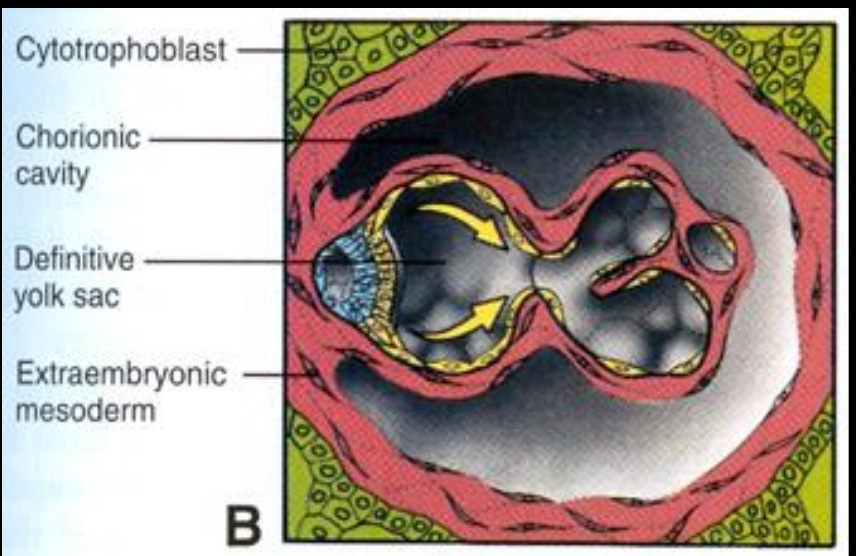
Epiblast >>> extraembryonální mesoderm

Dutina chorionu = extraembryonální céloom

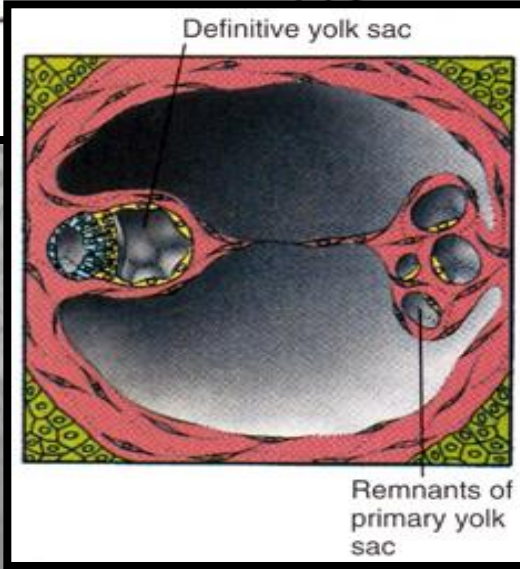
Vznik definitivního
(sekundárního)
žloutkového váčku
12-14 dpc, human



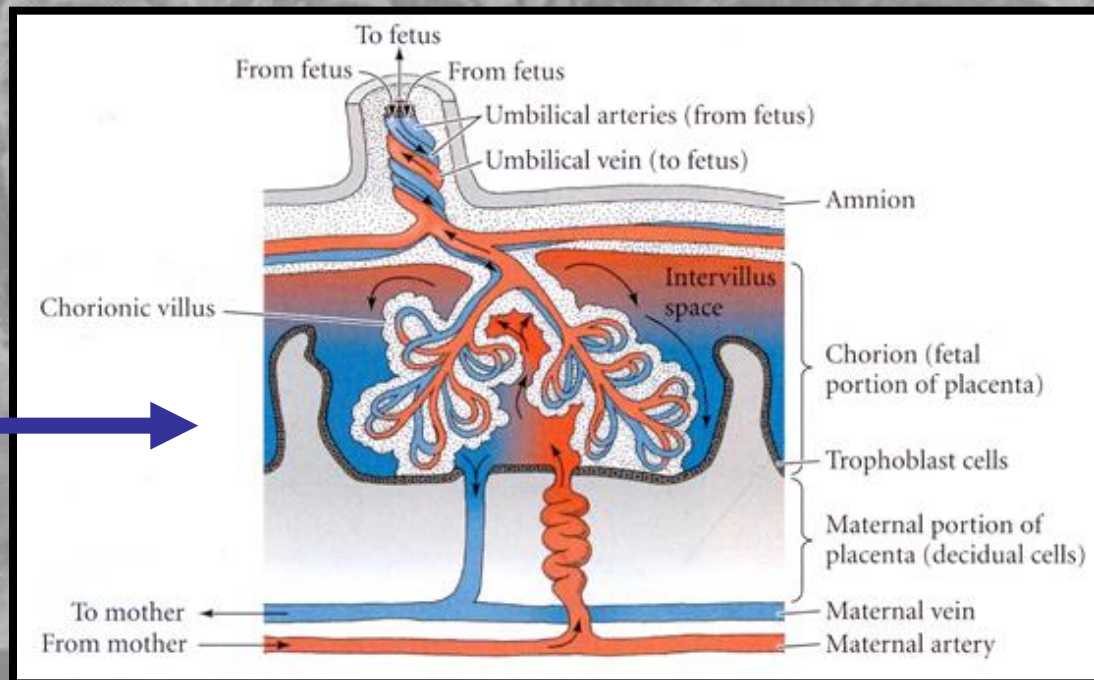
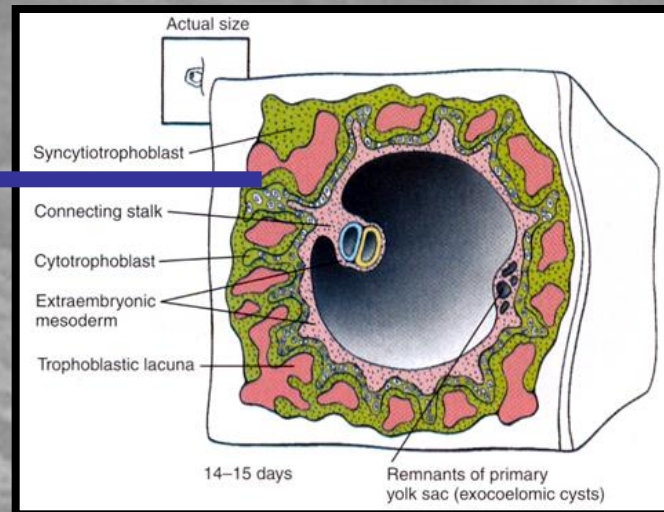
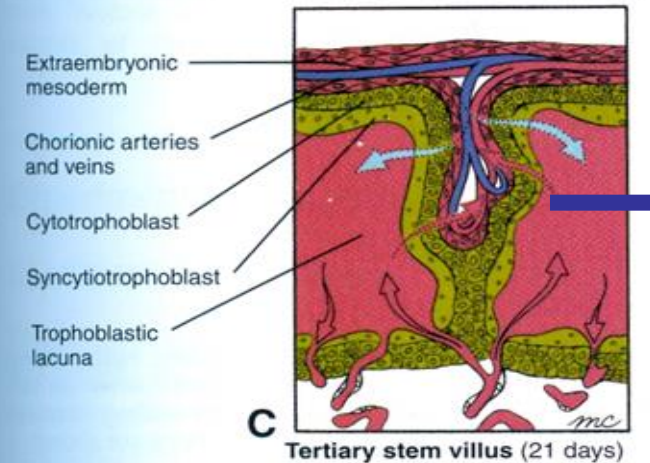
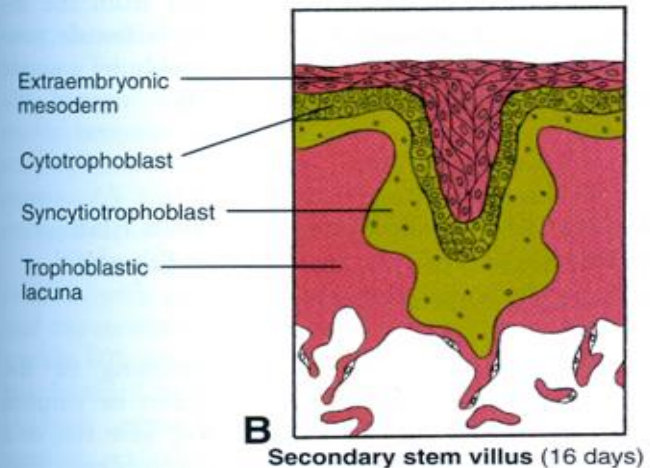
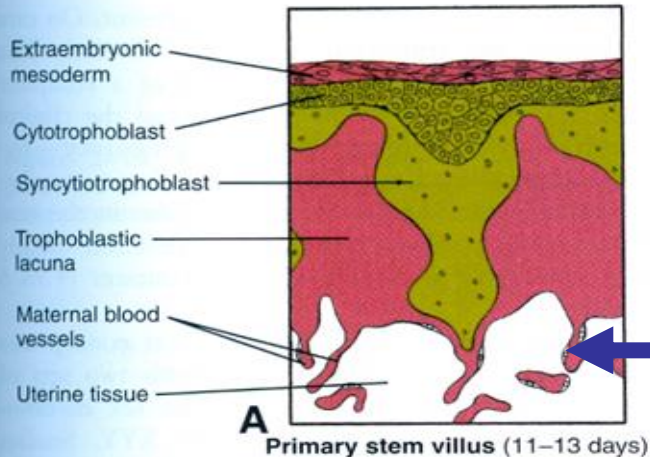
12-13 days



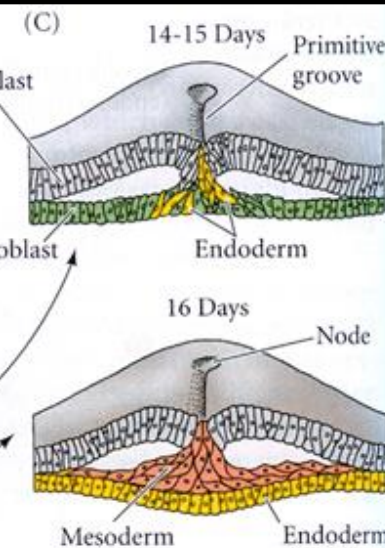
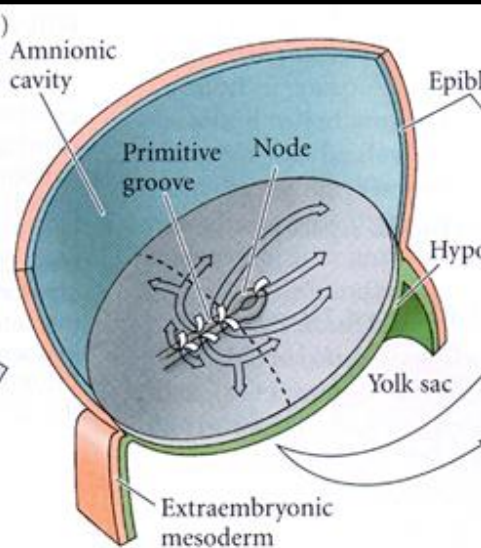
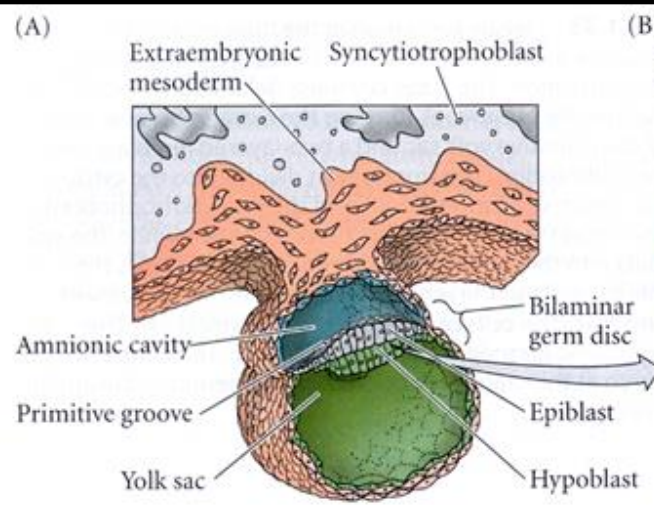
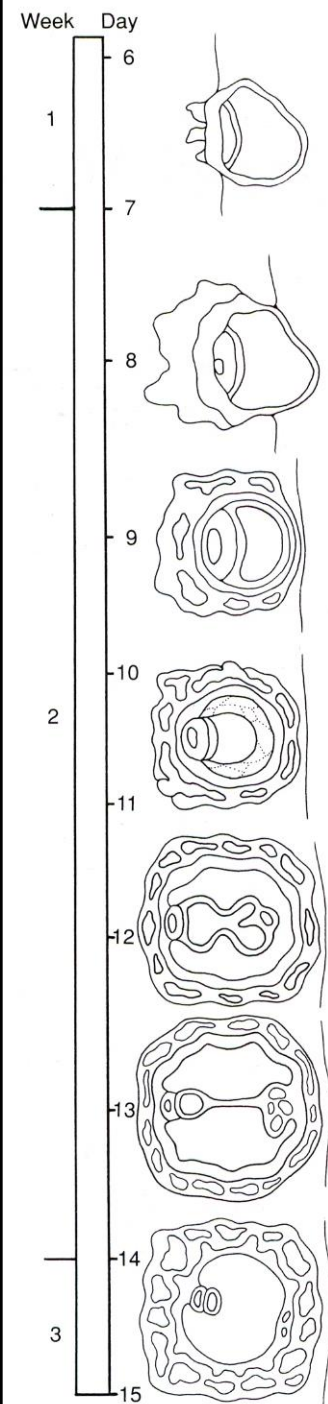
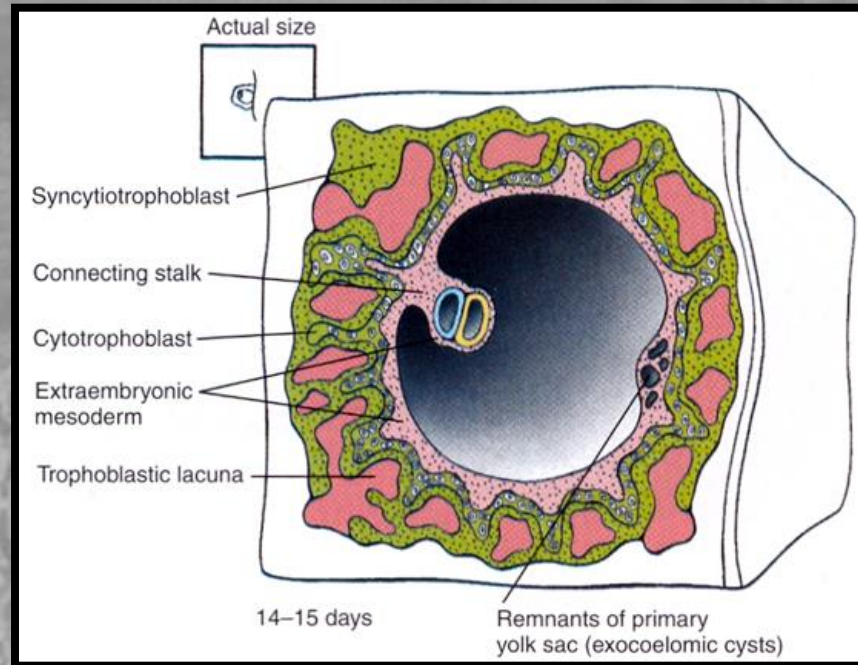
13 days



