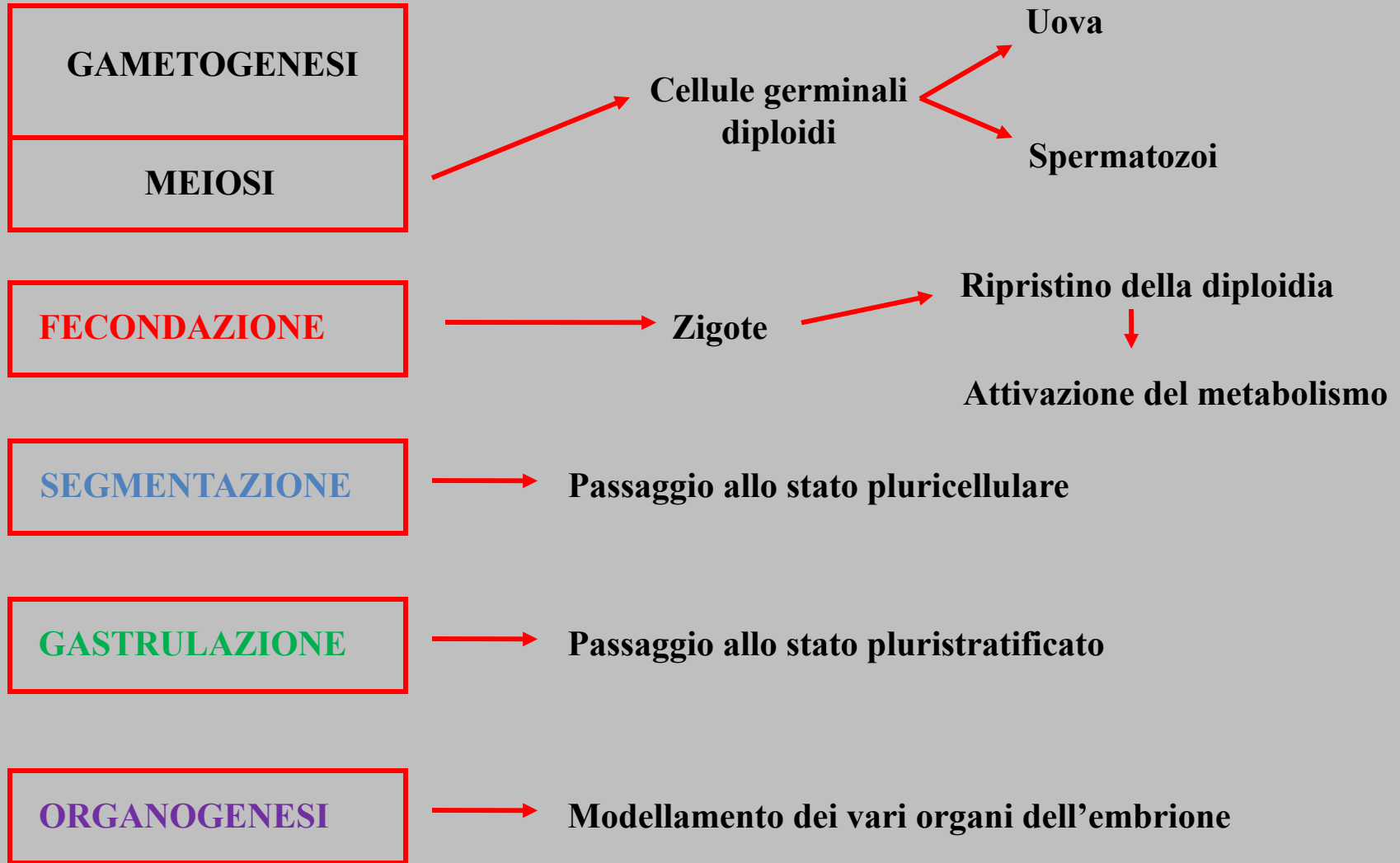
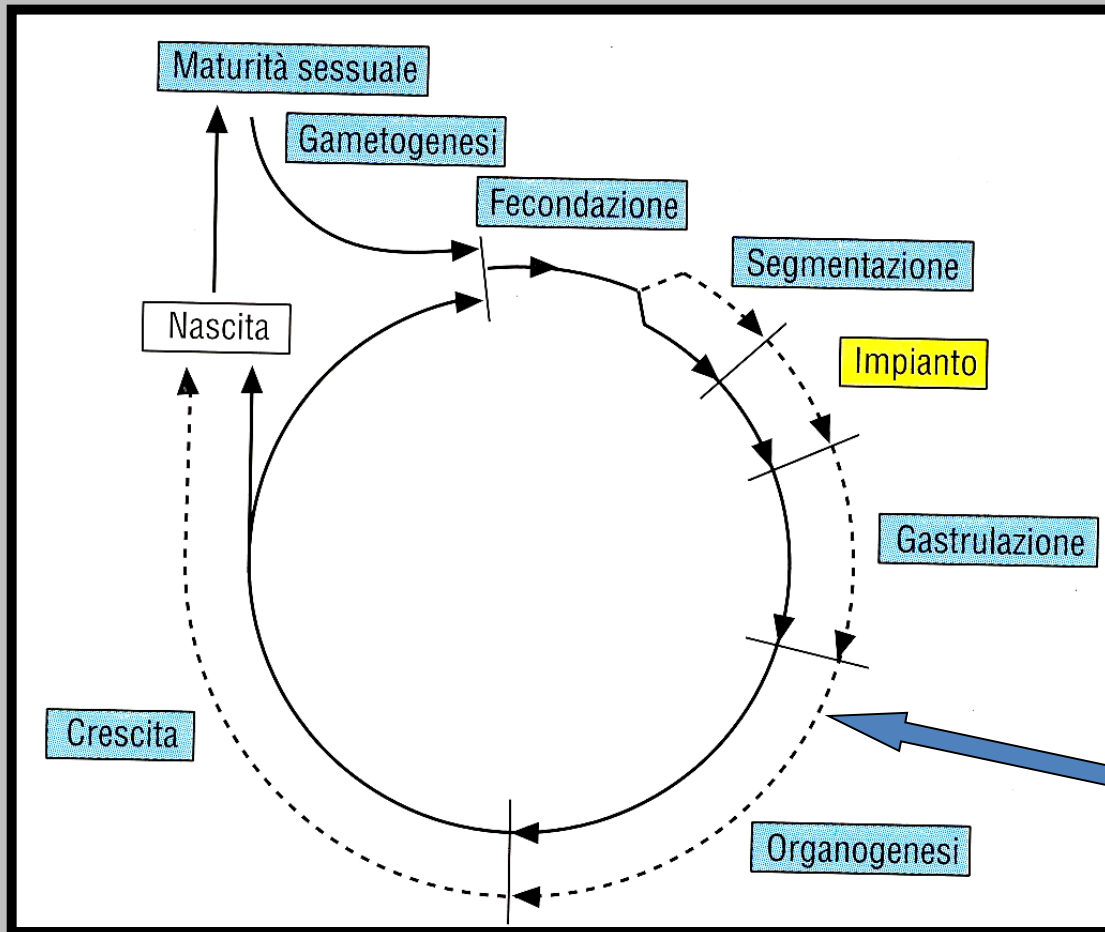


TAPPE PRINCIPALI DELLO SVILUPPO



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



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



CHE PEZZO
DI MOSCA!

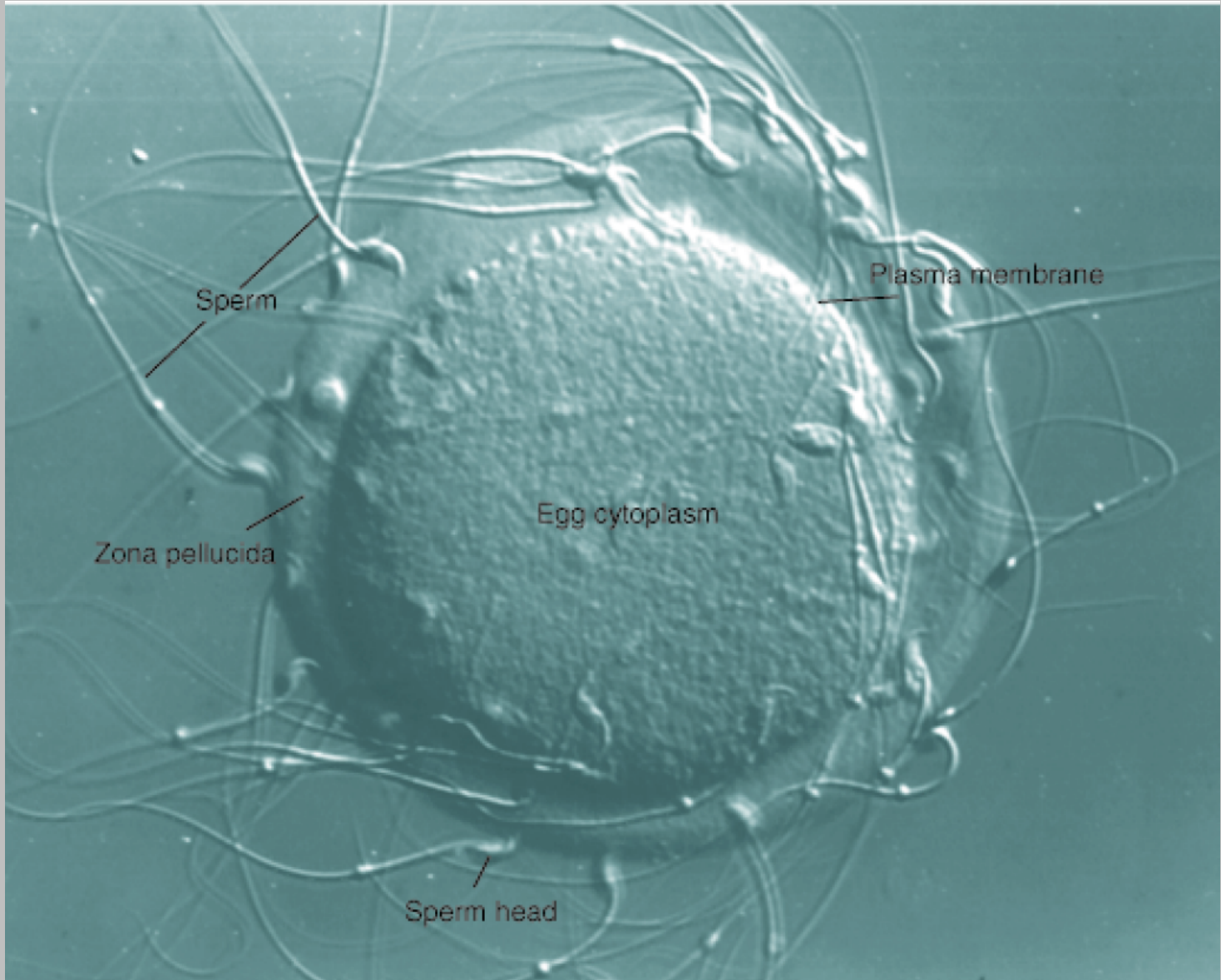
SI VEDE CHE
E' UN ORGANISMO
MODELLO!

Manno '07

DIVERSI ORGANISMI MODELLO

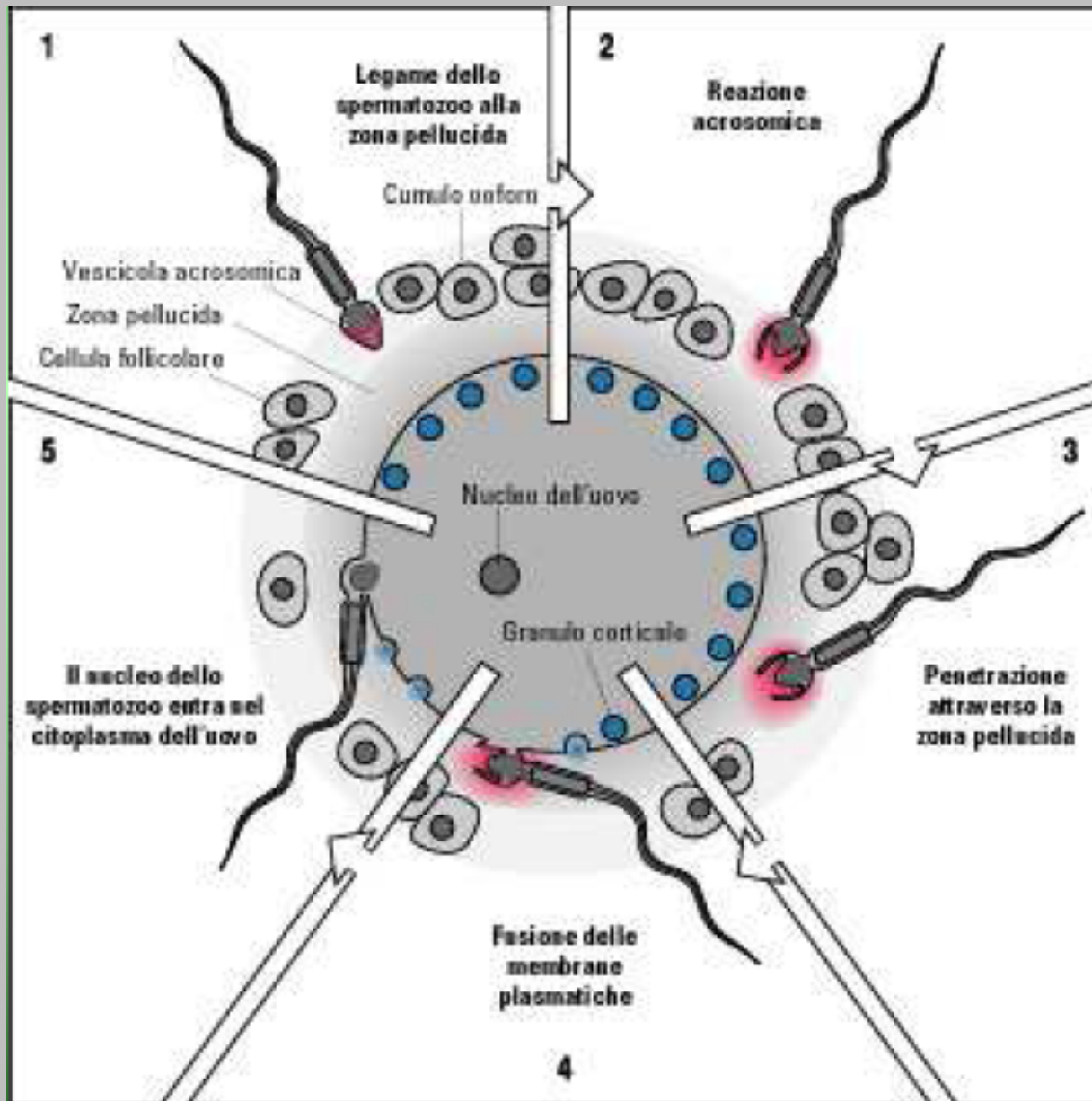
- riccio di mare
- rana
- pollo
- nematode

FECONDAZIONE MAMMIFERI



EVENTI DELLA FECONDAZIONE

1. Capacitazione dello spermatozoo
2. Penetrazione attraverso cellule del cumulo ooforo
3. Legame dello spermatozoo alla zona pellucida (riconoscimento tra proteine ZP e recettori esposti sulla membrana spermatozoi)
4. Reazione acrosomiale
5. Penetrazione zona pellucida
6. Legame alla membrana dell'ovocita
7. Reazione corticale
8. Reazione della zona pellucida
9. Attivazione dell'ovocita



