

Introduzione

Argomenti

- Terminologia di base
- Stadi della vita umana
- Trimestri di gravidanza
- Implicazioni cliniche
- Termini descrittivi in embriologia
 - Cromosomi*
- Divisione cellulare
 - Mitosi
 - Meiosi
- Non disgiunzione*
- Organizzatore e induzione*
- Regolazione molecolare dello sviluppo embrionale
 - Embriologia sperimentale
 - Nomenclatura di geni e proteine
 - Basi molecolari della regolazione genica

TERMINOLOGIA DI BASE

Embriologia

- L'embriologia è una branca della scienza che si occupa dello studio della formazione e dello sviluppo di un organismo prima della nascita (dal greco *embryon* = "embrione").

Riproduzione

- La riproduzione sessuale comporta la fusione dei gameti maschile e femminile e la successiva formazione di una prole.
- Contribuisce al mantenimento delle specie.

Biologia della riproduzione

- La biologia della riproduzione comprende l'analisi dei sistemi riproduttivi, con particolare attenzione a endocrinologia, sviluppo sessuale e fertilità.

Anatomia dello sviluppo

- È lo studio delle modificazioni strutturali che si verificano nell'organismo nel corso della vita (dal momento della fecondazione alla maturità).

Ontogenetica

- L'ontogenetica si occupa dello studio dell'ontogenesi, ovvero il ciclo di vita completo di un organismo (crescita e sviluppo prenatale e postnatale).

Filogenetica

- La filogenetica si occupa dello studio della filogenesi, ovvero la storia evolutiva degli organismi e le loro relazioni.
- Dal punto di vista filogenetico, gli organismi animali vertebrati sono classificati in pesci, anfibi, rettili, uccelli e mammiferi.
- I mammiferi sono ulteriormente classificati in prototeri (ovipari), metateri (producono una prole molto immatura, che matura in una tasca della madre, marsupiali) ed euteri (partoriscono una prole matura che riceve il nutrimento attraverso la placenta fino alla nascita).
- L'uomo è un *mammifero eutero* o *placentato*.
- Durante lo sviluppo dell'uomo, si osserva che l'ontogenesi ricapitola la filogenesi (Ernst Haeckel, 1866).
- Ciò può essere esemplificato dallo sviluppo del rene umano: rene pronefrico → rene mesonefrico → rene metanefrico.

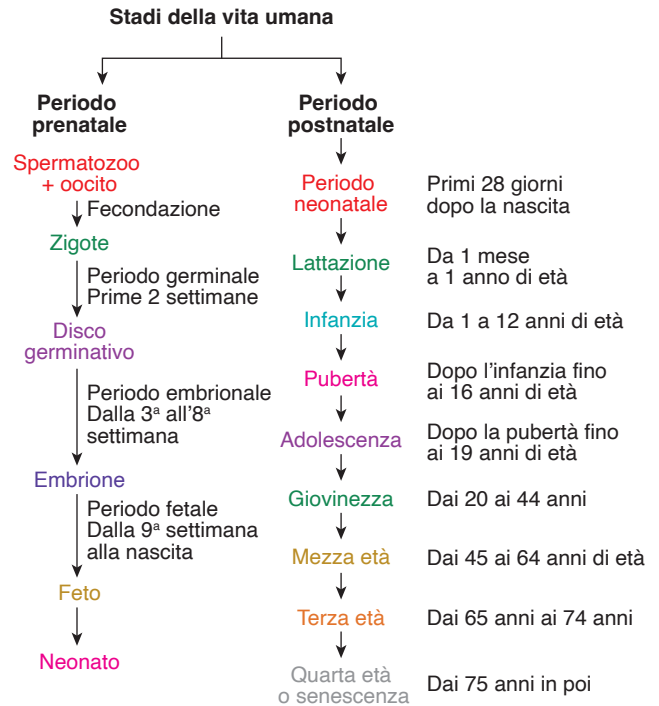
Sviluppo

- Lo sviluppo di un organismo umano a partire dallo stadio di singola cellula comprende i processi di crescita e differenziamento.
- Il termine *sviluppo* è un termine generale che indica la trasformazione di una singola cellula in un organismo pluricellulare complesso.
- Il termine *crescita* indica un aumento del numero e della dimensione delle cellule.
- La crescita può essere di quattro tipi:
 - Crescita per moltiplicazione*: aumento del numero di cellule mediante divisione cellulare.
 - Crescita per auxesi*: aumento delle dimensioni delle cellule.
 - Crescita per accrezione*: crescita dovuta a cellule di riserva nella vita postembrionale.
 - Crescita per apposizione*: formazione di nuovi strati su quelli formati in precedenza.
- Il **differenziamento** è un processo di trasformazione cellulare che comporta l'acquisizione da parte delle cellule di caratteristiche e funzioni specifiche.
- Lo zigote si divide per formare alcune tipologie cellulari indifferenziate, tra cui:
 - Cellule totipotenti*: le cellule dello zigote o della morula possono produrre tutti i tipi cellulari differenziati di un organismo.
 - Cellule pluripotenti*: la massa cellulare interna della blastocisti può formare tutti i tipi di cellule differenziate di un organismo, ad eccezione della placenta.
 - Cellule multipotenti*: le cellule staminali dell'adulto possono produrre più di un tipo cellulare.
- Il differenziamento può coinvolgere i seguenti processi:
 - Differenziamento chimico
 - Differenziamento istologico
 - Organogenesi
 - Differenziamento funzionale.
- La **gametogenesi** è il processo di formazione dei gameti (oocito e spermatozoo) a partire dalle cellule germinali.

STADI DELLA VITA UMANA

- L'organismo umano va incontro a continue modifiche fisiche nel corso della vita. Le modifiche progressive, ordinate e prevedibili dell'organismo umano iniziano al momento del concepimento e continuano fino alla morte dell'individuo.
- Queste modifiche sono influenzate da fattori genetici, nutrizionali, ambientali, socioeconomici e da molti altri fattori.
- Dal punto di vista dello sviluppo, la vita umana viene suddivisa nei seguenti stadi o periodi (Diagramma di flusso 1.1):
 - Periodo prenatale**: dal punto di vista embriologico, il periodo prenatale viene suddiviso nelle seguenti fasi (Fig. 1.1):

Diagramma di flusso 1.1 Stadi della vita umana



- Periodo germinale/ovulare**: prime 2 settimane di sviluppo dopo la fecondazione.
- Periodo embrionale**: dalla 3ª all'8ª settimana di sviluppo.
- Periodo fetale**: dal 3º mese al termine della gravidanza.

Periodo germinale: in questo periodo, il prodotto del concepimento (*conceptus*) viene anche chiamato *conceptus preimpianto*. Nella fecondazione in vitro, il *conceptus preimpianto* deve essere trasferito nell'utero per l'ulteriore accrescimento. In seguito, dopo l'impianto, il prodotto del concepimento viene chiamato *conceptus postimpianto*.

- Periodo postnatale**: viene suddiviso nelle seguenti fasi:
 - Periodo neonatale**: primi 28 giorni dopo la nascita.
 - Lattazione**: da 1 mese a 1 anno di età.
 - Infanzia**: da 1 a 12 anni di età.
 - Pubertà**: dopo l'infanzia fino ai 16 anni di età.

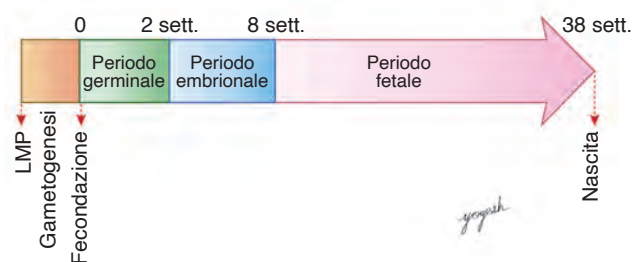


Figura 1.1 Periodi dell'embriologia umana. LMP (Last Menstrual Period), ultimo ciclo mestruale; sett., settimana.

- E. *Adolescenza*: dopo la pubertà fino ai 19 anni di età.
- F. *Giovinezza*: dai 20 ai 44 anni.
- G. *Mezza età*: dai 45 ai 64 anni di età.
- H. *Terza età*: dai 65 anni ai 74 anni.
- I. *Quarta età o senescenza*: dai 75 anni in poi.

Le diverse età del periodo fetale (embrionale)

Età gestazionale o mestruale

- L'età gestazionale viene misurata dall'inizio dell'ultimo ciclo mestruale (LMP, Last Menstrual Period).
- L'età gestazionale viene utilizzata clinicamente per valutare il benessere fetale, per calcolare la data presunta del parto e per l'adozione di interventi (amniocentesi, villocentesi, interruzione della gravidanza eccetera).

Età concezionale

- L'età concezionale viene misurata dal momento della fecondazione.
- L'età concezionale è di 2 settimane in meno rispetto all'età gestazionale.

Età somitica

- I somiti sono masse triangolari di mesenchima nell'embrione in via di sviluppo.
- Nell'uomo sono presenti 42-44 paia di somiti.
- Il primo somite compare al 20° giorno dopo la fecondazione. Ogni giorno il loro numero aumenta di circa tre unità. Pertanto, i somiti risultano utili per determinare l'età fetale dal 20° al 30° giorno (per i dettagli, si veda Tab. 8.1).
- L'età somitica viene utilizzata dagli embriologi per descrivere gli eventi che si verificano nel corso dello sviluppo.

TRIMESTRI DI GRAVIDANZA

- La gravidanza dura circa 40 settimane, iniziando dal primo giorno dell'ultimo ciclo mestruale (la durata varia da 37 a 42 settimane).
- Clinicamente, il periodo della gravidanza viene suddiviso in tre trimestri, come descritto di seguito.

Primo trimestre

- Si estende dal primo giorno dell'ultimo ciclo mestruale alla 13ª settimana.
- È il *periodo più cruciale* per lo sviluppo degli organi.
- La maggior parte degli aborti spontanei si verifica nel primo trimestre.
- Durante il primo trimestre, la madre può presentare sintomi di gravidanza, tra cui nausea, vomito, cambiamenti del seno, stanchezza, instabilità emotiva, minzione frequente.
- Nel primo trimestre, l'esposizione ad agenti teratogeni, al fumo e all'alcol può provocare lo sviluppo di anomalie fetali.
- L'ecografia risulta utile per confermare la gravidanza

za e determinare la presenza, la dimensione, la posizione e il numero di camere gestazionali.

Secondo trimestre

- Si estende dalla 14ª alla 26ª settimana di gestazione.
- La madre può presentare vene varicose, dolorabilità lombare, crampi alle gambe, sonnolenza, bruciori di stomaco, stitichezza, minzione frequente.
- A partire dalla 20ª settimana, la madre potrà avvertire i movimenti fetali.
- L'ecografia fra la 18ª e la 20ª settimana viene solitamente eseguita per valutare il benessere fetale, il volume di liquido amniotico, l'attività cardiaca, la posizione della placenta e la morfometria fetale.