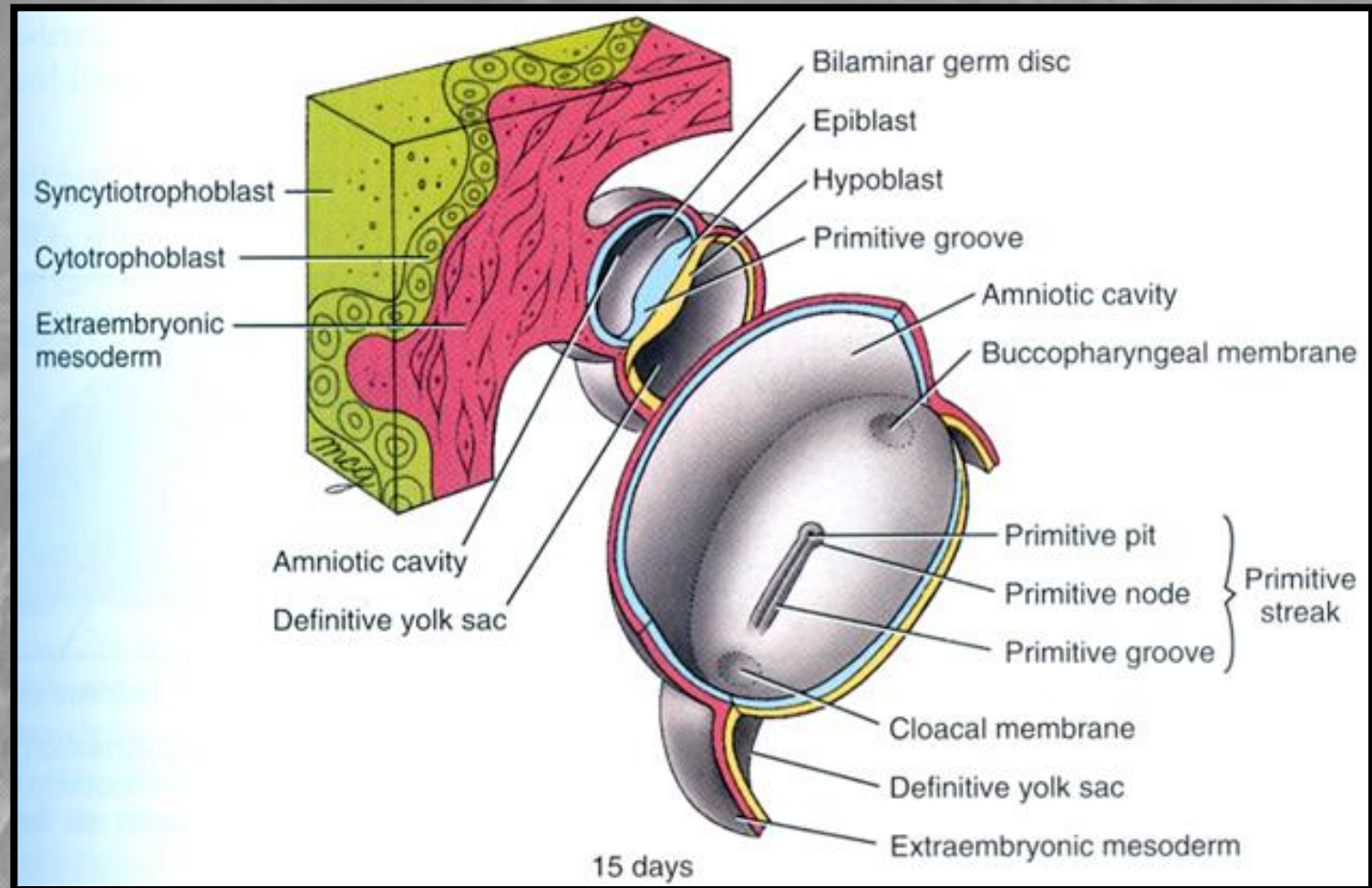
Vývoj klků chorionu a přenos živin mezi krevním oběhem matky a embrya



Výsledný bilaminární (dvouvrstevný) zárodečný disk/terčik konec 2 týdne (14-15 dpc, human)



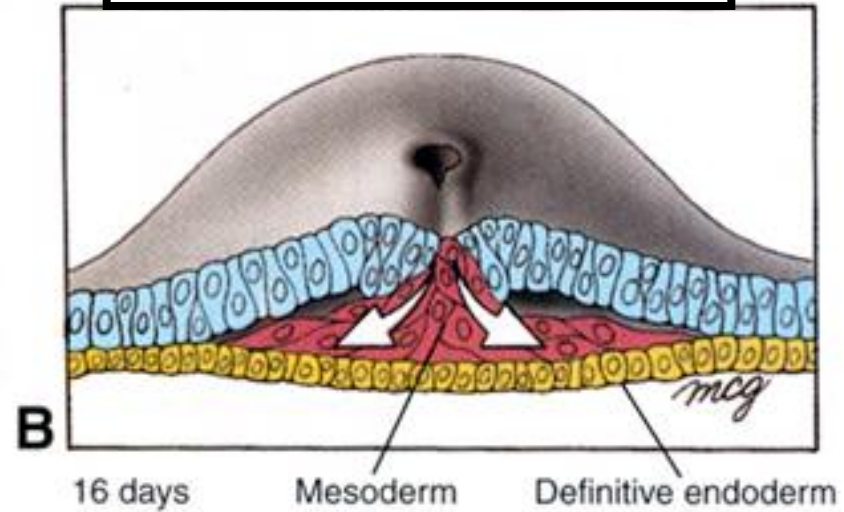
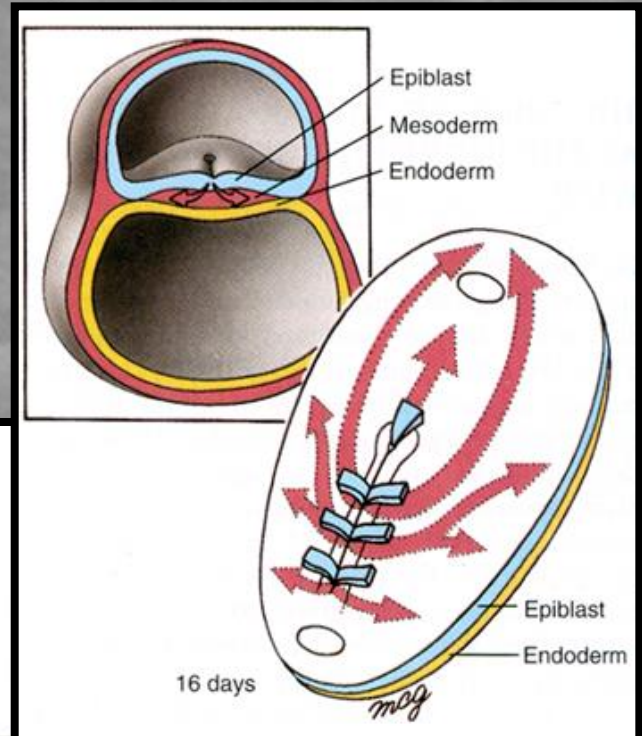
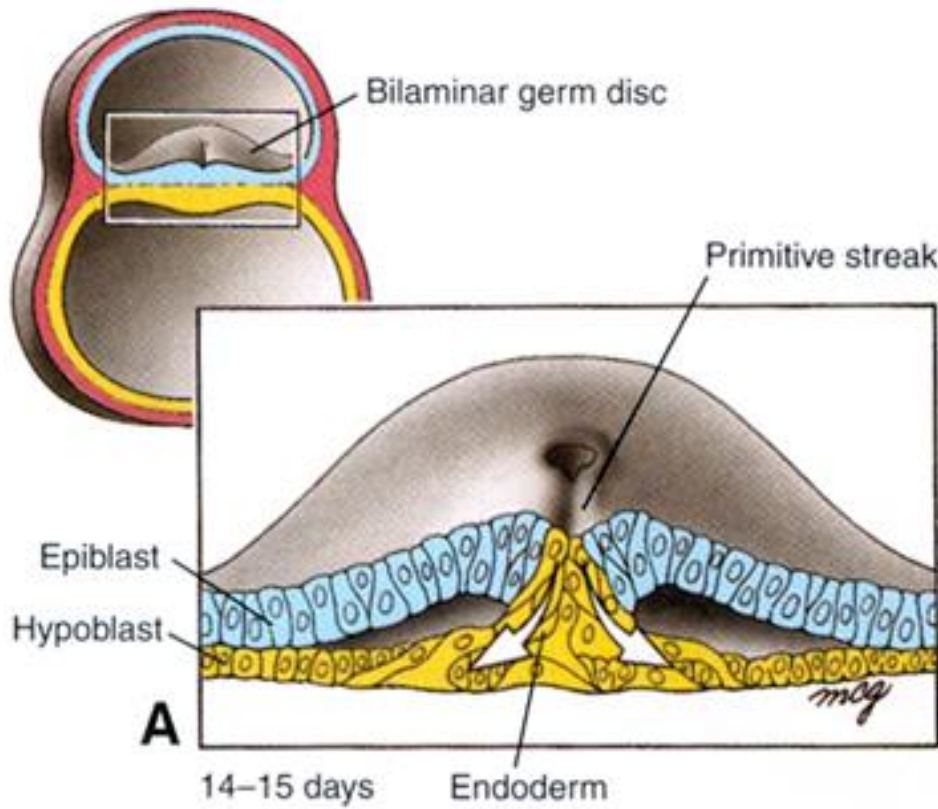
Trilaminární (třívrstevný) zárodečný disk/terčik, somity a neurální trubice



Primitivní proužek = primitivní (Hensenův) uzel + primitivní rýha + primitivní jamka
- ustanovení předozadní a dorso-ventrální symetrie

Vývoj intraembryonálního mesodermu -> trilaminárního disku / terčičku

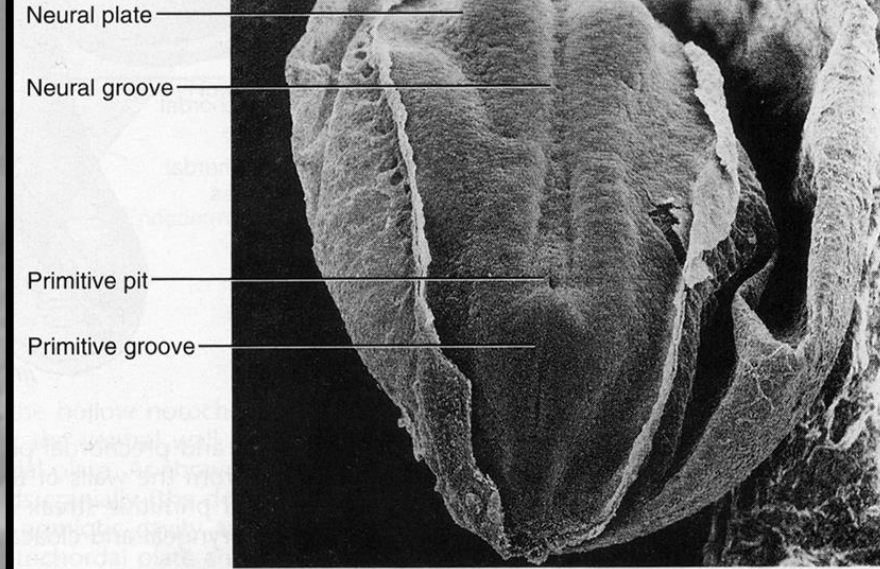
definitivní endoderm = entoderm
primitivní jamka -> prechordální destička
-> formování notochordu



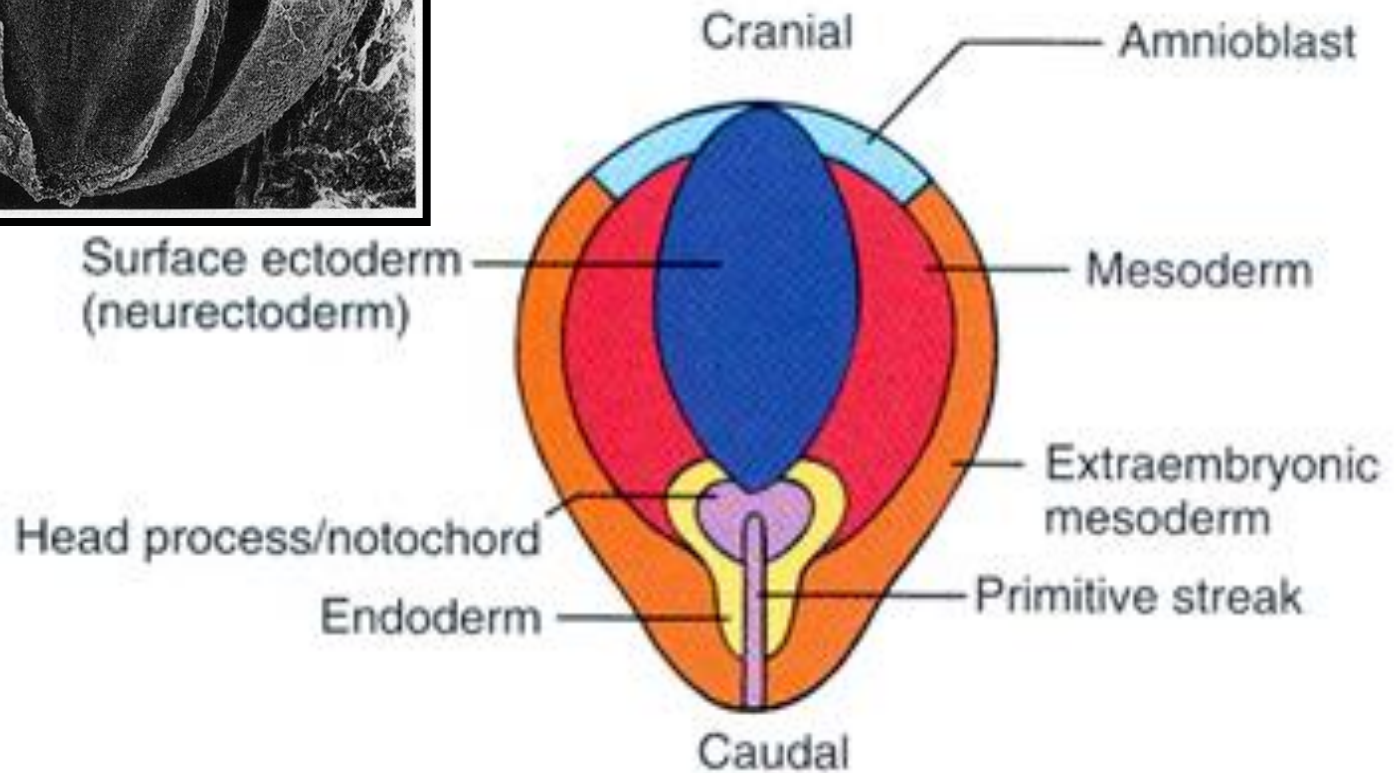
Signalizace:

primitivní proužek - Nodal (TGFbeta), indukce ventrálního mesodermu - BMP4/FGF8
indukce dorzálního mesodermu - Chordin, Noggin, Follistatin -(z H. uzlu)

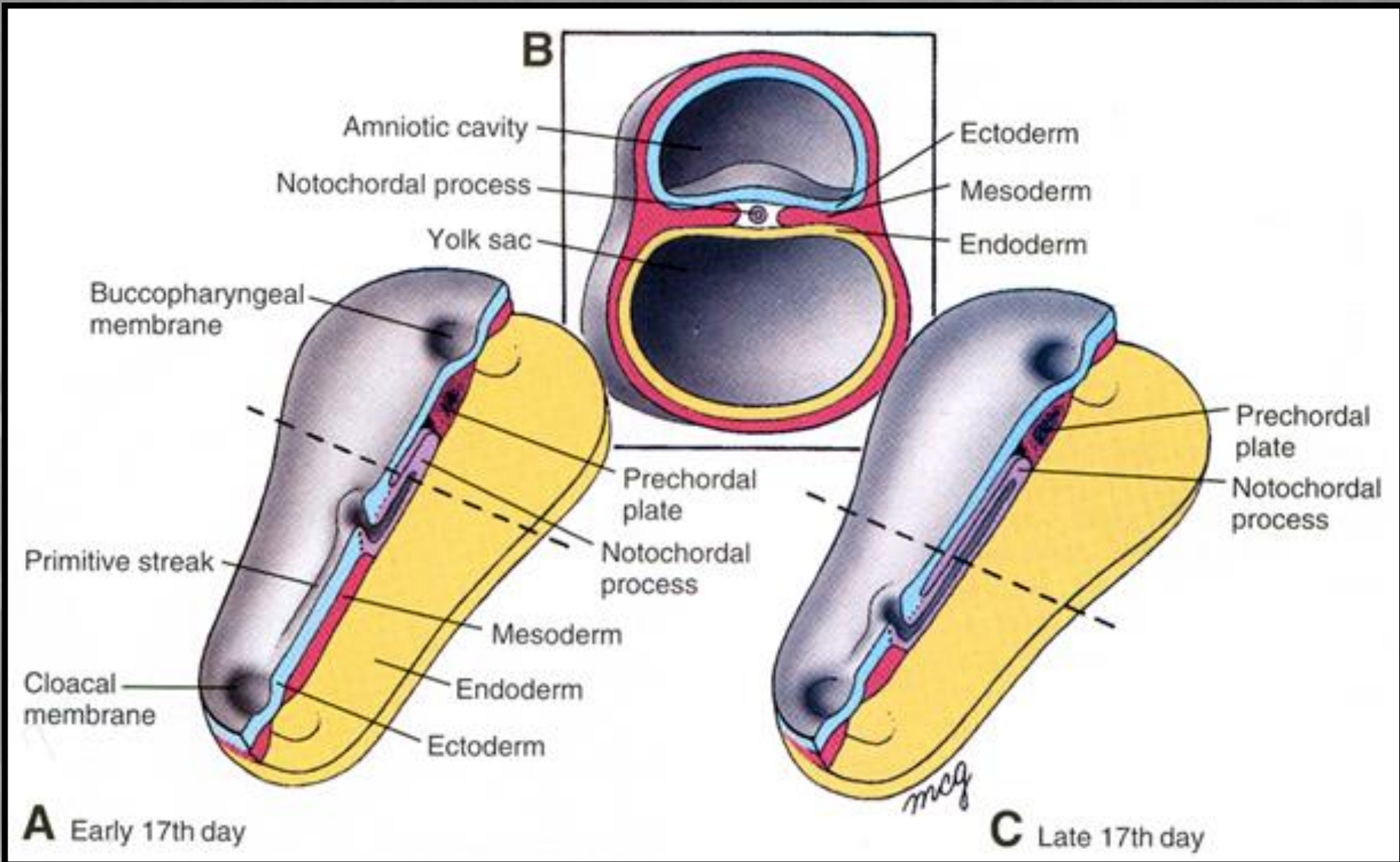
Povrch ektodermu trilaminárního zárodečného disku 19 denního lidského embrya
(scanning electron micrograph)

