

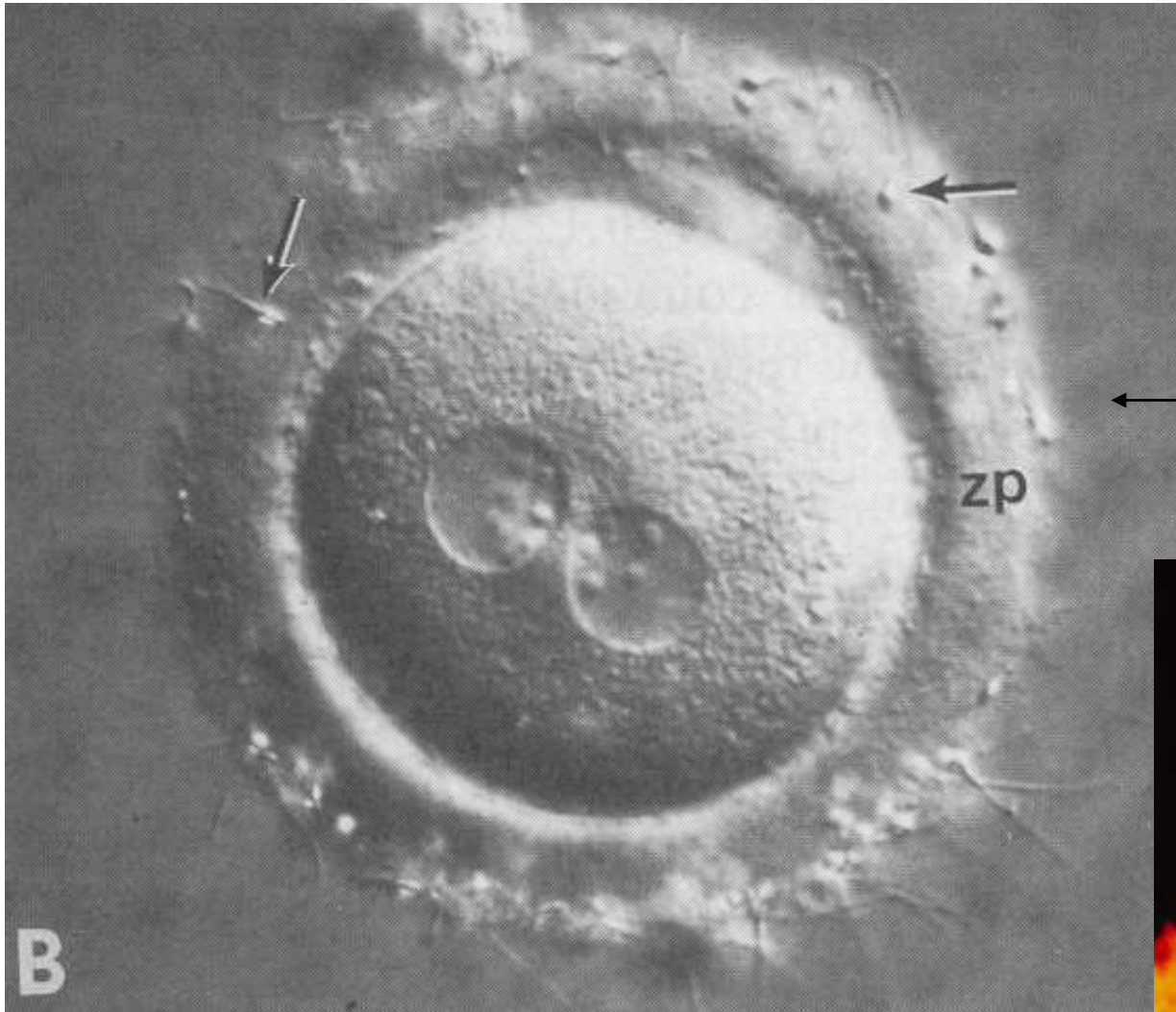
Korai fejlődés, barázdálódás, GASTRULATIO



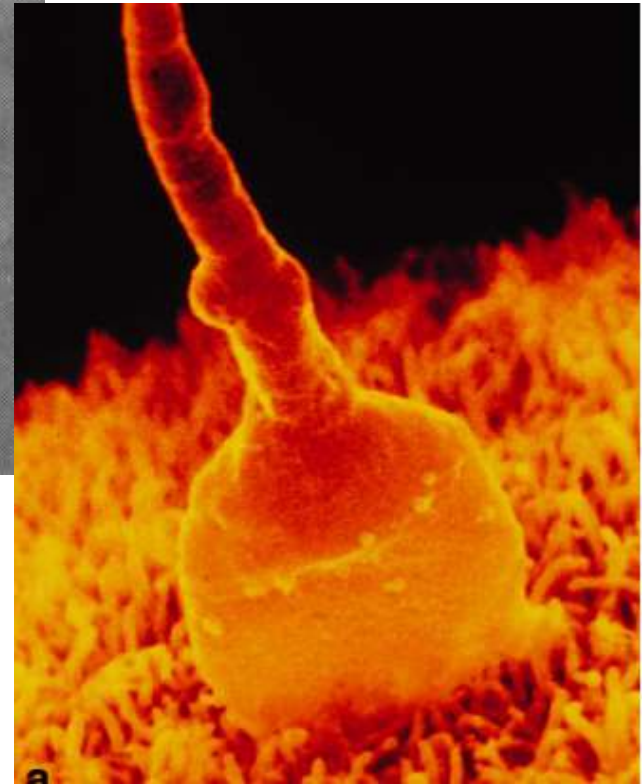
Semmelweis Egyetem, ÁOK,
Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

Dr. Kocsis Katalin

2019.11.13.



Fertilized human
oocyte,
zygote



Barázdálódás

lila szaggatott dupla vonal: próbateszt

- Mitotikus osztódások sorozata

- Blastomere sejtek keletkeznek

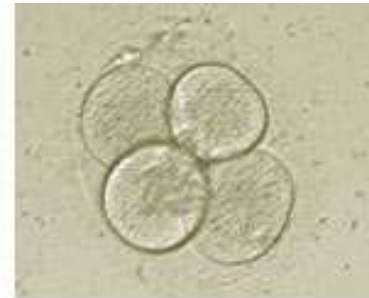
- A zigóta citoplazmája egyre kisebb és kisebb (sejtmaggal rendelkező) sejtekbe „csomagolódik”

- Emberekben a zigóta teljes citoplazma tömege részt vesz a barázdálódásban

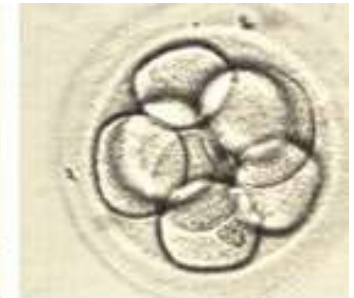
- A humán barázdálódás: equalis, aszinkron



2-cell embryo



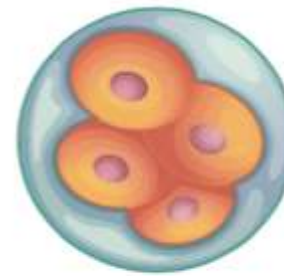
4-cell embryo



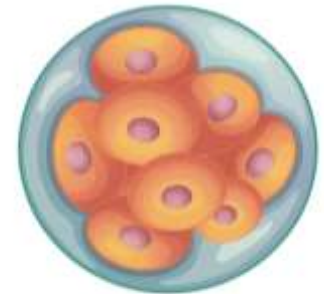
8-cell embryo



2-cell stage



4-cell stage

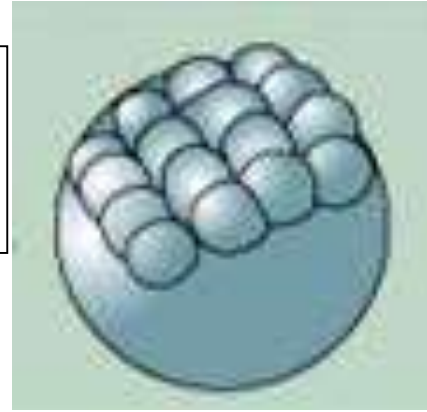


8-cell stage

Barázdálódási típusok

Részleges (Meroblasticus)

Halak, hüllők, madarak



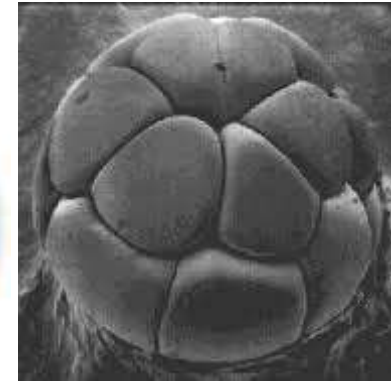
The amphibian embryo
Animal pole

Béka

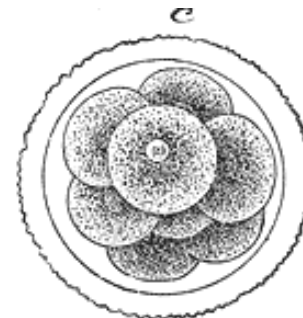
Cleavage-stage embryo



Vegetal pole



Ember



Teljes (Holoblasticus)

- A barázdálódást befolyásolja a petesejt szik anyagának mennyisége, valamint a szik eloszlása a petesejten belül

- A petesejt tartalmazhat, kis és nagy mennyiségű szik anyagot

- A szik eloszlása lehet egyenletes, de koncentrálódhat a petesejt valamelyik pólusán



- A keletkező zigóta citoplazmájának teljes egésze vagy csak egy része vesz részt a barázdálódás során → azonos vagy eltérő méretű blastomerek formálódhatnak

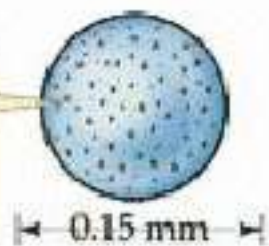
- Részleges vagy teljes barázdálódási típusok

Complete Cleavage

FERTILIZED EGG

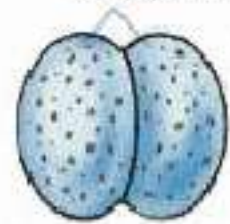
(a) Sea urchin

Yolk platelets are evenly distributed.