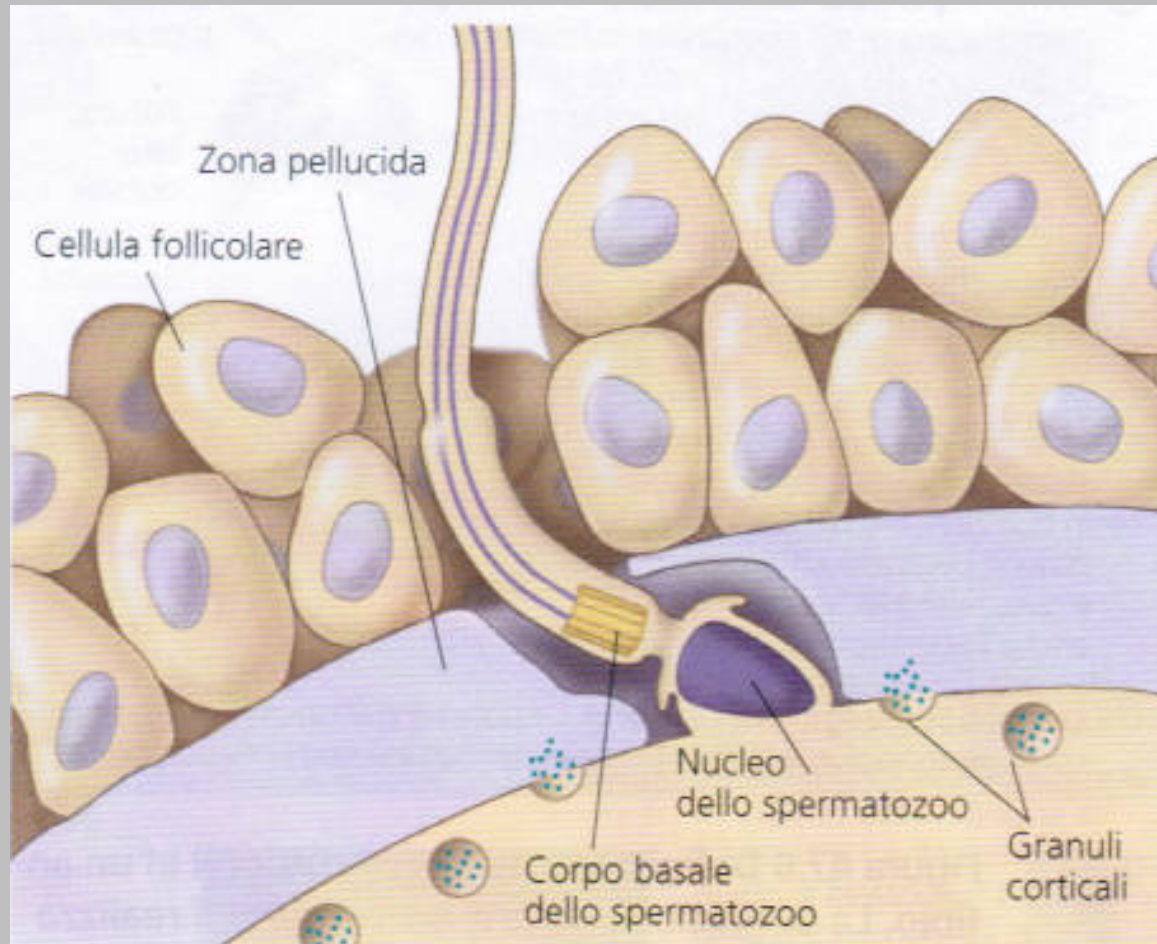
1. CAPACITAZIONE DELLO SPERMATOZOO

Con il termine **capacitazione** (che avviene nelle vie genitali femminili) si intende la rimozione del colesterolo con conseguente aumento della fluidità di membrana dello spermatozoo così che possa esporre proteine in grado di legarsi specificamente ad un complesso di glicoproteine (zp), che si trovano nella zona pellucida dell'**ovocita**.

La capacitazione può avvenire in vitro in un mezzo di coltura che ha bisogno di 3 componenti :

- **Albumina** che aiuta ad estrarre il colesterolo dalla membrana plasmatica, aumentando la capacità di questa membrana di fondersi con la membrana acrosomica durante la reazione acrosomica;
- **Ca²⁺ e HCO³⁻** con ruoli associati al fenomeno di capacitazione.

2. PENETRAZIONE ATTRAVERSO LE CELLULE DEL CUMULO OOFORO



Uno spermatozoo deve attraversare lo strato di cellule follicolari prima di poter raggiungere la **zona pellucida**, che presenta recettori per gli spermatozoi. (ZP)

PENETRAZIONE ATTRAVERSO LE CELLULE DEL CUMULO OOFORO



3. RICONOSCIMENTO TRA zp E RECETTORI DELLO SPERMATOZOO

Acrosome reaction: relevance of zona pellucida glycoproteins

Satish K Gupta and Beena Bhandari

Asian Journal of Andrology (2011) 13, 97–105
© 2011 AJA, SIMM & SJTU. All rights reserved 1008-682X/11 \$32.00
www.nature.com/aja

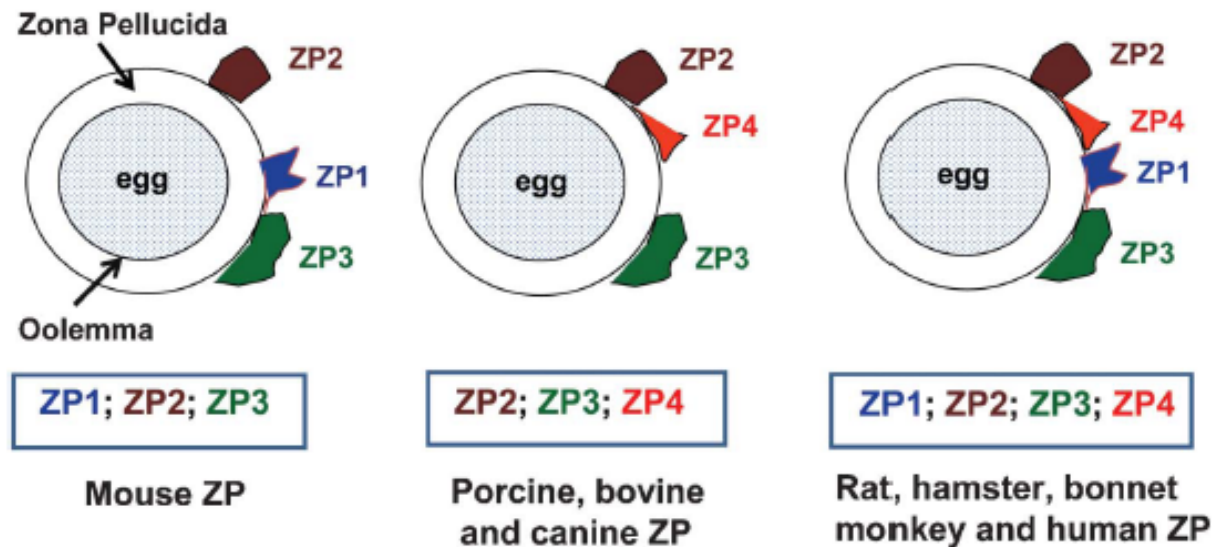
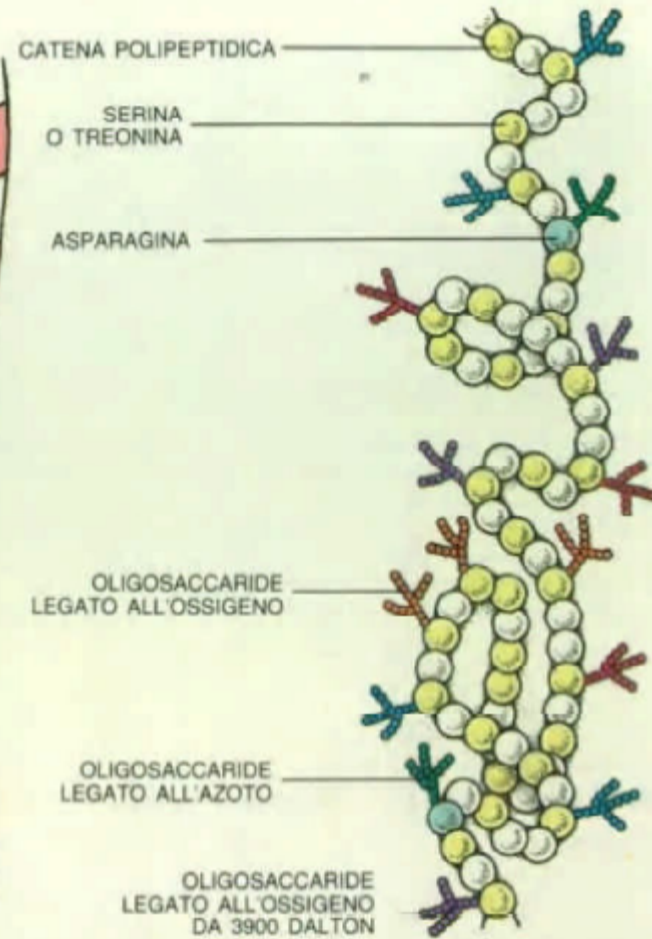
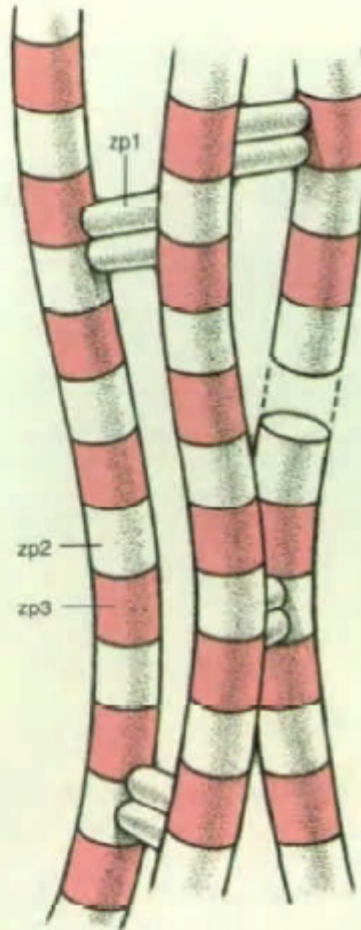


Figure 1 Schematic representation of the composition of the ZP in various mammals: The ZP matrix of the mammalian oocyte is composed of either three or four glycoproteins. The mouse ZP matrix is composed of three glycoproteins, namely, ZP1 (blue), ZP2 (brown) and ZP3 (green). The rat, hamster, bonnet monkey and human ZP matrices are composed of four glycoproteins: ZP1, ZP2, ZP3 and ZP4 (red). The bovine, porcine and canine ZP matrices contain three glycoproteins, with ZP4 replacing ZP1. ZP, zona pellucida.

ZONA PELLUCIDA:

- * spessore 7 μm
- * costituita da tre glicoproteine: zp1, zp2, zp3
- * solo zp3 funge da recettore degli spermatozoi
- * uno spermatozoo con acrosoma intatto si lega ad una quantità variabile da 10 000 a 50 000 molecole di zp3
- * zp3: 400 aa, con numerose catene oligosaccaridiche



La molecola zp3 è una componente importante dei filamenti (*a sinistra*) che si uniscono a formare la zona pellucida. La zp3 è una glicoproteina, ossia un polipeptide a cui sono legati gruppi glucidici. Combinandosi con un'altra glicoproteina, la zp2, costituisce l'unità costruttiva fondamentale dei filamenti, raffigurati schematicamente al centro; una terza glicoproteina, la zp1, collega i filamenti. La zp3, mostrata in dettaglio a destra, è il recettore mole-

colare degli spermatozoi e inoltre induce la reazione acrosomale. Gli elementi di legame veri e propri sono alcune delle catene glucidiche che si diramano dallo scheletro polipeptidico della molecola, e precisamente gli oligosaccaridi legati all'ossigeno (cioè quelli legati agli amminoacidi serina e treonina) aventi peso molecolare di circa 3900 dalton. Le stesse catene glucidiche sembrano cooperare con la parte polipeptidica della zp3 nell'indurre la reazione acrosomale.

Esperimento A:

alterando la struttura polipeptidica di zp3 il legame con gli spermatozoi non viene influenzato

⇒ il **riconoscimento dello spermatozoo** avviene grazie alla **catena oligosaccaridica** del recettore.