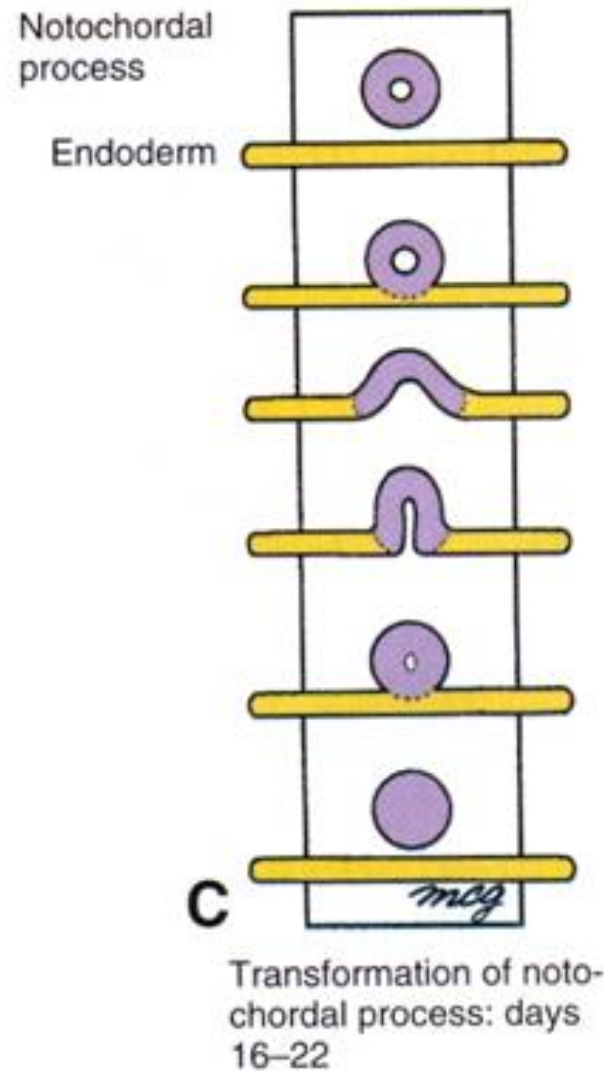
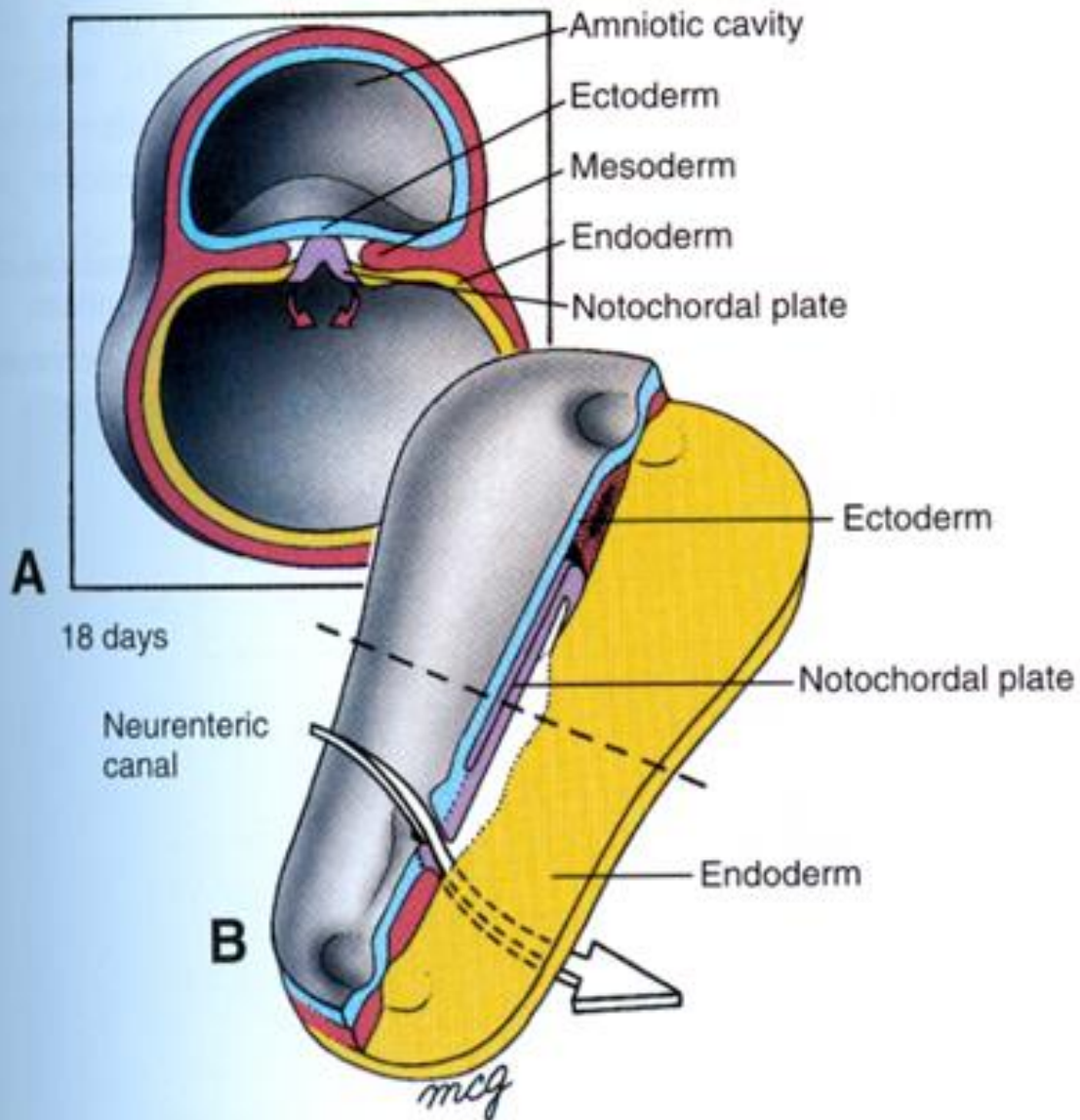


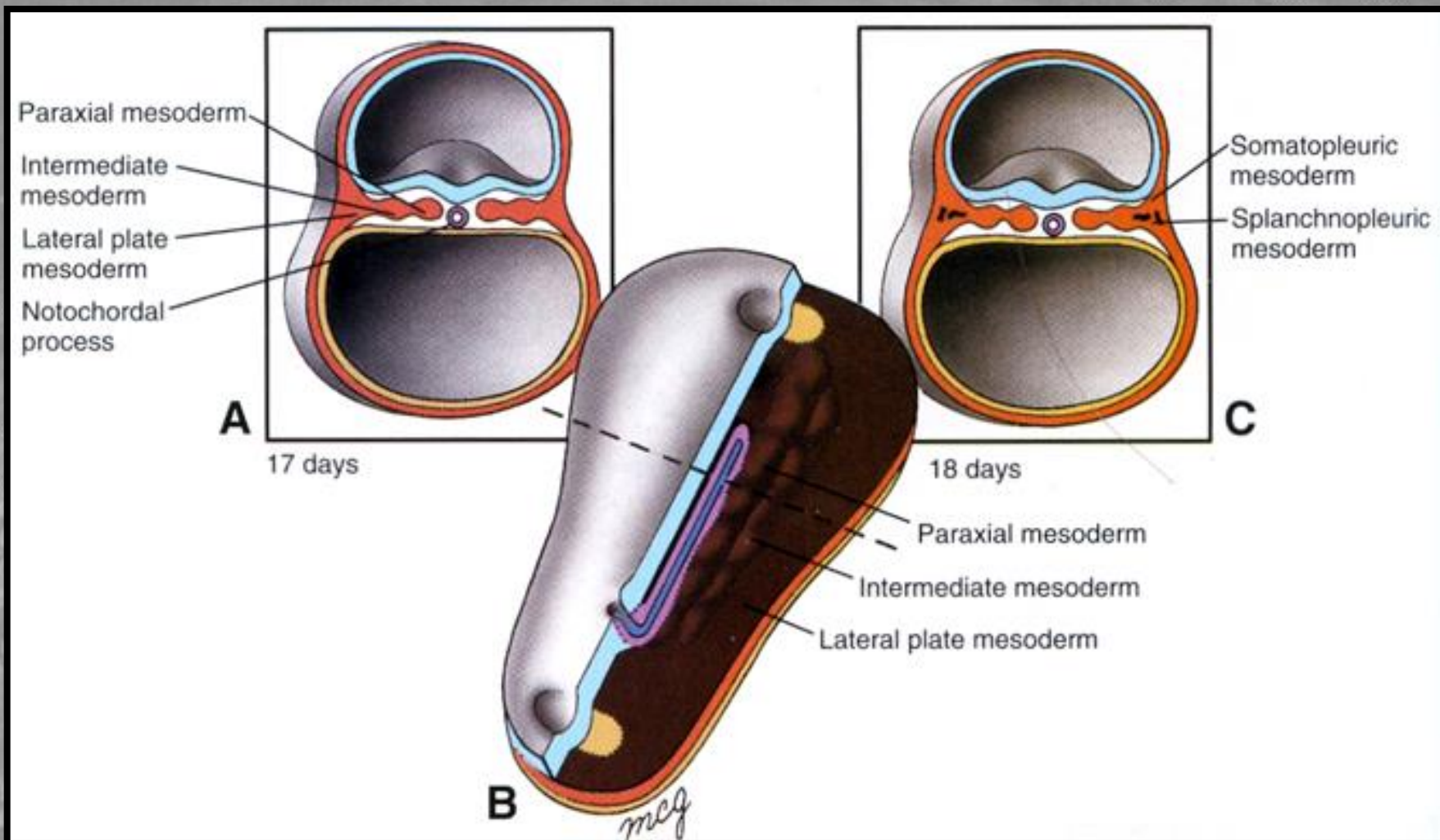
Mapa specifikace buněk epiblastu (myš)



Tvorba notochordu







paraxialní mesoderm >>> axiální skelet, svalovina, část dermis / škáry

intermediální mesoderm >>> urinární systém a část pohlavních orgánů

laterální lišta mesodermu

a) + ektoderm = somatopleurální mesoderm >>> končetiny, většina škáry

b) + endoderm = splanchnopleurální mesoderm >>> mezotel kryjící vnitřní orgány

Regulace tvorby kostry (skeletom), škáry (dermatom) a kosterní svaloviny (myotom) - somatopleurální mesoderm

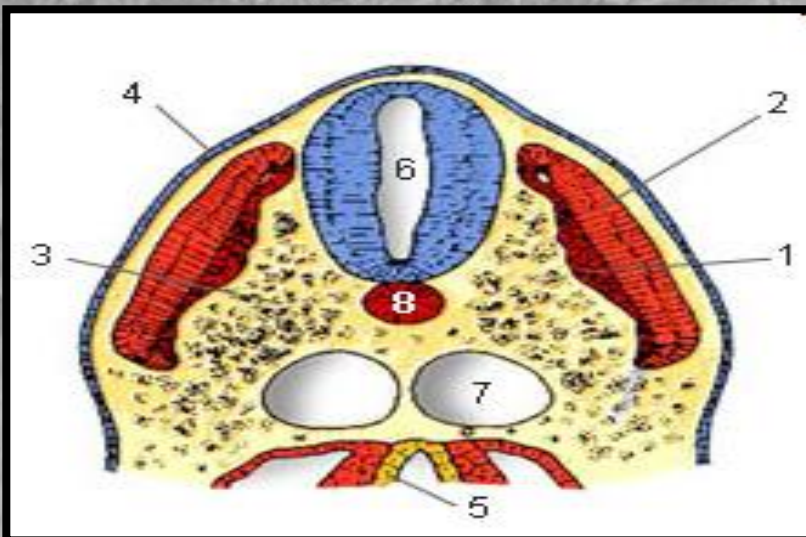
exprese genu Pax3 (dermomomyotom), indukováno - Wnt z dorzální ploténky medulární (neurální) trubice

exprese genu myoD (svaly končetin), indukováno - BMP-4 z laterální ploténky mezodermu
- Wnt z epidermis

exprese genu myf5 (zádové svaly), indukováno - Wnt z buněk dorzální ploténky medulární (neurální) trubice

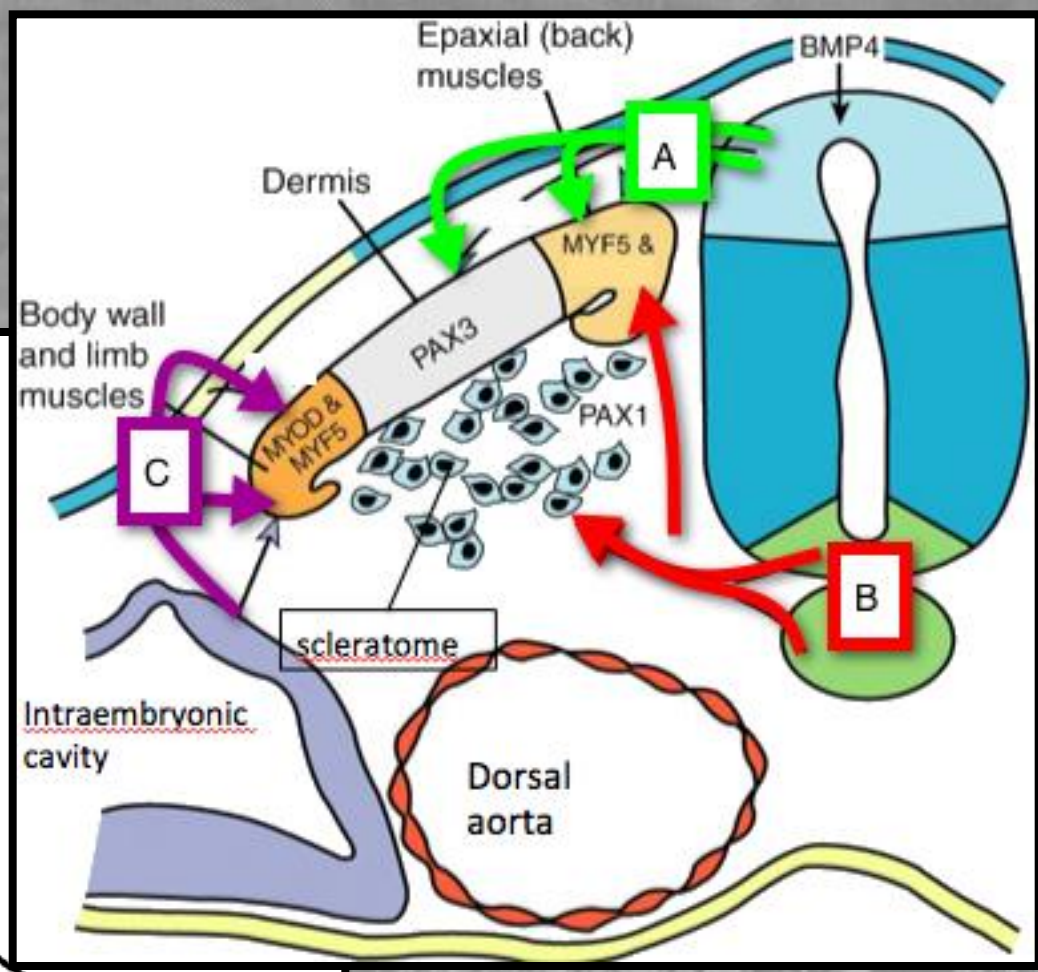
exprese genu Pax1 (sklerotom), indukce SHH (Sonic Hedgehog) z buněk chordy a bazální/ventrální ploténky medulární(neurální) trubice

neurotrofinem-3 (NT-3) uvolňovaná z buněk dorzální ploténky indukuje mediální část v škáru (dermatom)