Terzo trimestre

- Si estende dalla 27ª settimana al termine della gravidanza (37-42 settimane).

Data presunta del parto (EDD, Expected Date of Delivery)

- Una normale gravidanza a termine dura da 37 a 42 settimane.
- La data presunta del parto può essere determinata contando 280 giorni a partire dal primo giorno dell'ultimo ciclo mestruale (LMP) o 266 giorni a partire dalla data del concepimento.
- *Formula di Naegele* (Franz Karl Naegele, 1801-1851)
EDD = Primo giorno di LMP + 9 mesi + 7 giorni = Primo giorno di LMP + 280 giorni.

IMPLICAZIONI CLINICHE

1. In genere, il 3-4% dei neonati presenta difetti congeniti. La comprensione dei meccanismi che determinano tali malformazioni è essenziale per un adeguato trattamento.
2. Lo studio dell'embriologia aiuta a comprendere l'anatomia macroscopica e le strutture istologiche dell'organismo.
3. I geni che controllano lo sviluppo possono presentare mutazioni responsabili di malformazioni.
4. La conoscenza dell'embriologia può essere applicata ai casi di infertilità (fecondazione in vitro, inseminazione intrauterina).
5. La conoscenza dell'embriologia è essenziale per la diagnosi prenatale e per la terapia fetale (amniocentesi, villocentesi).

Approfondimenti

- Aristotele (384-322 a.C.) è il fondatore dell'embriologia, mentre Karl Ernst von Baer è il padre dell'embriologia moderna.
- Louise Brown (1978) è stata la prima bambina nata in provetta.
- Dolly, una femmina di pecora (1996), è stata il primo mammifero clonato.

- Il cromosoma Y è acrocentrico e di dimensioni relativamente piccole, mentre il cromosoma X è di grandi dimensioni e submetacentrico.
- Le seguenti metodologie diagnostiche consentono di analizzare l'anatomia fetale:
 1. Ecografia (per i dettagli, si veda Cap. 29)
 2. Risonanza magnetica (RM) fetale
 3. Doppler fetale.

TERMINI DESCRITTIVI IN EMBRIOLOGIA

- **Ventrale:** verso l'addome o il lato anteriore.
- **Dorsale:** verso il dorso o il lato posteriore.
- **Craniale o rostrale:** verso la testa.
- **Caudale:** verso la coda o il coccige.
- **Proximale:** vicino alla radice della struttura o verso il tronco.
- **Distale:** lontano dalla radice della struttura o dal tronco.
- **Invaginazione:** proiezione verso l'interno.
- **Evaginazione:** proiezione verso l'esterno.
- **Differenziamento:** aumento della complessità e dell'organizzazione di cellule e tessuti durante lo sviluppo.
- **Gamete:** spermatozoo od oocito.
- **Genotipo:** corredo genetico di un individuo.
- **Mesenchima:** tessuto cellulare lasso che origina dal mesoderma.
- **Fenotipo:** caratteri osservabili di un individuo.
- **Teratogeno:** sostanza che può causare lo sviluppo di difetti congeniti.

Considerazioni fisiopatologiche Cromosomi

- Ogni cellula umana è dotata di 46 cromosomi, ad eccezione dell'oocito (22 + cromosoma X) e dello spermatozoo (22 + cromosoma X o 22 + cromosoma Y).
- Dei 46 cromosomi umani, 22 paia sono *autosomi* e un paio è rappresentato dai *cromosomi sessuali* (cromosomi X e Y).
- I cromosomi sessuali determinano i caratteri sessuali di un individuo.
- **Struttura** (Fig. 1.2)
 - Ogni cromosoma è costituito da acido desossiribonucleico (DNA) strettamente avvolto attorno a proteine istoniche.
 - Ogni cromosoma è formato da cromatidi fratelli, uniti in corrispondenza del centromero.
 - Il cromosoma presenta due bracci: il braccio corto (braccio p, dove "p" deriva da *petit* che significa piccolo) e il braccio lungo (braccio q).
 - Questa struttura tipica del cromosoma è osservabile solo durante la divisione cellulare.
 - Durante l'interfase la struttura dei singoli cromosomi non è più identificabile, in quanto il materiale genetico presente nel nucleo è costituito dalla *cromatina*, nella quale i complessi DNA/istoni formano aggregati poco condensati e trascrivibili (*euromatina*) e molto condensati e non trascrivibili (*eterocromatina*).

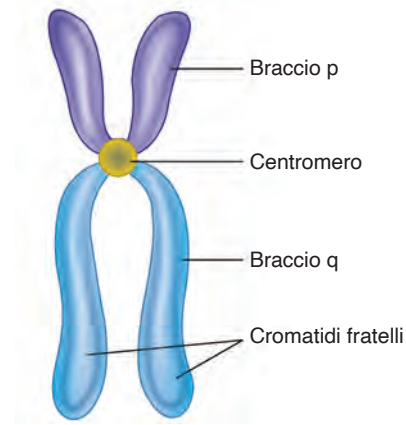


Figura 1.2 Struttura dei cromosomi.

DIVISIONE CELLULARE

- La divisione cellulare è un processo che consente la proliferazione cellulare.
- Può essere di due tipi: mitosi e meiosi (Tab. 1.1).

Mitosi

- La mitosi è il processo di divisione cellulare che mantiene costante il numero di cromosomi nelle cellule madri e nelle cellule figlie.
- La mitosi è sempre preceduta da una fase S in cui avviene la replicazione del DNA.

Fasi della mitosi (Fig. 1.3, Diagramma di flusso 1.2)

1. **Profase.** Eventi: i cromosomi si condensano e diventano individuabili microscopicamente, le fibre del fuso emergono dai centrosomi, l'involucro nucleare si disgrega e i centrosomi migrano ai poli opposti della cellula.
2. **Prometafase.** Eventi: continua la condensazione dei cromosomi, i centromeri e i cromatidi fratelli diventano visibili, i microtubuli prendono inserzione sul centromero.
3. **Metafase.** Eventi: i cromosomi si dispongono lungo la piastra metafasica, ogni centromero prende contatto con le fibre del fuso provenienti dai poli opposti della cellula.
4. **Anafase.** Eventi: i centromeri si dividono in due, i cromatidi vengono dislocati verso i poli opposti.
5. **Telofase.** Eventi: i cromosomi giungono ai poli opposti della cellula; il fuso mitotico si disgrega e comincia a formarsi l'involucro nucleare.
6. **Citocinesi.** Eventi: compare un solco di divisione che separa le cellule figlie.
 - Al termine del ciclo mitotico, si saranno formate due cellule a partire da una singola cellula.

Significato funzionale della mitosi

- Contribuisce allo sviluppo e alla crescita di un organismo.
- Contribuisce alla sostituzione delle cellule danneggiate.

Tabella 1.1 Differenze tra mitosi e meiosi

Evento	Mitosi	Meiosi
Cellule coinvolte	Tutte le cellule dell'organismo	Solo le cellule germinali
Processo	Divisione <i>equazionale</i>	Divisione <i>riduzionale</i>
Profase	Nessun crossing-over del materiale genetico Nessun processo di sinapsi	Crossing-over del materiale genetico Processo di sinapsi nella fase di zigotene
Metafase	Nessuna formazione di chiasmi I cromosomi si dispongono lungo l'equatore	Formazione di chiasmi I cromosomi omologhi si dispongono ai due lati dell'equatore
Anafase	Divisione del centromero Migrazione dei cromatidi verso i poli opposti	Nessuna divisione del centromero Migrazione degli interi cromosomi verso i poli opposti
Telofase	Cellule figlie con lo stesso numero di cromosomi (46)	Cellule figlie con un numero aploide di cromosomi (23)
Numero di cellule figlie	Due	Quattro

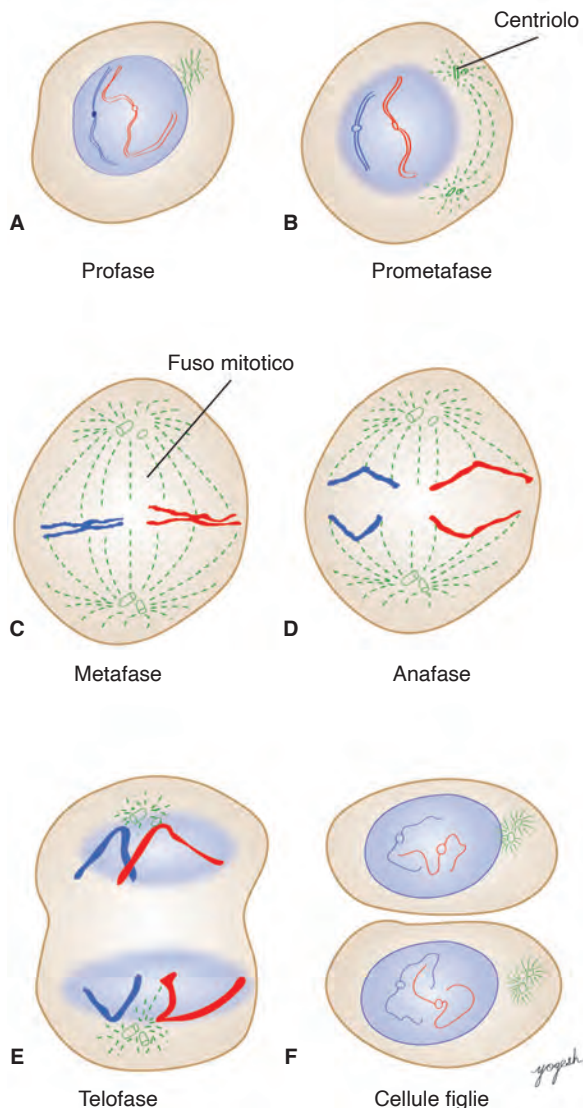


Figura 1.3 Stadi della mitosi.

- Contribuisce alla sostituzione delle cellule senescenti.
- Produce due cellule figlie geneticamente identiche alla cellula madre.

Meiosi

- La meiosi è il processo di divisione cellulare che contribuisce alla formazione di gameti dotati di un numero aploide di cromosomi.
- La meiosi consiste in due divisioni cellulari, chiamate prima divisione meiotica e seconda divisione meiotica.
- La prima divisione meiotica comprende: profase I, metafase I, anafase I e telofase I, mentre la seconda divisione meiotica comprende: profase II, metafase II, anafase II e telofase II.