4. REAZIONE ACROSOMIALE

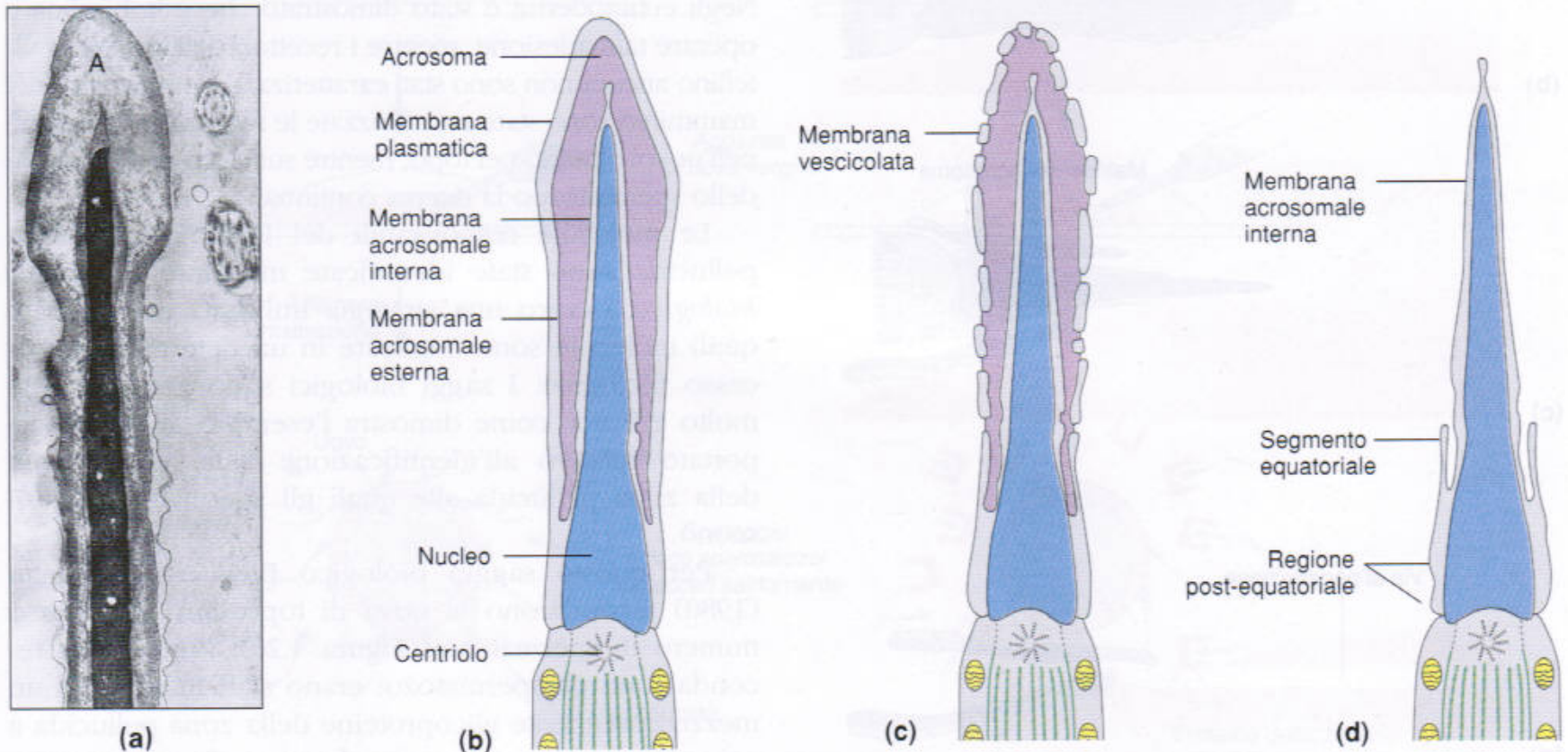


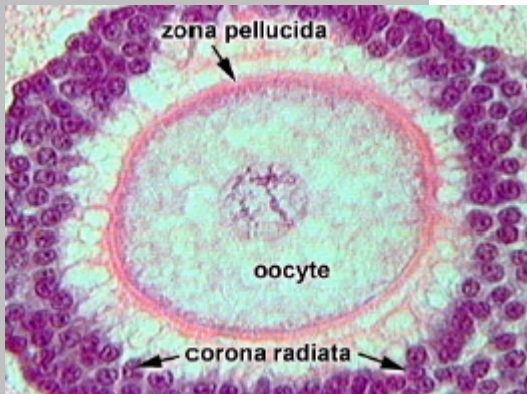
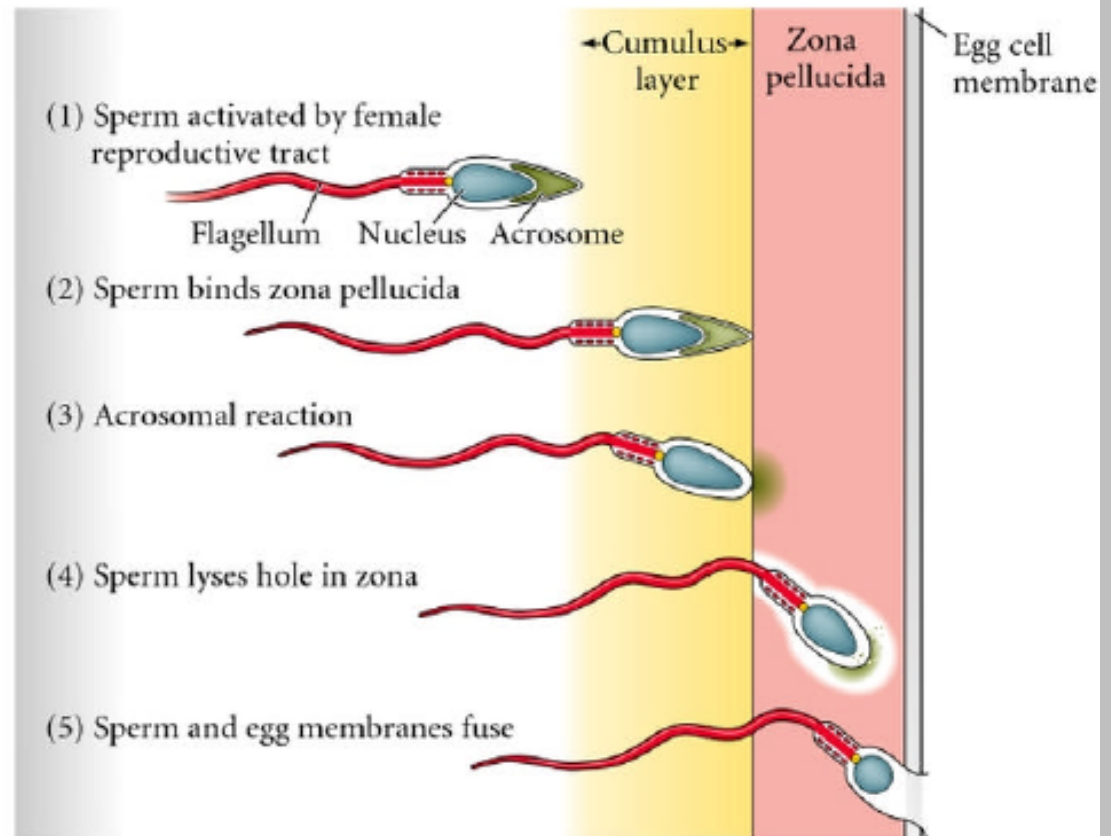
Figura 4.18 Reazione acrosomiale nei mammiferi. **(a)** immagine al microscopio elettronico a trasmissione di uno spermatozoo di cavia prima della reazione acrosomiale. A = acrosoma. **(b)** Disegno della testa dello spermatozoo prima della reazione acrosomiale, con la membrana plasmatica e l'acrosomiale interna ed esterna ancora intatte. **(c)** durante la reazione acrosomiale, la membrana plasmatica dello spermatozoo e la membrana acrosomiale esterna si fondono in molteplici punti, formando numerose vescicole. Notare come la fusione interessi sono la parte più apicale dell'acrosoma **(d)** Dopo la reazione acrosomiale, la membrana plasmatica dello spermatozoo consiste di 3 regioni: quella anteriore derivata da parte della membrana acrosomiale interna; un segmento equatoriale, ancora formato dalla membrana plasmatica e parte della membrana acrosomiale esterna, e la regione postequatoriale.

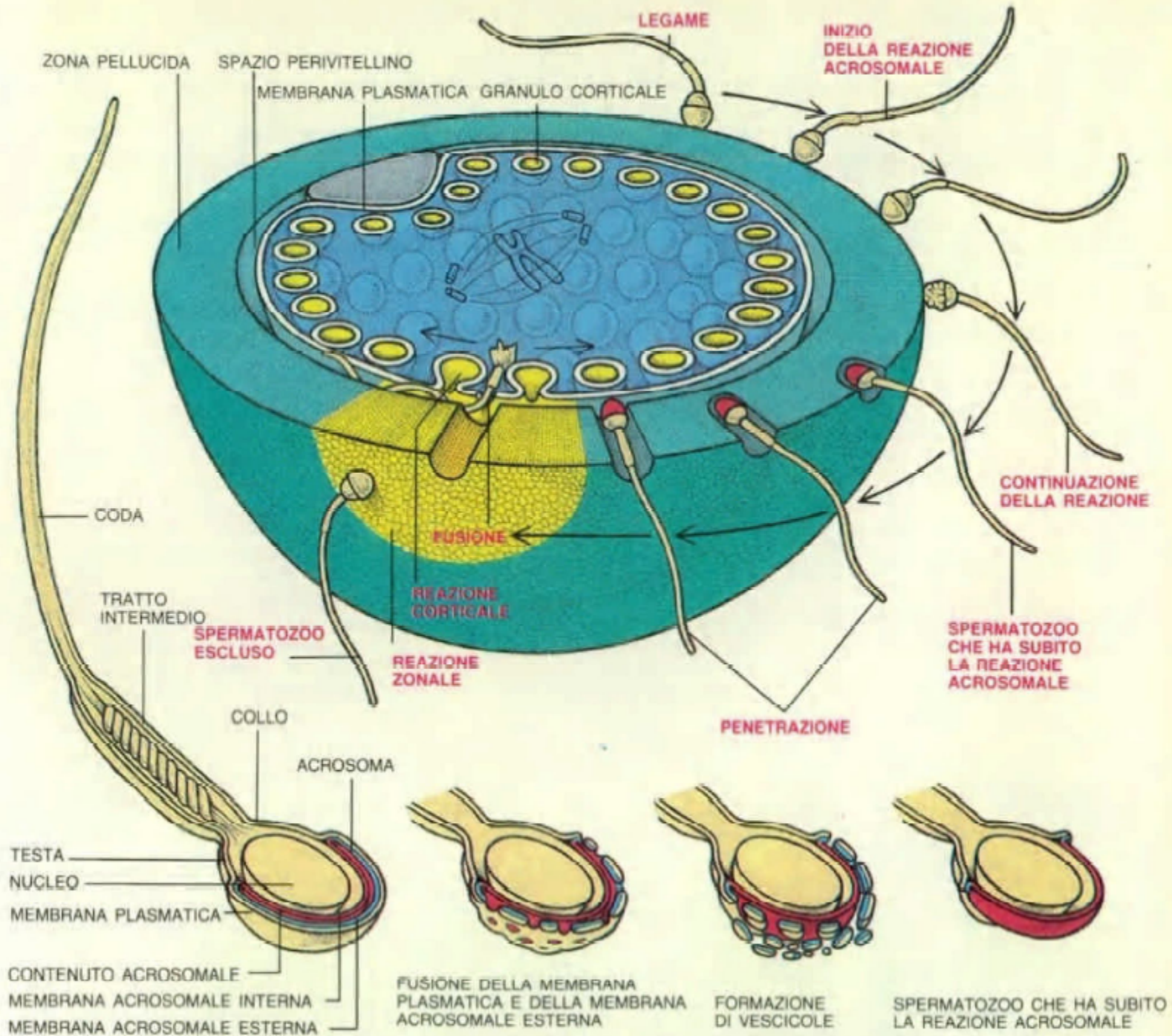
5. PENETRAZIONE ZONA PELLUCIDA

La reazione acrosomica nei Mammiferi

Il legame fra uno spermatozoo e il recettore induce una reazione acrosomiale simile a quella descritta nel riccio di mare.

(B) MOUSE





6. LEGAME ALLA MEMBRANA DELL'OVOCITA E FUSIONE

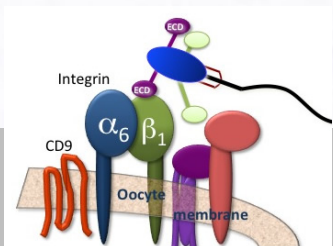
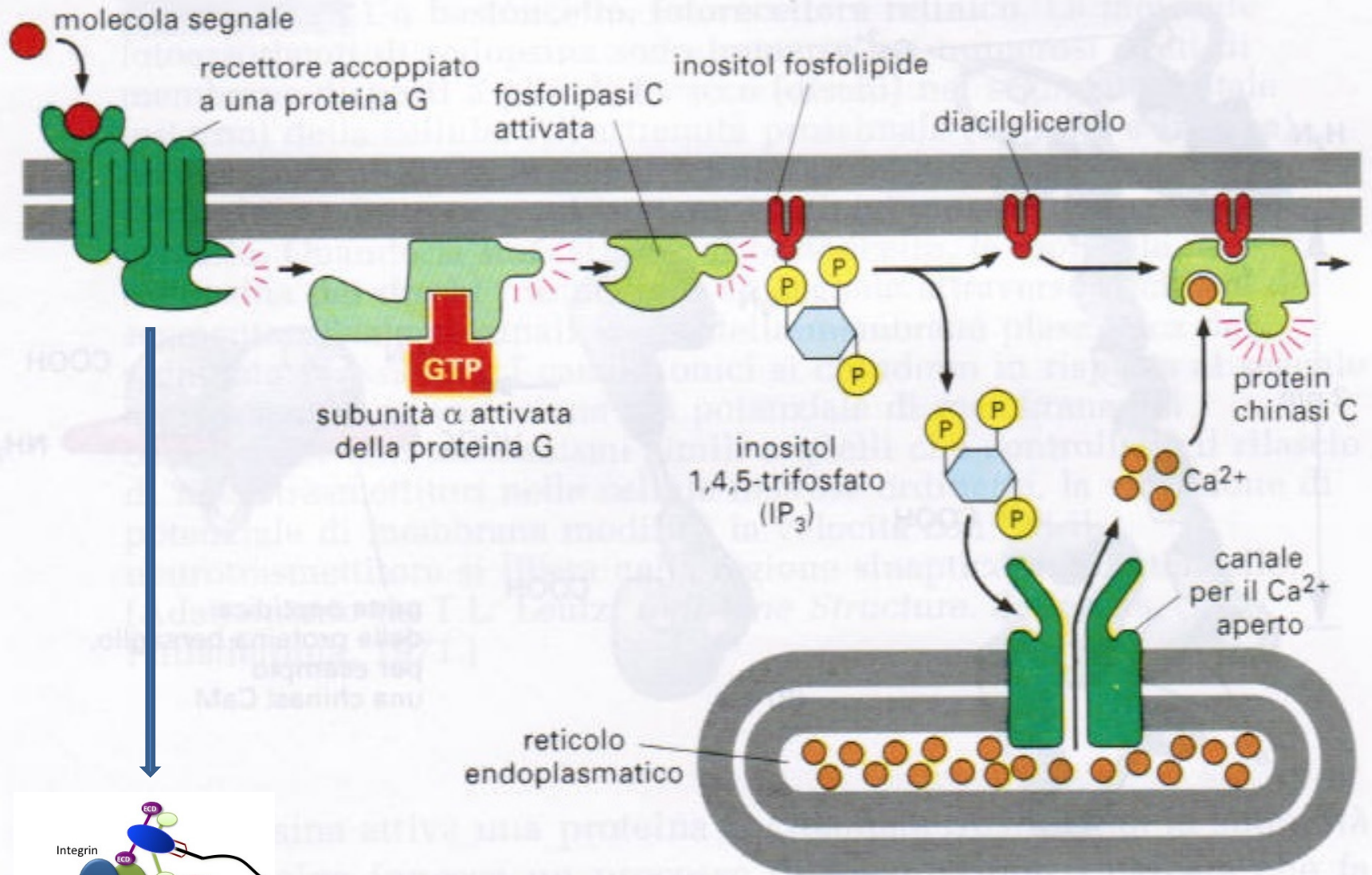
Due proteine di membrana sono necessarie per la fusione:

- **Izumo**, che viene esposta sulla superficie degli spermatozoi in seguito alla reazione acrosomiale.

Gli anticorpi anti-Izumo bloccano la fusione e gli spermatozoi di topo privi di Izumo non riescono a fondersi con uova normali.

- **CD9** (sulla membrana della cellula uovo), della famiglia delle tetraspanine, così chiamate perché queste proteine contengono quattro segmenti che attraversano la membrana.

Trasduzione del segnale di fecondazione



7. REAZIONE CORTICALE - BLOCCO DELLA POLISPERMIA-riccio di mare

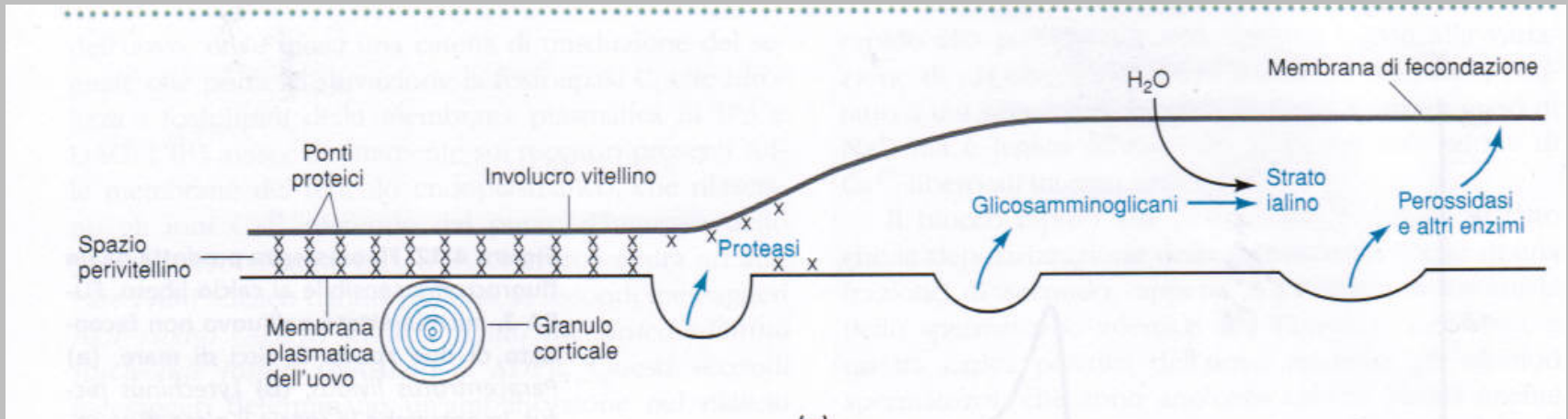
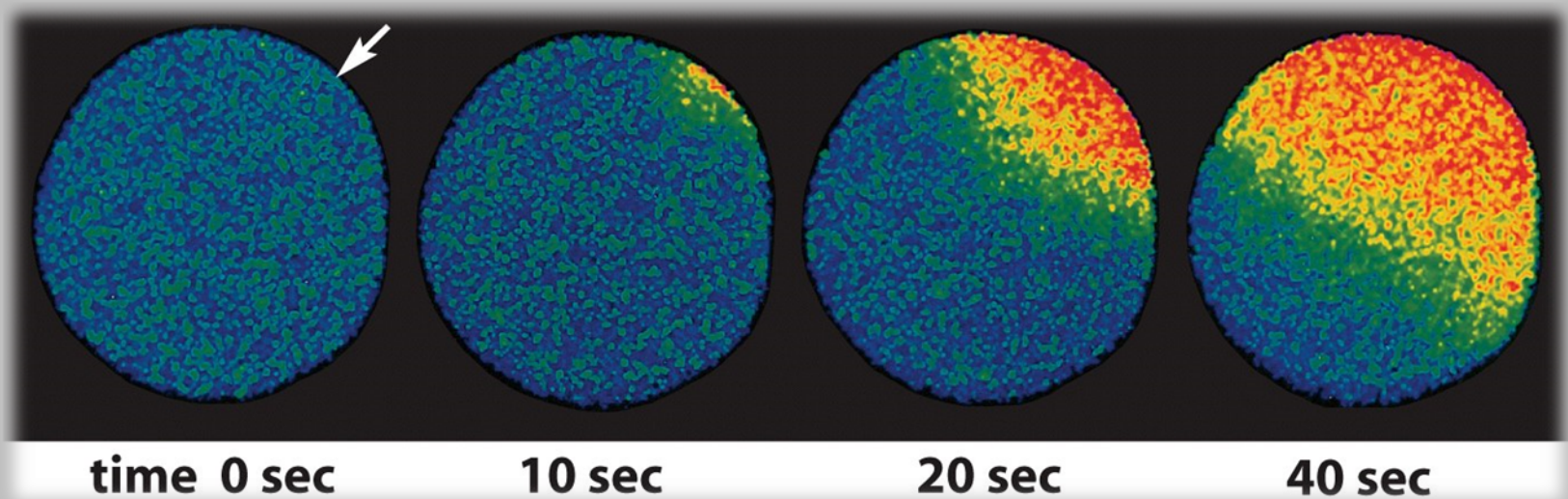