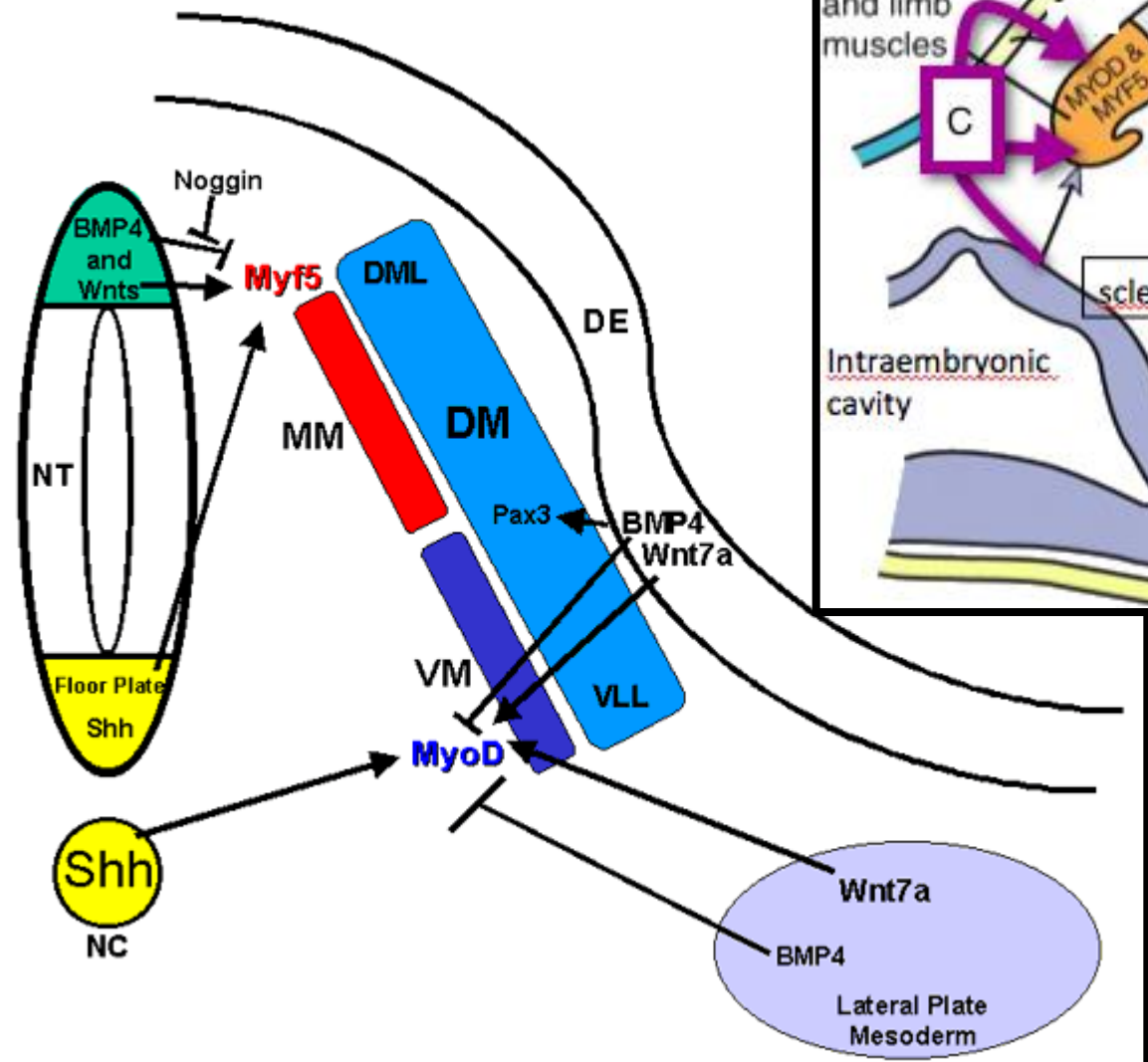


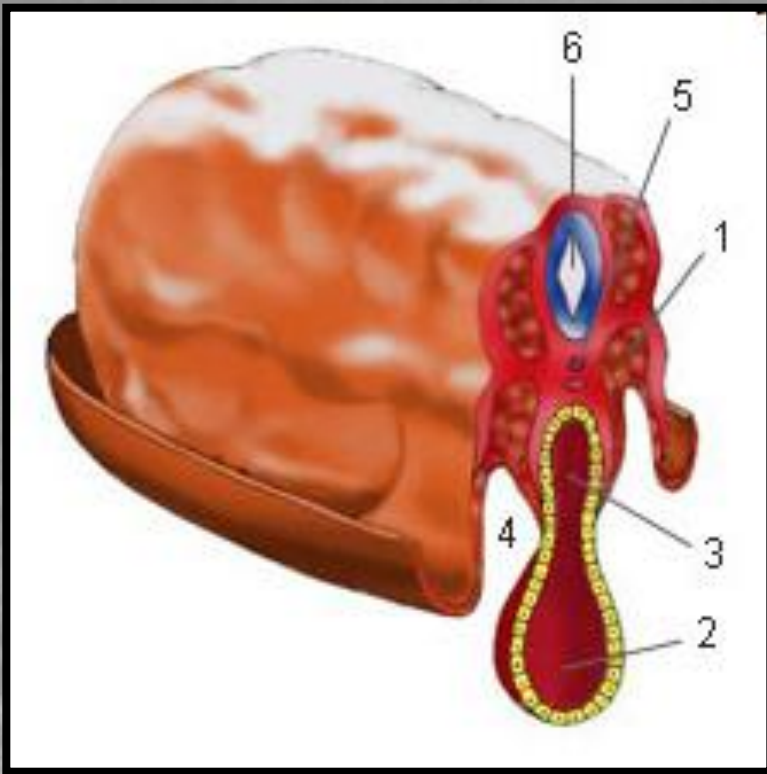
Differentiation of somites

1. Myotome
2. Dermatome
3. Sclerotome
4. Surface ectoderm
5. Endoderm
6. Neural tube
7. Dorsal aorta
8. Notochord



A - Wnt
B - Shh
C - BMP4

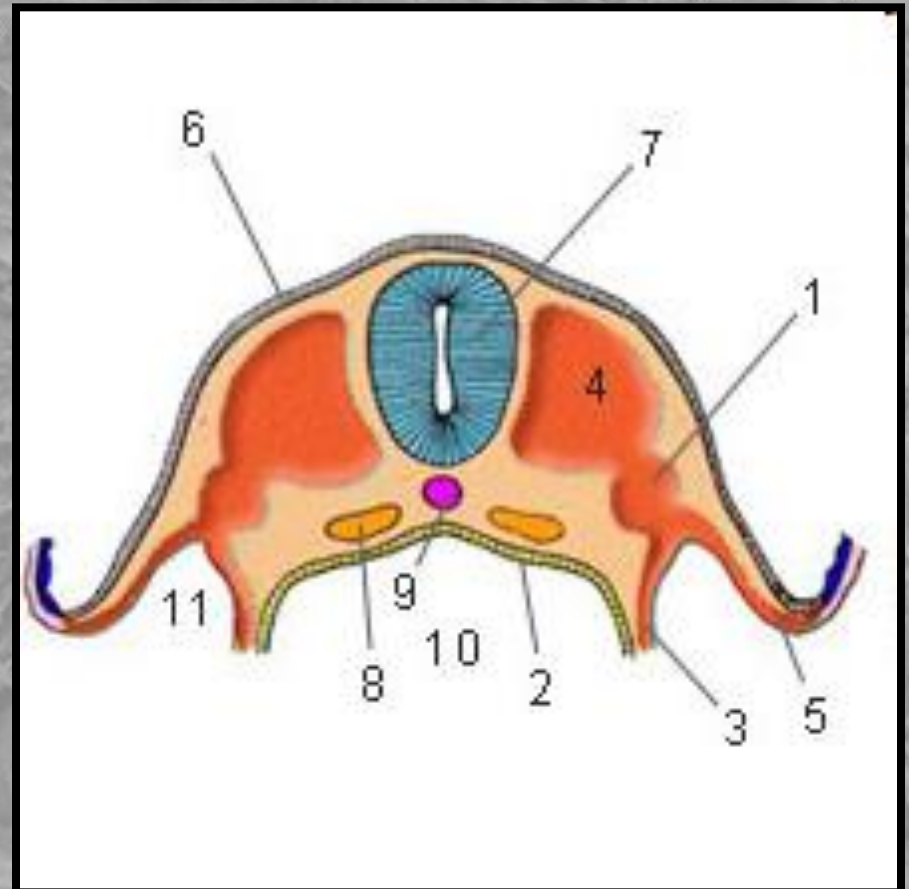




1. Intermediate mesoderm
2. Yolk sac
3. Gut
4. Intraembryonic coelom
5. Notochord
6. Neural tube

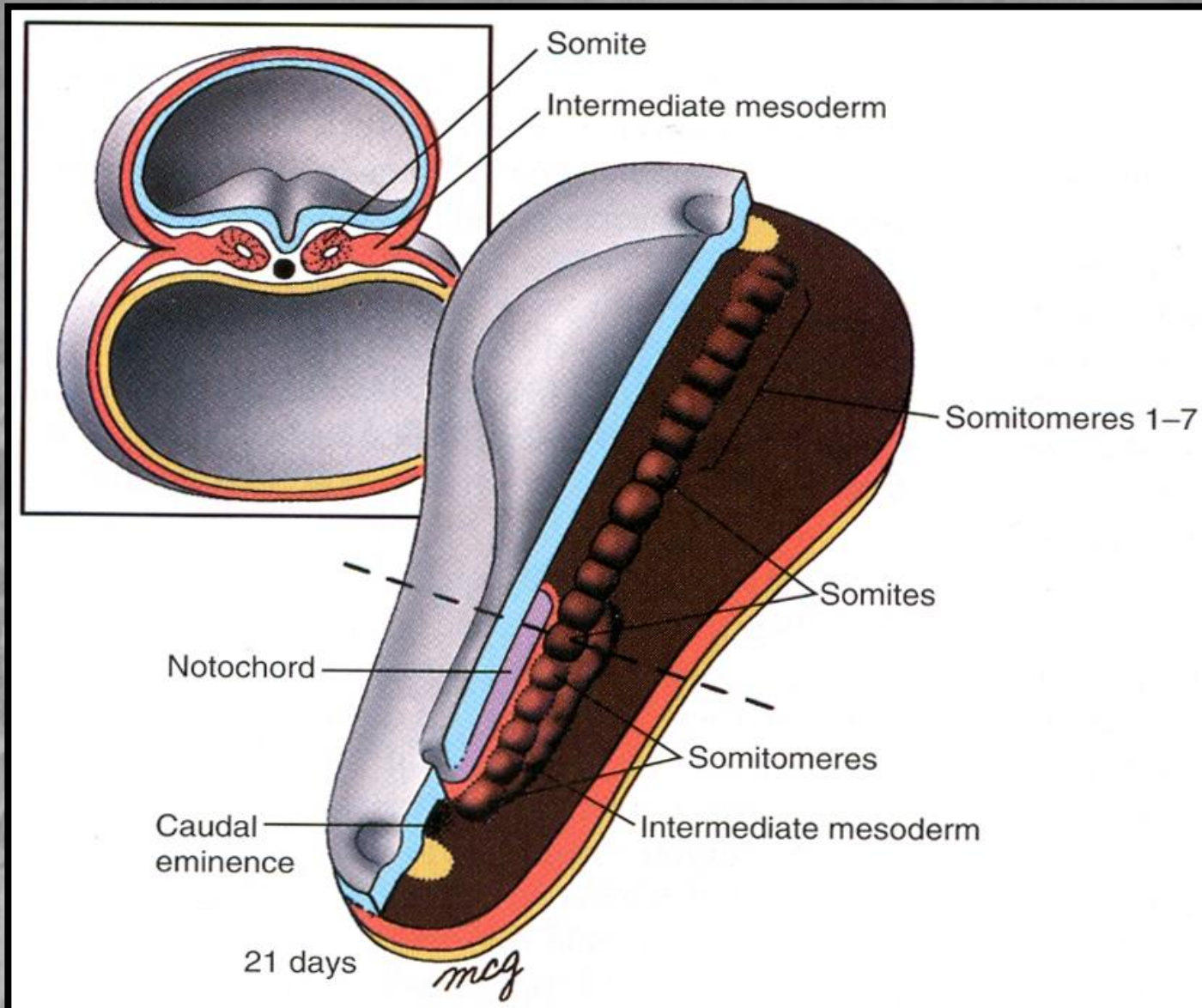
Derivatives of mesoderm 21. day

1. Intermediate mesoderm
2. Endoderm
3. Splanchnic mesoderm
4. Somite
5. Somatic mesoderm
6. Surface ectoderm
7. Neural tube
8. Dorsal aorta
9. Notochord
10. Yolk sac
11. Intraembryonic coelom



Tvorba somitů ze somitomer

- postupně kaudálním směrem
- prvních 7 somitomer (kraniálních) zůstává, později >>> tvář, čelist, hrdlo

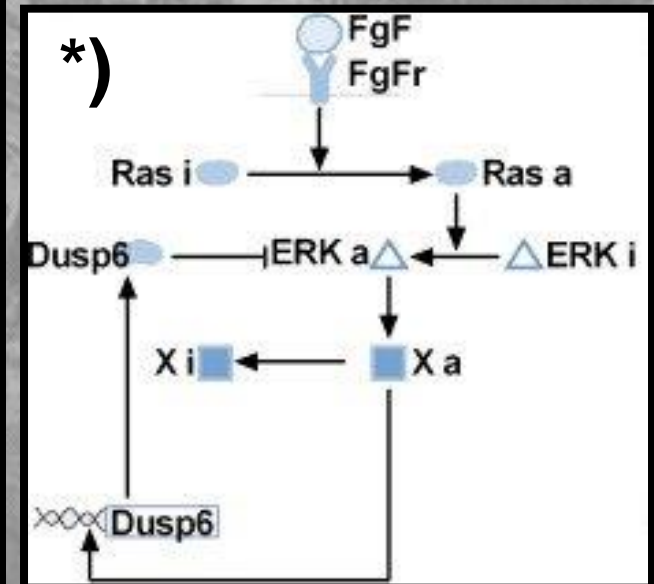
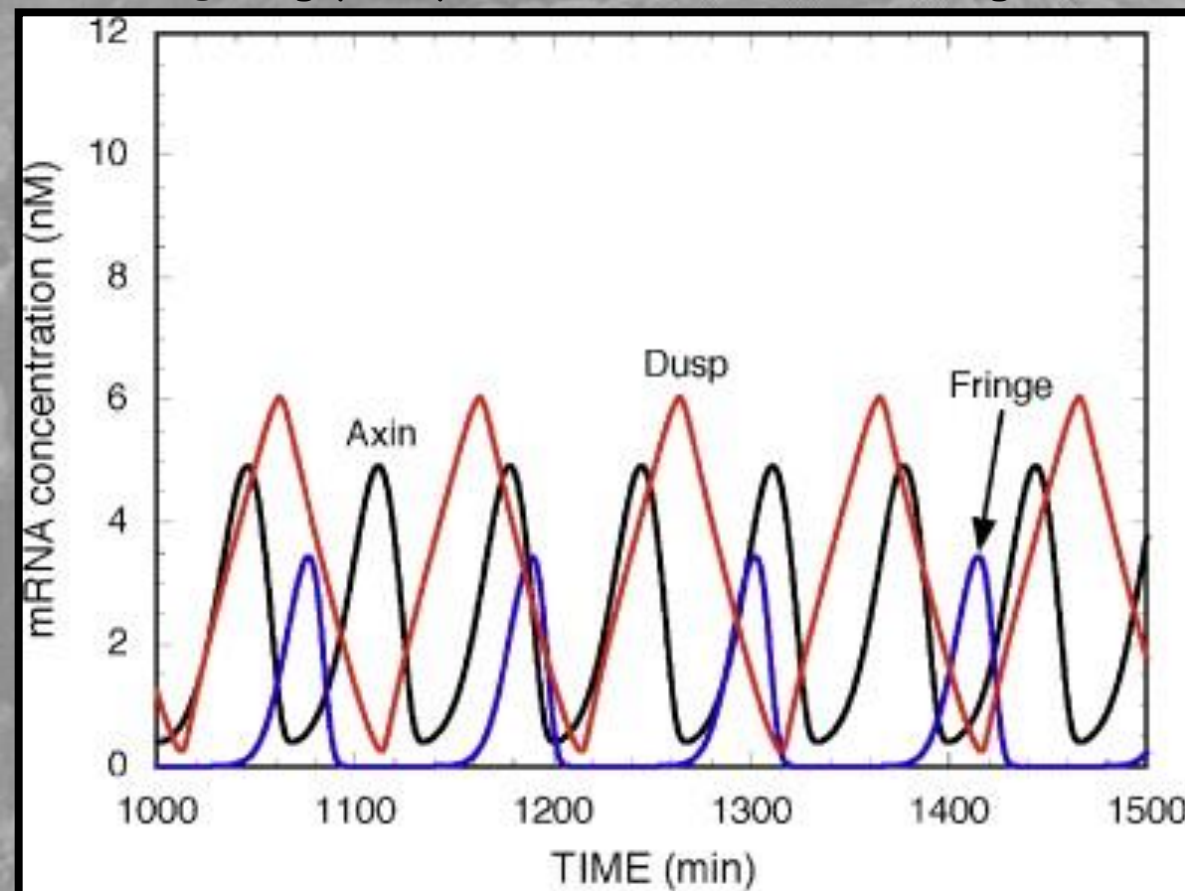