2-CELL STAGE

Blastomeres

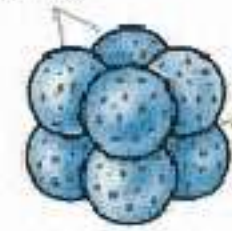


4-CELL STAGE

Blastomeres



8-CELL STAGE



Early cleavage results in cells of similar size.

(b) Frog

Animal pole

Yolk is concentrated at the vegetal pole.



Gray crescent

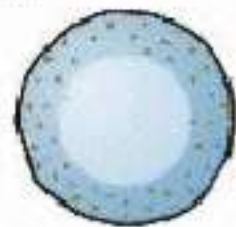
Vegetal pole

0.5-1 mm



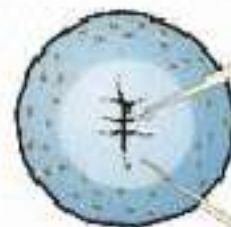
Cells at the animal pole are smaller, and those at the vegetal pole are larger.

(c) Chick



~25 mm

Blastomeres



The embryo develops on top of the yolk as a disc of cells.

Cleavage is incomplete.

Incomplete Cleavage

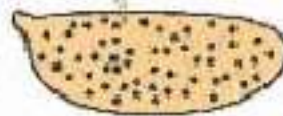
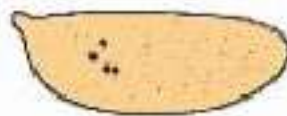
(d) *Drosophila*



Nucleus Yolk

0.5 mm

Multiple nuclear divisions result in a zygote with many nuclei.



Single cell layer



Yolk core

The nuclei migrate to the periphery, and plasma membranes form between them.

Superficial Cleavage

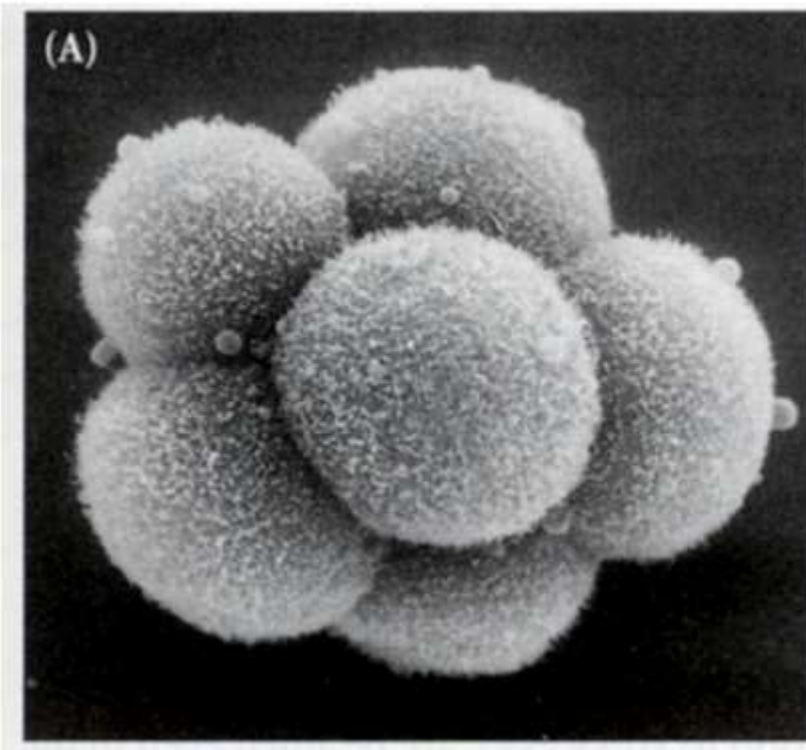
Kompakció

-8 blastomeres stádiumban kezdődik

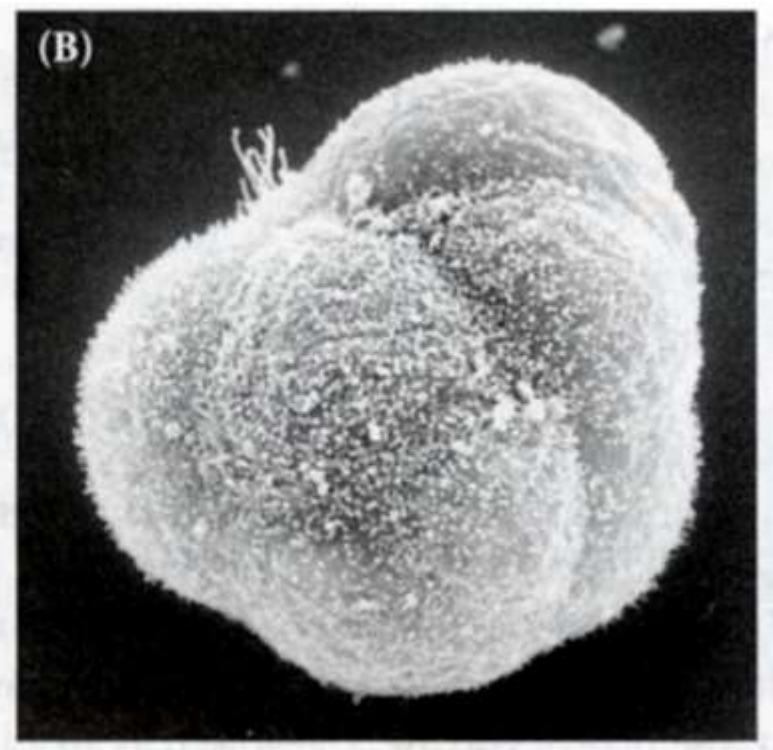
-Kezdetben a blastomerek laza elrendeződést mutatnak (szeder szerű struktúra) → kompakció után a blastomerek közötti „tér” eltűnik, kompakt struktúra formálódik

-A kompakció előtt a blastomerek sejtfelszíni microvillusok által kapcsolódnak → laza kapcsolat

-A kompakció során mechanikai kapcsoló struktúrák jelennek meg → szoros kapcsolat

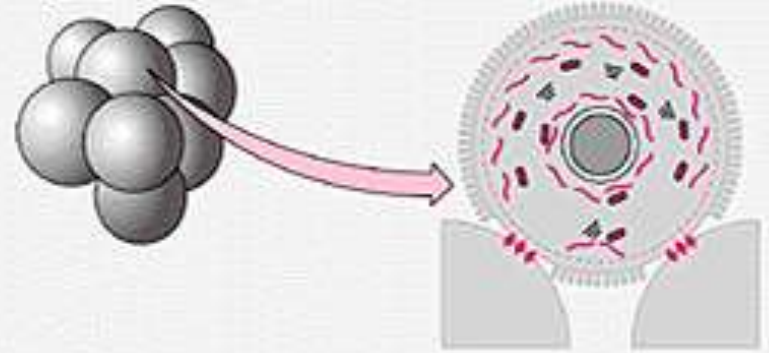


kompakció előtt



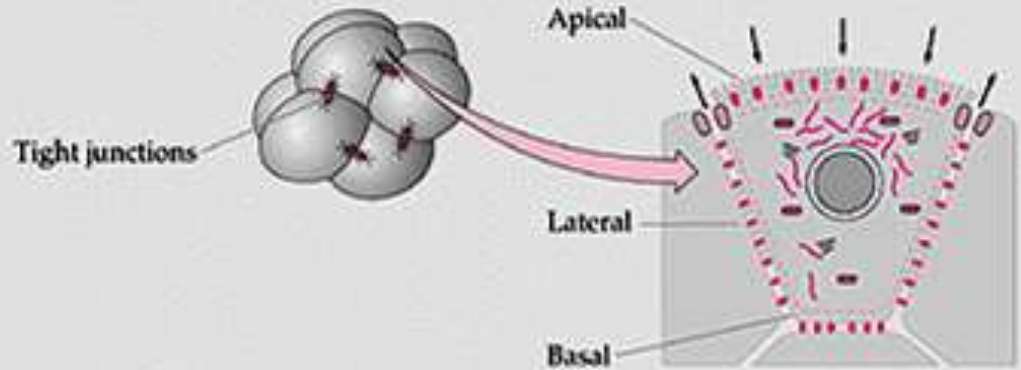
kompakció után

(A) Early 8-cell stage: non-polar, but local contact effects



(B) Compact 8-cell: polar, ion currents.