Figura 4.13 Reazione corticale nel riccio di mare. **(a)** Per l'attivazione elettrica dell'uovo, i granuli corticali prossimi alla membrana plasmatica vanno incontro a esocitosi, rilasciando nello spazio perivitellino diversi componenti, che supportano tre diversi processi. Primo: le proteasi tagliano le proteine che legano l'involucro vitellino all'oolemma. Contemporaneamente, i glicosamminoglicani rilasciati dai granuli corticali attraggono acqua dall'ambiente nello spazio perivitellino e formano uno strato ialino che separa l'involucro dalla membrana plasmatica. Secondo: le perossidasi induriscono l'involucro vitellino congiungendo proteine adiacenti. L'involucro così modificato prende il nome di membrana di fecondazione (FE). Terzo: altri enzimi modificano la membrana di fecondazione in modo che nessun altro spermatozoo possa aderire. **(b)** Immagine al microscopio-

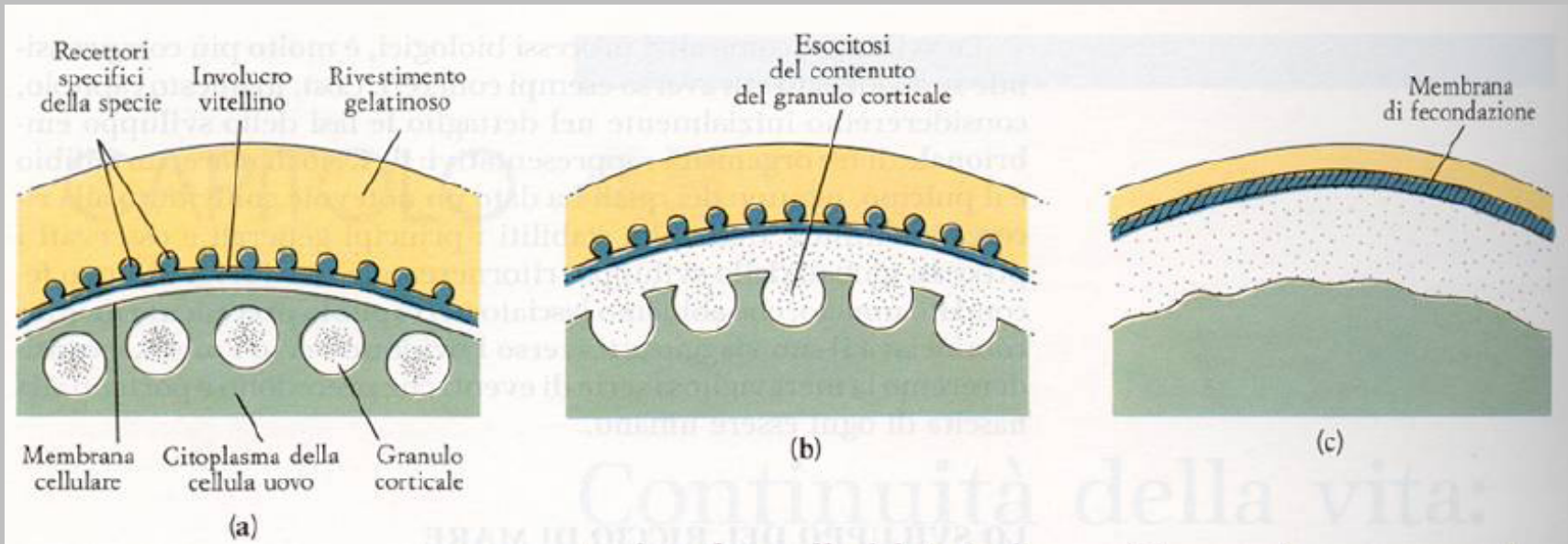


Quest'uovo di stella di mare è stato iniettato con un colorante fluorescente sensibile al Ca^{++} prima della fecondazione. Un'onda di Ca^{++} citosolico che viene rilasciato dal reticolo endoplasmatico e percorre l'uovo dal sito d'ingresso dello spermatozoo. Questa onda di Ca^{++} provoca un cambiamento nella membrana della cellula uovo, impedendo l'ingresso di altri spermatozoi, ed inizia anche lo sviluppo embrionale.

BLOCCO LENTO DELLA POLISPERMIA

RAZIONE CORTICALE: GRANULI CORTICALI SI FONDONO CON LA MEMBRANA DELL'UOVO LIBERANDO PER ESOCITOSI DEGLI ENZIMI NELLO SPAZIO PERIVITELLINO CHE PERMETTONO:

- L'ALLONTANAMENTO DELLO STRATO VITELLINO
- I RECETTORI PER GLI SPERMATOZOI SONO DEGRADATI
- FORMAZIONE DI UNA MEMBRANA DI FECONDAZIONE PROTETTIVA CHE IMPEDISCE L'INGRESSO DI ALTRI SPERMATOZOI



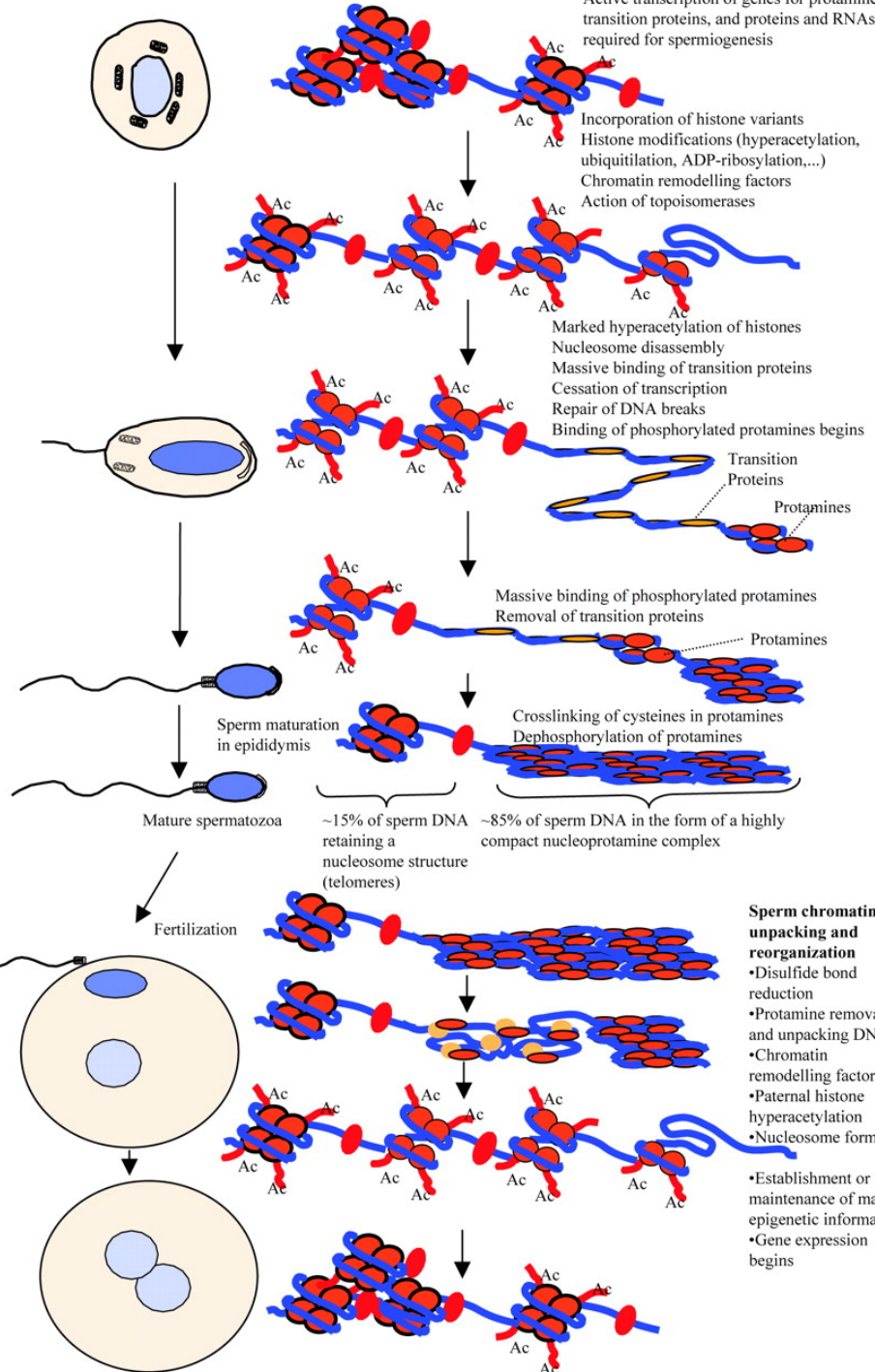
8. REAZIONE DELLA ZONA PELLUCIDA

Oltre alla reazione corticale...

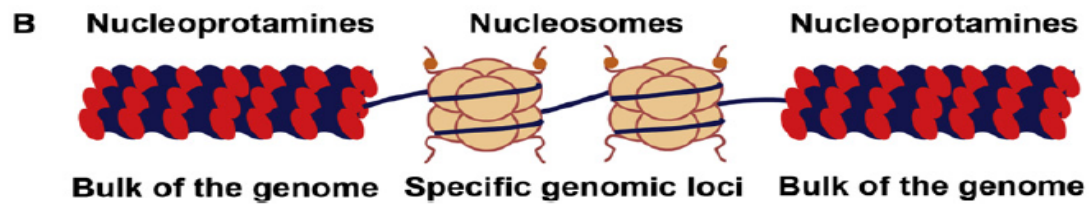
➤ **modifiche a carico della zona pellucida: distruzione dei recettori (alterazione di ZP3)**

- La cromatina dello spermatozoo maturo differisce molto dalla cromatina di qualsiasi nucleo di cellule somatiche
- La maggior parte del genoma dello spermatozoo è impacchettato da piccole proteine basiche chiamate protammine e solo una piccola parte del genoma è legato a dei nucleosomi.
- Questo assemblamento con le protammine è essenziale per consentire al genoma dello spermatozoo di stare nel nucleo il più possibile compattato.
- Negli spermatozoi umani circa il 4% del genoma resta legato ai nucleosomi

Active transcription of genes for protamines, transition proteins, and proteins and RNAs required for spermiogenesis



RAPPRESENTAZIONE DEI PRINCIPALI CAMBIAMENTI NELLA CROMATINA DEGLI SPERMATOZOI:
→ SOSTITUZIONE DEGLI ISTONI CON PROTAMMINE

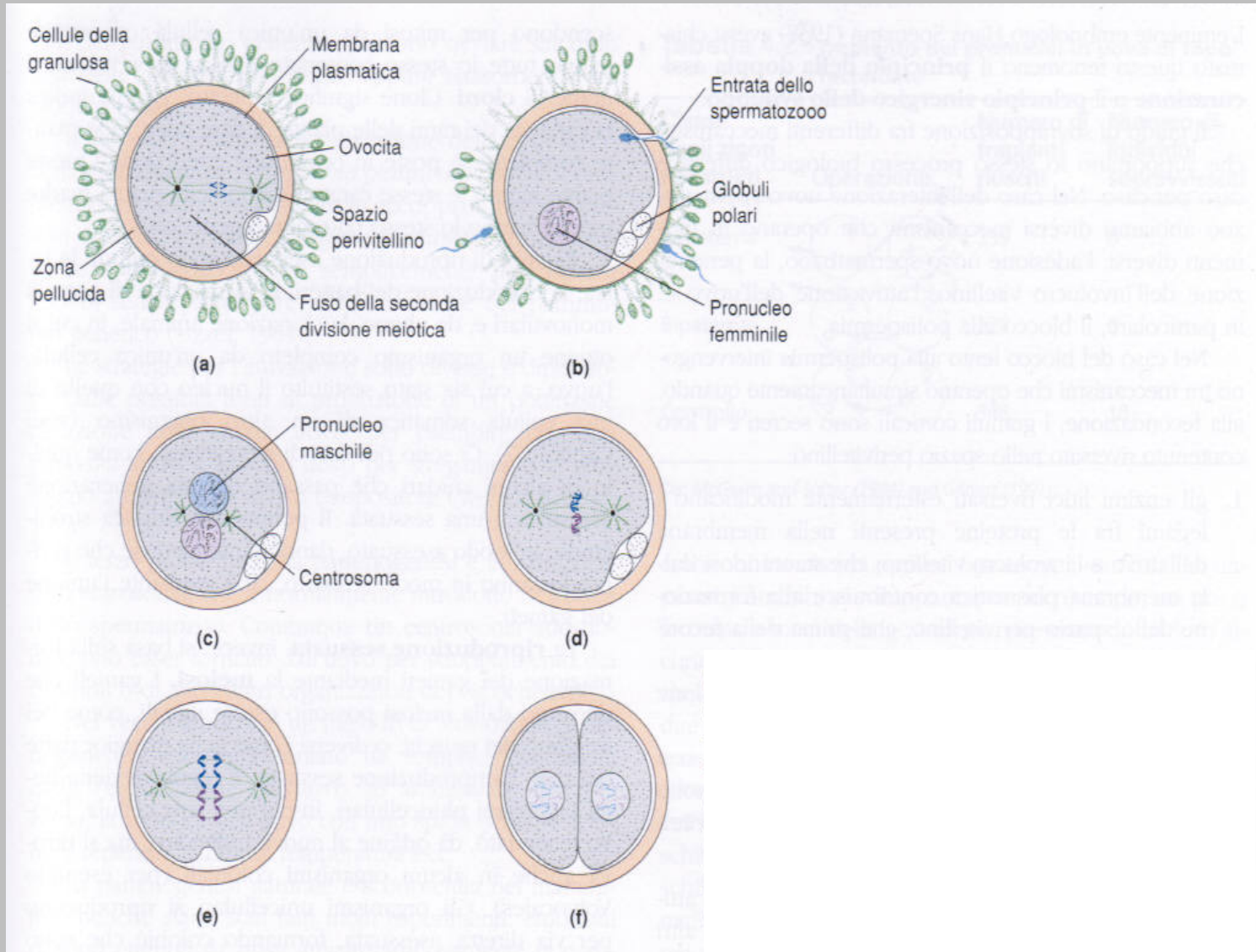


9. ATTIVAZIONE DELLA CELLULA UOVO

L'aumento di Ca^{2+} determina:

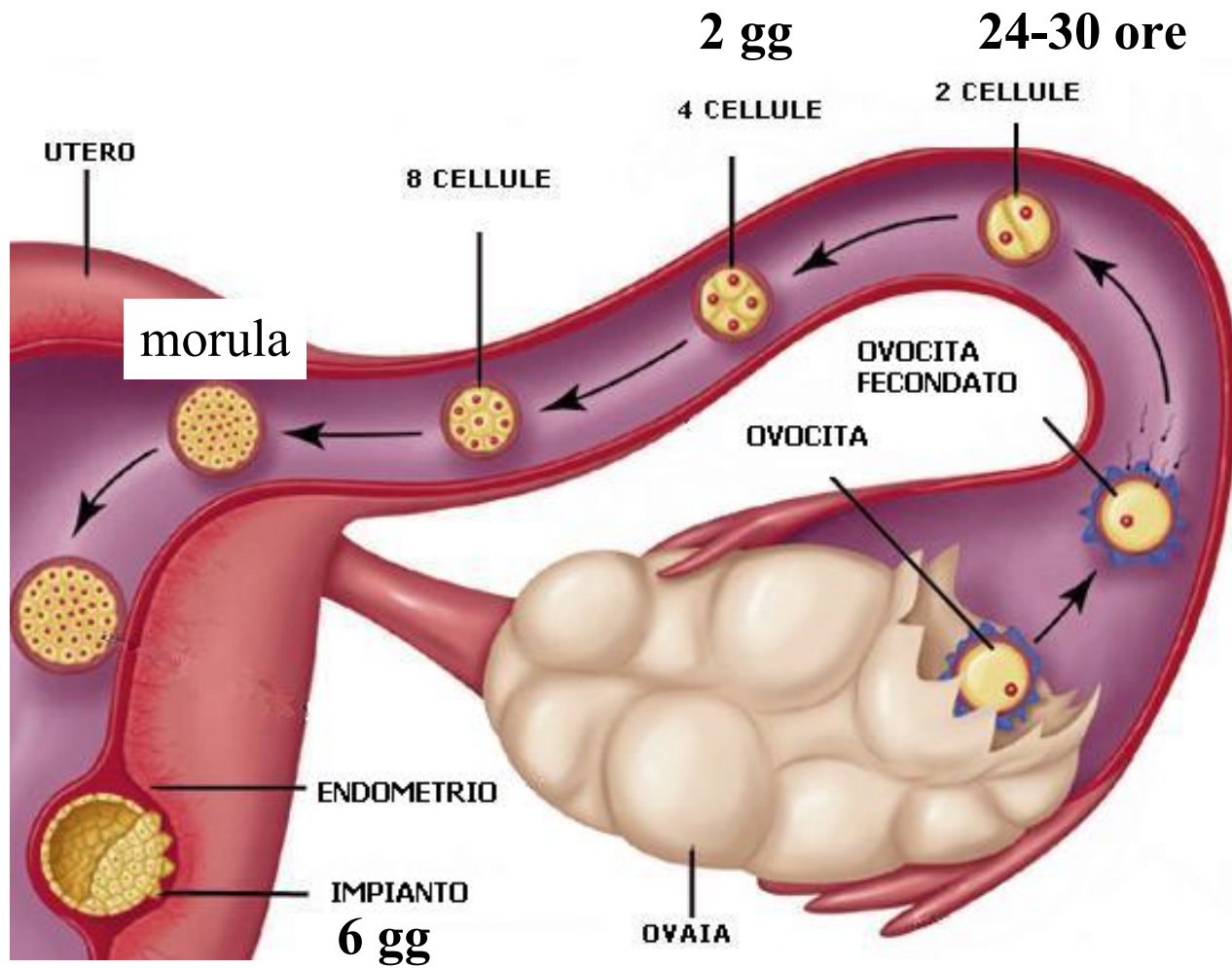
- * un aumento consistente della respirazione cellulare e sintesi proteica
- * la conclusione della meiosi II del pronucleo femminile

Solo a questo punto..... UNIONE MATERIALE GENETICO



SINTESI DELLA SEQUENZA DI EVENTI CHE SI SUSSEGUONO DURANTE LA FECONDAZIONE:

- * Capacitazione degli spermatozoi
- * Penetrazione degli spermatozoi nello strato del cumulo ooforo (cellule follicolari)
- * Riconoscimento tra glicoproteine della zona pellucida (proteine zp) e testa dello spermatozoo
- * Reazione acrosomiale
- * Riconoscimento tra recettore della membrana vitellina (CD9 nei mammiferi) e proteina della membrana dello spermatozoo (izumo nei mammiferi)
- * Entrata dello spermatozoo (nel riccio di mare entra solo il nucleo, nei mammiferi entra tutto)
- * Cascata di eventi (... PIP2 --> DAG+IP3). L'aumento di IP3 nel citoplasma dell'uovo determina l'apertura dei canali di Ca^{2+} posti sul REL
- * Reazione corticale
- * Modifica dei recettori della membrana vitellina ad opera degli enzimi rilasciati dai granuli corticali
- * Formazione della membrana di fecondazione: BLOCCO DELLA POLISPERMIA
- * Attivazione della cellula uovo:
 - termina la meiosi II, viene emesso il secondo globulo polare
 - aumenta la respirazione cellulare
 - aumenta la sintesi proteica
- * organizzazione del fuso mitotico con i due centrioli dello spermatozoo, le membrane dei due pronuclei si fondono, prima mitosi dello zigote



SEGMENTAZIONE

Mammife ri

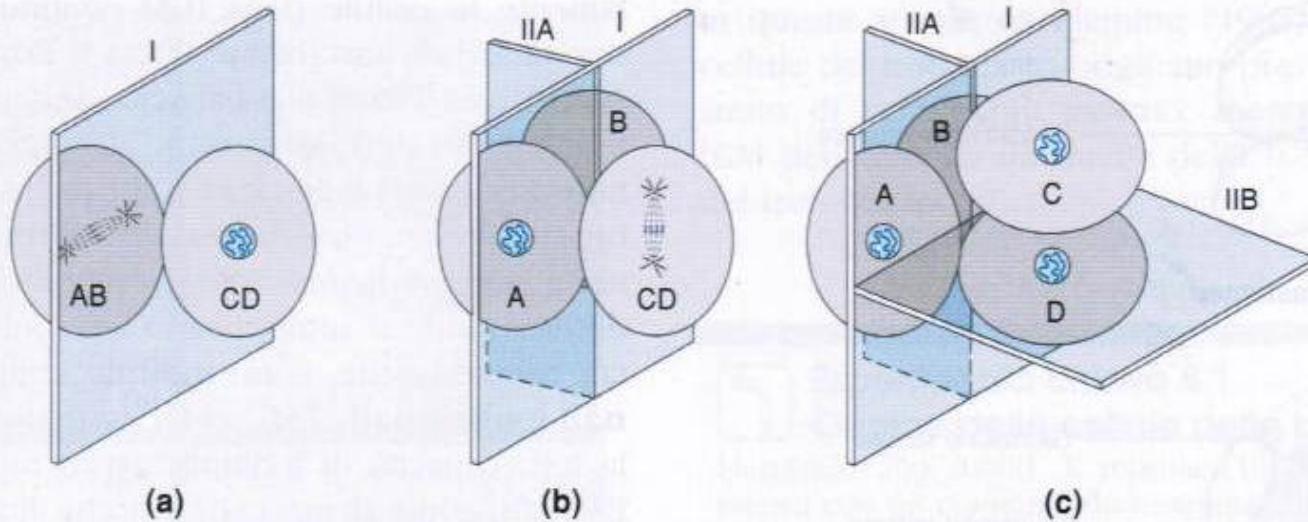
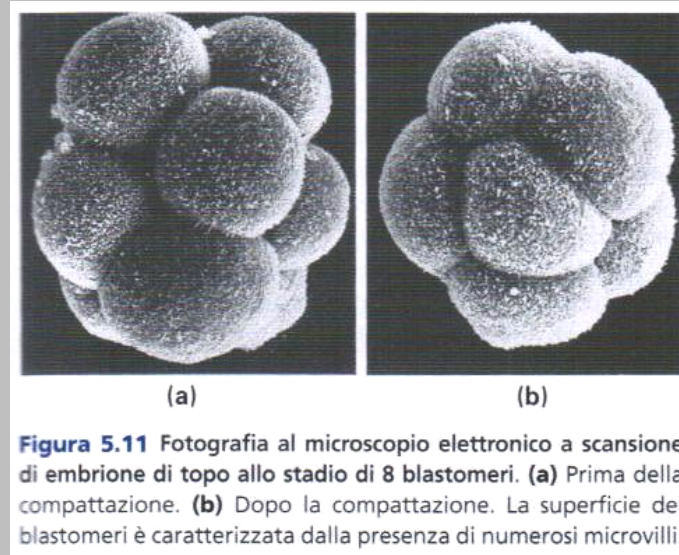


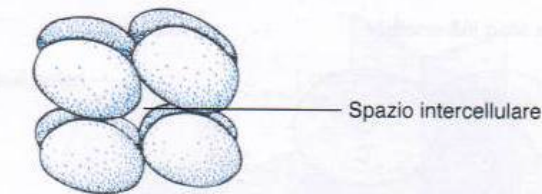
Figura 5.10 Segmentazione oblastica rotazionale nei mammiferi. **(a)** Il primo piano di segmentazione è meridiano e passa per l'asse animale-vegetativo (**I**). I due blastomeri che ne risultano sono indicati con AB e CD. **(b)** Il blastomero AB si divide per primo secondo un piano meridiano (IIA). **(c)** Il blastomero CD si divide successivamente secondo un piano equatoriale (IIB) che risulta perpendicolare al piano I e IIA.

Fenomeno della compattazione:

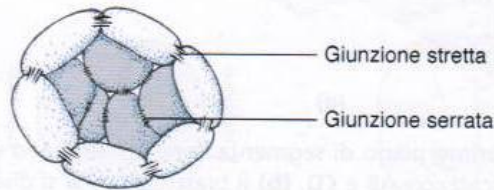
Topo:



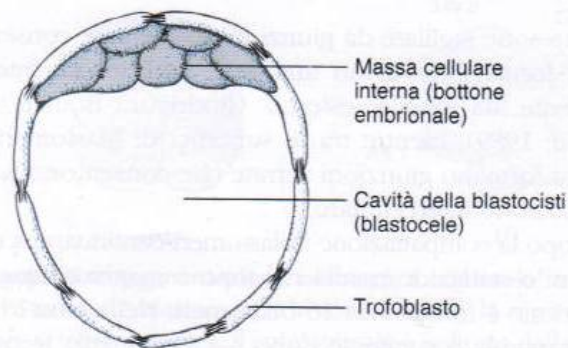
La compattazione è dovuta a una serie di eventi molto significativi quali l'espressione di proteine di adesione cellulare come la E-caderina, per cui le superfici dei blastomeri aderiscono strettamente tra di loro per quasi tutta la loro estensione dando luogo alla formazione di una sfera solida di cellule.



(a) Stadio a 8 blastomeri



(b) Stadio a 16 blastomeri



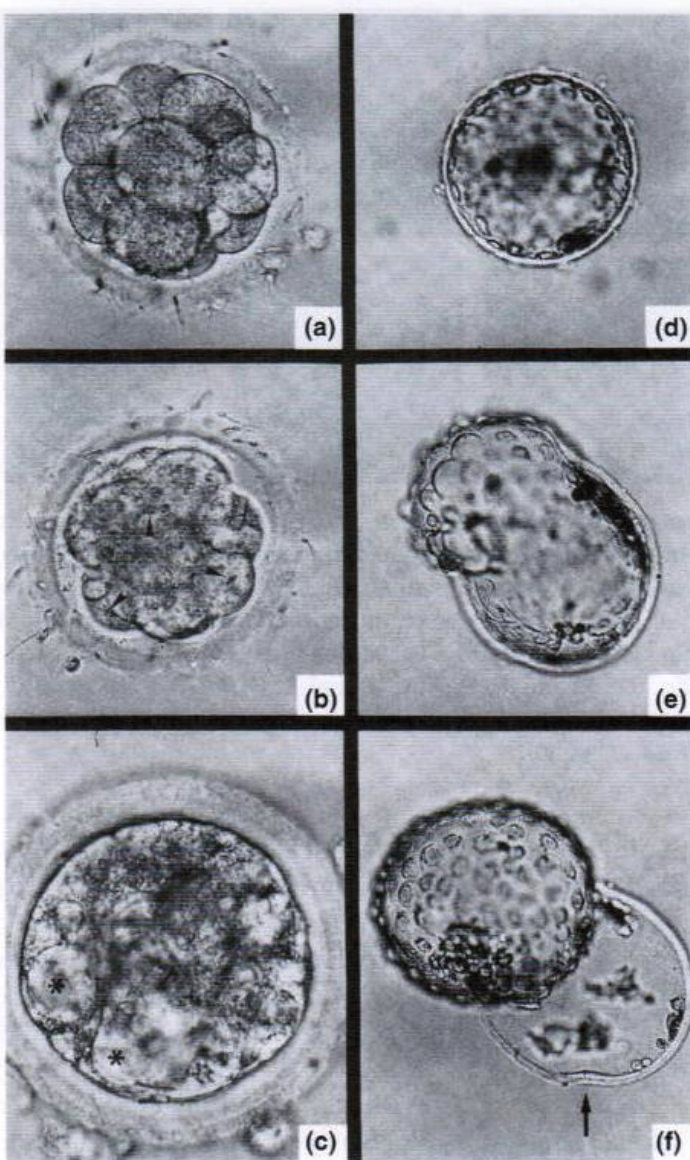
(c) Stadio a 32-64 blastomeri

Figura 5.12 Compattazione, formazione di giunzioni cellulari e cavitazione nell'embrione di mammifero. **(a)** Stadio a 8 blastomeri prima della compattazione. I blastomeri presentano ampi spazi intercellulari. **(b)** Allo stadio di morula l'embrione è formato da 9 a 14 blastomeri all'esterno e da 2 a 7 blastomeri all'interno. I blastomeri esterni presentano giunzioni strette in modo da costituire una sorta di barriera tra l'ambiente esterno e quello interno. Le giunzioni serrate sono presenti tra i blastomeri interni. **(c)** La blastocisti presenta un'ampia cavità, una massa cellulare interna (ICM) o bottone embrionale da cui deriva l'embrione vero e proprio, e il trofoblasto che svolge una specifica funzione nella schiusa dell'embrione dalla zona pellucida e nell'impianto dell'embrione nella cavità uterina.