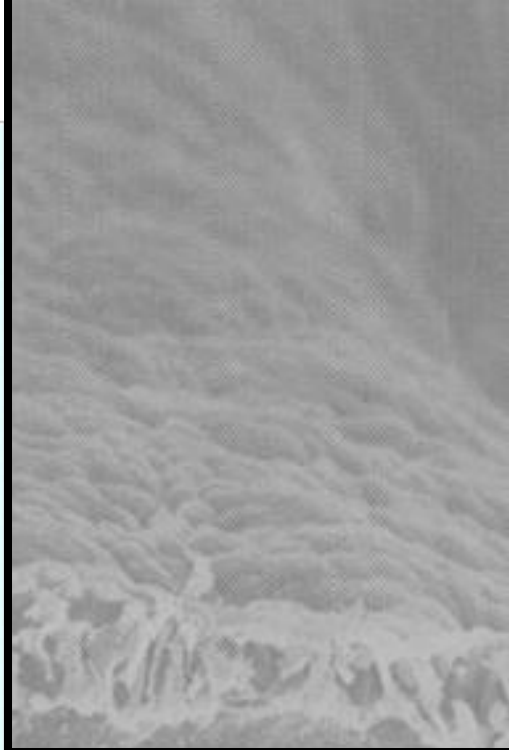
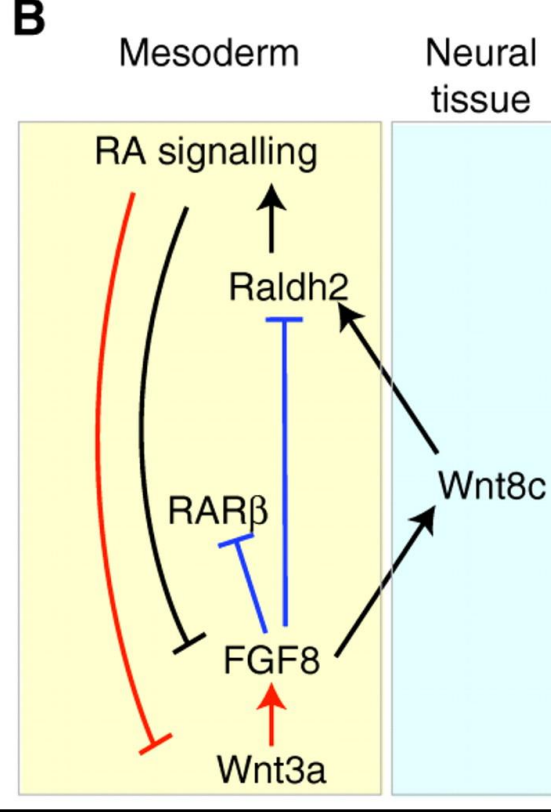
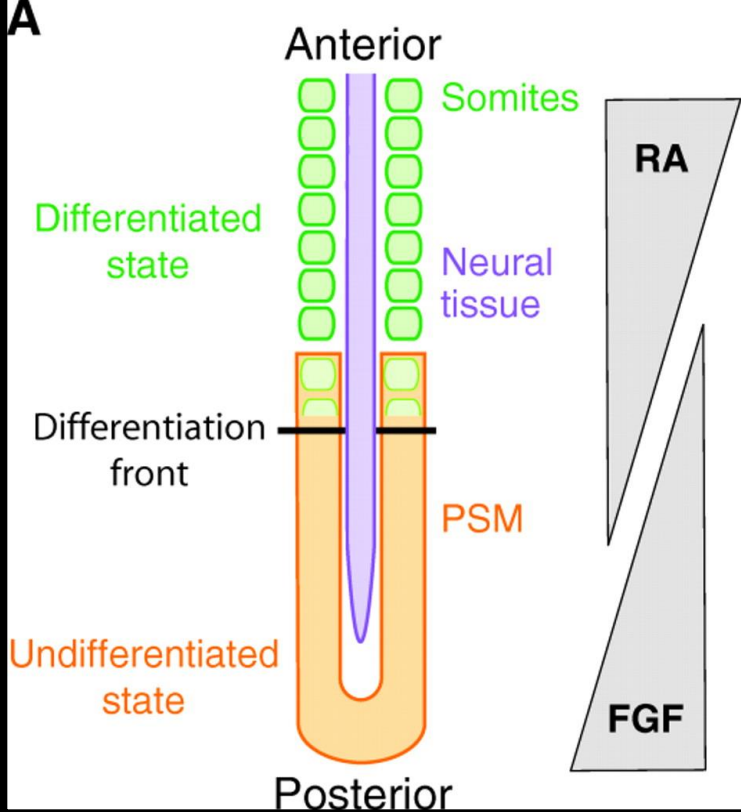
Segmentace somitů je zejména dána/řízena cyklováním drah transdukce signálu FGF, Wnt a Notch

Axin - komponent signalizace Wnt

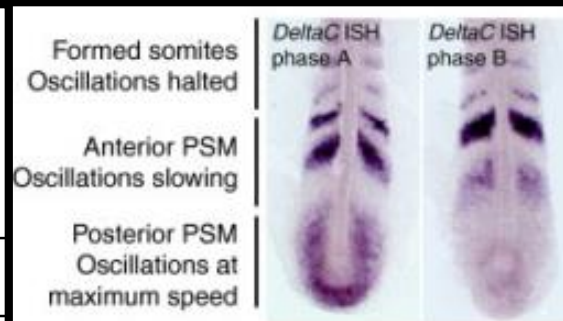
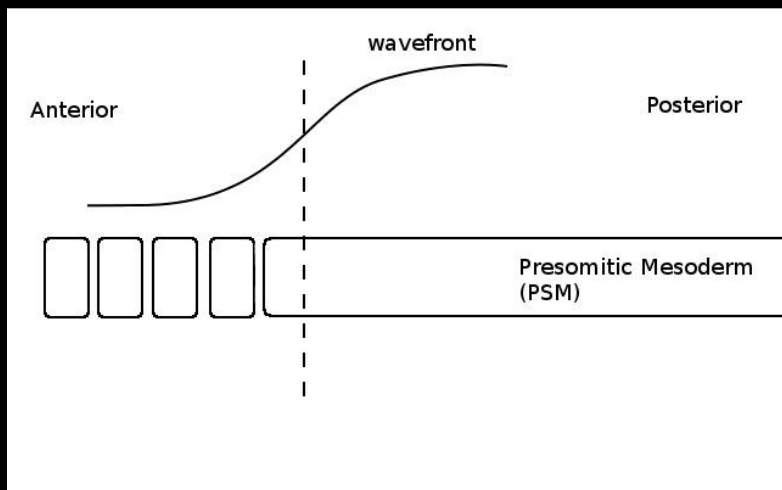
Dusp*) - fosfatáza, součást negativní zpětné vazby signalizace FGF

Fringe - glykosyltransferáza, součást signalizace Notch

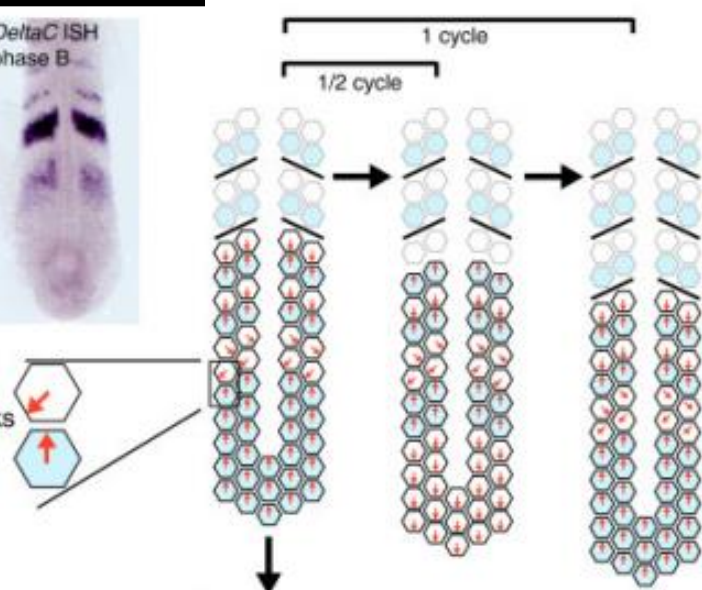




(b)

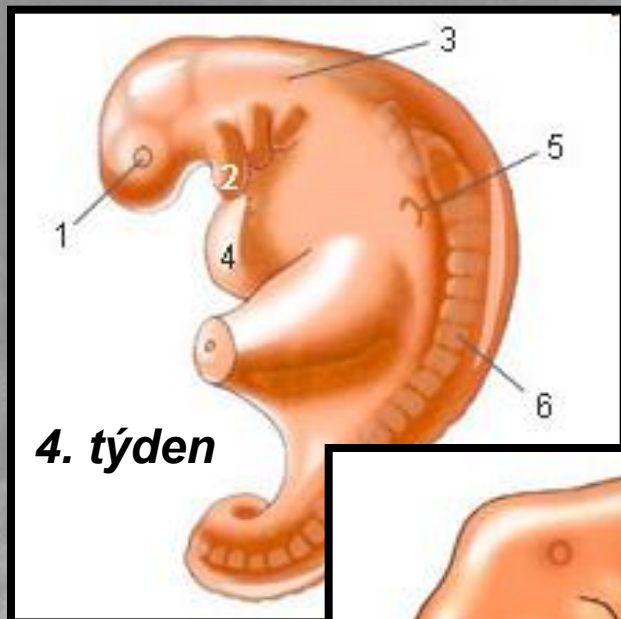


Individual cell clocks
in different phases
of the clock cycle

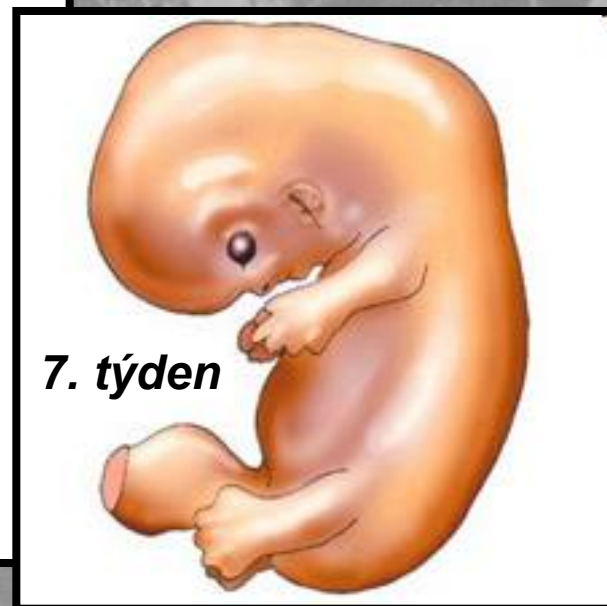
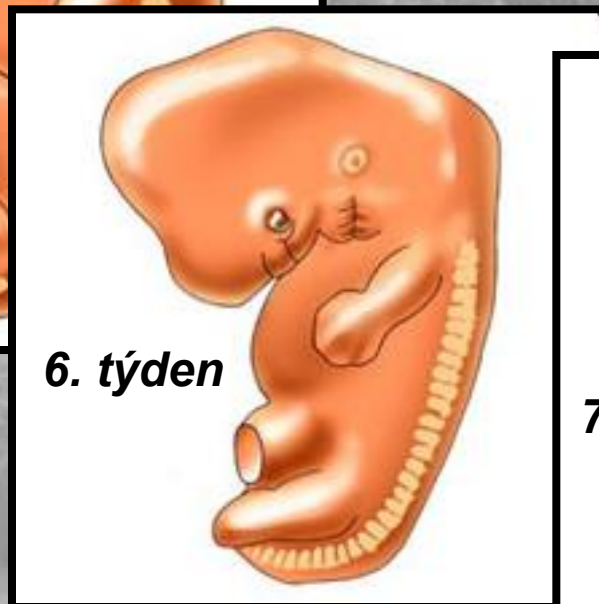
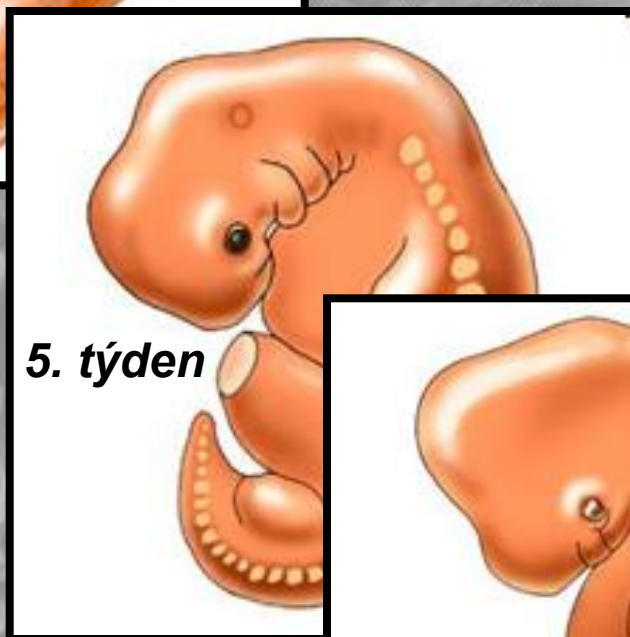


Caudal growth

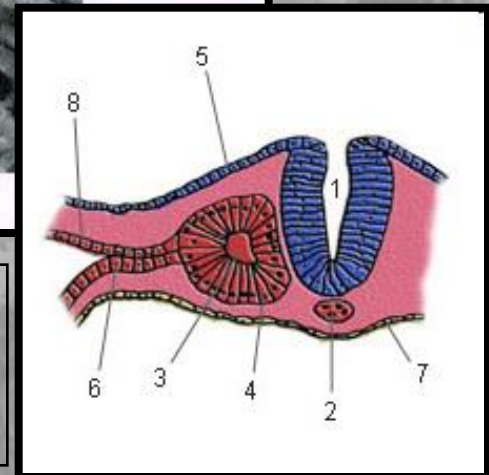
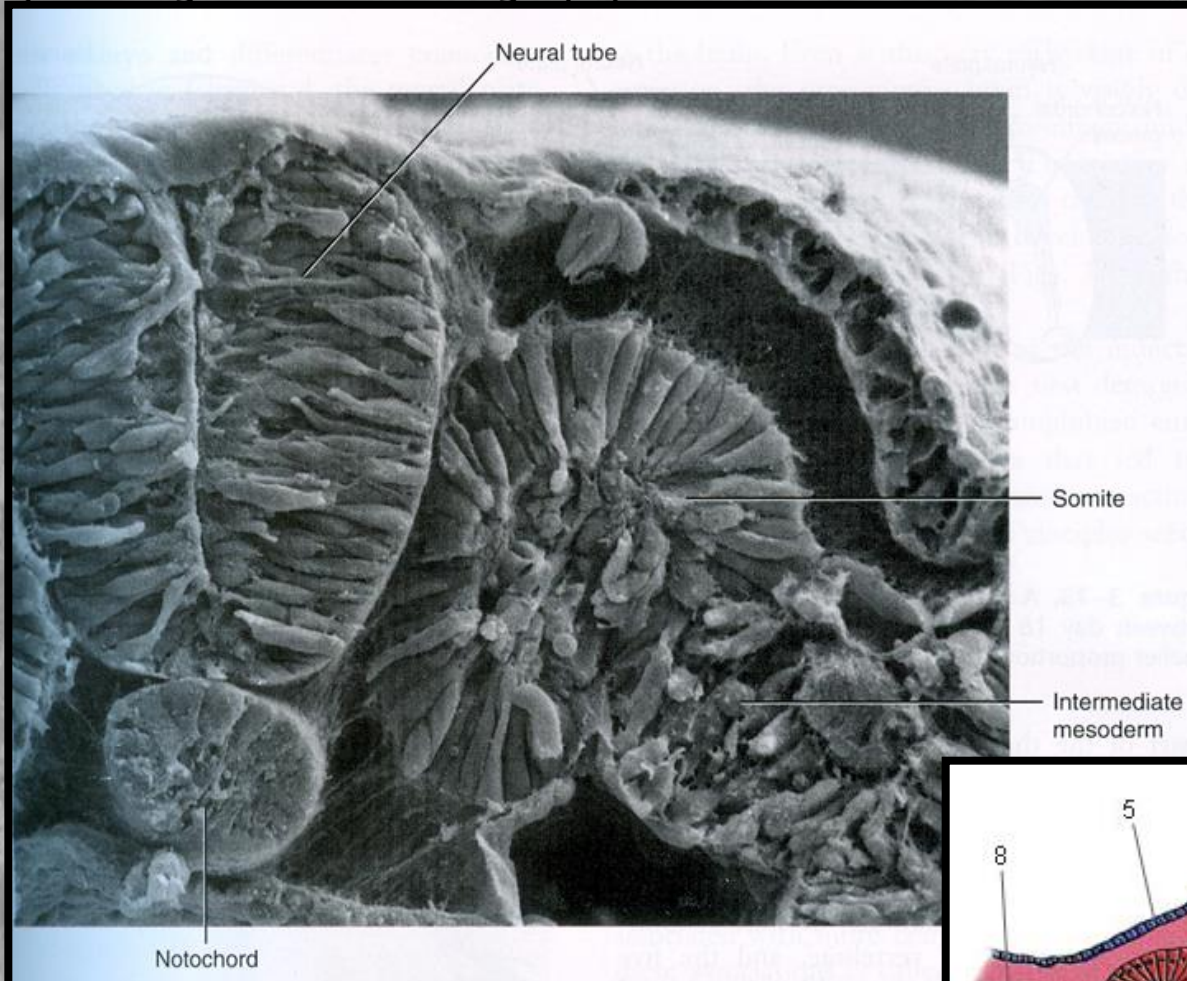
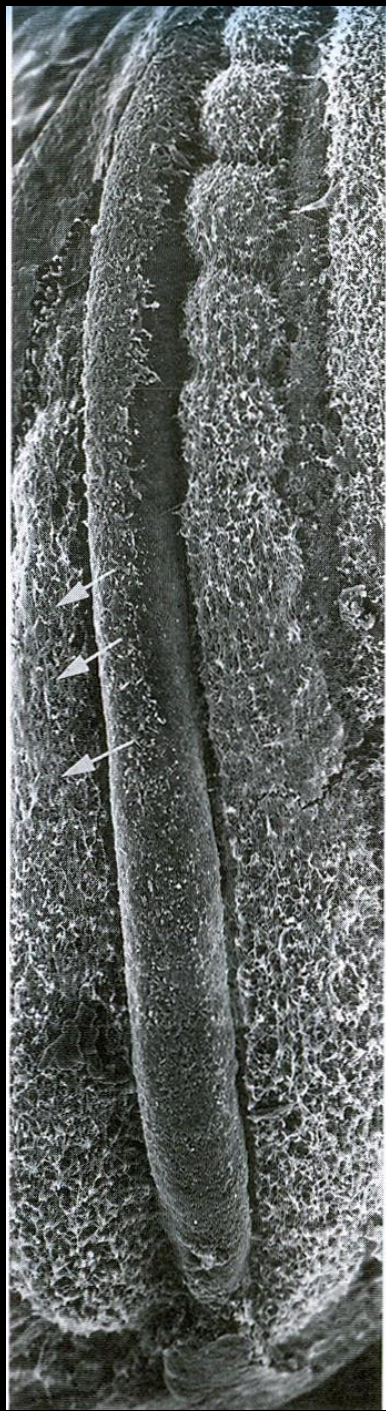
Somity 1-7 se podílejí na formování obličeje