Profase I

- È una fase prolungata che a sua volta comprende i seguenti stadi (Fig. 1.4):
 1. **Leptotene.** Eventi: i cromosomi diventano visibili e si condensano, i cromatidi fratelli di ogni cromosoma sono strettamente appaiati.
 2. **Zigotene.** Eventi: sinapsi o coniugazione (appaiamento dei cromosomi omologhi); i cromosomi appaiati prendono il nome di **cromosomi bivalenti** o **tetradi**.
 3. **Pachitene.** Eventi: crossing-over (scambio di materiale cromatinico tra i cromatidi ravvicinati di cromosomi bivalenti omologhi). Il punto di contatto dei cromatidi durante il crossing-over prende il nome di **chiasma**.
 4. **Diplotene.** Eventi: i cromosomi omologhi si separano.
- La fase di diplotene è seguita da metafase I, anafase I e telofase I. Nell'anafase I non si verifica la divisione del centromero.

Diagramma di flusso 1.2 Ciclo cellulare e mitosi

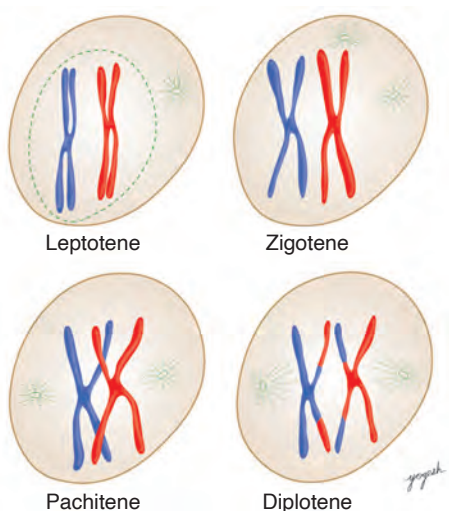
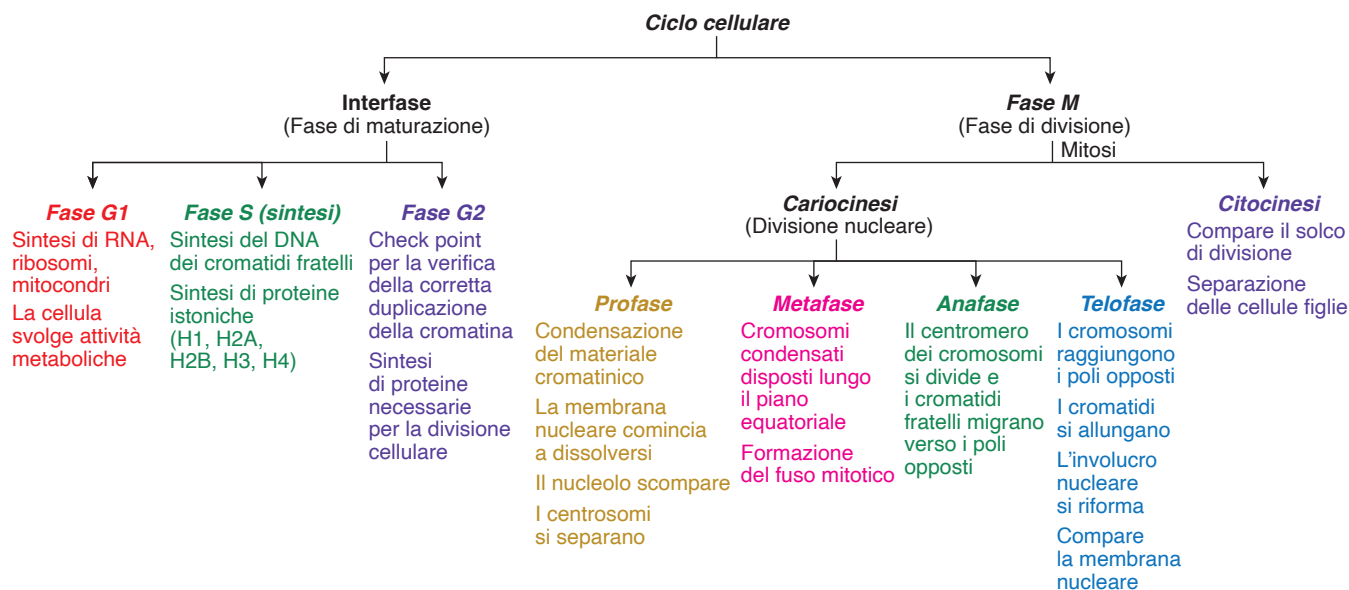


Figura 1.4 Stadi della profase della prima divisione meiotica.

- I cromosomi omologhi migrano verso i poli opposti della cellula. Pertanto, le cellule figlie risultanti ricevono solo un numero aploide di cromosomi.
- La seconda divisione meiotica è equivalente a una mitosi e porta alla formazione di due cellule.
- Pertanto, al termine della meiosi, si saranno formate quattro cellule figlie con un numero aploide di cromosomi.

Significato funzionale della meiosi

1. La formazione di gameti è la funzione principale della meiosi.
2. La meiosi contribuisce a mantenere costante il numero di cromosomi durante la riproduzione sessuale.
3. Si verifica uno scambio tra geni materni e paterni presenti sui cromosomi omologhi.
4. La meiosi (crossing-over) contribuisce a mantenere la diversità genetica e la mescolanza dei caratteri.

Approfondimenti

Fasi del ciclo di vita cellulare (Fig. 1.5; si veda Diagramma di flusso 1.2)

- **Fase G1:** fa seguito alla fase M. Eventi: aumento di volume del citoplasma; riparazione del DNA danneggiato.
- **Fase S:** fa seguito alla fase G1. Eventi: replicazione del DNA con formazione di due cromatidi fratelli di ciascun braccio del cromosoma. Ogni cellula contiene un numero di cromosomi pari a $4n$ ($2n \times 2$).
- **Fase G2:** fa seguito alla fase S. Eventi: check point cellulare in cui viene verificata la corretta duplicazione della cromatina prima della mitosi o della meiosi.
- **Fase G0:** fase di arresto temporaneo o irreversibile del ciclo cellulare.
- **Fase M:** fase di divisione cellulare.

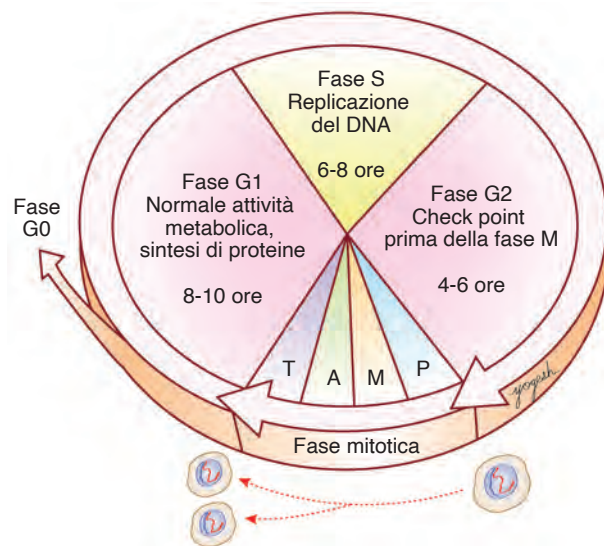


Figura 1.5 Fasi della divisione cellulare. A, anafase; M, metafase; P, profase; T, telofase.

Considerazioni fisiopatologiche Non disgiunzione

- La normale separazione dei cromosomi durante la prima divisione meiotica o dei cromatidi fratelli durante la seconda divisione meiotica prende il nome di disgiunzione.
- Se il processo di segregazione avviene in modo anomalo, si parla di *non disgiunzione*.
- Nella non disgiunzione, i gameti risultanti possono ricevere un numero deficitario di cromosomi oppure cromosomi soprannumerari.
- Al momento della fecondazione, i gameti nei quali si siano determinati fenomeni di non disgiunzione determinano lo sviluppo di un feto con un numero anomalo di cromosomi (trisomia o monosomia).
- *Esempi:*
 - Sindrome di Down: trisomia del cromosoma 21.
 - Sindrome di Klinefelter: cromosoma X soprannumerario nei maschi (fenotipicamente maschile).
 - Sindrome di Turner: assenza del cromosoma Y (fenotipicamente femminile) (Tab. 1.2).
- In Tabella 1.3 sono riportate le frequenze di malattie ereditarie causate da mutazioni di un singolo gene.

Tabella 1.2 Principali aberrazioni cromosomiche

Aberrazioni cromosomiche	Frequenza per 1000 nascite
Trisomia 21 (sindrome di Down)	1,5
Trisomia 18 (sindrome di Edwards)	0,3
Trisomia 13 (sindrome di Patau)	0,2
Genotipo 47,XXY (sindrome di Klinefelter)	1
Genotipo 47,XYY (supermaschi)	1
Genotipo 47,XXX (superfemmine)	1
Genotipo 45,XO (sindrome di Turner)	0,2

Tabella 1.3 Principali malattie ereditarie prodotte da mutazioni di un singolo gene

Malattie genetiche	Frequenza per 1000 nascite
<i>Disordini da mutanti recessivi del cromosoma X</i>	
Distrofia muscolare di Duchenne e di Becker	0,3
Emofilia A e B	0,2
<i>Disordini da mutanti recessivi di autosomi</i>	
Fibrosi cistica	0,5
Anemia falciforme	0,1
Talassemia alfa e beta	0,1
Fenilchetonuria	0,1
Iperplasia surrenale	0,1
Sordità congenita recessiva	0,2
<i>Disordini da mutanti dominanti di autosomi</i>	
Ipercolesterolemia	2
Sordità congenita dominante	1
Rene policistico	0,8
Corea di Huntington	0,5
Neurofibromatosi	0,4
Retinoblastoma	0,2
Osteogenesi imperfetta	0,1-0,05

Considerazioni fisiopatologiche Organizzatore e induzione

- L'organizzatore è un aggregato di cellule presente nell'embrione in via di sviluppo, in grado di determinare il differenziamento di altre regioni.
- L'organizzatore primario corrisponde al labbro dorsale del blastoporo in via di auto-differenziamento; la sua rimozione determina il completo fallimento dello sviluppo embrionale.
- L'influenza di un organizzatore su un'altra area in via di sviluppo prende il nome di **induzione**.
- Gli induttori sono sostanze che esercitano gli stessi effetti di un organizzatore.
- Hans Spemann è stato insignito del Premio Nobel nel 1935 per la scoperta dell'induzione embrionale.

Esempi:

1. La vescicola ottica agisce da organizzatore e induce la formazione del cristallino a partire dall'epitelio di rivestimento sovrastante.
2. Organizzatore primario: labbro dorsale della linea primitiva
Organizzatore secondario: notocorda
Organizzatore terziario: tubo neurale.