Embrione di mammifero: compattazione

Le cellule esterne diventeranno **cellule del trofoblasto** (greco trofos = nutrimento), che partecipano alla formazione della placenta; quelle interne, invece, formeranno la **massa cellulare interna** (ICM, inner cell mass) destinata a dare l'embrione e parte dei suoi annessi → primo evento di differenziamento!

le cellule del trofoblasto producono la **gonadotropina corionica**



Embrione di mammifero:
compattazione e uscita dalla zona
pellucida

Figura 5.13 Schiusa della blastocisti di *Macacus rhesus* dalla zona pellucida. **(a)** embrione a 16 blastomeri; **(b)** morula dopo compattazione; **(c)** blastocisti con cavità (*); **(d)** blastocisti interamente formata ancora all'interno della zona pellucida; **(e)** blastocisti che inizia a uscire dalla zona pellucida; **(f)** blastocisti quasi totalmente fuori dalla zona pellucida; la freccia indica il residuo della zona pellucida

Intero sviluppo uomo (inglese 2 min):

<https://www.hhmi.org/biointeractive/human-embryonic-development>

<https://www.youtube.com/watch?v=zTGy5L1hlis>

GASTRULAZIONE

avvenimenti

- spostamento delle cellule che costituivano le diverse aree dei territori presuntivi nella sede definitiva dove daranno origine ai foglietti embrionali
- formazione di 3 strati cellulari o foglietti embrionali
 - Ectoderma
 - Endoderma
 - Mesoderma
- l'embrione si accresce e si allunga
- Da blastula a gastrula

GASTRULAZIONE E MORFOGENESI

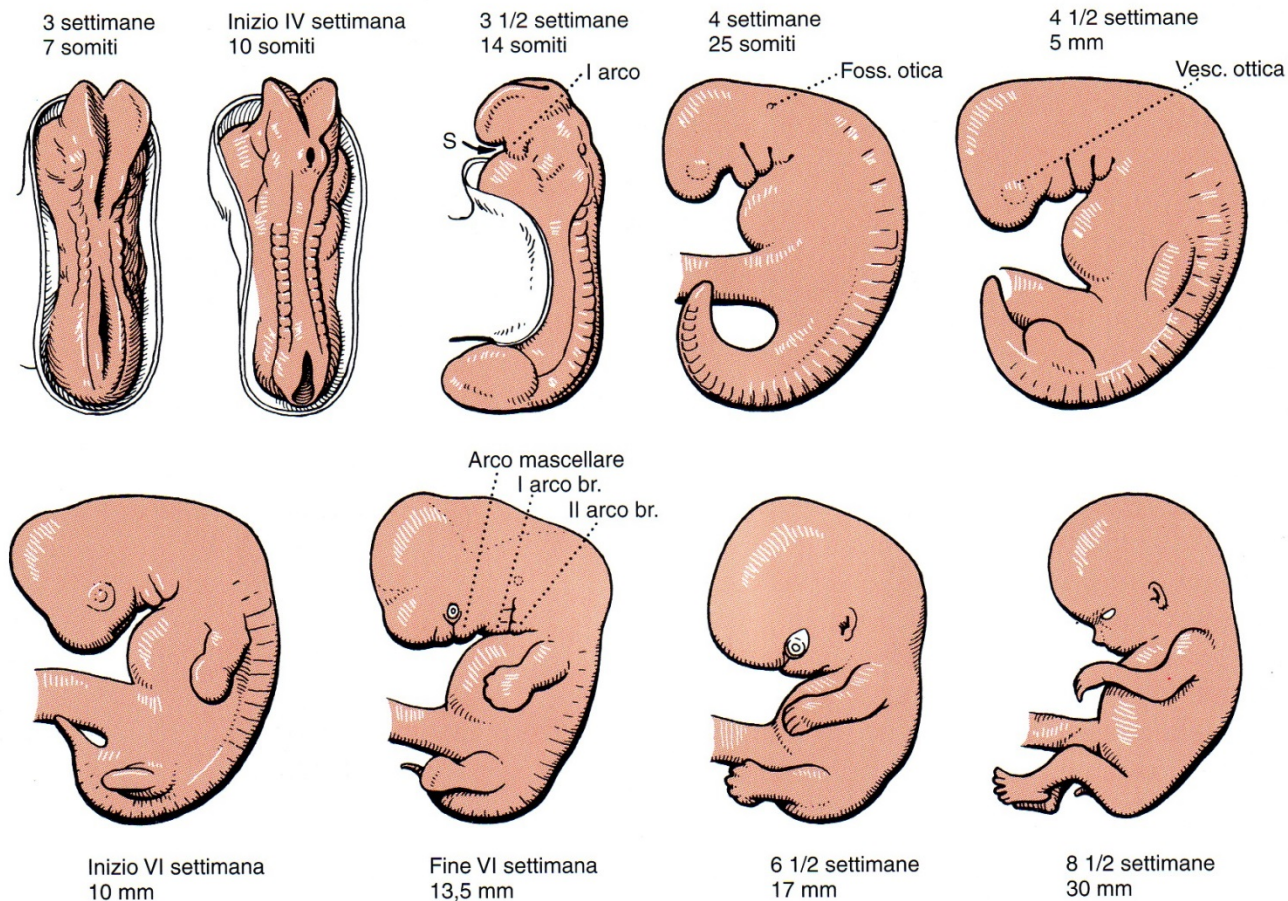
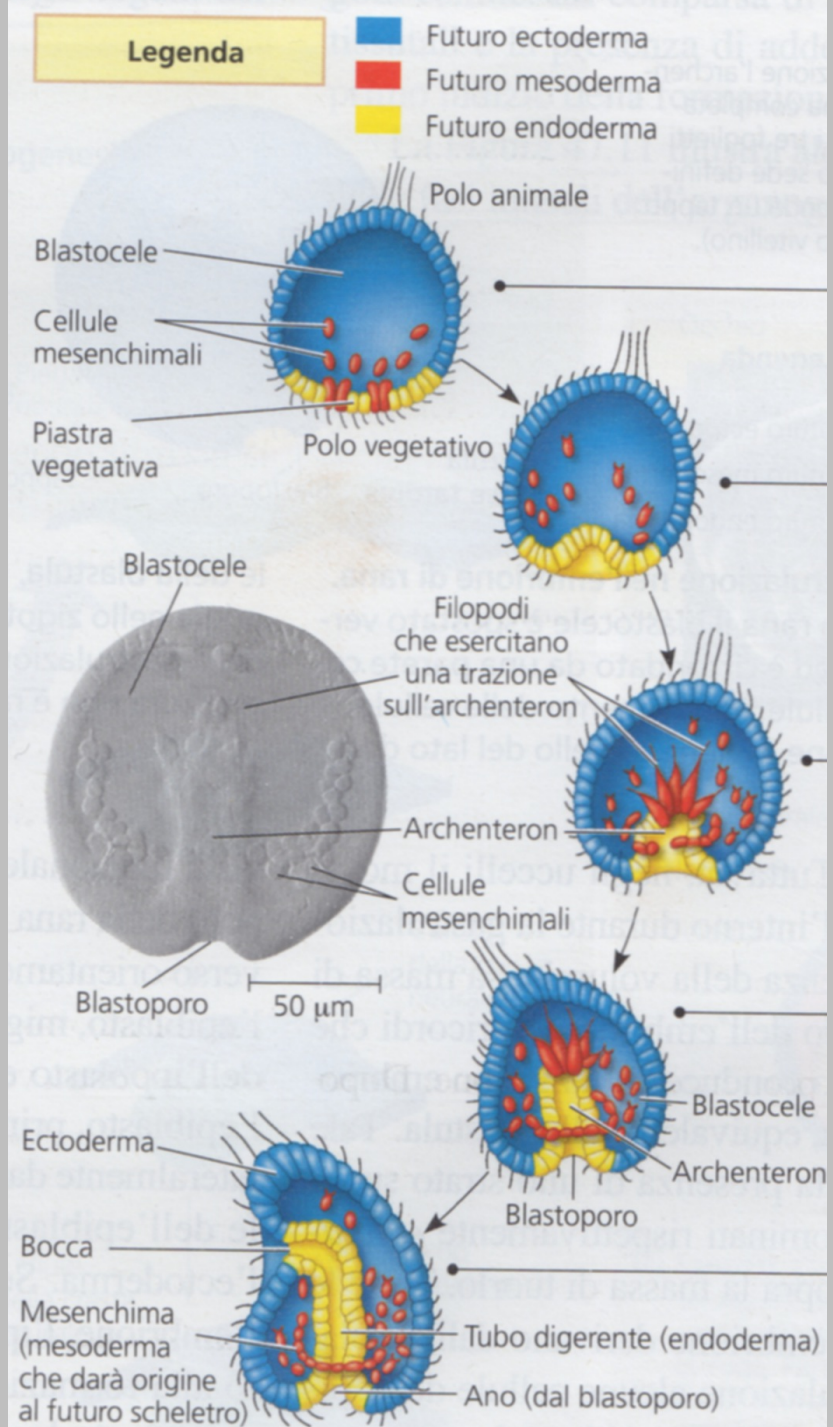


Fig. 11.34 Modificazioni della forma esterna del corpo durante il periodo embrionale. (Da P.L. Williams e C.P. Wendell-Smith, *Embriologia*, Edi.Ermes).

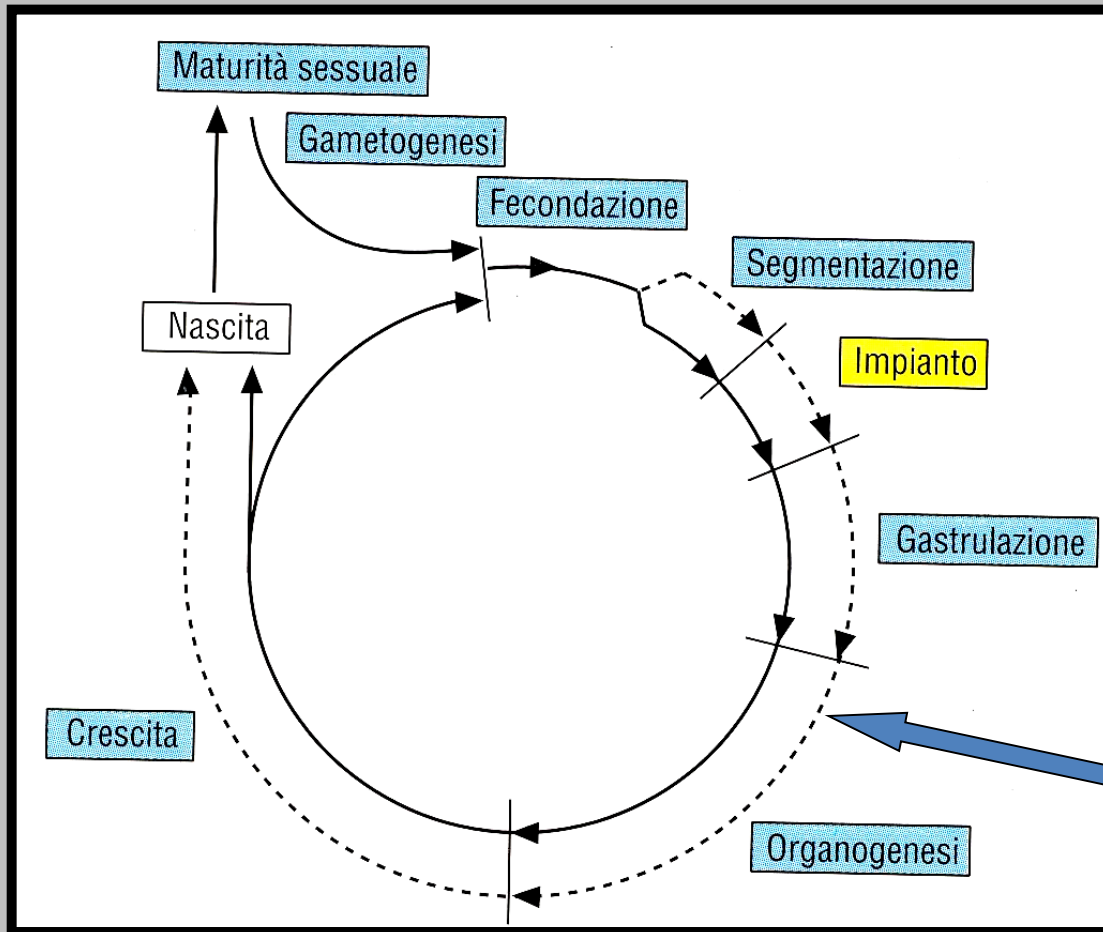
- Nella maggior parte degli animali la gastrulazione implica un'ampia redistribuzione delle cellule → formazione di un embrione tristratificato, caratterizzato dalla presenza di un canale digerente primordiale.

Gastrulazione nell'embrione di riccio di mare (deuterostomi)



Riprendiamo il CICLO VITALE: nei MAMMIFERI

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



L'impianto realizza il contatto fisico tra Embrione e utero

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

1. La blastocisti raggiunge l'utero dopo circa 4 giorni.
2. Trofoblasto: secerne enzimi che degradano l'endometrio e sviluppa estroflessioni digitiformi all'interno del tessuto materno.
La massa cellulare interna dà origine a due strati, l'epiblasto (che originerà l'embrione) e l'ipoblasto.
3. La gastrulazione ha inizio al termine dell'impianto embrionale.
Iniziano a formarsi la placenta e gli annessi embrionali.
 - corion: garantisce gli scambi gassosi
 - amnios: svolge una funzione di protezione
 - sacco vitellino: colmo di liquido; la membrana che lo delimita è la sede della formazione delle cellule ematiche
 - allantoide: dà origine ai vasi sanguigni
4. Al termine della gastrulazione si formano i tre foglietti embrionali.

GASTRULAZIONE NEI MAMMIFERI

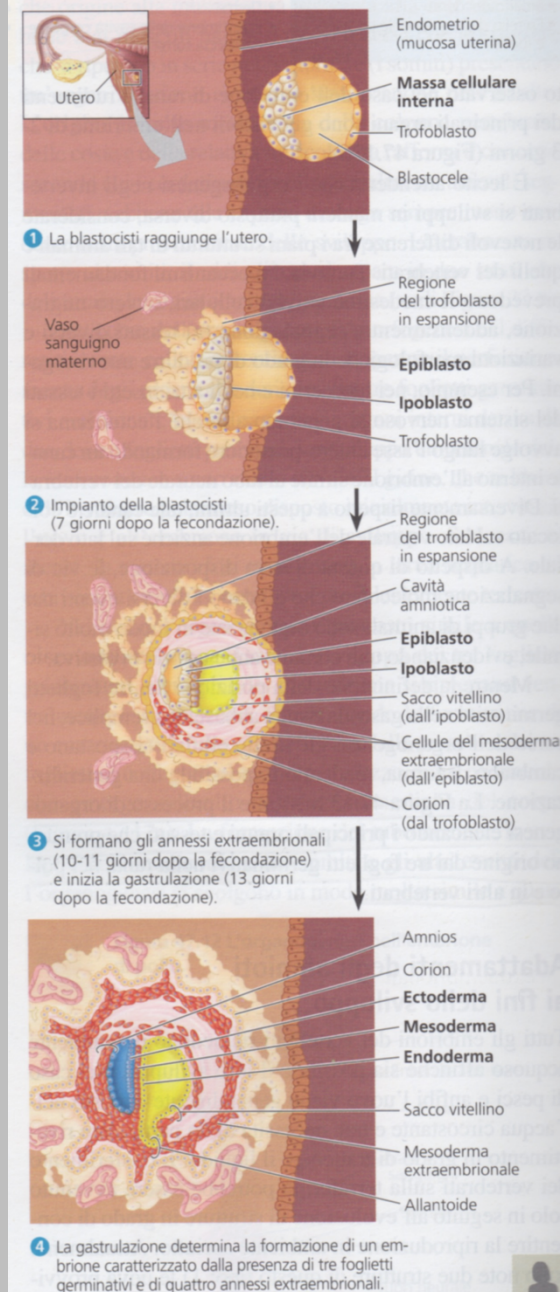


Figura 47.15 Quattro fasi iniziali dello sviluppo di un embrione umano. L'epiblasto dà origine ai tre foglietti germinativi da cui si sviluppa l'embrione. Per la descrizione di ciascuno stadio vedi il testo.