Basolateral: E-cadherin adhesion, gap junctions, ZO-1, acetylated microtubules.
Apical: microvilli, cortical actin, endosomes, cytoplasmic actin, microtubules



• Membrán polarizáció történik = a membránt alkotó/asszociált fehérjék eloszlása megváltozik → sejt polarizációt okozva (apikális, basalis, laterális felszín determináció megkezdése)

• A membrán polarizáció, a sejtmembrán azon pontjain indul meg, ahol a sejt a szomszédos blastomerekkel fizikai kontaktusban van

• E-cadherin szerepe a kompaktióban

• 2 sejtes stádiumban az E-cadherin egyenletes eloszlást mutat a sejtmembránban. Kompaktiókor az E-cadherin molekulák „kötötté” válnak a membrán azon pontjain, ahol más blastomerekkel fizikai kontaktusban állt a sejt.

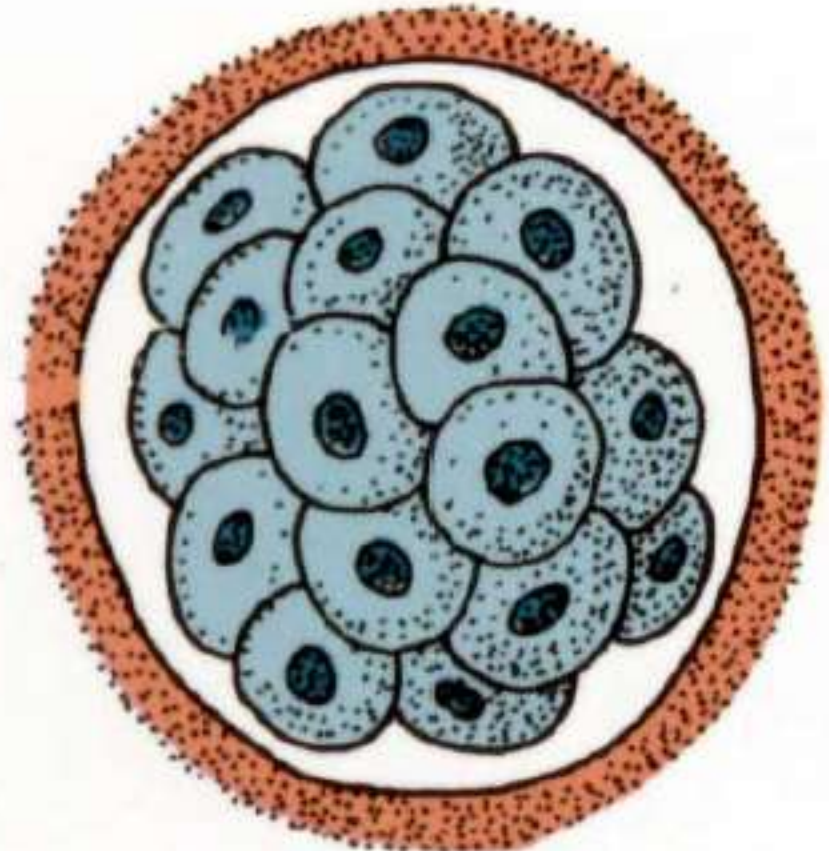
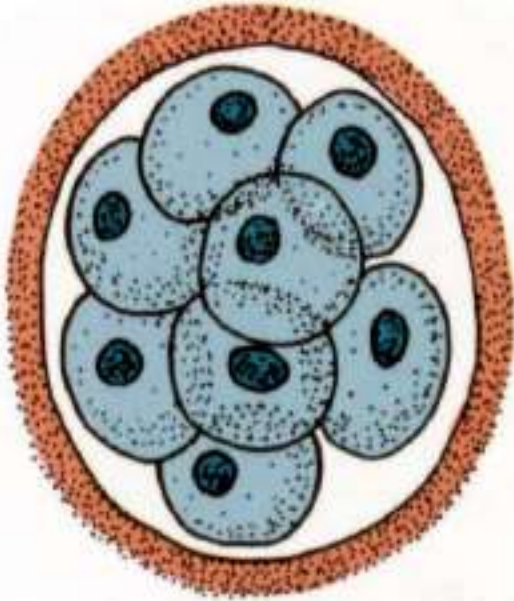
• E-cadherin molekulák zonula adherenseket formálnak

◆ E-cadherin	▷◁ Desmosomes	⊖⊖ Tight junction (ZO-1)
Ion current direction	○ Secondary lysosomes	⊖⊖ (ZO-1)+cingulin
● Na ⁺ , K ⁺ -ATPase	∇ Golgi	--- Cortical actin
≡ Gap junctions	≈ Cytokeratin filaments	⊖ Microvilli
● Apical membrane proteins	— Microtubules and cytoplasmic actin	— Mitochondria

Morula

16-64 cells stage

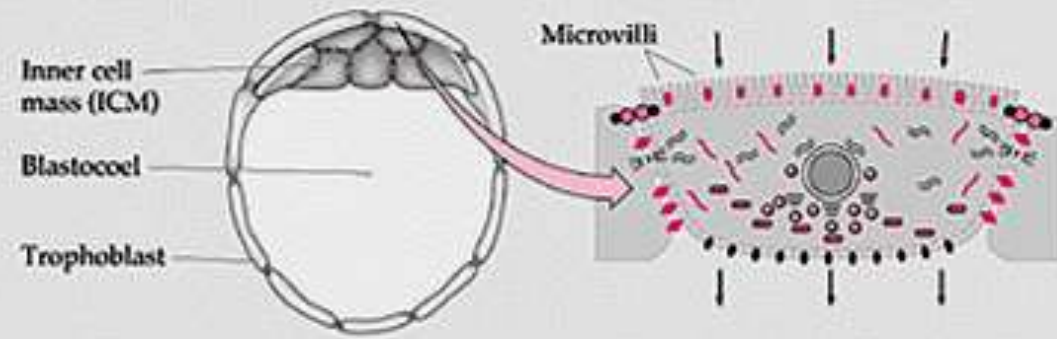
'Berry' - appearance



Blastula kialakulása

(D) 32-cell: vectorial fluid transport.

Basolateral: desmosomes. Basal: Na^+ , K^+ -ATPase. Apical: transporters and channels



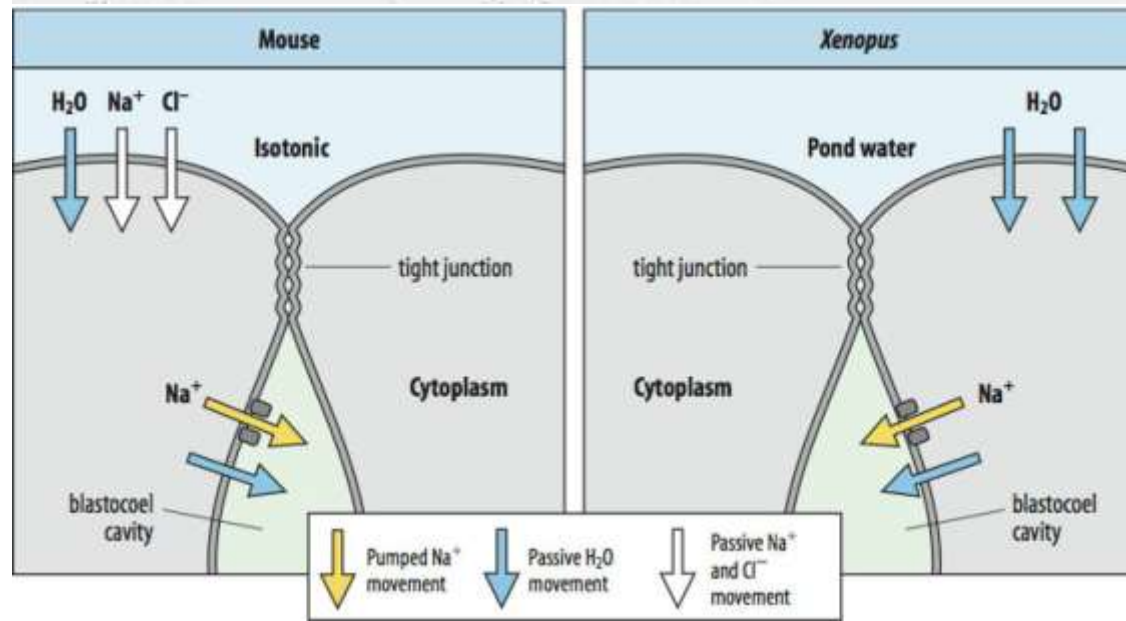
● E-cadherin	▷◁ Desmosomes	⊖⊖ Tight junction (ZO-1)
↓ Ion current direction	○ Secondary lysosomes	●● (ZO-1)+cingulin
● Na^+ , K^+ -ATPase	≡ Golgi	— Cortical actin
≡ Gap junctions	≈ Cytokeratin filaments	⊖ Microvilli
● Apical membrane proteins	— Microtubules and cytoplasmic actin	■ Mitochondria