REGOLAZIONE MOLECOLARE DELLO SVILUPPO EMBRIONALE

EMBRIOLOGIA SPERIMENTALE

- L'embriologia, come scienza sperimentale, si è potuta sviluppare solo in seguito all'affermarsi della *teoria cellulare*, formulata a metà del 1800, che ha dimostrato che tutti gli organismi sono costituiti da cellule.
- Il consolidamento della teoria cellulare, in particolare della natura dei meccanismi che consentano a due cellule figlie di presentare la stessa organizzazione della cellula madre, si è verificato con l'identificazione dei *cromosomi* e del processo della *mitosi*, negli ultimi due decenni del XIX secolo.
- Un progresso cruciale nel campo della embriologia si è avuto con la caratterizzazione delle *cellule germinali* maschili e femminili (*meiosi*), che rende possibile il processo di generazione di un nuovo individuo attraverso la fusione di due patrimoni genetici nello *zigote*.
- Lo studio, anche microscopico, delle varie fasi di sviluppo embrionale in specie animali *filogeneticamente* diverse, ha dimostrato che, almeno in una fase, il *piano corporeo* assume una configurazione simile, definita *stadio filotipico*.
- Da qui la conclusione che l'*ontogenesi*, cioè il ciclo vitale di un organismo (prenatale, postnatale, di accrescimento e di sviluppo) ricapitola, almeno in parte, la storia evolutiva degli organismi o *filogenesi*. Questa corrispondenza è particolarmente evidente nell'ambito dei mammiferi placentati.
- Particolarmente cruciale nella storia dell'embriologia è stata la caratterizzazione dei meccanismi di *sviluppo*, basata sulla dimostrazione che le strutture corporee dell'embrione non sono preformate nello zigote, ma si formano progressivamente a partire da tre popolazioni cellulari (*ectoderma*, *mesoderma*, *endoderma*), che danno origine, nel corso dell'embriogenesi, a circa 200 *citotipi* morfologicamente e funzionalmente diversi, in grado di associarsi per formare tessuti, organi e sistemi (Tab. 1.4).
- Per comprendere i meccanismi preposti alla regolazione molecolare dello sviluppo embrionale è necessario chiarire il significato di alcuni termini utilizzati nella letteratura scientifica e stabilire quale simbologia adottare per la loro abbreviazione. Di seguito sono riportate le denominazioni dei principali *fattori di crescita*, *fattori di trascrizione*, *vie di trasduzione del segnale* e le loro abbreviazioni, in lingua inglese e italiana.

Tabella 1.4 Eventi chiave dell'embriologia sperimentale

Datazione	Autori	Meccanismo embriologico identificato
1828	von Baer	Descrizione della morfogenesi embrionale
1839	Schleiden e Schwann	Teoria cellulare (organismi fatti di cellule e originati da cellule: gameti)
1841	Kölliker	Spermatogenesi
1852	Remak	Ooogenesi
1855	Virchow	<i>Omnis cellula e cellula</i>
1875	Hertwig	Solo uno spermatozoo (fecondazione)
1879	Flemming	Cromosomi e mitosi
1879	Hertwig e Fol	Fecondazione di uovo di riccio di mare
1883	Van Beneden	Cromosomi materni e paterni
1884	Weismann; Hertwig; Strasburger; Kölliker	Fasi della meiosi
1892	Driesch	Meccanismi di regolazione (campi morfogenetici)
1894	Bateson	Mutazioni omeotiche
1924	Spemann e Mangold	Organizzatore primario (labbro dorsale del blastoporo)
1963	Lewis	Geni omeotici (complesso Bithorax)
1979	Elder	Codice epigenetico
1983	Raff e Kaufman	Complesso Antennapedia
1991	Hunt et al.; Kessel e Gruss	Codici HOX
1994-1996	Quiring et al.; Halder et al.; Gehring	Omologia dei geni HOX
1995	Carroll	Geni organo-iniziatori
2008	Carroll	EvoDevo

Fattori di crescita

- I **fattori di crescita** (GF, Growth Factor) sono proteine capaci di controllare il ciclo cellulare (passaggio dalla fase G0 alla fase G1), di modulare l'entrata in mitosi, la sopravvivenza, la migrazione e il differenziamento di specifici citotipi.
- I singoli GF sono raggruppati in famiglie strutturalmente simili: fattori di crescita insulino-simili (IGF), proteine morfogenetiche del tessuto osseo (BMP), fattore di crescita dei fibroblasti (FGF), neurotrofine (NGF, BDNF) eccetera.
- Numerosi GF sono implicati nei meccanismi di trasduzione del segnale (si veda oltre).
- In Tabella 1.5 sono elencati i principali fattori di crescita. La maggior parte dei GF è rappresentata da famiglie con numerosi membri, indicati o con lettere o numeri.

Fattori di trascrizione

- I **fattori di trascrizione** (TF, Transcription Factor) sono proteine che si legano a sequenze specifiche del DNA consentendo in tal modo la trascrizione del DNA in mRNA. La varietà dei TF è elevatissima (2000, pari al

10% del genoma umano); inoltre, la maggior parte delle sequenze geniche richiede, per essere espressa, l'azione cooperativa di diversi TF, specialmente nel corso del differenziamento embrionale.

- I TF agiscono prevalentemente come promotori o potenziatori (*enhancer*) di specifici geni, caratterizzati da sequenze nucleotidiche che vengono riconosciute tramite strutture secondarie del TF.
- Tali strutture sono rappresentate principalmente da una corta sequenza aminoacidica nella quale due α -eliche sono separate da un anello (*basic helix-loop-helix protein*), oppure da una sequenza di due aminoacidi (cisteine e istidina) che, legandosi a ioni zinco, formano una sorta di dito (*zinc finger protein*) che si inserisce in regioni specifiche della doppia elica.
- In Tabella 1.6 sono elencati i principali fattori di trascrizione.

Vie di trasduzione del segnale

- Molecole proteiche o glicoproteiche solubili, legandosi a specifici recettori espressi o in membrana o in domini intracellulari (citosol, citoscheletro, nucleoplasma), determinano l'attivazione di meccanismi

Tabella 1.5 Principali fattori di crescita

Abbreviazione	Nomenclatura inglese	Nomenclatura italiana
M-CSF (o CSF1)	Macrophage Colony-Stimulating Factor	Fattore stimolante le colonie macrofagiche
GM-CSF (o G-CSF2)	Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor	Fattore stimolante le colonie granulocitarie-macrofagiche
G-CSF (o CSF3)	Granulocyte Colony Stimulating Factor	Fattore stimolante le colonie granulocitarie
NGF	Nerve Growth Factor	Fattore stimolante nervino (Neurotrofina)
PDGF	Platelet Derived Growth Factor	Fattore di crescita derivato dalle piastrine
IGF	Insulin-like Growth Factor	Fattore di crescita insulino-simile
GDF8	Growth Differentiation Factor 8 (o Myostatin)	Miostatina
FGF	Fibroblast Growth Factor	Fattore di crescita dei fibroblasti
EGF	Epidermal Growth Factor	Fattore di crescita dell'epidermide
HGF	Hepatocyte Growth Factor	Fattore di crescita degli epatociti
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor	Fattore di crescita dell'endotelio vascolare
TGF	Transforming Growth Factor	Fattore di crescita trasformante

Tabella 1.6 Principali fattori di trascrizione

Abbreviazione	Nomenclatura inglese	Nomenclatura italiana	Sottofamiglie
HOX	Homeodomain proteins	Proteine contenenti l'omeodominio	Engrailed, Paired, LIM, ZF
PAX	Paired domain proteins	Proteine contenenti il dominio accoppiato	PAX1-PAX9
SOX	HMG o High-Mobility Group domain proteins	Proteine contenenti il dominio HGM	SOX2, SOX9
POLI	POLI proteins	Proteine della famiglia POLI	OCT1, OCT2, OCT4

Tabella 1.7 Principali molecole segnale

Abbreviazione	Nomenclatura inglese	Nomenclatura italiana	Sottofamiglie
TGFβ	Transforming Growth Factor β	Fattore di crescita trasformante β	β1-β5, Activin, BMP1-BMP9, NODAL, LEFTY
FGF	Fibroblast Growth Factor	Fattore di crescita fibroblastico	FGF1-FGF10
SHH	Sonic Hedhehog	Sonic Hedhehog	Proteine recettoriali: Patched (PTCH) e Smoothened (SMO)
WNT	Wingless-related integrated	Proteine WNT	Proteine recettoriali: Frizzled
CNG	Chordin, Noggin, Gremlin	Inibitrici di BMP	
NOTCH	Delta-Notch Receptor	Via NOTCH segnali iuxtacrini	
RA	Retinoc Acid	Acido retinoico-Vitamina A	

di regolazione del ciclo cellulare, del differenziamento o della morte cellulare programmata e quindi gli eventi del differenziamento embrionale.

- Numerosi GF agiscono attivando vie di trasduzione del segnale nelle quali un *primo messaggero* o ligando è costituito dal GF stesso, che determina il rilascio di un *secondo messaggero* (cAMP, cGMP, IP3, Ca²⁺, DG, PI, NO) che, a sua volta, modula l'attività di proteinchinasi attivando o reprimendo i processi preposti al differenziamento.
- Sono considerati *ligandi* o *citochine* alcuni fattori di crescita quali TGFβ, FGF e IGF. Sono molecole segnale tipicamente coinvolte nell'embriogenesi le proteine della famiglia Hedgehog e della famiglia WNT.
- In Tabella 1.7 sono elencati le principali molecole segnale.

NOMENCLATURA DI GENI E PROTEINE

- Nella letteratura scientifica esistono convenzioni ufficiali che consentono di identificare anche la specie nella quale il gene, o la proteina codificata da quel gene, è espresso. Alcune denominazioni sono costituite da parole intere (per esempio, gene o proteina Sevenless, Notch), più spesso da abbreviazioni (BMP1, IHH).
- A prescindere dalla specie, i nomi dei geni sono in corsivo, con la prima lettera maiuscola: *Notch*, mentre quelli delle proteine sono in carattere tondo, con la prima lettera maiuscola: Notch.
- Nel testo si è stata scelta una convenzione unificata e semplificata, sempre in lettere maiuscole e in carattere tondo, sia per il gene sia per la proteina (per esempio, NOTCH, BMP1).

BASI MOLECOLARI DELLA REGOLAZIONE GENICA

- Nel genoma umano sono stati identificati e caratterizzati circa 35.000 geni (Progetto genoma umano), costituiti da sequenze (*esoni*) che, una volta trascrit-

te, danno origine a polipeptidi intervallate da sequenze non trascrivibili (*introni*).