1. Lens placode
2. Pharyngeal arches
3. Otic placode
4. Heart bulge
5. Limb ridge
6. Somites

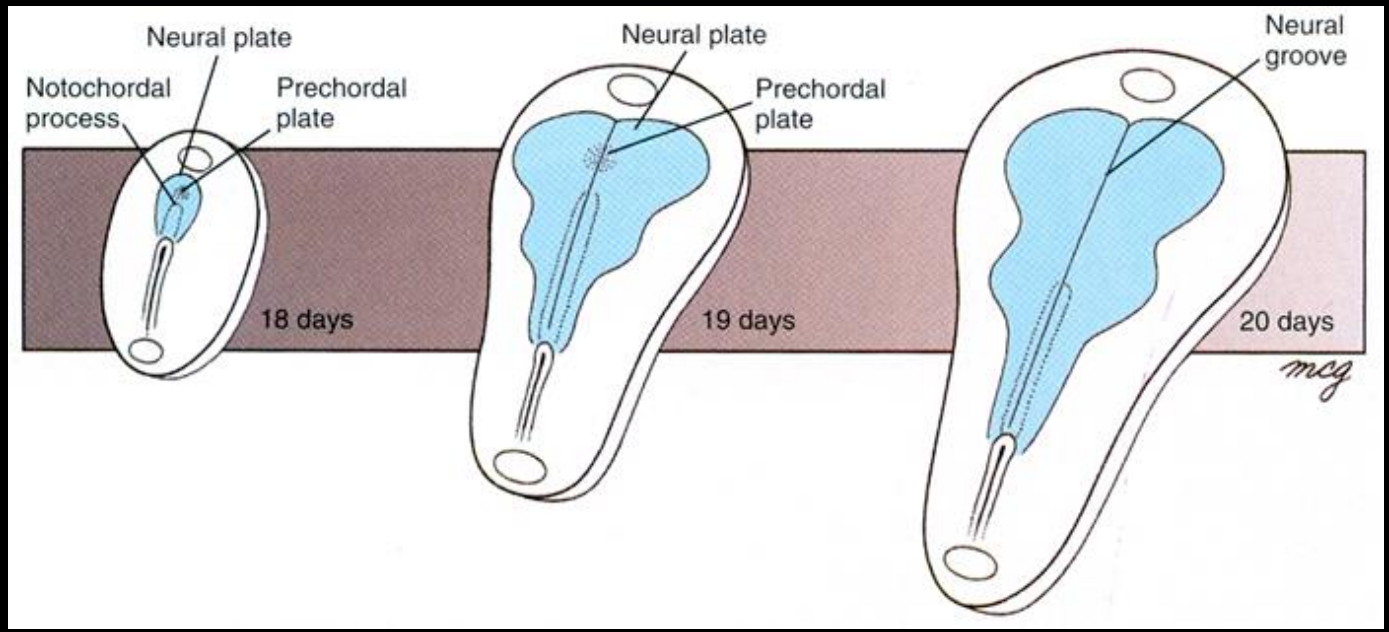


**Morfologie segmentujících somitů (po odstranění ektodermu)
a příčný řez dorsální částí embrya, 21 dpc, human
(scanning electron micrograph)**

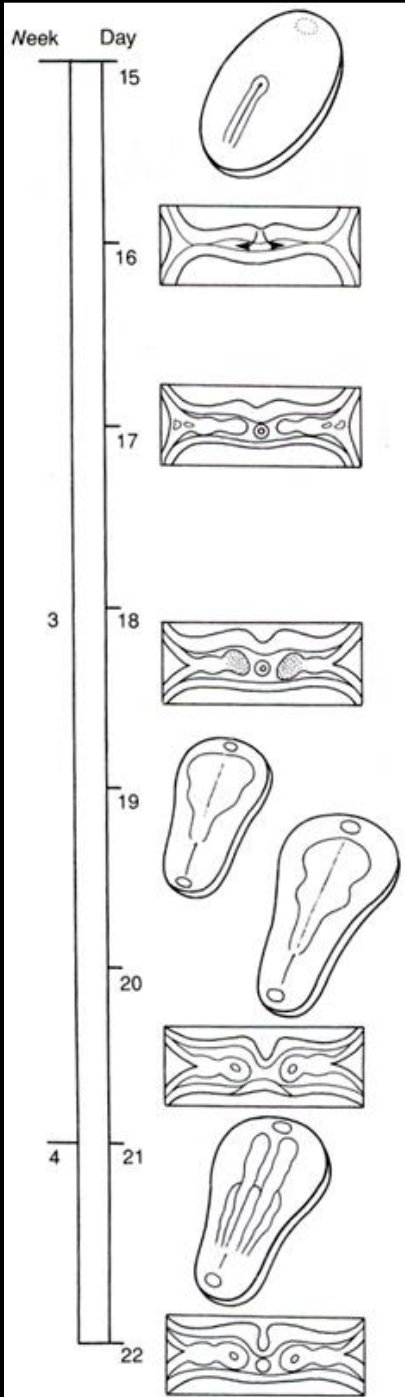


- 1. Neural groove, 2. Notochord, 3. Somite
4. Ventral somite wall, 5. Surface
ectoderm, 6. Intermediate mesoderm, 7.
Endoderm, 8. Lateral plate**

Schema růstu neurální lišty a celková změna velikosti embrya (18 - 20 dpc)



20 denní lidské embryo s neurální lištou, mozkovou částí a zbytky primitivního proužku mizejícího 25 den (scanning electron micrograph).

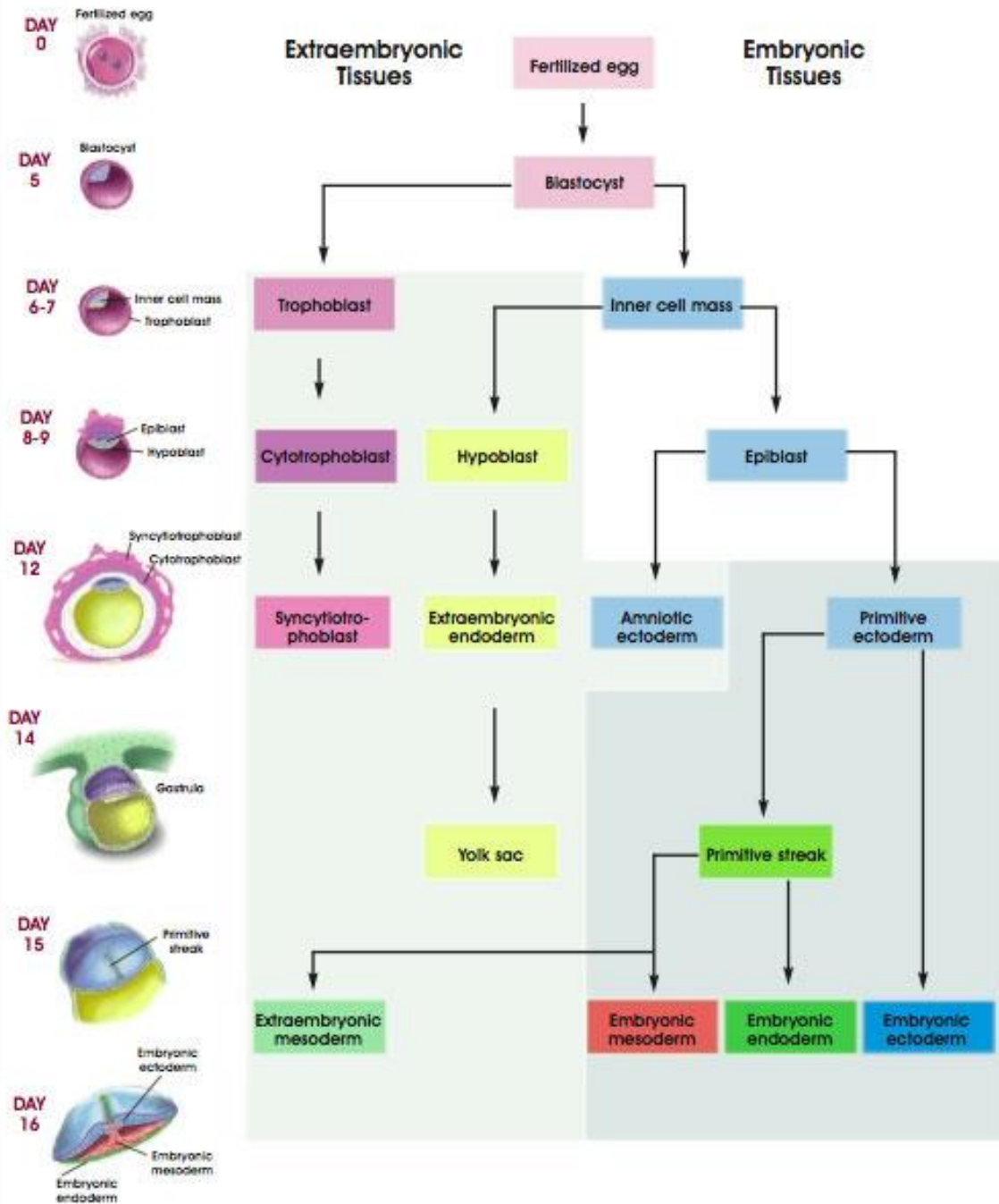


Regulace gastrulace a počátečního formování tkání

- Indukce organizéru (Nieukoop center - obojživelníci, maternal RNA, savci β -katenin, BMP-4, Activin)
- Formování a vývoj organizéru
- Organizace primitivního proužku (hlavička, kmen, ocásek) levo / pravá diferenciací organizéru
- Involuce buněk epiblastu do organizéru
- Přeměna buněk epiblastu (epitelie) na buňky mesenchymu
- Vstoupení a migrace buněk z organizéru => vznik trilaminárního terčíku
- Diferenciací subpopulací endodermu a mesodermu
- Indukce neurální ploténky a následně neurální lišty u buněk epiblastu (nevstupujících do organizéru)
- Kranio-kaudální formování embrya v interakci s dorsalizujícími a ventralizujícími faktory

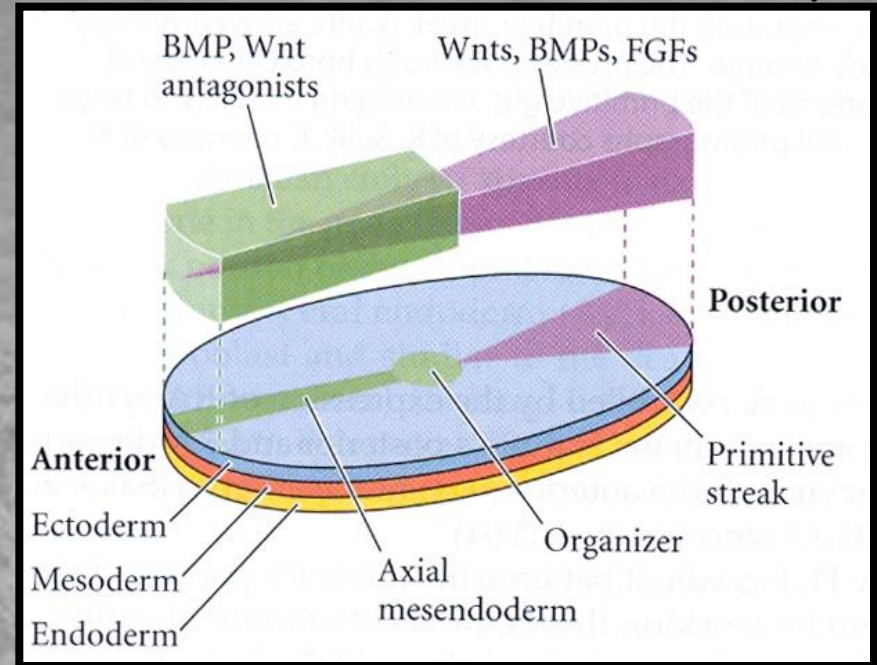
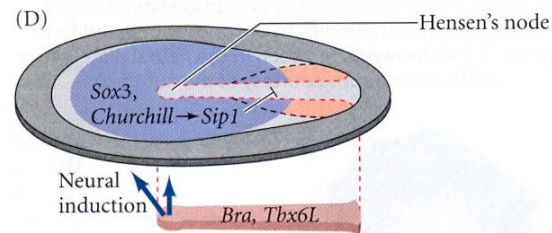
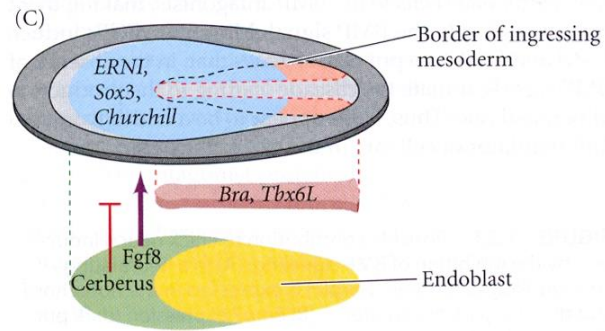
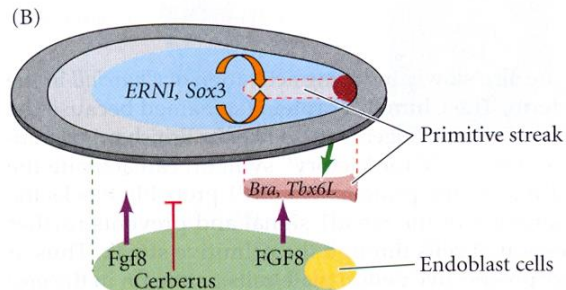
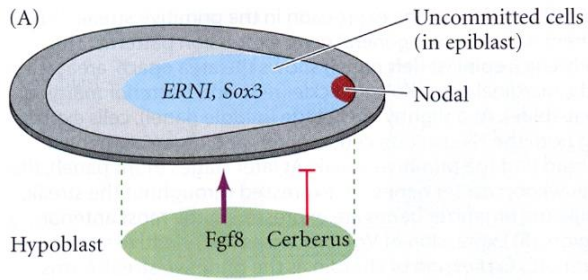
summary

human

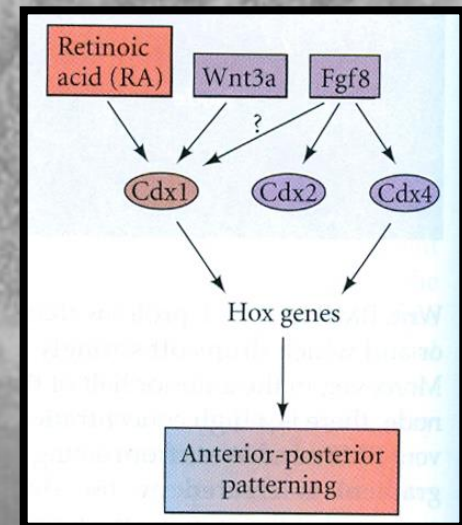
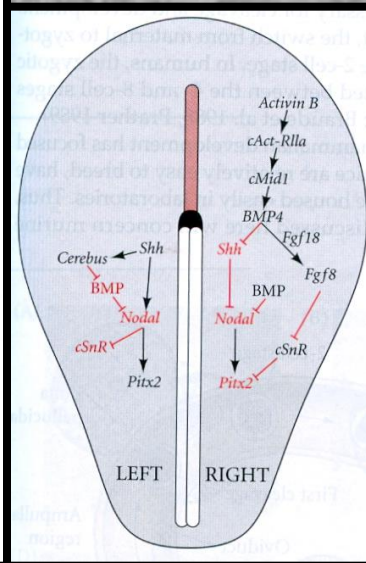