•A sejtosztódás és membrán polarizáció folytatódik

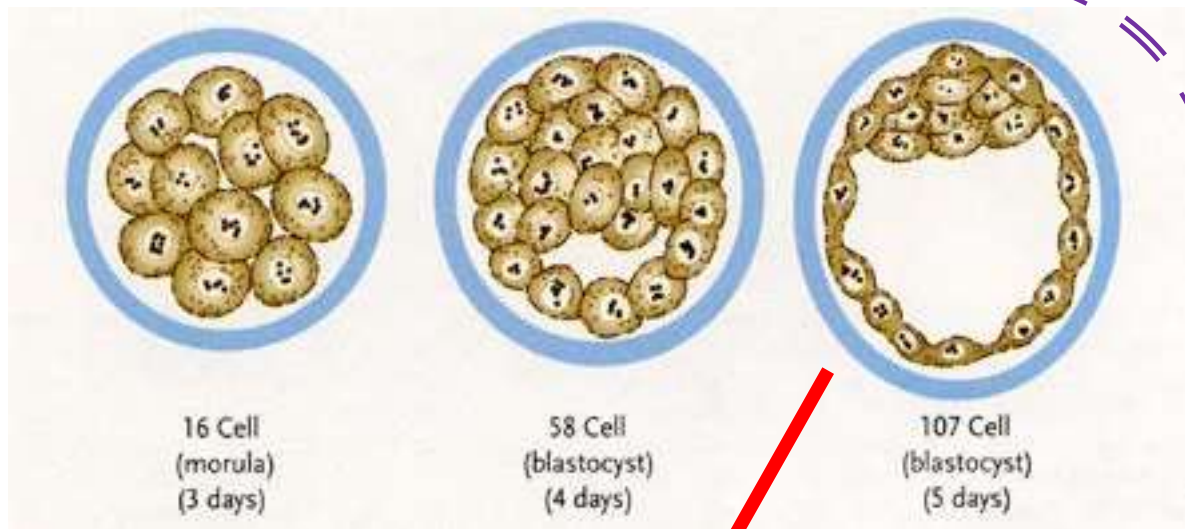
•Külső (felszíni) blastomerekben kialakulnak:

- *tight junctions* (apikálisan)
- *gap junctions* (laterálisan)
- *membrán transporterek* → Na^+ pumpák (bazálisan)

•A Na^+ pumpák aktivitása miatt a Na^+ koncentráció nő a sejtek közötti térben → a víz ozmózis útján az intercelluláris térbe lép → folyadékkal telt blastocoel formálódik



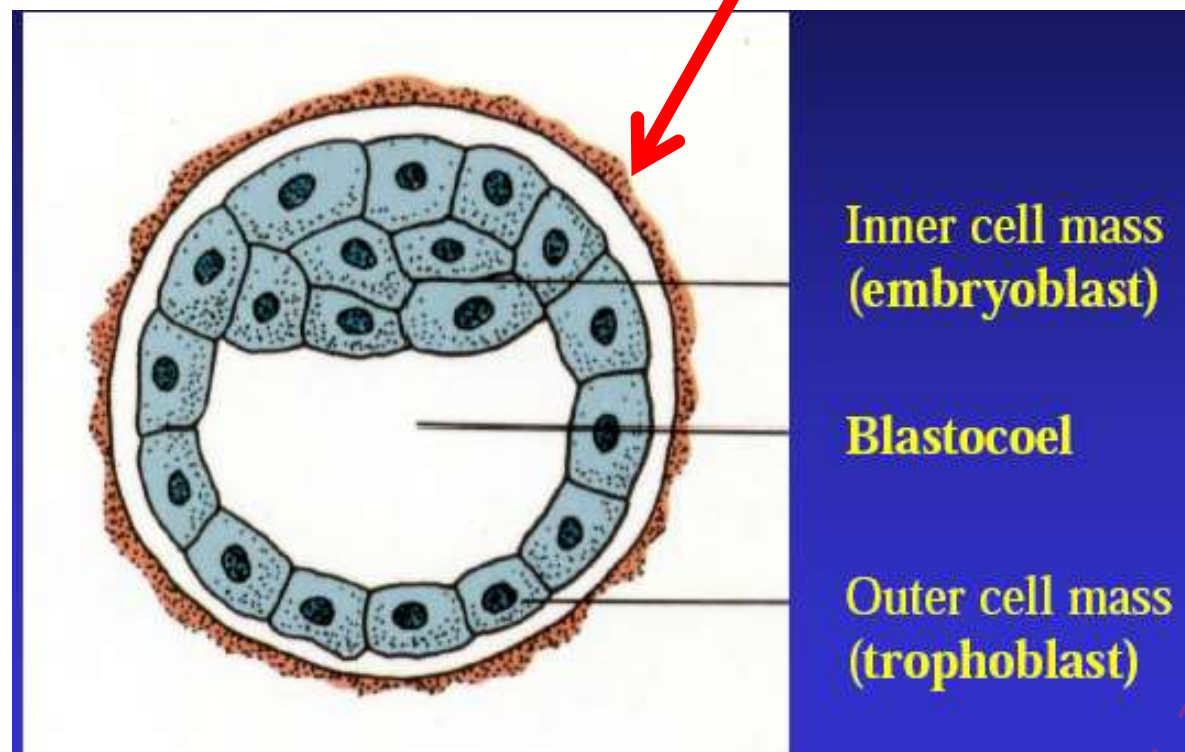
Az egyre növekvő blastocoel a belső sejteket egy oldalra „nyomja” → **inner cell mass (ICM)**

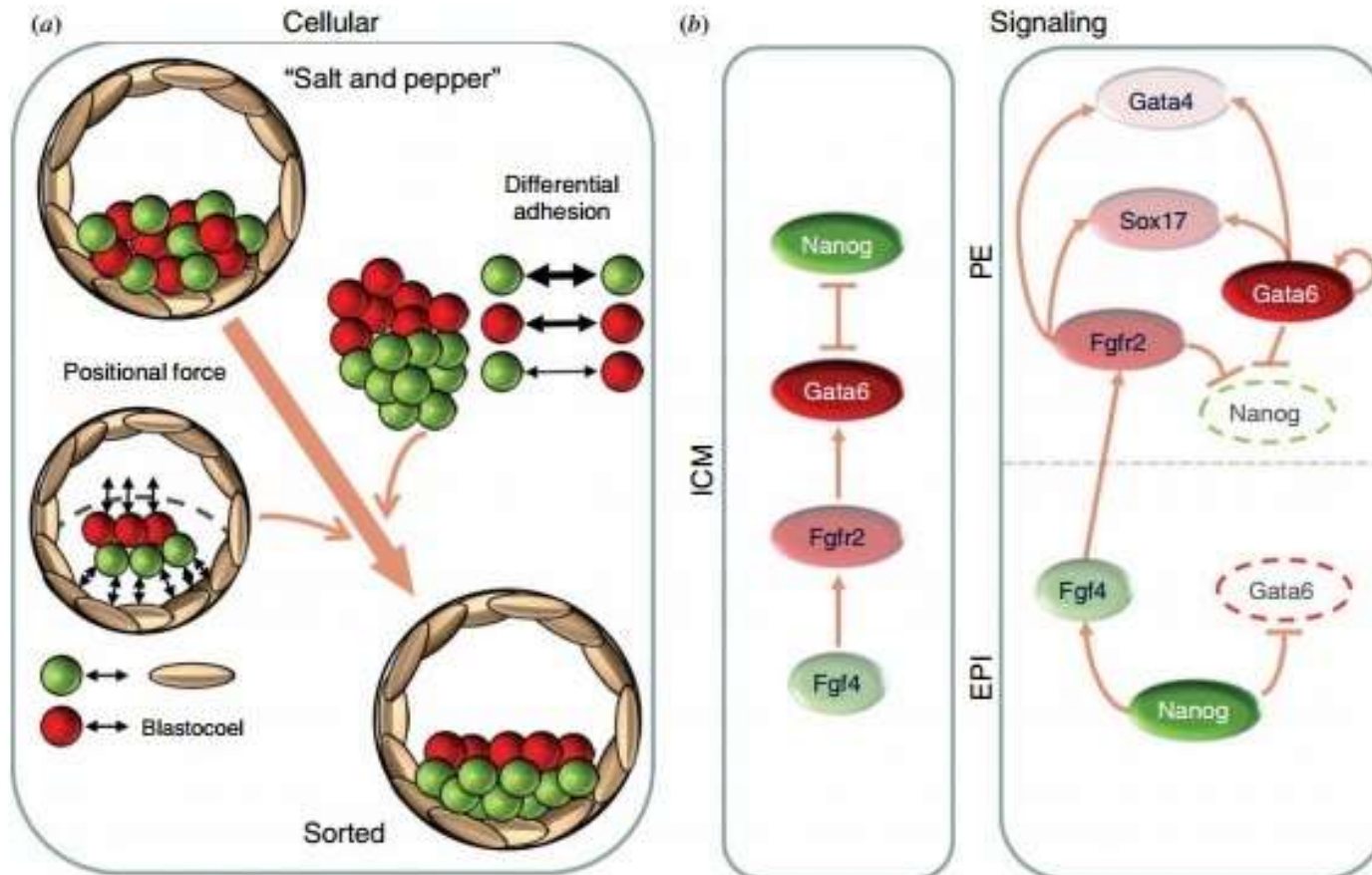


Egérben:

Trophoblast →
extraembrionális
struktúrák

Inner cell mass → a
teljes embrió és
extraembrionális
(primitív) endoderma



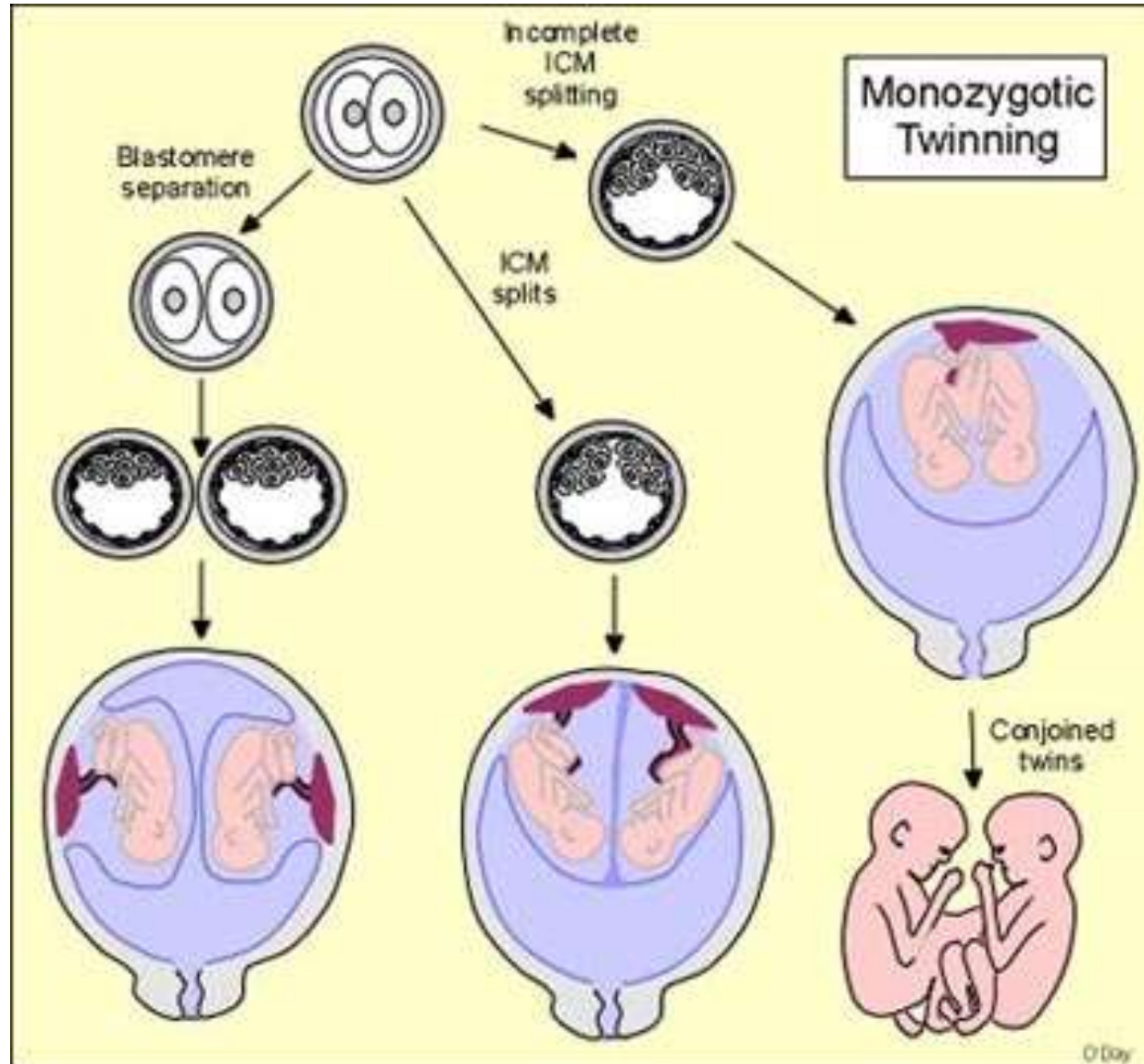


The differentiation of the ICM cells into a bilaminar structure containing epiblast and hypoblast layer.

The sorting model. At the beginning, the epiblast and hypoblast cells distribute within the ICM showing „salt and pepper pattern”. The sorting event, in which the bilaminar disc will be developed, is caused by two main ways. 1.: the different strengths of adhesion between the two cell types (adhesion is stronger between same type cells than different type cells) and 2.: signals coming from either the blastocoel or from trophoblast (the epiblast cells express **nanog** while hypoblast cells express **GATA6** and this expression pattern is caused by the different **FGF signaling**).

Ikrek

- Egypetájú ikrek
- Kétpetájú ikrek



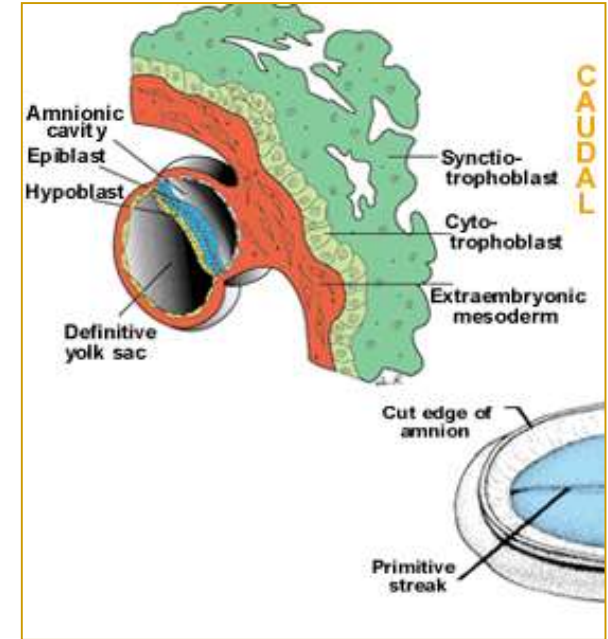
Egypetájú ikrek

• **Barázdálódás során:** az első két blastomer teljesen szeparálódik egymástól (nagyon ritka)

• **Blastula formálódásakor:** az ICM sejtjei két csomót képeznek a blastocystán belül

Miért fontos a gasztruláció?

- Az alap testtengelyek kialakulása:
 - Anterior és posterior
 - Dorsalis és ventralis
 - Bal és jobb oldal
- A 3 csíralemez kialakulása
 - Ectoderma, **mesoderma** és endoderma



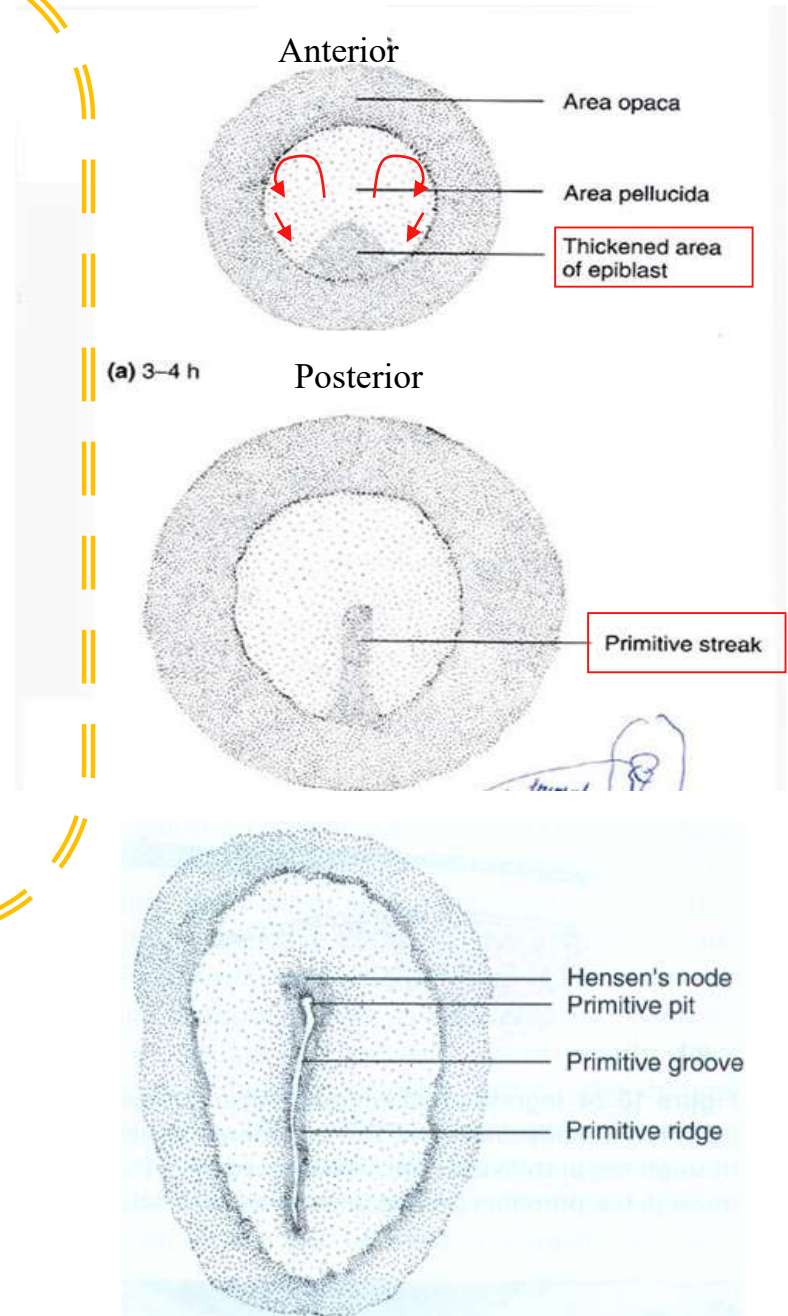
Primitív csík kialakulása

•primitív csík megjelenése:

- gasztruláció kezdeti lépése
- az embriópajzs középvonalában megjelenő struktúra, amelyet a proliferáló és középvonalban feltorlódó epiblast sejtek képeznek
- caudo-cranialis irányú „növekedés”