- A causa dei meccanismi di *splicing alternativo* (ricombinazione casuale degli *esoni*), il numero delle proteine è più elevato di quello dei geni (100.000).
- L'*espressione genica*, cioè l'effettivo impiego di una proteina in uno specifico contesto metabolico, può essere modulata a più livelli (efficienza della trascrizione; processazione degli mRNA; trasporto degli mRNA al citosol; efficienza della traduzione dell'mRNA; modifiche post-traslazionali delle proteine) (Fig. 1.6).
- Un ruolo essenziale, e solo in parte dimostrato, svolgono i microRNA (miRNA), oltre un migliaio di molecole che hanno la capacità di legarsi a specifiche sequenze del DNA, determinandone la trascrivibilità.
- Ogni gene, oltre a esoni e introni, presenta, all'estremità 5', una regione (*promotore*) che contiene una sequenza ricca di basi A e T (TATA box).
- L'RNA polimerasi degli eucarioti si lega al DNA soltanto dopo che alcuni *fattori di trascrizione* si sono associati al promotore. Il primo TF si lega al TATA box, promuovendo il legame di altri TF e dell'*RNA polimerasi*, che costituiscono il *complesso di trascrizione* (Fig. 1.7).
- Altri promotori sono riconosciuti da TF presenti solo in particolari tessuti, pertanto svolgono un ruolo cruciale nel *differenziamento embrionale*.

Fattori di trascrizione

- I TF coinvolti nello sviluppo embrionale sono caratterizzati dal fatto di rimanere nelle cellule che li hanno prodotti e di avere domini di legame per le sequenze del DNA delle regioni del *promotore* e dell'*enhancer* di geni specifici, nonché di legarsi alla RNA pol II e ad altri TF.
- Sulla base della struttura tridimensionale dei TF, che consente loro di interagire con specifiche conformazioni della doppia elica del DNA, si distinguono le seguenti classi: *elica-giro-elica*; *motivo a dita di zinco*; *cerniera di leucina*; *elica-ansa-elica*; *motivo foglietto β a barile*.

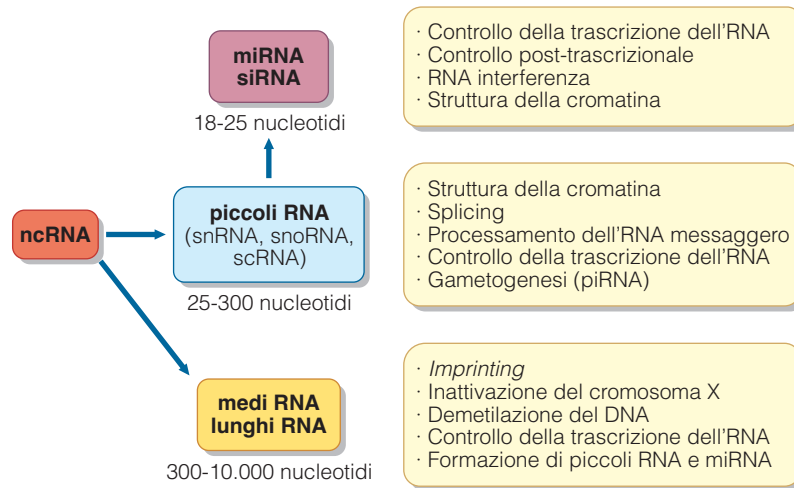


Figura 1.6 RNA non codificanti proteine. Uno dei meccanismi che presidono alla regolazione genica è basato su RNA non codificanti proteine (non coding RNA o ncRNA), a loro volta distinti sulla base del numero di nucleotidi e delle funzioni. Tra le funzioni degli ncRNA, particolarmente significative sono, ai fini del controllo della regolazione genica, la modulazione della struttura della cromatina, la processazione degli mRNA, e le attività di controllo dello splicing alternativo e di metilazione del DNA.

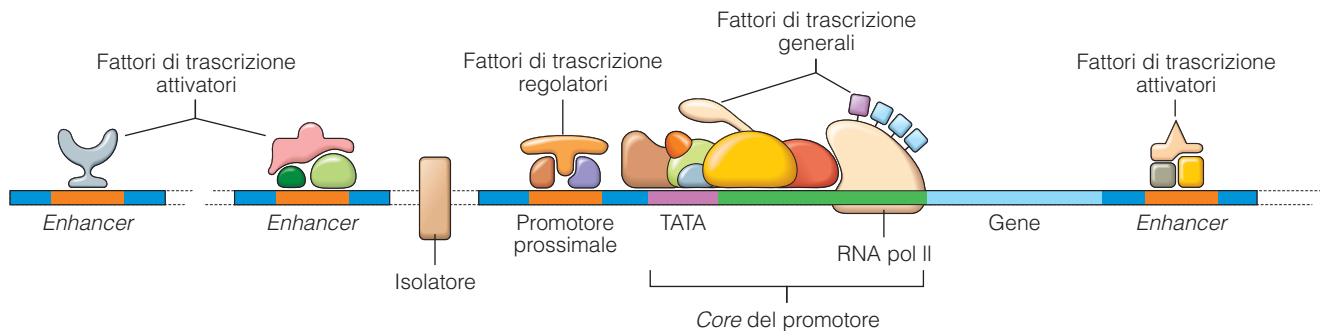


Figura 1.7 Fattori di trascrizione e attivazione della trascrizione di un gene. Organizzazione delle sequenze di DNA che costituiscono le regioni regolatrici della trascrizione di un gene e dei fattori di trascrizione che si legano a specifici siti (*enhancer*, promotore) o al complesso iniziatore.

Molecole segnale

- Le *molecole segnale* sono glicoproteine o polipeptidi, che determinano la proliferazione di determinate popolazioni cellulari.
- Le *proteine WNT*, tramite la via recettore/ β -catenina, regolano l'espressione di molecole di adesione, da cui dipendono processi di proliferazione e differenziamento (somitogenesi, formazione degli annessi cutanei, sviluppo degli arti, organogenesi del sistema urogenitale) (Fig. 1.8).
- Le *proteine Hedgehog* (sonic SHH, desert DHH, indian IHH) presidono a una complessa rete di attivatori/inibitori che modulano l'espressione di TGF β e di WNT (Fig. 1.9). In tal modo risultano coinvolte nei processi morfogenetici che riguardano i somiti, nella formazione del tubo neurale, e nello sviluppo degli arti.
- La *molecola segnale SHH* è una proteina che si lega al colesterolo e viene clivata e rilasciata per legarsi alla superficie di cellule bersaglio che esprimono un sito

recettoriale costituito da due proteine transmembrana (smoothed e patched). Un frammento di smoothed si lega ai microtubuli e rilascia il fattore di trascrizione GLI, che viene traslocato al nucleo attivando l'espressione genica. I siti in cui l'attività di SHH è coinvolta nei processi differenziativi sono molteplici: nodo primitivo, notocorda, placca neurale, abbozzo degli arti.

- Il *recettore NOTCH* svolge un ruolo chiave nella regolazione dei meccanismi di *inibizione laterale*, che si instaurano fra una *cellula dominante*, che esprime in membrana le proteine Delta o Jagged, le quali, legandosi alla proteina di membrana NOTCH espressa da *cellule dipendenti*, ne inibiscono il differenziamento. Tali meccanismi, nel tessuto nervoso, si instaurano fra i *neuroni* (citotipo dominante) e le cellule destinate a differenziare in elementi della *neuroglia*. La segmentazione dei somiti e alcune tappe della vasculogenesi utilizzano questo meccanismo iuxtacrina.

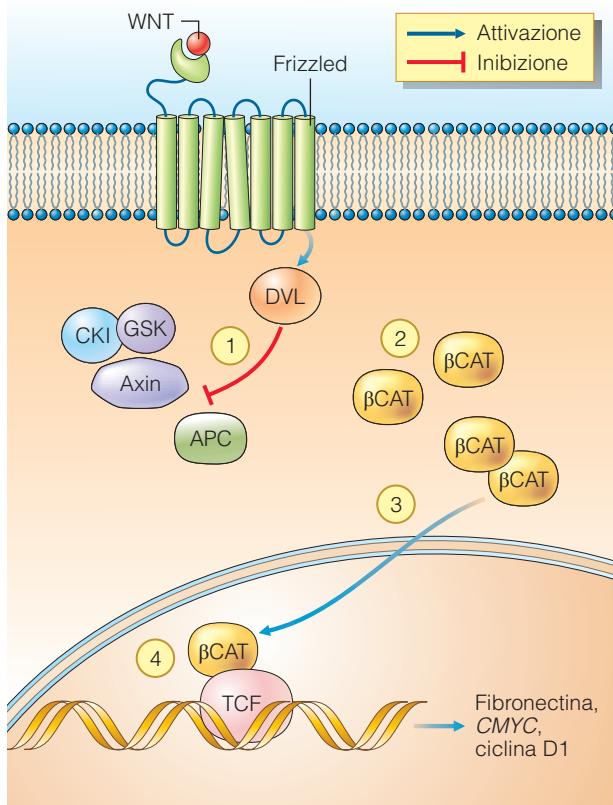


Figura 1.8 Proteine WNT. In presenza di WNT, il recettore Frizzled inibisce il complesso di degradazione della β -catenina (1) che si accumula nel citosol (2) e quindi trasloca al nucleo (3) spiazzando il repressore Groucho dal sito promotore e, agendo da coattivatore del fattore di trascrizione TCF/LEF, determina la trascrizione di alcuni geni (fibronectina, ciclina D1) (4) e induce proliferazione cellulare e adesione.

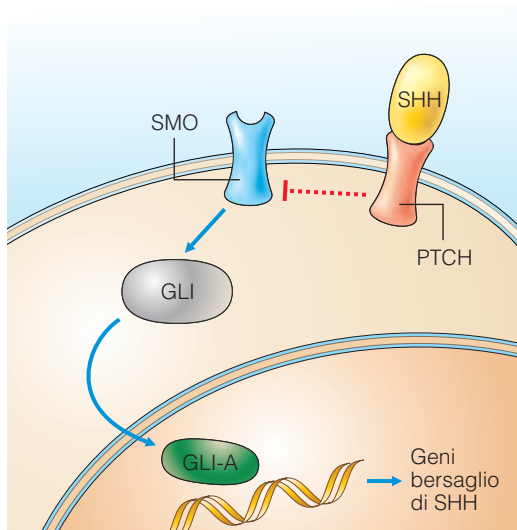


Figura 1.9 Proteine sonic Hedgehog. In presenza di SHH, il recettore transmembrana patched (PTCH) non esercita funzioni inibitorie sul recettore smoothened e il fattore di trascrizione GLI è attivato (GLI-A) tramite fosforilazione e traslocato al nucleo, attivando alcuni geni, fra i quali alcuni repressori della trascrizione di geni che codificano per i fattori WNT e TGF β .

- La *famiglia FGF* comprende una decina di fattori coinvolti nella formazione della rete capillare e, di conseguenza, in numerose tipologie di differenziamento del mesoderma, di crescita assonica, e sviluppo degli abbozzi degli arti.
- La *superfamiglia TGF β* comprende più di trenta classi di proteine coinvolte nell'induzione mesodermica e sviluppo per ramificazione (5 TGF β , activina), produzione della matrice extracellulare (ECM) di abbozzi scheletrici (9 BMP) e determinazione della lateralizzazione (NODAL, LEFTY).
- L'*acido retinoico*, una forma ossidata della vitamina A, poiché è liposolubile, necessita di una proteina per essere trasportato al nucleo, dove può modulare l'espressione di geni HOX; in questo modo presiede allo sviluppo degli arti e di alcune regioni dell'encefalo.