Principali organi e tessuti che prendono origine dai tre foglietti embrionali (nella rana, pollo e altri vertebrati)

ECTODERMA

- Epidermide e annessi cutanei (compresi le ghiandole sudoripare e i follicoli piliferi)
- Rivestimento epiteliale di bocca e ano
- Cornea e cristallino dell'occhio
- Sistema nervoso
- Recettori sensoriali dell'epidermide
- Midollare surrenale
- Smalto dei denti
- Epitelio delle ghiandole epifisi e ipofisi

MESODERMA

- Notocorda
- Apparato scheletrico
- Apparato muscolare
- Muscolatura liscia dello stomaco e dell'intestino
- Apparato escretore
- Apparato circolatorio e linfatico
- Apparato riproduttivo (a eccezione delle cellule germinali)
- Derma
- Rivestimenti delle cavità corporee
- Corteccia surrenale

ENDODERMA

- Rivestimento mucoso dell'apparato digerente
- Rivestimento mucoso dell'apparato respiratorio
- Epitelio di uretra, vescica urinaria e apparato riproduttivo
- Fegato
- Pancreas
- Timo
- Tiroide e paratiroidi

Quali eventi trasformano uno zigote nell'organismo che da questo zigote deriva?

Tre processi non correlati tra loro, trasformano lo zigote in un organismo:

- 1) **divisione cellulare**: attraverso mitosi lo zigote genera un numero enorme di cellule
- 2) **differenziamento cellulare**: processo che consente alle cellule di acquisire una specializzazione strutturale e funzionale
- 3) **morfogenes**: processi che conferiscono all'organismo una forma caratteristica

Il differenziamento cellulare avviene fondamentalmente per due ragioni:

- a) presenza nell'uovo non fecondato di diversi **determinanti citoplasmatici** (RNA e proteine, soprattutto fattori di trascrizione) codificate dal DNA materno
- b) **induzione**: segnali importanti per lo sviluppo giungono dalle cellule circostanti mediante molecole segnale, oppure, quando le cellule sono a contatto, da interazioni tra superfici cellulari (es. caderine)

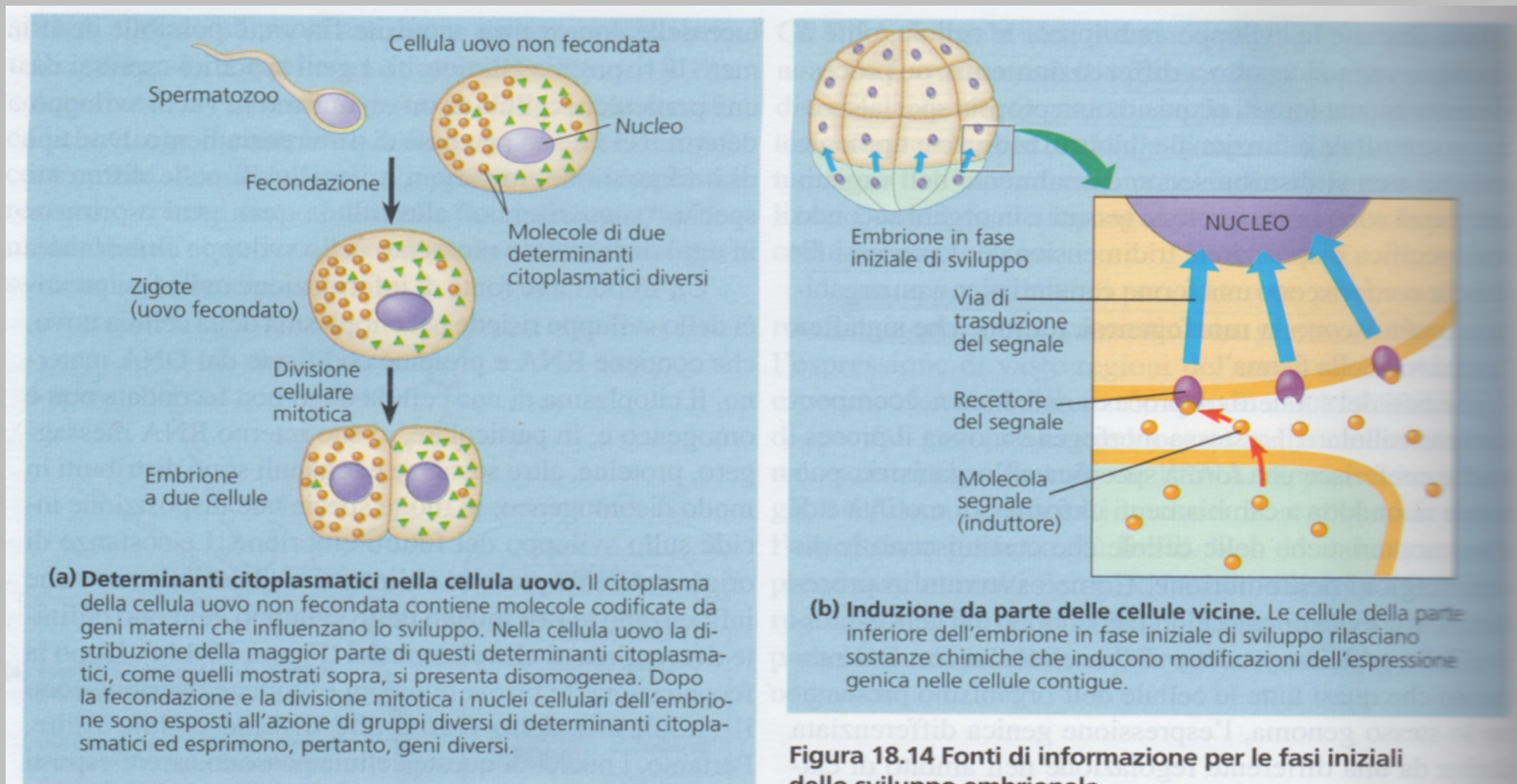


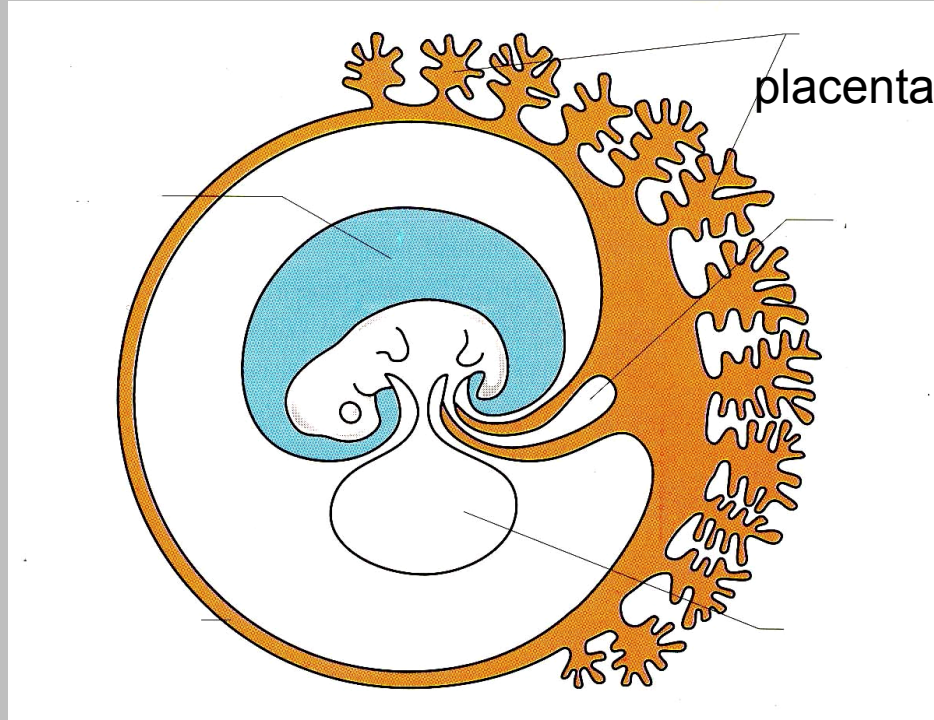
Figura 18.14 Fonti di informazione per le fasi iniziali dello sviluppo embrionale.

Mammiferi placentati

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

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

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



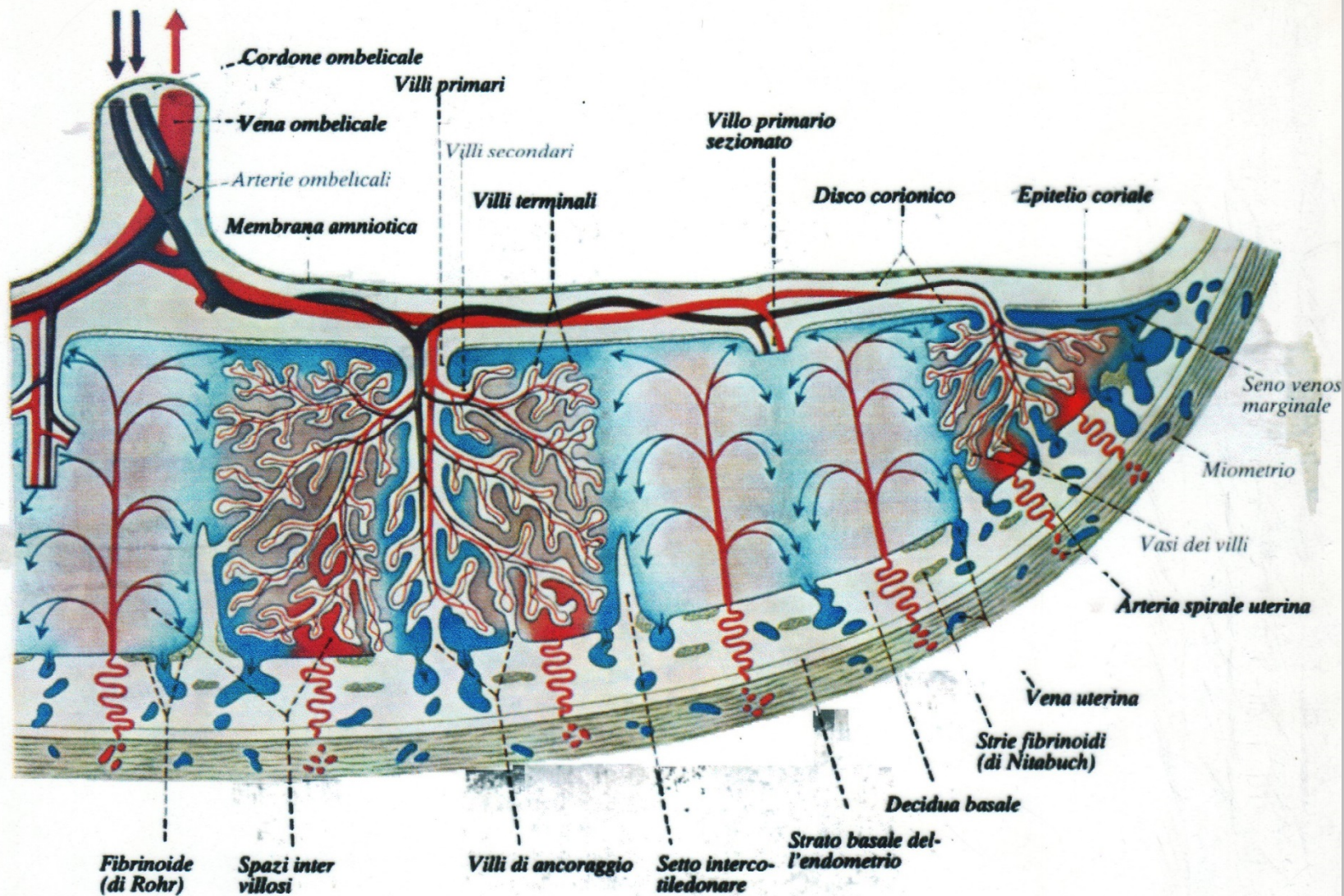
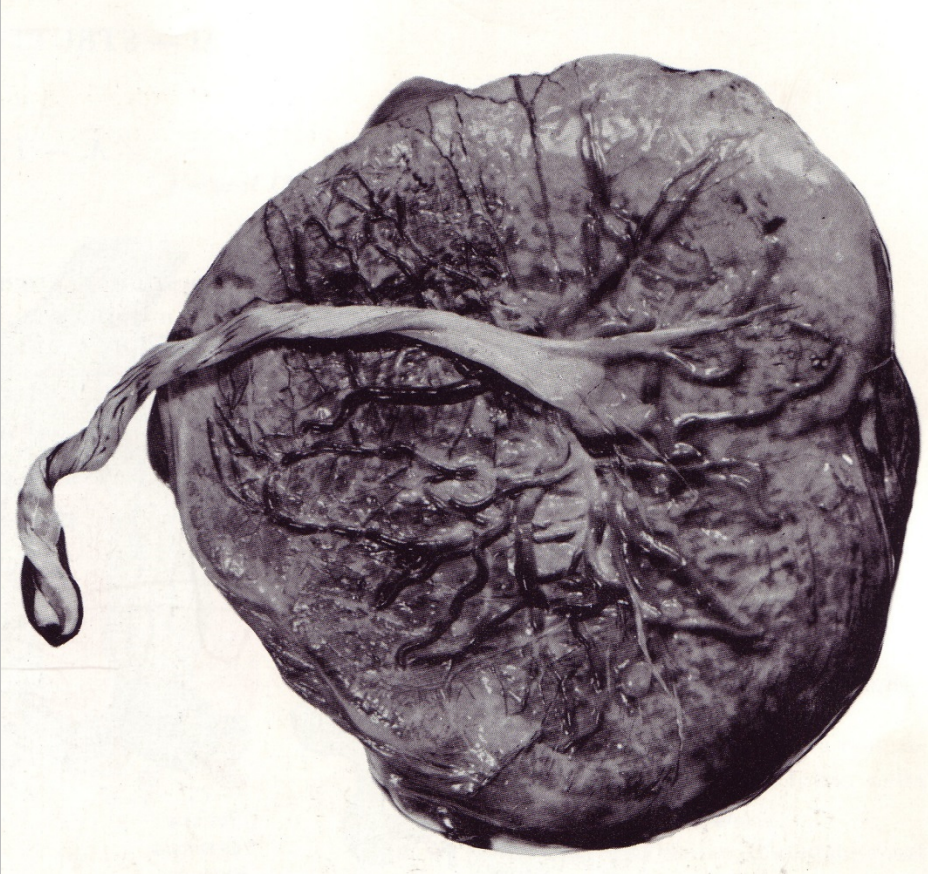
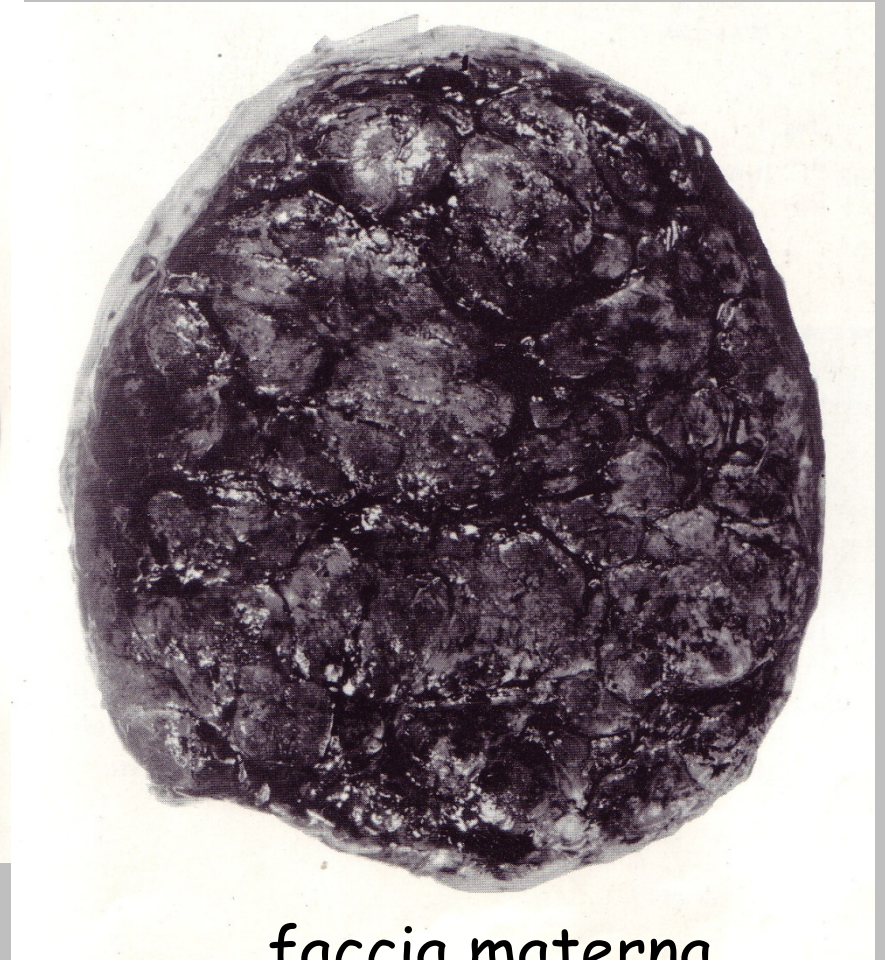


Fig. 439. Rappresentazione schematica della circolazione placentare (da v. Heidegger e Starck, modificato). Il sangue entra con alta pressione negli spazi intervillosi attraverso le arterie spirali della decidua basale, sale fino al disco corionico dove inverte il flusso per circolare tra i villi coriali, e infine viene drenato dalle vene uterine. Nel corso della gravidanza viene depositato, in diversi punti della placenta, il cosiddetto fibrinoide. Si tratta di materiale eosinofilo con comportamento tintoriale simile a quello della fibrina, che probabilmente si sviluppa nel corso di processi degenerativi (cfr. Fig. 440).