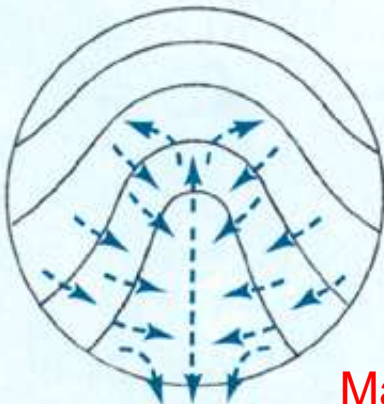
•primitív barázda:

- a primitív csík közepén az epiblast sejtek elkezdenek a hipoblast réteg felé vándorolni (inferior irányú mozgás) → a primitív barázda megjelenése



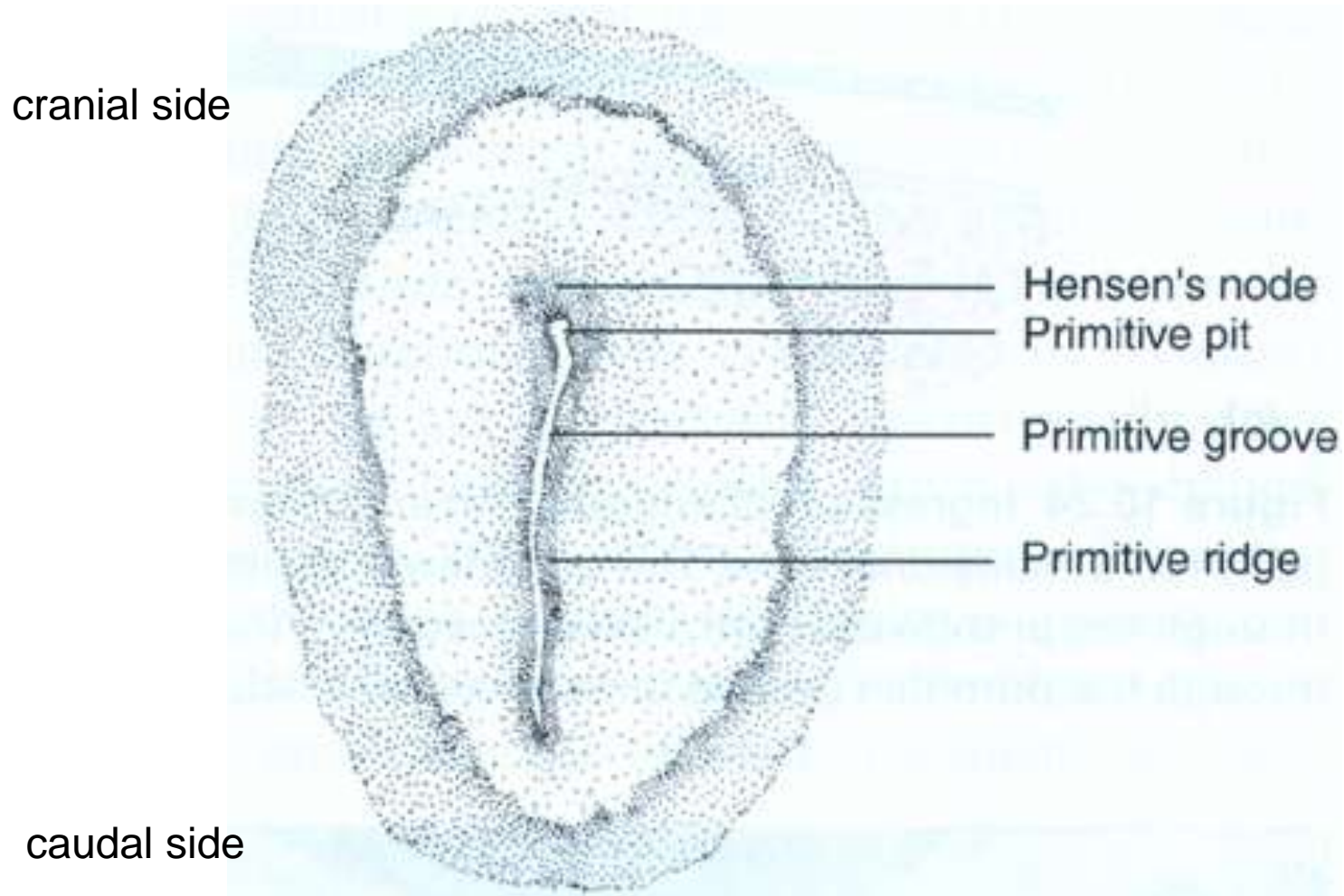
Madarakban és az ember esetén!

(d)



Hensen csomó

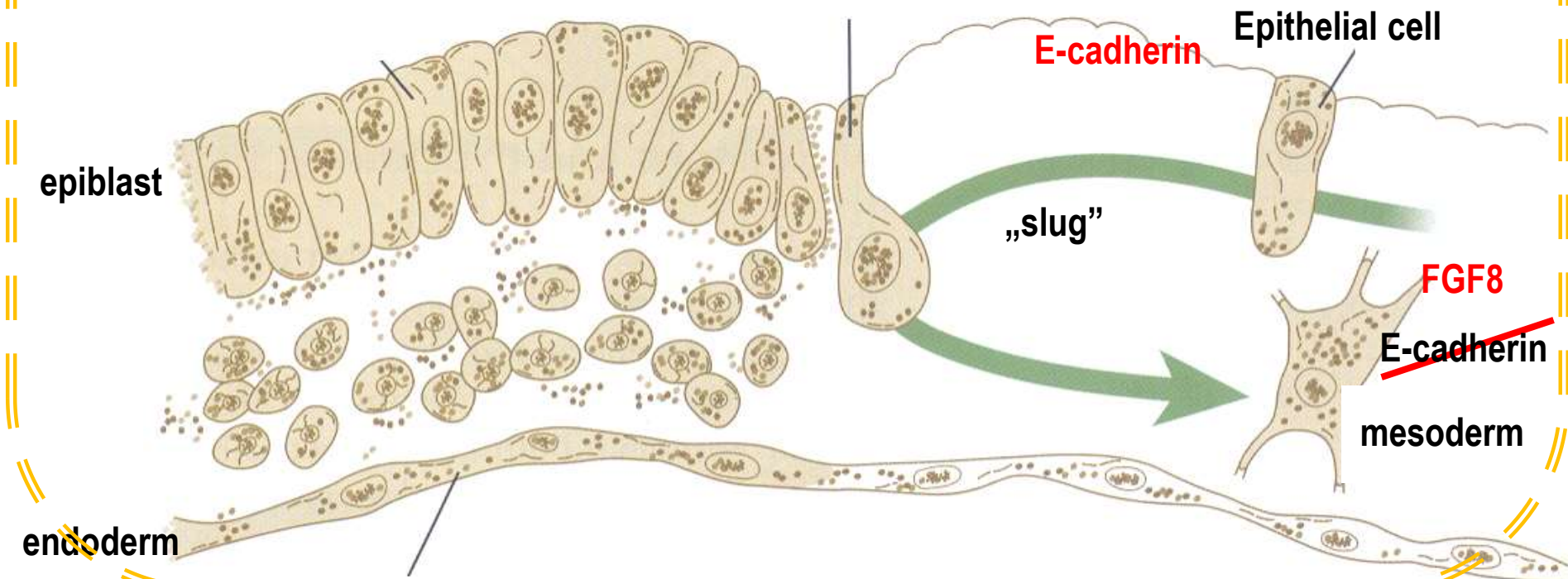
A primitív csík elülső végén megjelenő sejt akkumuláció