Molecole recettoriali e trasduzione del segnale

- I processi di comunicazione fra le cellule vengono definiti di tipo *paracrino* se sono mediati da *fattori diffusibili*.
- Perché le molecole segnale possano esercitare i loro effetti sulle cellule bersaglio, queste debbono esprimere specifici recettori, localizzati in membrana, o, nel caso di molecole segnale liposolubili, nel citosol o nel nucleo.
- I *recettori di membrana* sono di due tipi (con o senza attività proteinchinasi intrinseca), ma, in entrambi i casi, danno luogo al processo di *trasduzione del segnale*, meccanismo mediante il quale una molecola segnale o *primo messaggero* (per esempio, un fattore di crescita) determina la sintesi di un *secondo messaggero* (cAMP o IP3) che attiva proteinchinasi citosoliche (*G protein*) che determinano una risposta cellulare (proliferazione, differenziamento eccetera) (Fig.1.10).
- Questi meccanismi sono essenziali, in quanto ogni abbozzo si sviluppa mediante processi che comportano proliferazione, apoptosi selettiva, differenziamento dei diversi citotipi presenti nell'abbozzo (interazioni epitelio-mesenchimali).
- I processi di interazione fra le cellule vengono definiti di tipo *iuxtacrino* se coinvolgono *fattori non diffusibili*.
- Alcune molecole secrete nella ECM interagiscono con recettori espressi da altri citotipi che possono, pertanto, essere indotti a migrare, legandosi alla fibronectina, o ad ancorarsi al collagene di tipo IV presente nella membrana basale tramite *integrine* connesse al citoscheletro di actina.
- Le popolazioni cellulari possono scambiarsi molecole segnale e ioni tramite *giunzioni comunicanti*, formate da canali proteici costituiti da subunità di proteine transmembrana (*connesine*).

Induzione e formazione dei tessuti

- Viene definito *induzione* il processo mediante il quale un gruppo di cellule (*induttore*) determina il destino differenziativo di un altro gruppo di cellule (*rice-*

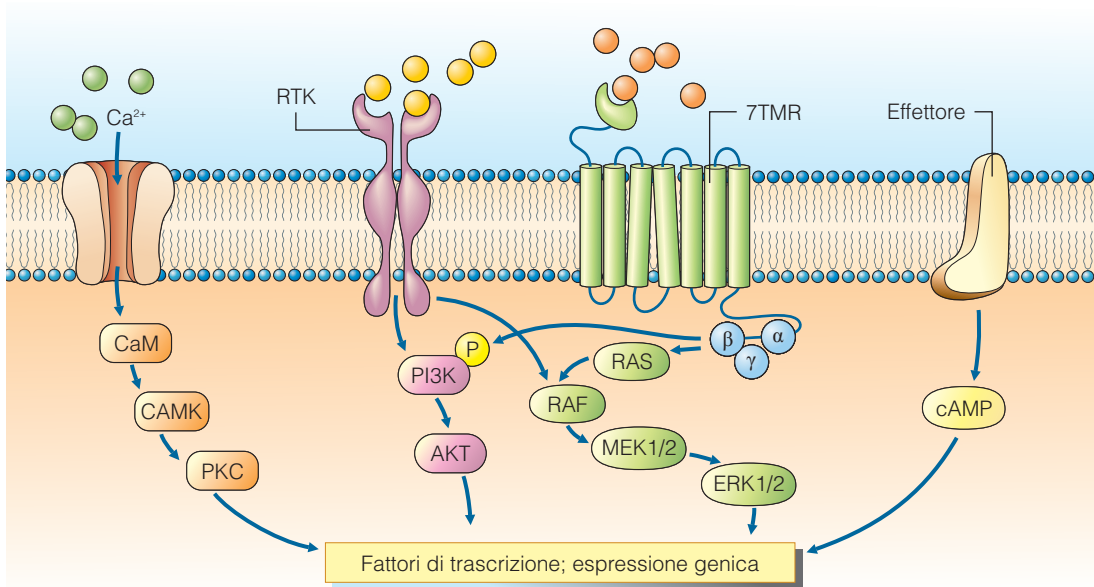


Figura 1.10 Vie di trasduzione del segnale. I ligandi idrosolubili interagiscono con recettori di membrana. Questi appartengono a quattro categorie: proteine con sette domini transmembrana (7TMR) accoppiate a proteine G; proteine con un dominio transmembrana dotate di attività enzimatica o chinasi (RTK); proteine transmembrana associate a chinasi non recettoriali; proteine recettoriali attivate da idrolisi (solo le prime due sono rappresentate). Le chinasi portano all'attivazione di fattori di trascrizione che, a loro volta, determinano l'esecuzione di processi quali proliferazione, apoptosi eccetera. I recettori ionotropi, in risposta a un ligando, favoriscono il flusso di uno ione (per esempio il Ca^{2+} in grado di attivare specifiche vie di trasduzione del segnale come PI3K, PKC).

vente); il sistema cellulare ricevente deve essere competente, cioè in grado di rispondere al fattore di competenza rilasciato dalle cellule induttrici.

- Un caso esemplare di induzione è costituito dalle interazioni fra cellule mesenchimali ed epiteliali (*interazioni epitelio-mesenchimali*), nel quale molecole segnale diffondono fra i due tessuti, agendo tramite *interazioni paracrine* (diffusione a breve distanza) o *iuxtacrine*, se coinvolgono fattori non diffusibili.
- I *fattori paracrini* rilasciati dalle cellule induttrici agiscono sulle cellule competenti, che attivano le *vie di trasduzione del segnale*, inducendone il differenziamento attraverso il legame con i recettori.
- Nel caso non siano coinvolti fattori diffusibili, la trasduzione del segnale avviene secondo tre modalità:
 - Interazioni fra recettori di cellule adiacenti
 - Interazioni di elementi cellulari con la ECM
 - Interazioni fra cellule tramite giunzioni comunicanti.
- Le interazioni con la ECM avvengono attraverso recettori transmembrana che riconoscono, da un lato, componenti del citoscheletro, e dall'altro, molecole della ECM, come il collagene di tipo IV (espresso nella membrana basale), proteoglicani, glicoproteine. Queste interazioni sono mediate da *integrine*.
- Nel caso delle *giunzioni comunicanti*, costituite da canali che permettono il flusso di ioni o metaboliti, è possibile stabilire, nell'ambito di un tessuto, uno scambio continuo di molecole delle vie di segnale.

Determinazione (differenziamento invisibile) e induzione

- Le cellule dell'embrione, inizialmente indifferenziate e totipotenti, sono indotte a differenziare e il loro destino istologico (*determinazione*) precede l'assunzione delle caratteristiche morfologiche (*fenotipo*).
- Viene definito *induzione* il processo che comporta una modifica del fenotipo, indotta da molecole presenti nell'ocito (*determinanti materni*), o rilasciati da altre cellule dell'embrione (*determinanti embrionali*).
- Nel corso della segmentazione, alcuni blastomeri assumono parte del *plasma polare*, regione dell'ocito ricca in organelli e materiale di riserva, e differenziano in cellule della linea germinale, mentre gli altri blastomeri danno origine a cellule somatiche.
- I meccanismi di determinazione, a carico degli altri blastomeri, dipendono da fattori solubili, rilasciati gradualmente dai *foglietti embrionali* che si vanno organizzando in modo spazialmente coordinato.
- Le metodiche della *embriologia sperimentale*, basate sul trapianto di regioni dell'embrione in sedi diverse (ectopiche), hanno consentito di identificare negli embrioni degli anfi una regione denominata *labbro dorsale del blastoporo*, che, se trapiantata in altre regioni dell'embrione, dà origine a un foglietto mesodermico, quindi a tessuto nervoso e, infine, a un embrione secondario.
- Questa regione dell'embrione, denominata *organizzatore primario*, rilascia fattori in grado di indurre i citotipi dei diversi foglietti embrionali. Questi fatto-

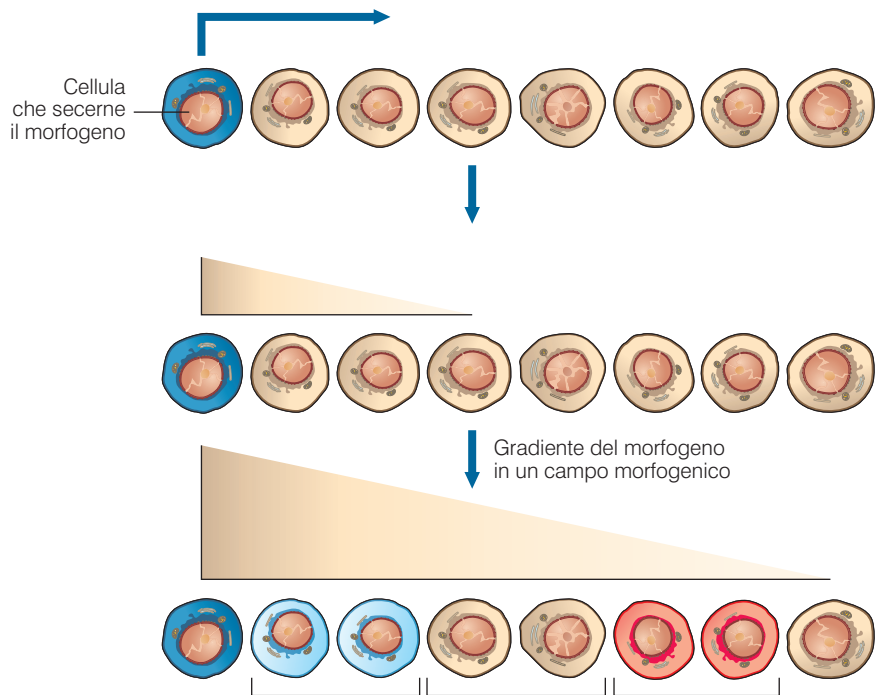


Figura 1.11 Gradiente di un morfogeno e campo morfogenetico. Secondo la distanza dalla cellula che rilascia il morfogeno il destino differenziativo delle cellule circostanti varia a causa della maggiore a minore concentrazione del morfogeno.

ri agiscono come morfogeni e il loro effetto è dovuto alla presenza, nelle cellule bersaglio, della capacità di legarsi ai fattori stessi, cioè di esprimere *competenza* verso i morfogeni (Fig. 1.11).