Placenta umana



faccia fetale



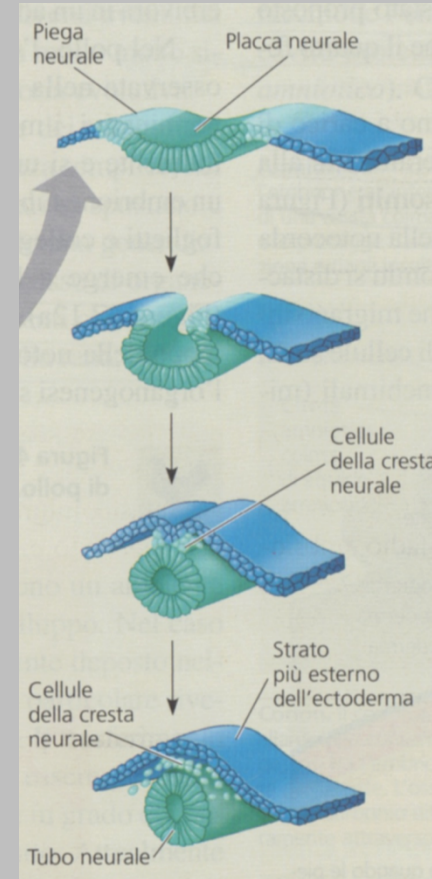
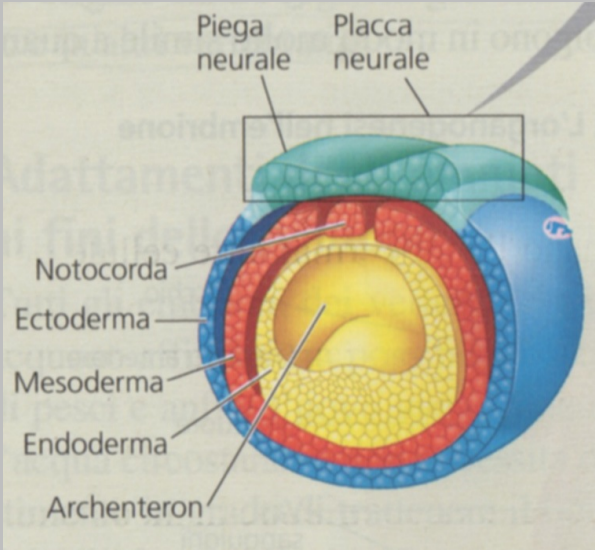
faccia materna

MORFOGENESI-ORGANOGENESI

Nel corso dell'organogenesi le diverse regioni dei tre foglietti germinativi si evolvono e formano organi rudimentali.

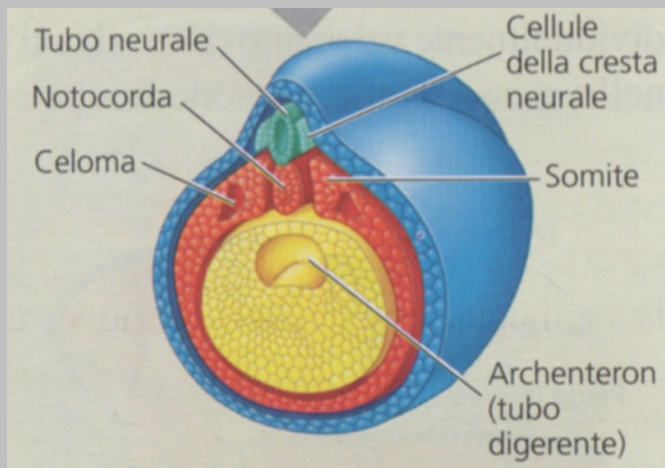
Prime fasi dell'organogenesi nell'embrione di rana

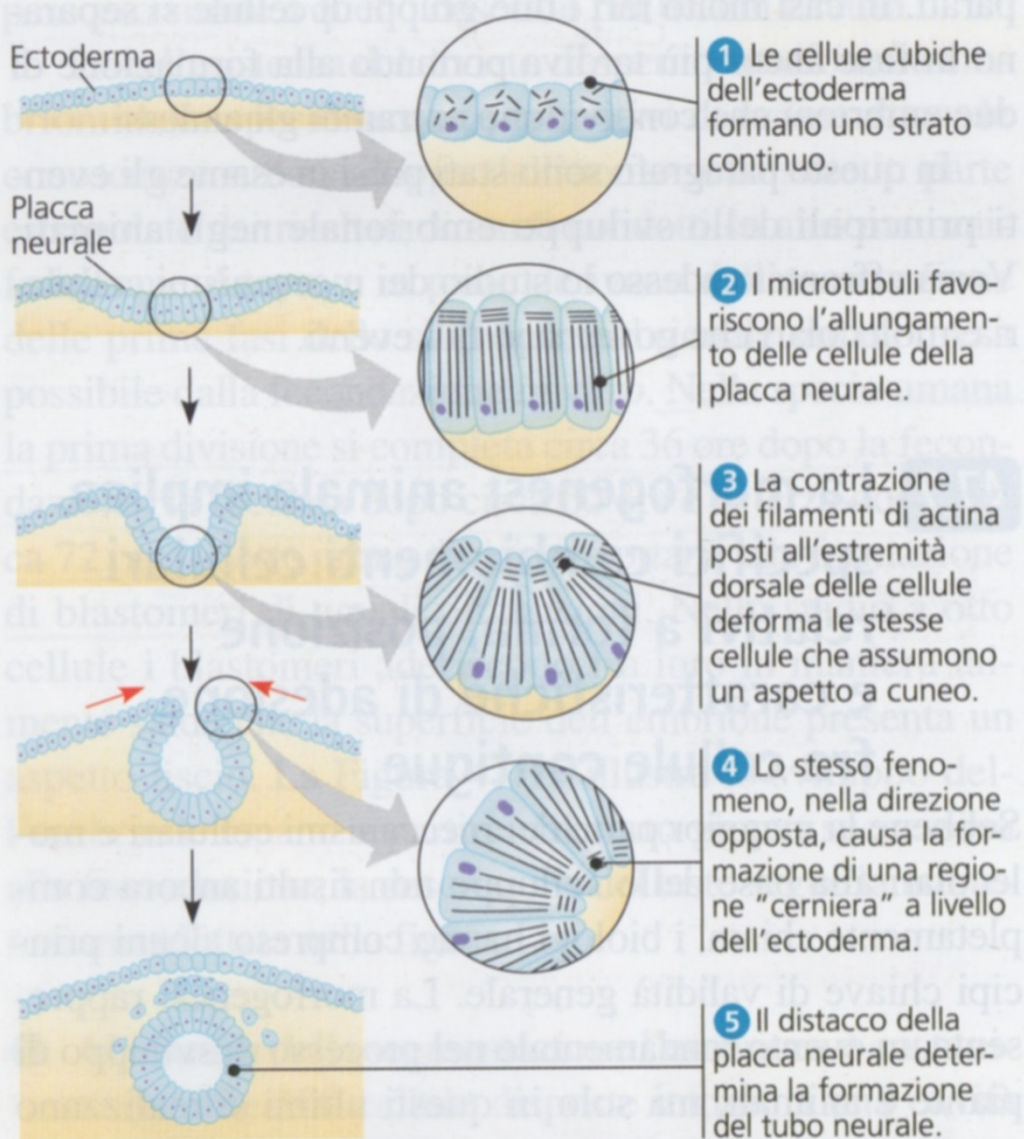
1. La notocorda (colonna vertebrale) trae origine dal mesoderma dorsale.



2. L'ectoderma a contatto con la notocorda risponde a una serie di molecole segnale secrete dal mesoderma, trasformandosi in **placca neurale**, che si chiude a formare il tubo neurale (sist. nervoso). Cellule della cresta migrano in varie zone dando origine ai nervi periferici.

3. Lateralmente alla notocorda altri addensamenti di mesoderma si separano in blocchi formando i somiti (vertebre).

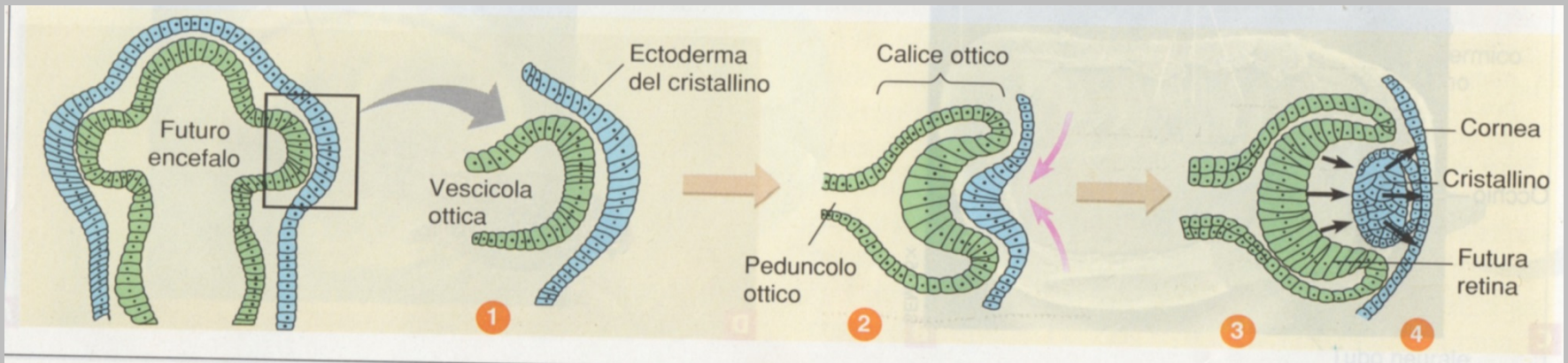




La riorganizzazione del citoscheletro nelle cellule consente cambiamenti della forma cellulare.

Figura 47.16 Cambiamenti della forma cellulare durante la morfogenesi. Come è possibile osservare nel caso della formazione del tubo neurale dei vertebrati (processo illustrato in questa figura), i cambiamenti morfogenetici dei tessuti embrionali sono associati alla riorganizzazione del citoscheletro.

PROCESSO DI INDUZIONE DURANTE LO SVILUPPO DELL'OCCHIO



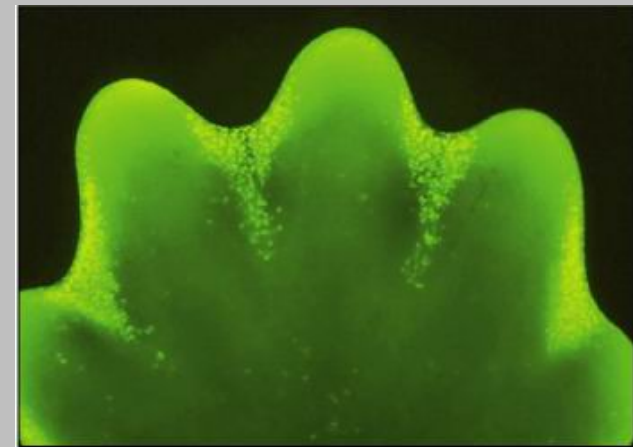
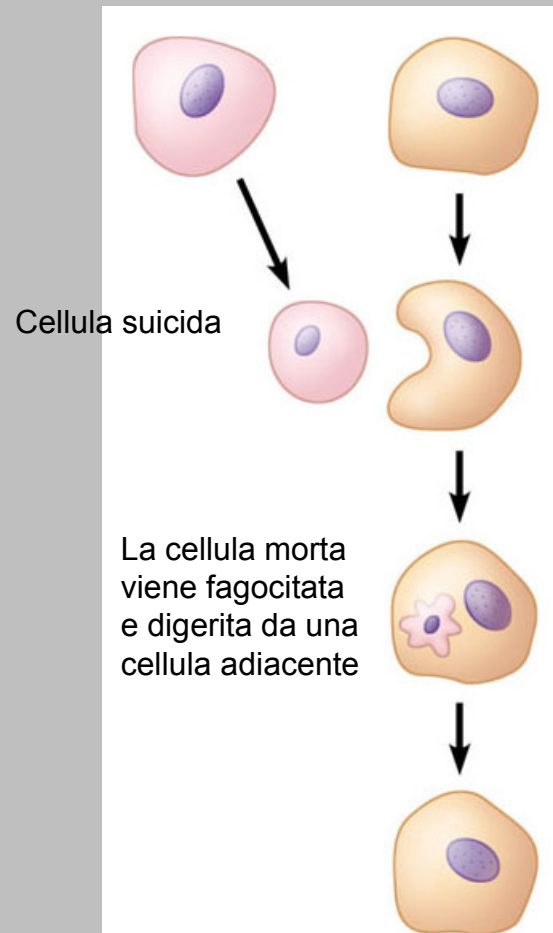
La vescicola ottica induce la formazione del cristallino.

Il cristallino induce la formazione della cornea.

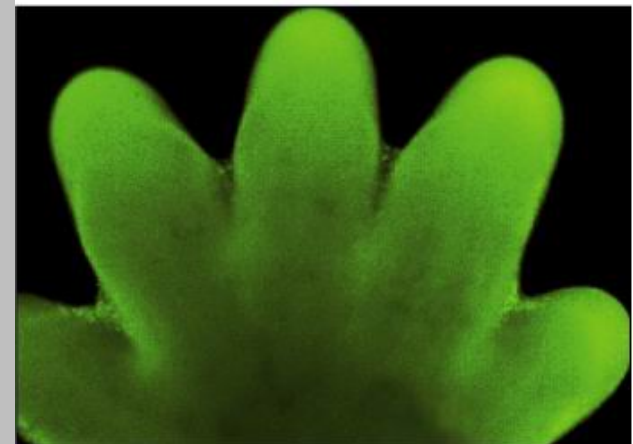
MORFOGENESI apoptosi

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

Apoptosi durante lo SVILUPPO della zampa di topo



(A)



(B)

1 mm

GLI ASSI DEL PIANO STRUTTURALE DI BASE

Un animale a simmetria bilaterale presenta:

- un asse antero-posteriore
- un asse dorso-ventrale
- un lato sinistro e uno destro

La definizione di questo piano rappresenta il primo passo verso la morfogenesi