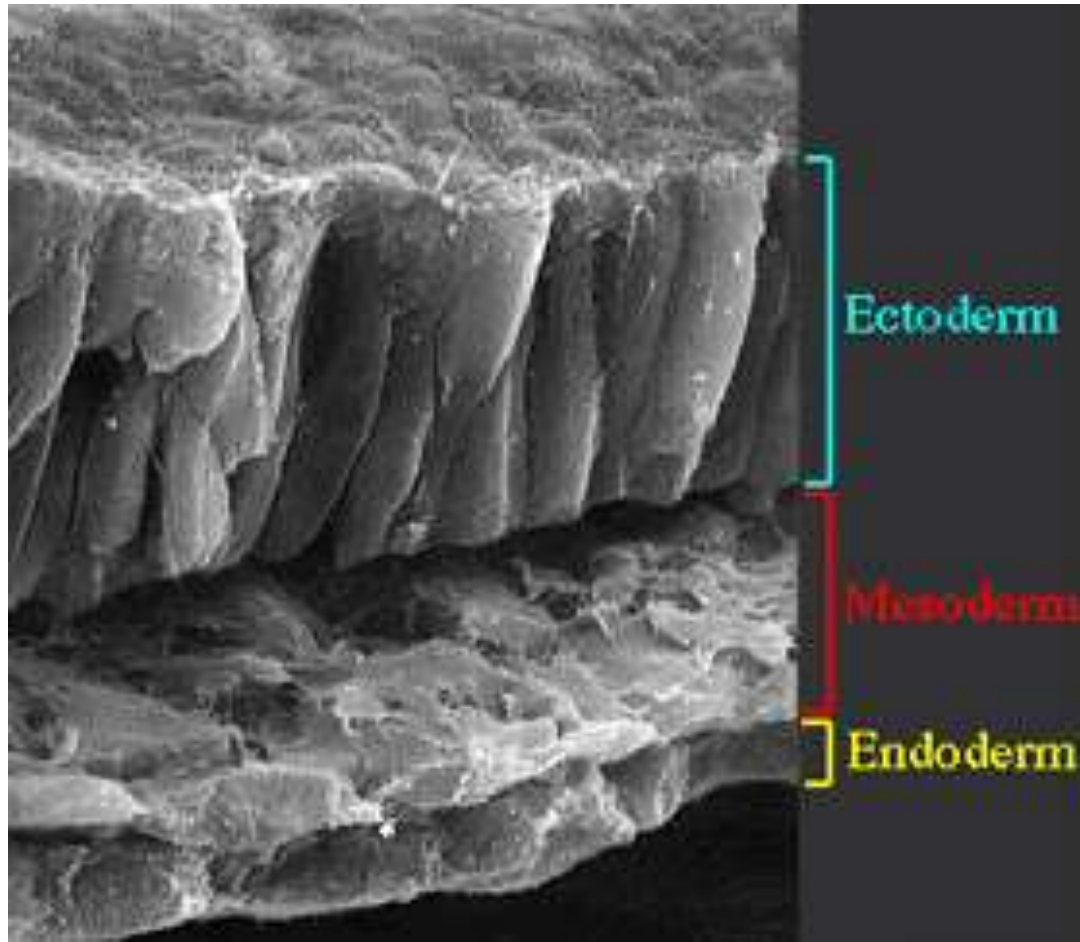
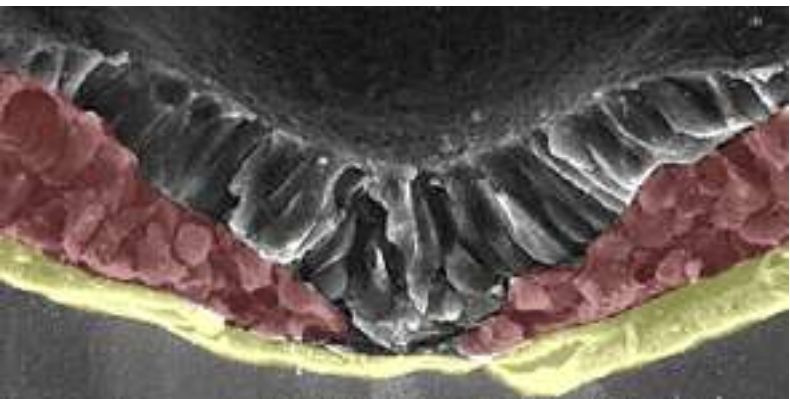
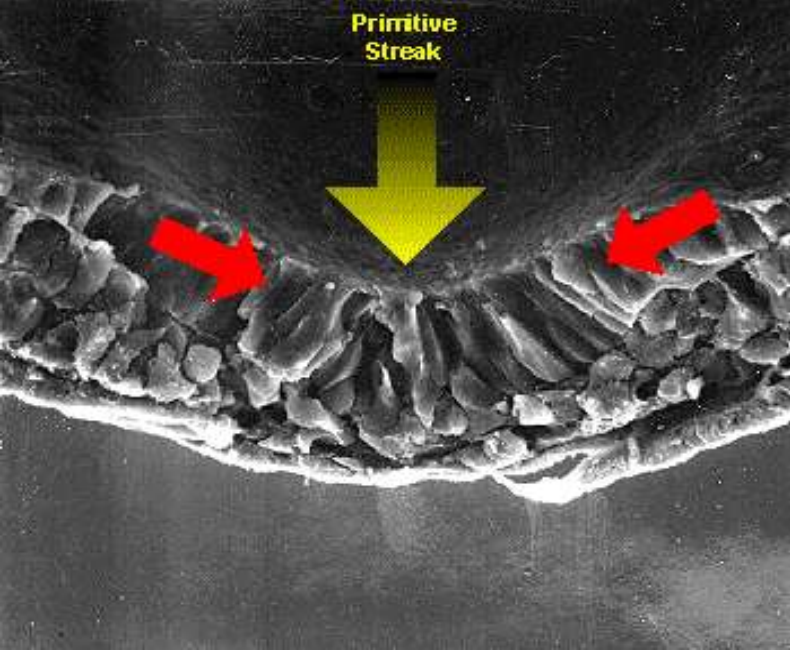


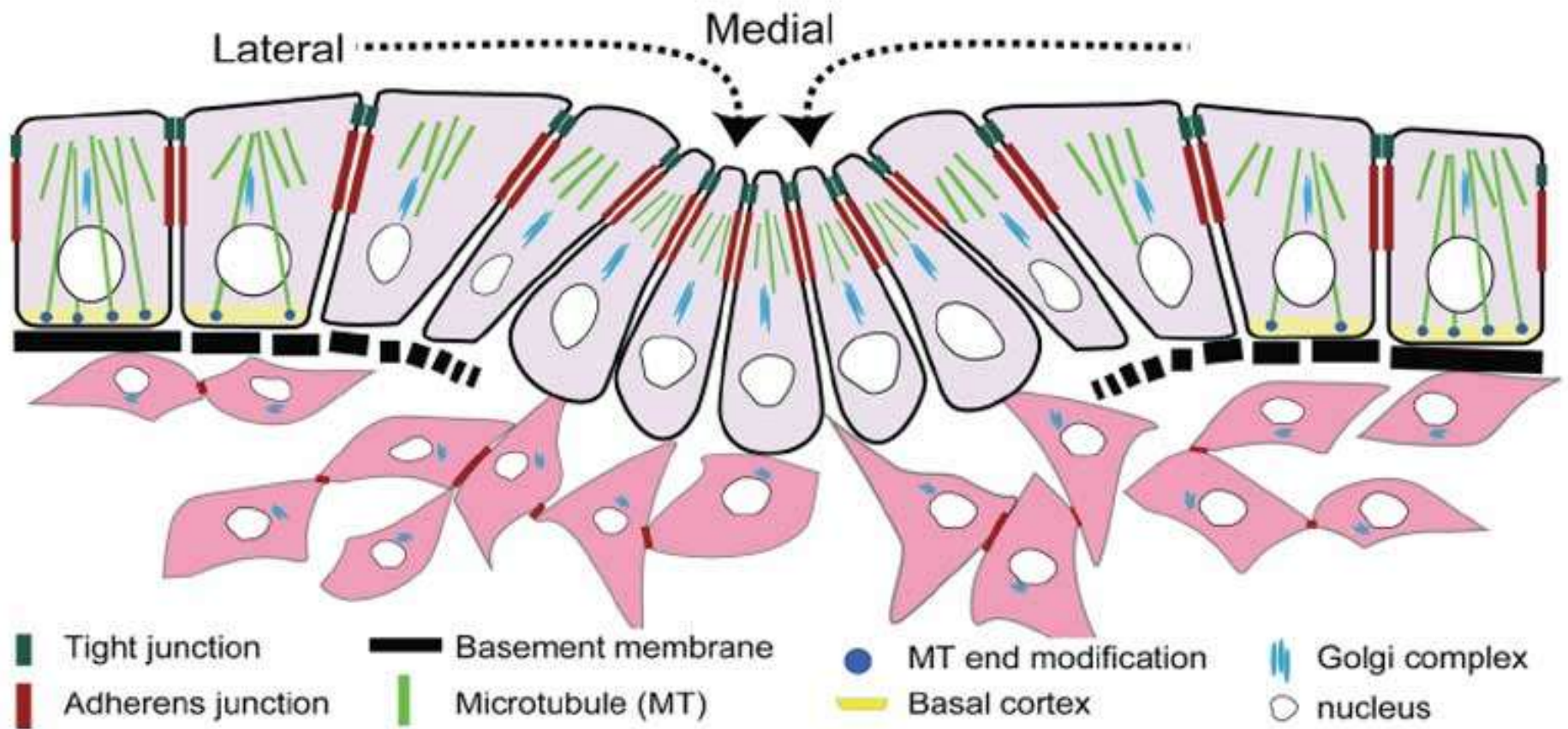
Cranio-caudal, bal-jobb tengely jól meghatározható!

Mi történik a sejtekkel a primitív csíkon belül?