Indukce organizéru a jeho regulátory

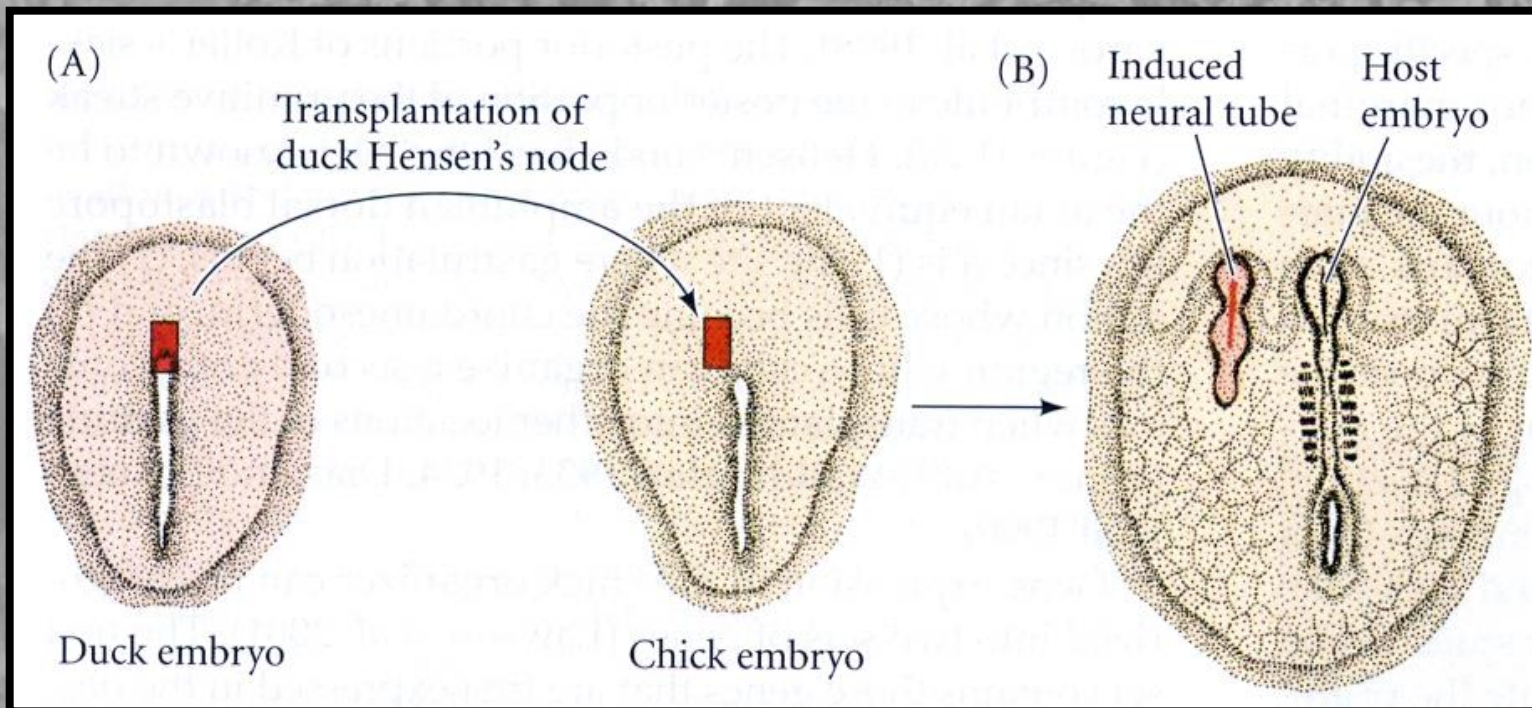
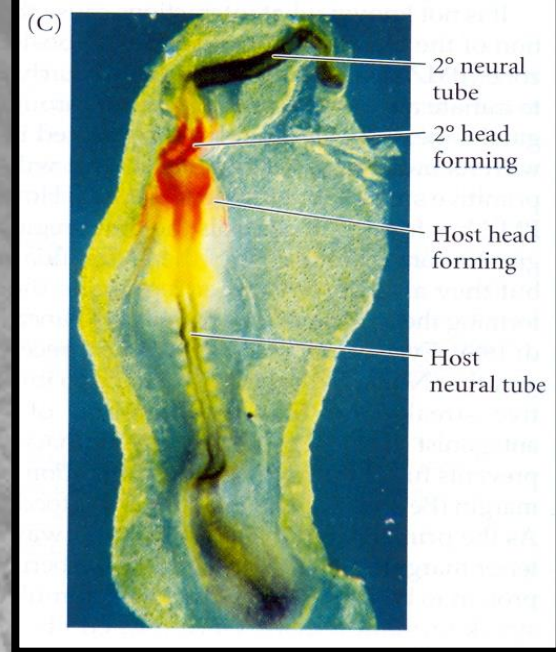
myš



kuře



Potenciál Hensenova uzlíku => indukce dalšího embrya / základu tělní osy



Tvorba paternu těla => Hox geny

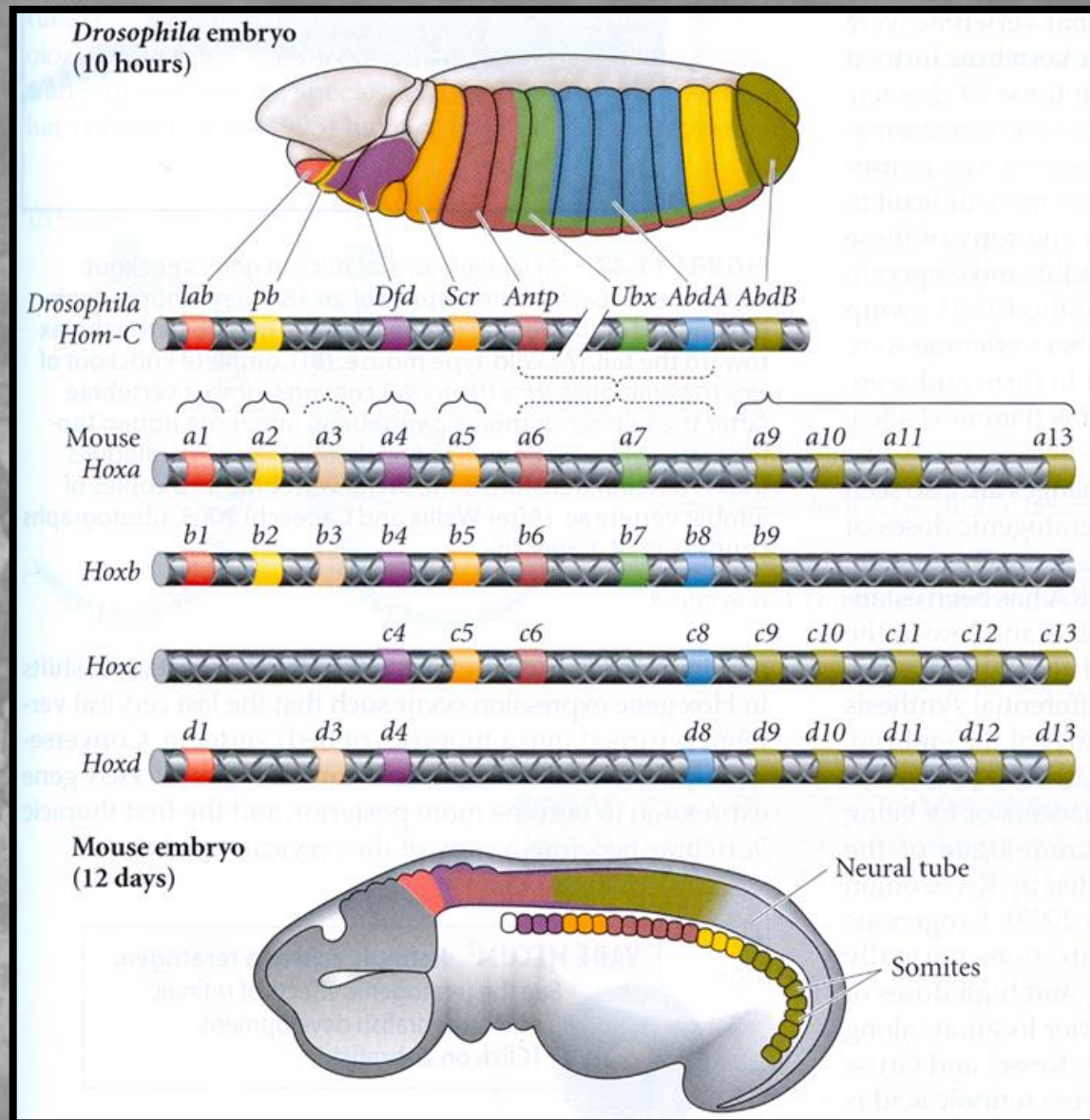
Homeotické geny kódující transkripční faktory

homeobox (seq DNA)
-> homeodoména (prot)

Prostřednictvím homeodomény se váží do promotorů dalších genů

Také master / mistrovské kontrolní geny

Hox geny tvoří u savců 4 komplexy homeobox genů



Nedojde k zahnízdění / nidaci => úhyn blastocysty / embrya

Někteří savci - schopnost embryonální diapauzy

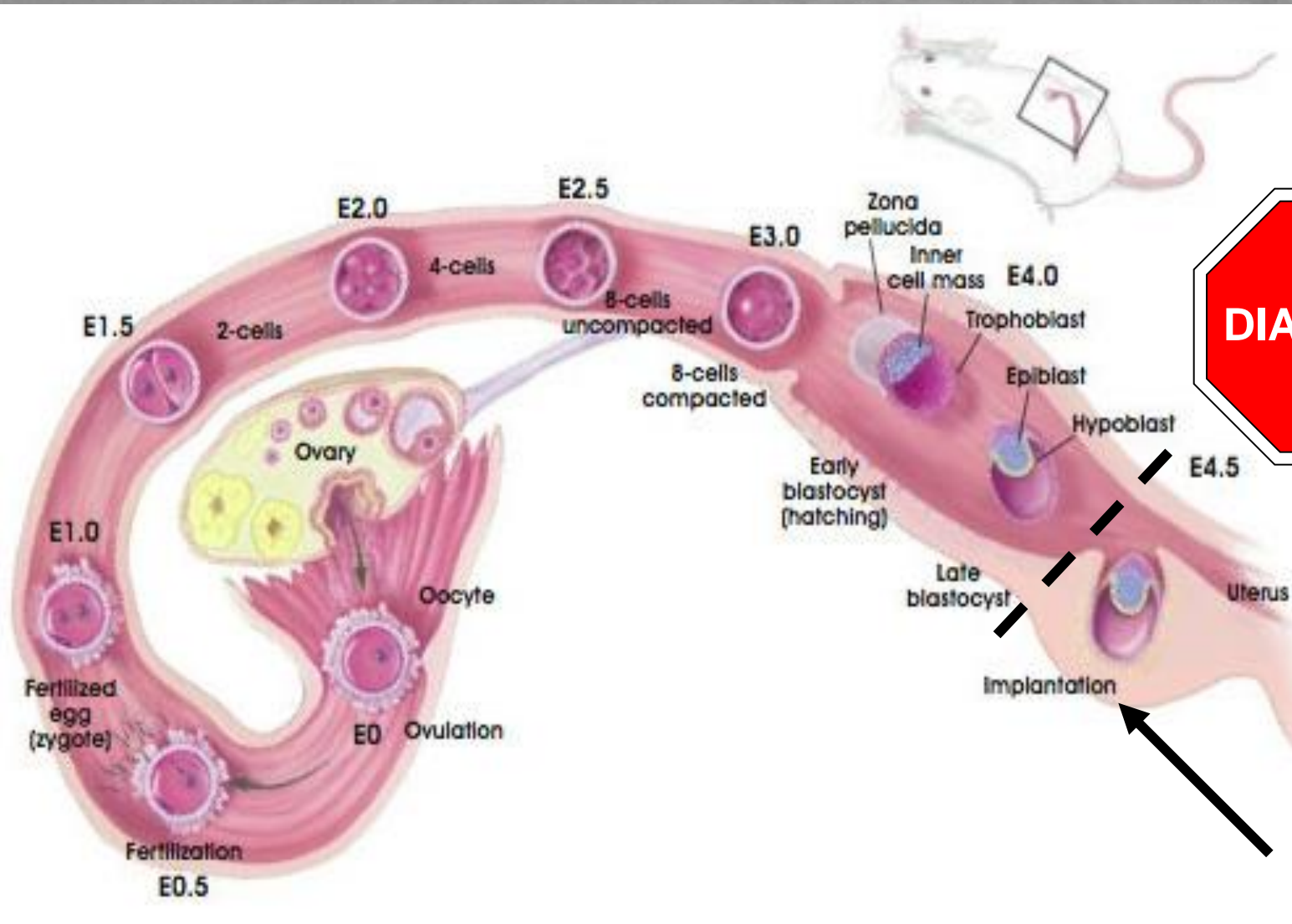
Embryonální diapauza (utajená březost) - zpracoval Jan Kučera, 2009

- evoluční adaptace chránící zárodek i matku před nepříznivým vývojem
- blastocysta zůstane volně v děloze a její vývoj se zastaví

~ 100 savců, 7 řádů

vačnatci, hmyzožravci, letouni, chudozubí, šelmy, hlodavci, sudokopytníci





DIAPAUZA



implantace

Fakultativní diapauza

- Pozastavení vývoje zárodku v důsledku **laktace**
- zabřeznutí krátce po vrhnutí mlád'at **diapauza**
odstavení mlád'at
obnovení vývoje
- Maximalizace produkce mlád'at (není nutné vyhledávat partnera a pářit se)
 - Hlodavci, vačnatci, hmyzožravci



Obligátní diapauza

- V rámci každé březosti
- **Synchronizace** doby páření a vrhnutí potomků do nejvhodnější doby
 - Lasicovitě, tuleňovitě a medvědovitě šelmy, srnec, pásovci, netopýři