- Negli uccelli e nei mammiferi, l'organizzatore primario è costituito dal *nodo di Hensen*, regione attraverso la quale le cellule dell'ectoderma si invaginano andando a formare la *corda dorsale*, stabilendo in tal modo l'asse corporeo.
- La caratterizzazione molecolare delle molecole induttrici ha identificato una dozzina di *fattori di crescita* che attivano *vie di trasduzione del segnale* e modulano l'espressione di geni specifici, tra i quali i geni dell'organizzazione spaziale (*geni omeotici*, *geni organo-iniziatori*, *geni di polarità del segmento*).

Codici epigenetici

- I *codici epigenetici* sono codici che operano in aggiunta o in coordinamento gerarchico con il codice genetico, implicati nei meccanismi tramite i quali le cellule embrionali sono indotte a muoversi, riconoscersi, autodistruggersi o comunicare tra loro (codici dell'adesione, dell'apoptosi, della trasduzione del segnale).
- Le diverse popolazioni cellulari in via di differenziamento nelle prime fasi dello sviluppo embrionale (foglietti ectodermico, endodermico, mesenchima) soggette all'influenza dei *gradienti morfogenetici*, stabiliscono relazioni fra di loro sulla base della *chemioaffinità*, rappresentata dall'espressione in membrana di *molecole di adesione* (Fig. 1.12). Fra queste, le *protocade-*

rine sono codificate da geni che contengono regioni variabili (analogamente alle immunoglobuline).

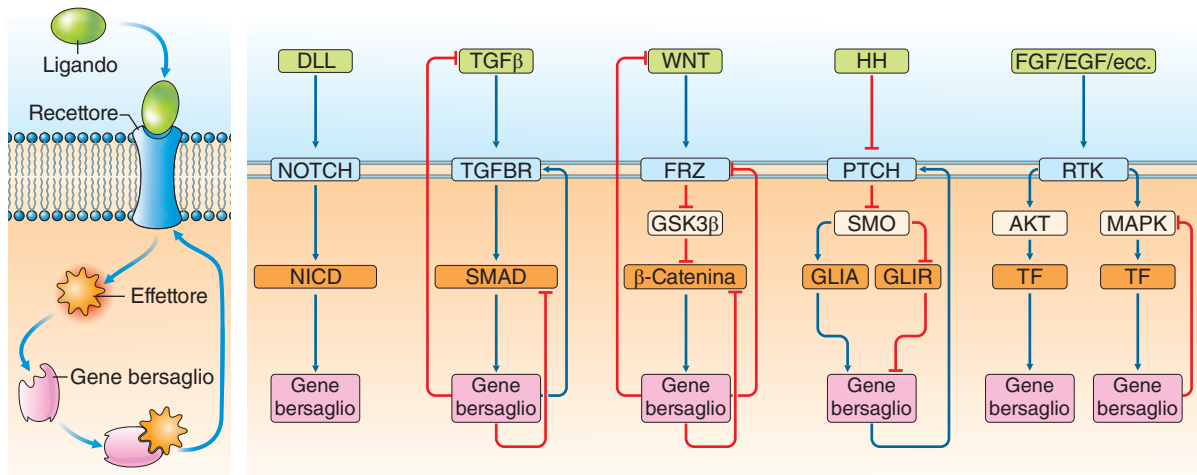
- Un'altra caratteristica dello sviluppo è l'eliminazione programmata di intere popolazioni cellulari, che consente il rimodellamento di regioni del corpo dell'embrione tramite l'attivazione di *meccanismi apoptotici*.

Morfogenesi

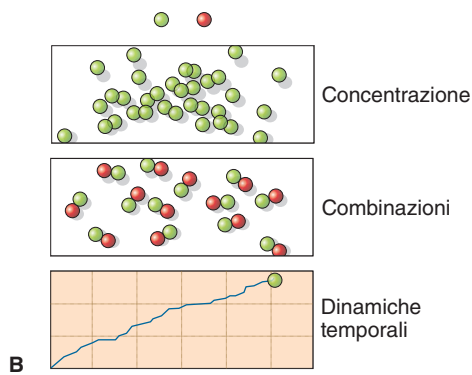
- I processi di *morfogenesi* comportano la proliferazione, la morte programmata, il differenziamento e l'eventuale transdifferenziamento di popolazioni cellulari nel corso dell'embriogenesi, sotto il controllo di *agenti morfogenetici* che agiscono sia in base alla loro natura chimica (fattori di crescita, molecole segnale), ma anche in base al loro gradiente di concentrazione e ai meccanismi di competizione per il legame ai loro recettori (Fig. 1.13).
- La formazione di un organismo durante l'embriogenesi dipende dall'espressione genica, che presiede al differenziamento dei citotipi caratteristici della specie, ma anche da processi morfogenetici che rispondono solo in parte al controllo genico, ma risentono in maniera sostanziale dell'influenza dei *processi epigenetici*, dipendenti dall'ambiente.

Costituzione degli assi corporei

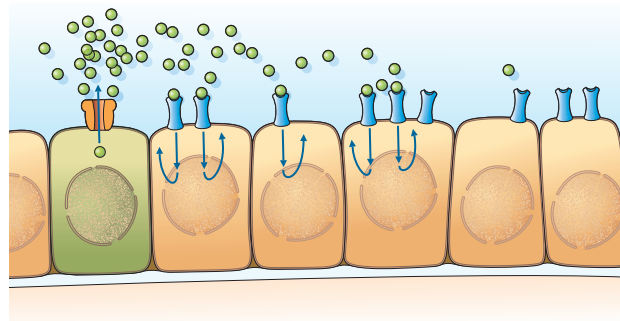
- La costituzione degli assi corporei (anteroposteriore, dorsoventrale, bilaterale) è regolata geneticamente e comporta il rilascio di fattori paracrini o iuxtacrini che, mediante vie di trasduzione del segnale, porta-



A



B



C

Figura 1.12 Meccanismi di controllo dei gradienti morfogenetici. A. Le principali vie di trasduzione del segnale usano diverse architetture spaziotemporali per controllare la comunicazione fra cellule. In queste vie di trasduzione, le interazioni ligando-recettore attivano effettori cellulari, che, a loro volta, determinano l'espressione dei geni bersaglio. L'attività di segnalazione intracellulare induce anche una serie di reazioni che determinano l'efficienza del sistema di segnalazione (feedback loop). In blu, attivazione, in rosso, inibizione. B. A livello della singola cellula, le vie di segnale possono identificare la specificità dei singoli effettori del segnale e la loro concentrazione, le loro combinazioni e le dinamiche temporali delle variazioni di concentrazione dei ligandi. C. A livello dei singoli tessuti, le vie di segnale possono attivamente modulare la distribuzione dei ligandi e la risposta ai segnali sia nel tempo sia nello spazio, agendo sull'espressione dei recettori.

no all'attivazione di fattori di trascrizione e a conseguenti modifiche del morfotipo.

- Le *proteine omeodominio* costituiscono una delle classi di TF maggiormente implicata nella determinazione dell'*asse corporeo anteroposteriore*. Esse contengono un dominio altamente conservato di 60 aminoacidi che presenta una configurazione elica-giro-elica.
- La sequenza di 180 nucleotidi che codifica l'omeodominio è chiamata *omeobox*. Questi domini sono stati identificati per la prima volta nei *geni omeotici* dei complessi *antennipedia* e *bitorax* che, in *Drosophila* determinano il numero e la localizzazione degli arti e delle antenne (8 geni contenenti omeobox localizzati in due cluster in un unico cromosoma).
- Una quarantina di geni omologhi contenenti l'omeobox sono espressi nel topo e nell'uomo; in quest'ultimo questi geni sono definiti HOX, sono distribuiti in

quattro cluster in quattro cromosomi e costituiscono 13 *gruppi paraloghi* (Fig. 1.14).

- Nello sviluppo embrionale dell'uomo, i geni HOX sono implicati nella determinazione della segmentazione craniocaudale; in particolare, la loro espressione spaziotemporale è determinata dall'espressione di geni disposti nella direzione 3'-5' all'interno del cromosoma (i geni all'estremità 3' sono espressi prima e anteriormente, rispetto a quelli all'estremità 5').
- Mutazioni che coinvolgono geni omeotici, in *Drosophila*, causano mutazioni (*omeotiche*) che determinano l'alterato posizionamento di un distretto corporeo (presenza di un secondo paio di ali al posto dei bilancieri).
- I geni omeotici, quindi, non sono preposti alla determinazione della *composizione* di un dato organo, ma ne condizionano il *posizionamento* (geni dell'organiz-