Regulace diapauzy

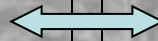
Exogenní faktory

Světlo



Teplo

Metabolický stres



Endogenní faktory

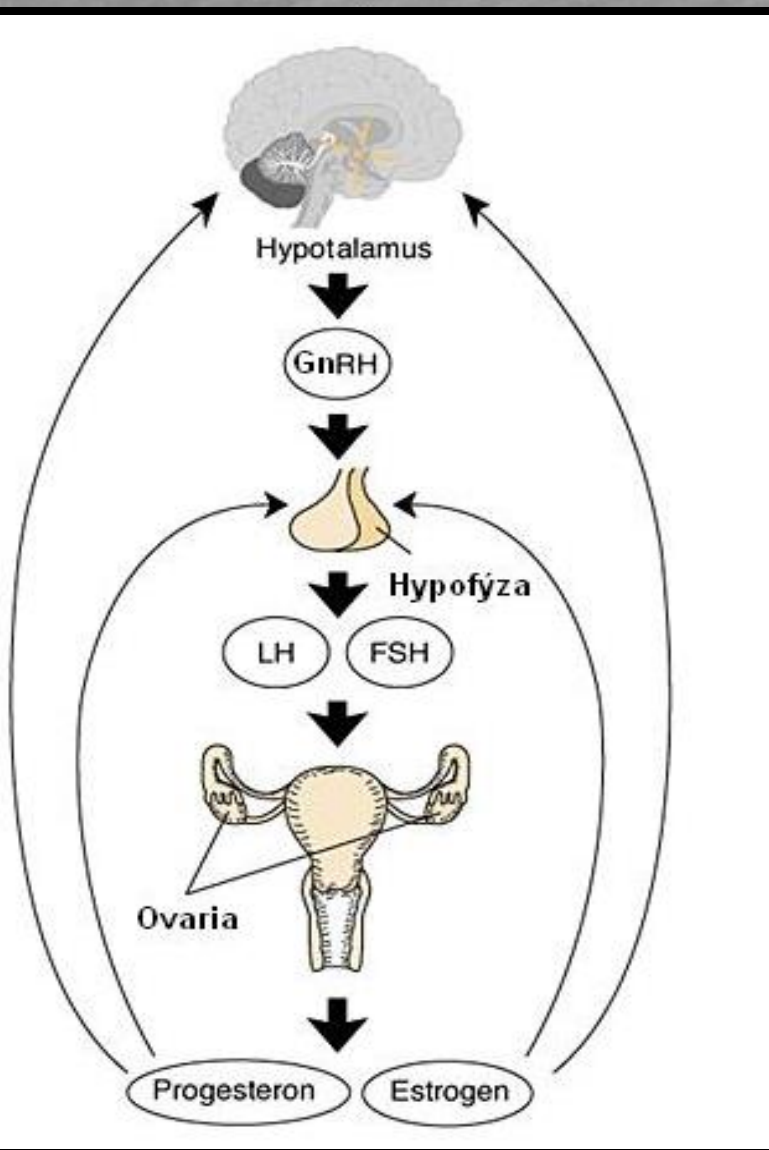
Vliv mateřského organismu

Regulace na úrovni

- hypofýzy
- vaječníků
- dělohy

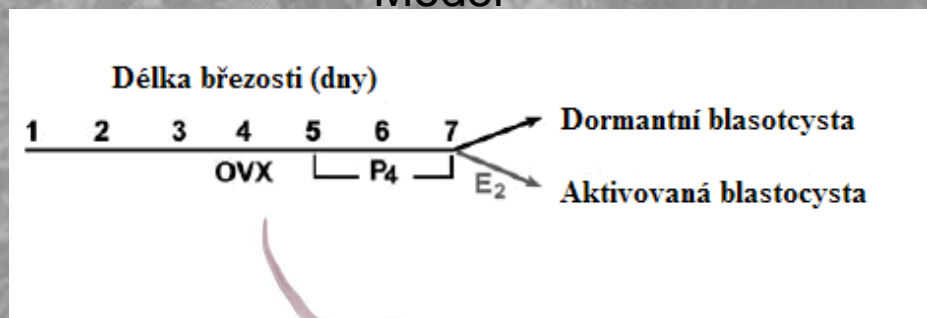
Hormony, cytokiny, růstové faktory

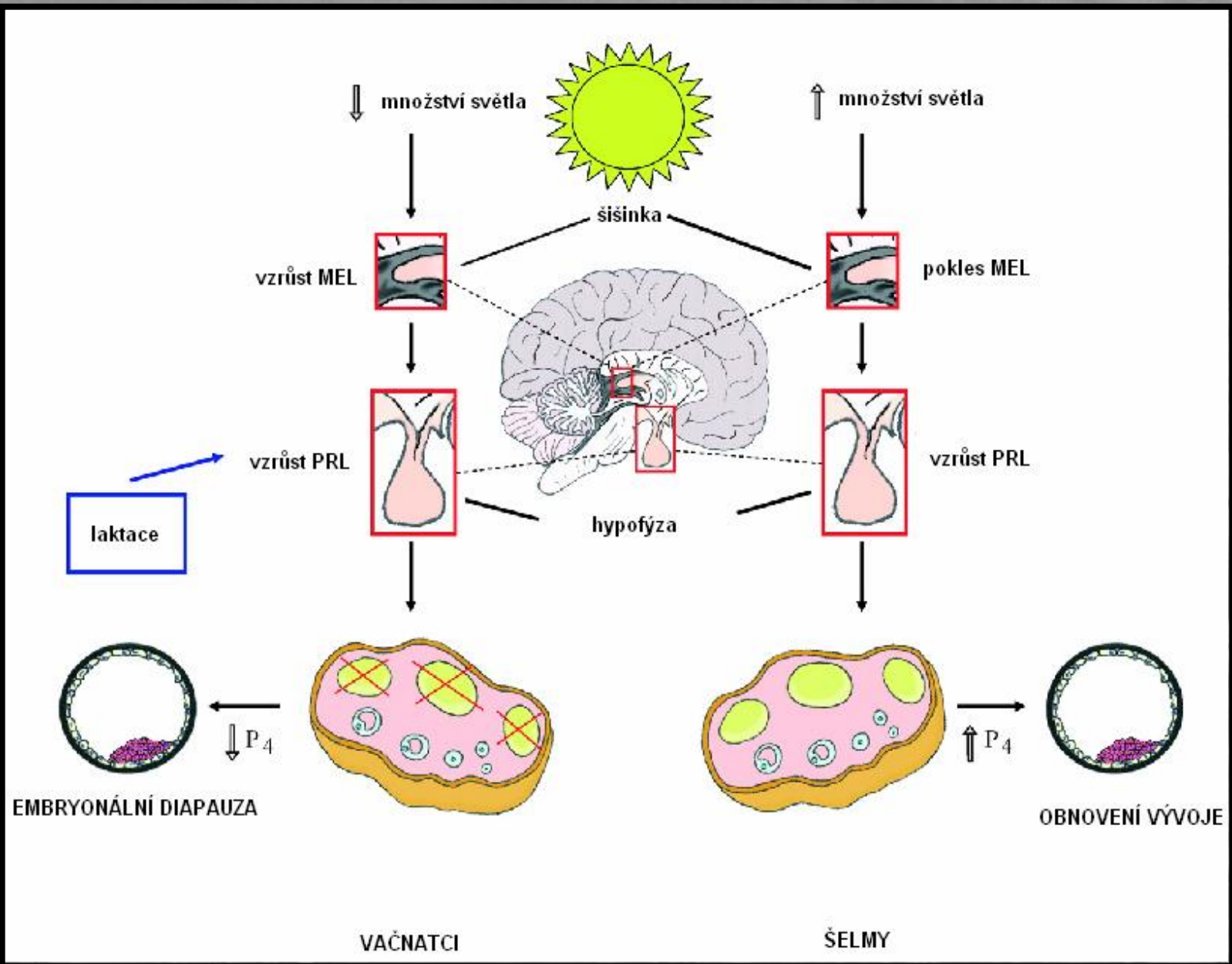
Hormonální řízení diapauzy



- Gonadotropiny uvolňující hormon
- Prolaktin
- Luteální hormon
- Folikuly stimulující hormon
- Estrogeny (E2)
- Progesteron (P4)

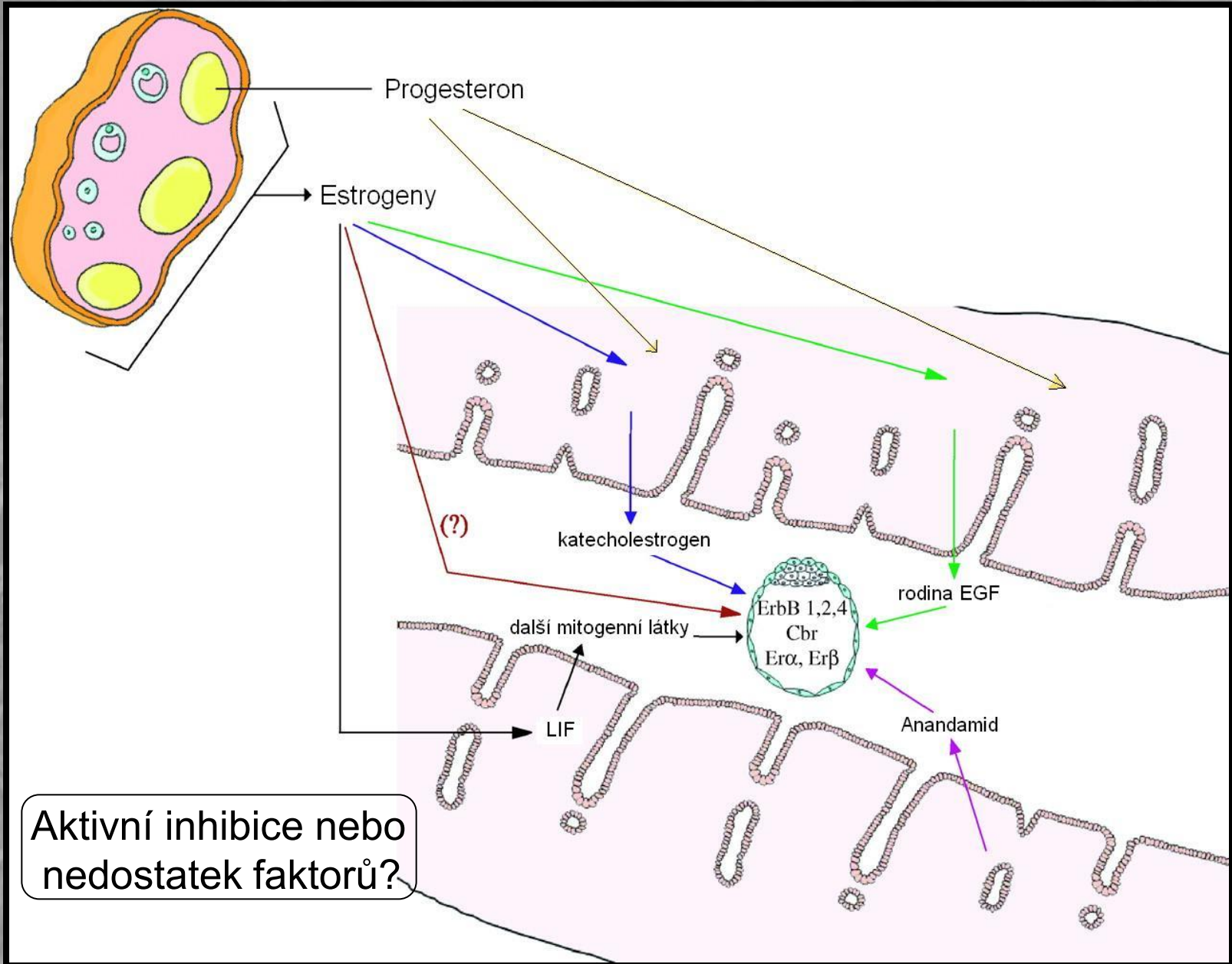
Model





Rozdílné principy regulace mezi obligátní a fakultativní diapauzou i mezi jednotlivými skupinami savců. Pravděpodobně neexistuje jednotný mechanismus.

Komunikace mateřského organismu s blastocystou



- Vývoj embrya - proliferace
 - diferenciacie
- Diapauza - zastavení mitotického dělení
 - bazální metabolismus
 - prevence apoptózy
 - plně vratné

Srovnání genové exprese
- rozdíl v expresi 1% genů!

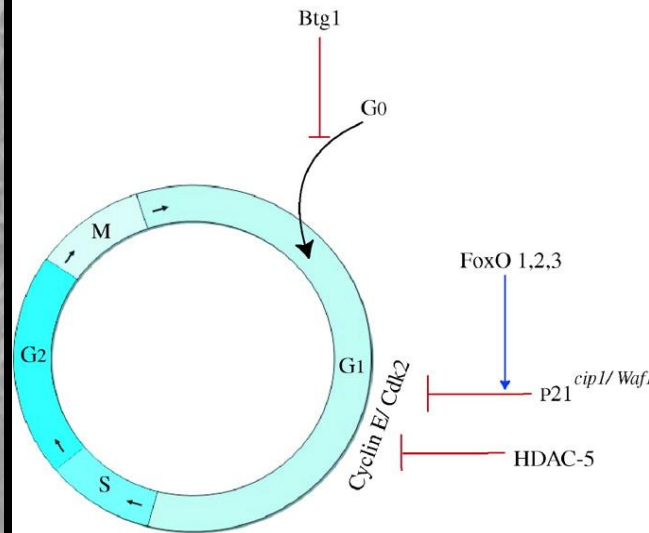
Implantace
Aktivovaná blastocysta

Diapauza
Dormantní blastocysta

Možné využití

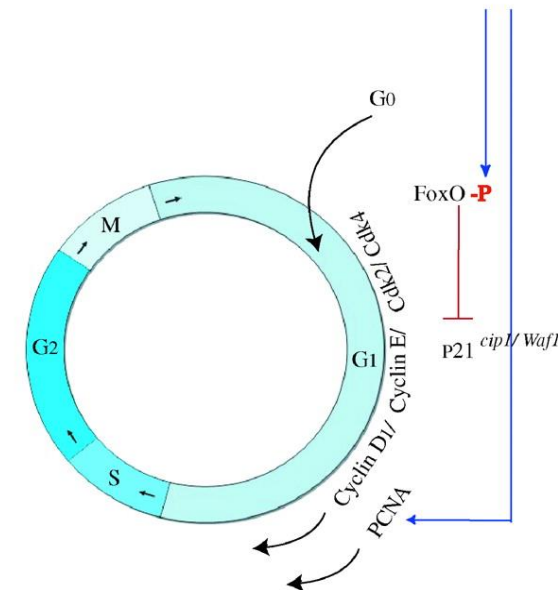
- reprodukční biologie
- nádorová biologie
- kmenové buňky

Zastavení buněčného cyklu



Obnovení buněčného cyklu

Mitogenní látky
(Estrogeny, rodina EGF)



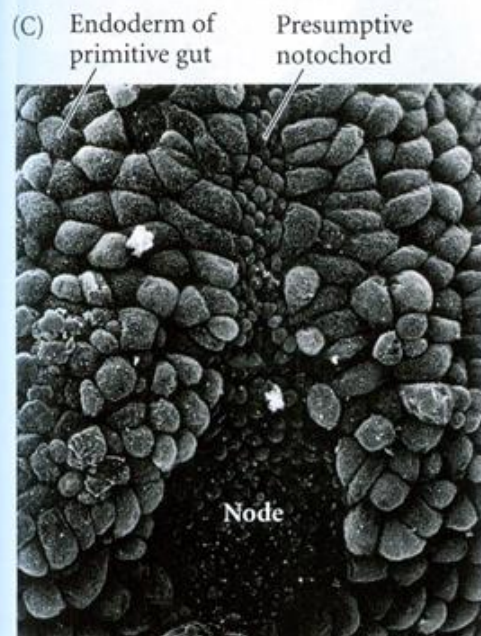
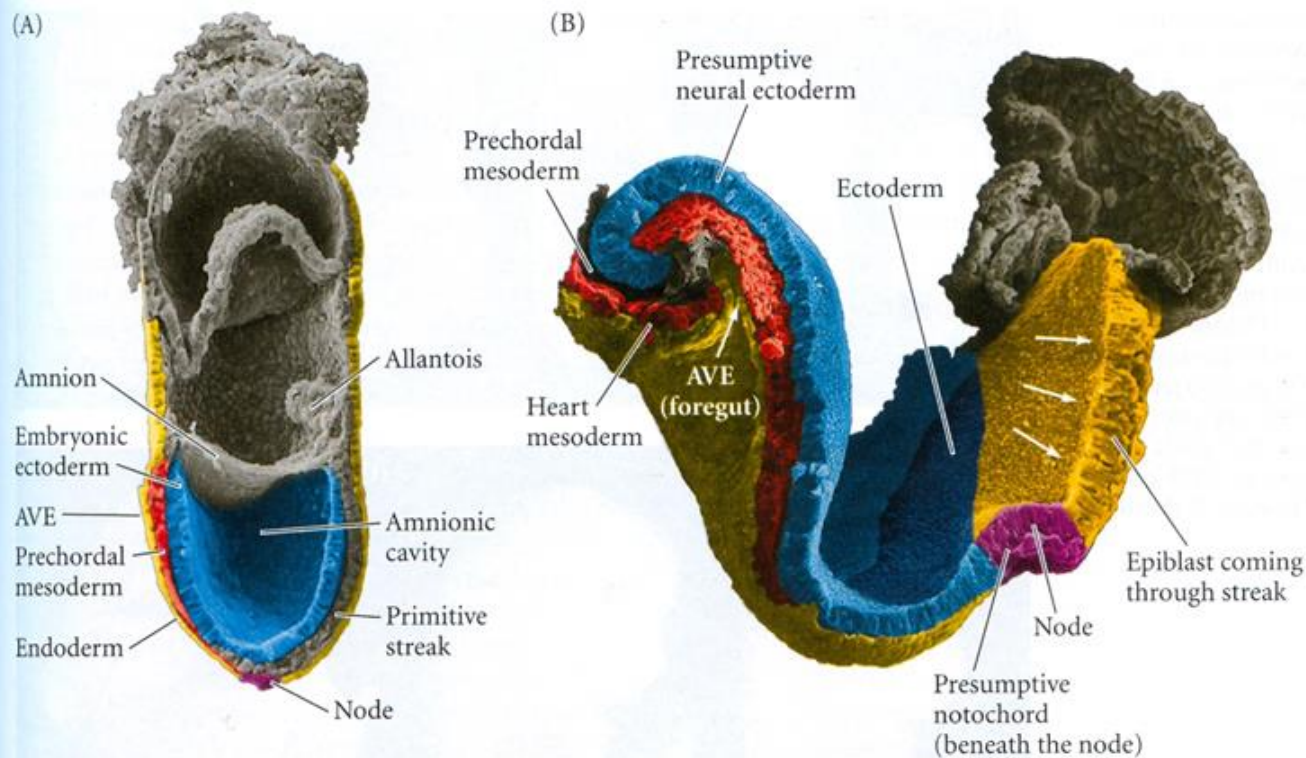


FIGURE 11.39 Axis and notochord formation in the mouse. (A) In the 7-day mouse embryo, the dorsal surface of the epiblast (embryonic ectoderm) is in contact with the amniotic cavity. The ventral surface of the epiblast contacts the newly formed mesoderm. In this cuplike arrangement, the endoderm covers the surface of the embryo. The node is at the bottom of the cup, and it has generated chordamesoderm. The two signaling centers, the node and the anterior visceral endoderm, are located on opposite sides of the cup. Eventually, the notochord will link them. The caudal side of the embryo is marked by the presence of the allantois. (B) By embryonic day 8, the anterior visceral endoderm lines the foregut, and the prechordal mesoderm is now in contact with the forebrain ectoderm. The node is now farther caudal, due largely to the rapid growth of the anterior portion of the embryo. The cells in the midline of the epiblast migrate through the primitive streak (white arrows). (C) Ventral surface of a 7.5-day mouse embryo. The presumptive notochord cells extend from the node into the endoderm of the primitive gut, converging medially to begin formation of the notochord. (A,B photographs courtesy of K. Sulik; C courtesy of K. Sulik and G. Schoenwolf.)