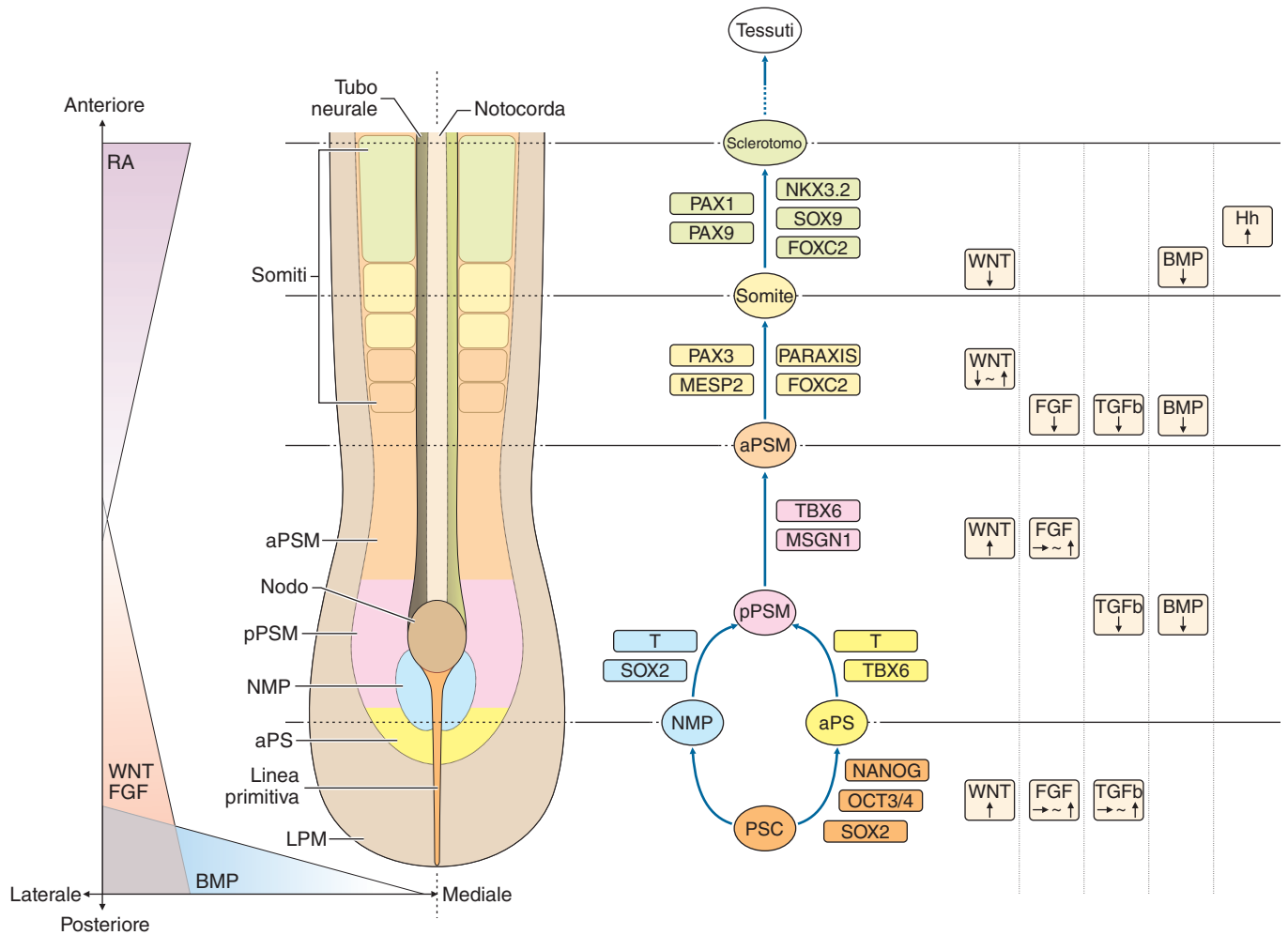


Figura 1.13 Distribuzione spaziale dei fattori morfogenetici implicati nel differenziamento del mesoderma parassiale. La formazione dello sclerotomo dipende dalla via di segnale SHH, a sua volta modulata da fattori rilasciati dalla notocorda; SHH compete con WNT, che induce lo sviluppo del dermomiotomo. La notocorda rilascia anche Noggin, che inibisce la via di segnale BMP e contribuisce all'induzione dello sclerotomo. **A.** Visione dorsale del mesoderma embrionale: il mesoderma parassiale si forma a livello della linea primitiva (PS) da cellule progenitrici neuromesodermiche (pPSM). Con l'allungamento dell'asse embrionale, le PSM si trovano a cavallo del gradiente anteroposteriore costituito da WNT, FGF e RA. Le PSM formano il somite a livello del fronte fra gradiente dell'FGF e NOTCH. **B.** Tabella che indica le variazioni di livello dei diversi morfogeni implicati nelle diverse tappe del differenziamento delle PSC per dare origine agli sclerotomi e i relativi induttori. aPS, linea primitiva anteriore; aPSM, mesoderma presomitico anteriore; LPM, mesoderma laterale; n, notocorda; NMP, progenitori neuromesodermici; PS, linea primitiva; pPSM, mesoderma presomitico posteriore; RA, acido retinoico.

zazione spaziale o del pattern) particolarmente evidenti negli insetti, ma anche nei vertebrati, uomo incluso (segmentazione del tronco in regione cervicale, toracica, lombare, sacrale).

- Mutazioni che inibiscono l'espressione genica (*loss of function*) di geni HOX determinano una trasformazione in senso posteroanteriore, mentre il contrario avviene per le mutazioni che determinano un aumento dell'espressione genica (*gain of function*).
- Lo stabilirsi di un'asse dorsoventrale coinvolge l'equilibrio fra fattori rilasciati nel corso della gastrulazione a partire dal nodo embrionale. Si distinguono fattori centralizzanti (BMP4 e FGF), che inducono la formazione del pronefro, e dorsalizzanti, che sono coinvolti

nel differenziamento della notocorda e dei somiti.

- L'induzione del processo di lateralizzazione con organi distribuiti diversamente a destra o a sinistra avviene a livello della linea primitiva e comporta il rilascio di FGF8 da parte del nodo embrionale, che induce l'espressione di NODAL localizzato a sinistra della linea primitiva. A questa fase fa seguito l'attivazione del gene LEFTY1 e l'espressione del fattore di trascrizione PITX2, con conseguente differenziamento della porzione sinistra e blocco di quella destra, nella quale si verifica l'attivazione di SNAIL. La distribuzione spaziale dei fattori di lateralizzazione avviene tramite il battito ciliare delle cellule del nodo embrionale (Fig. 1.15).

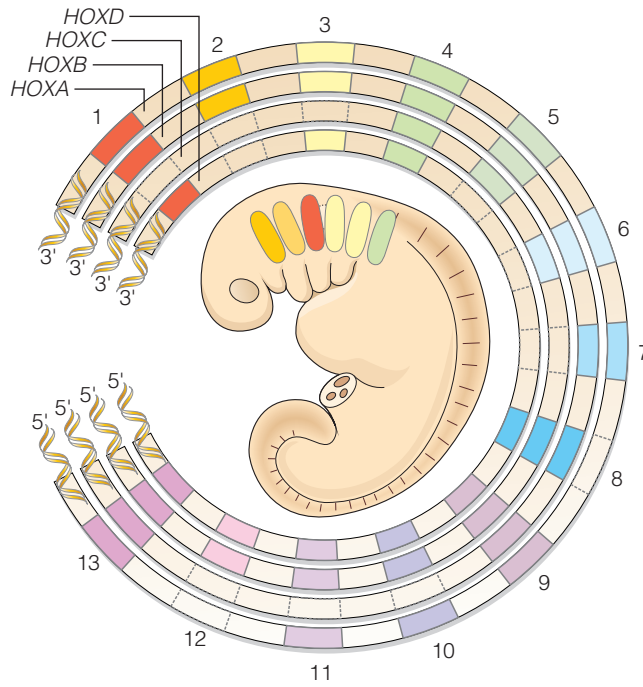


Figura 1.14 Geni omeotici (homeobox, HOX). L'induzione alla formazione dell'asse cranio-caudale e la regionalizzazione del tubo neurale sono modulati da questi geni, distinti in quattro complessi (HOXA, HOXB, HOXC e HOXD). I geni che inducono le strutture più craniali si trovano al terminale 3' di ciascun complesso e sono espressi più precocemente di quelli espressi sequenzialmente, posti in prossimità del terminale 5'. Via via che si procede in senso 3'-5', si attivano geni che controllano lo sviluppo di strutture poste più caudalmente. Per i geni da 1 a 4 è mostrato il rapporto con i rombomeri (in colore).

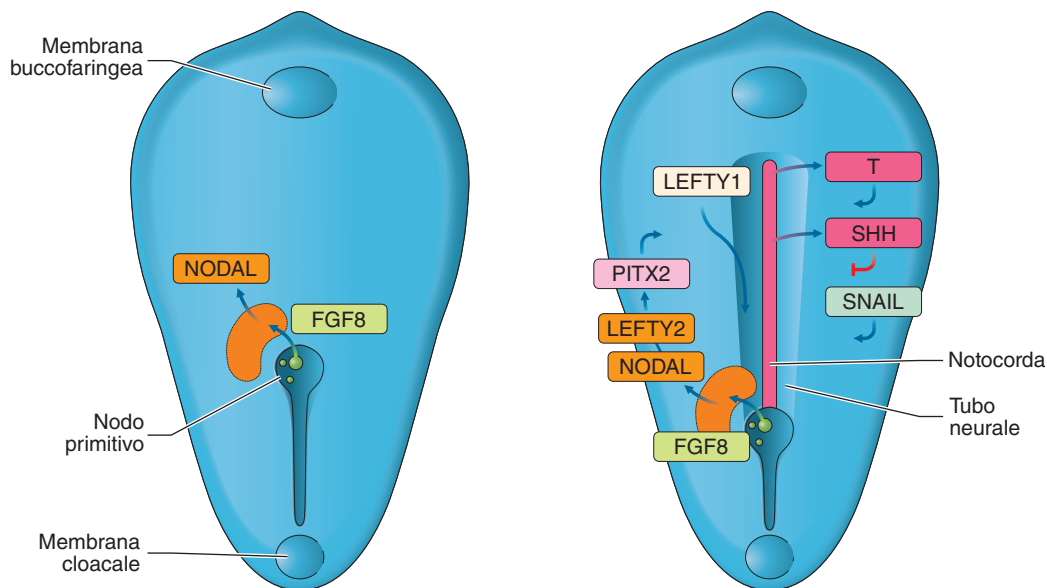


Figura 1.15 Visione dorsale del disco germinativo che mostra gli schemi di espressione dei geni che regolano la determinazione dell'asse corporeo e dei lati sinistro-destro. A. Il GF fibroblastico FGF8, secreto dalle cellule del nodo e della linea primitiva, induce l'espressione di NODAL sul lato sinistro del nodo. B. Successivamente, con la formazione della placca neurale, FGF8 induce l'espressione di NODAL e di LEFTY2 nella placca mesodermica laterale, mentre LEFTY1 viene espresso sul lato sinistro del tubo neurale. Anche i prodotti del gene Brachyury (T), secreto dalla notocorda, partecipano alla induzione genica; l'espressione di NODAL e di LEFTY2 regolano l'espressione di PITX2 che stabilizza la lateralità sinistra. Allo stesso tempo, SHH, espresso a livello della notocorda, agisce come repressore sul lato destro. Infine, SNAIL regola i geni effettori della lateralità destra.

Regolazione dell'organogenesi

- Oltre ai geni HOX, altre famiglie di geni contengono omeobox e altre tipologie di sequenze altamente conservate (PAX, SOX, POLI, LIM, T-box, DLX). Ovviamente, sono le proteine prodotte da queste famiglie di geni a svolgere specifiche attività morfogenetiche durante lo sviluppo embrionale.
- La famiglia dei geni PAX è coinvolta nello sviluppo del sistema nervoso e degli organi di senso, oltre che nella transizione epitelio-mesenchimale. I geni SOX partecipano alla determinazione del sesso e cooperano con altri TF in altri processi differenziativi. La famiglia del gene POLI include OCT4, che è coinvolto nei primi stadi della segmentazione. La mancata espressione di alcune proteine LIM determina uno sviluppo anomalo o assente della testa. I geni T-box partecipano alla formazione del mesoderma e all'organogenesi degli arti. I geni DLX sono implicati nella morfogenesi dell'orecchio e della mandibola.

Conclusioni

- Fin dall'inizio dello sviluppo di sistemi viventi, rappresentato dalla comparsa dell'*antenato comune*, dotato di un sistema replicativo basato sulle regole del codice genetico, si sono evoluti sistemi differenziativi che hanno portato alla formazione delle tre tipologie cellulari tuttora esistenti:
 - Archaea
 - Bacteria
 - Eukaryadotate di tre tipi di membrana, diversi meccanismi di trasduzione del segnale e differenti tipi di citoscheletro.
- Nel caso degli Eukarya un evento evolutivo chiave è la comparsa dei codici del piano corporeo (*codici Hox*) che resero possibile la complessità della formazione del corpo degli organismi animali, fino alla specializzazione delle cellule del sistema nervoso centrale dei mammiferi e della specie *Homo sapiens*.