- Az epiblast sejtek morfológiai és molekuláris változásokon mennek keresztül.
- Az epithel jellegű sejtek → palack alakú → migráló fenotípusú sejtek
- Szomszédos sejtek közötti sejt kapcsolatok megszűnése, majd a bazális membránnal való kapcsolat elvesztése → önálló, migrációra képes mesenchymalis sejtek megjelenése
- Epithelio-mesenchymalis átalakulás
- E-cadherin szintézis downregulációja az epiblast sejtekben

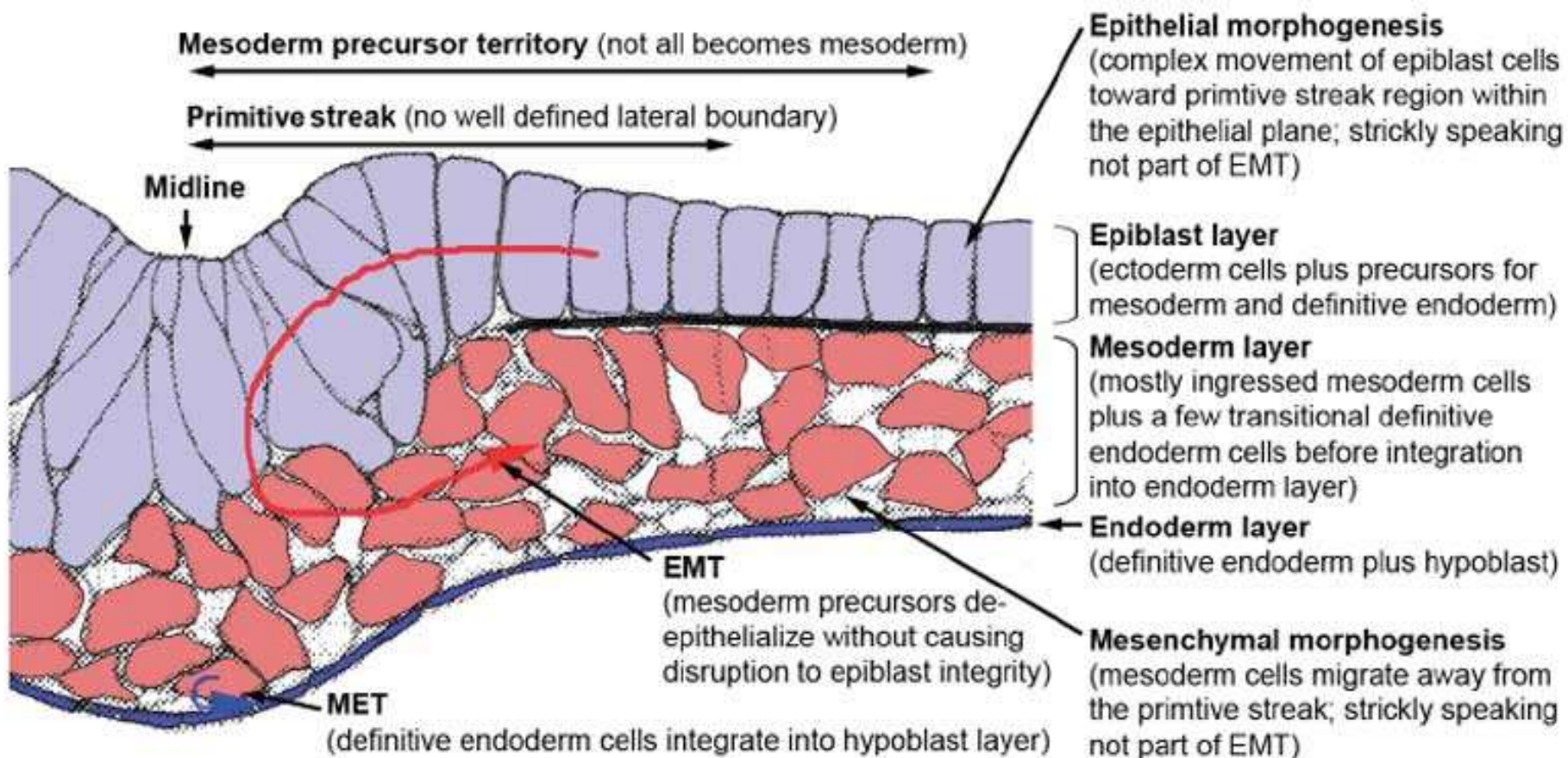






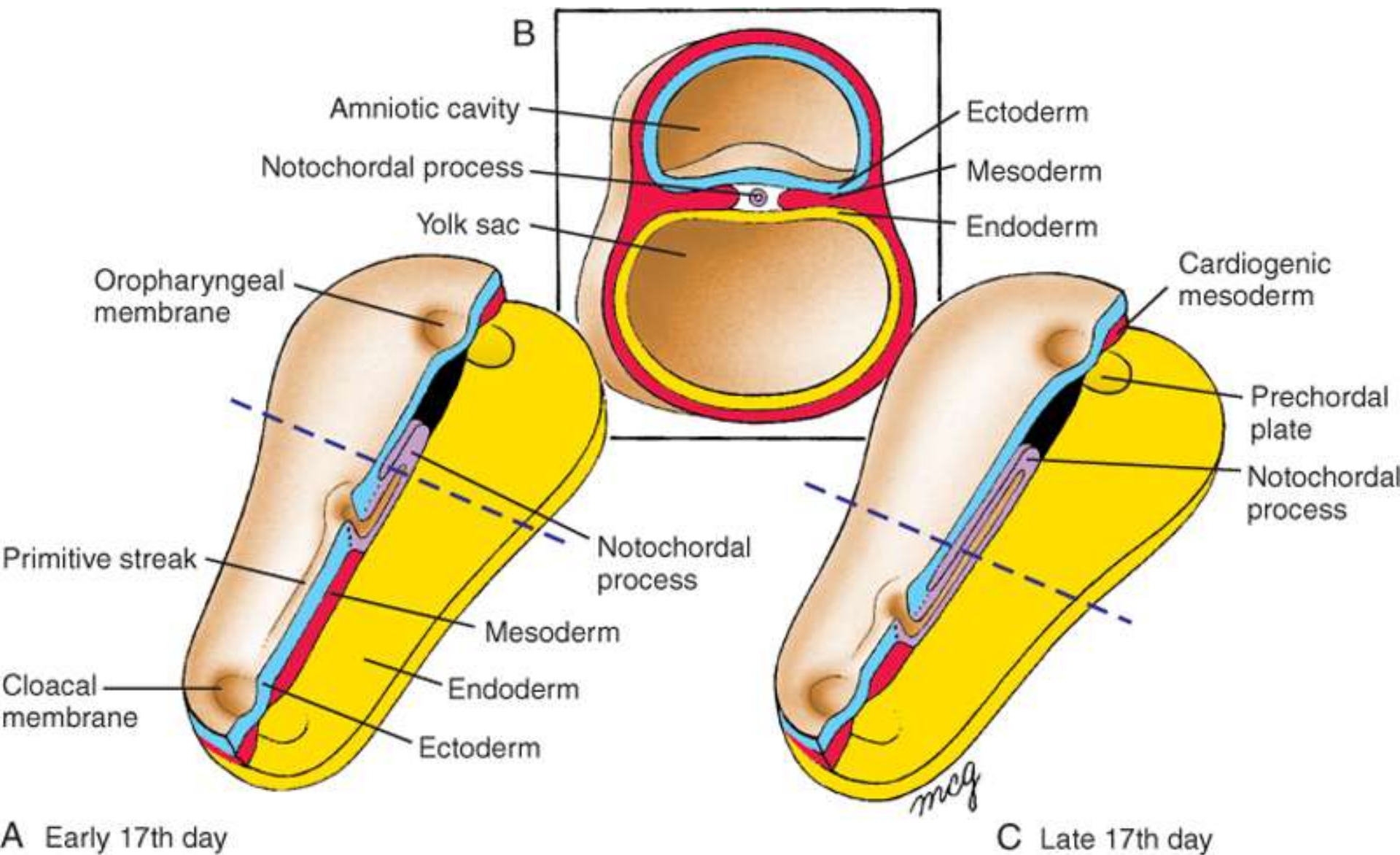
Chicken Gastrulation

An amicable separation: Chick's way of doing EMT. Nakaya Y, Sheng G. *Cell Adh Migr.* 2009 Apr;3(2):160-3. Epub 2009 Apr 10. PMID: 19262172

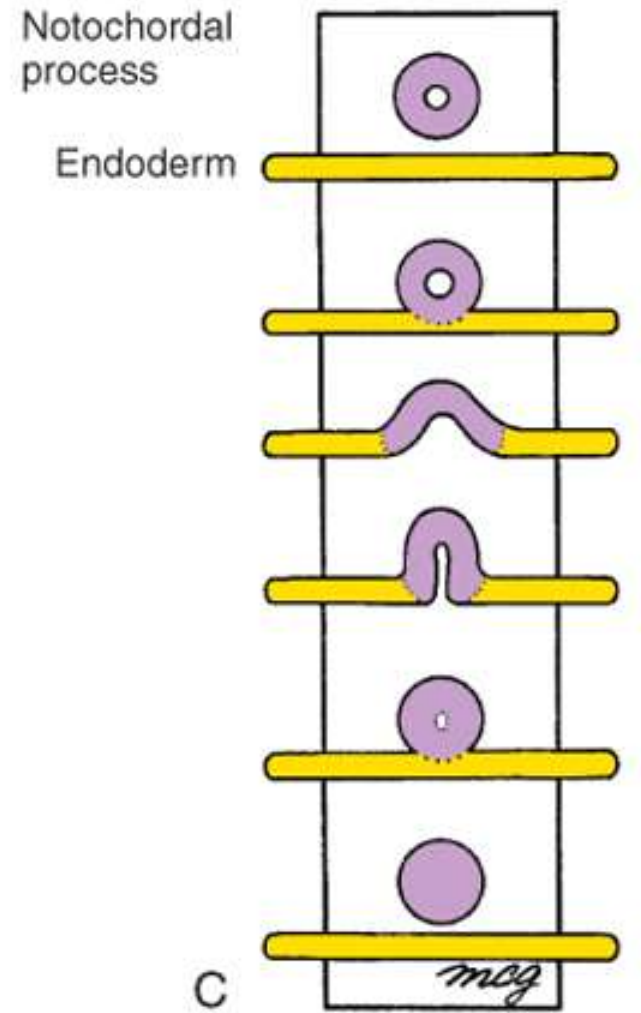
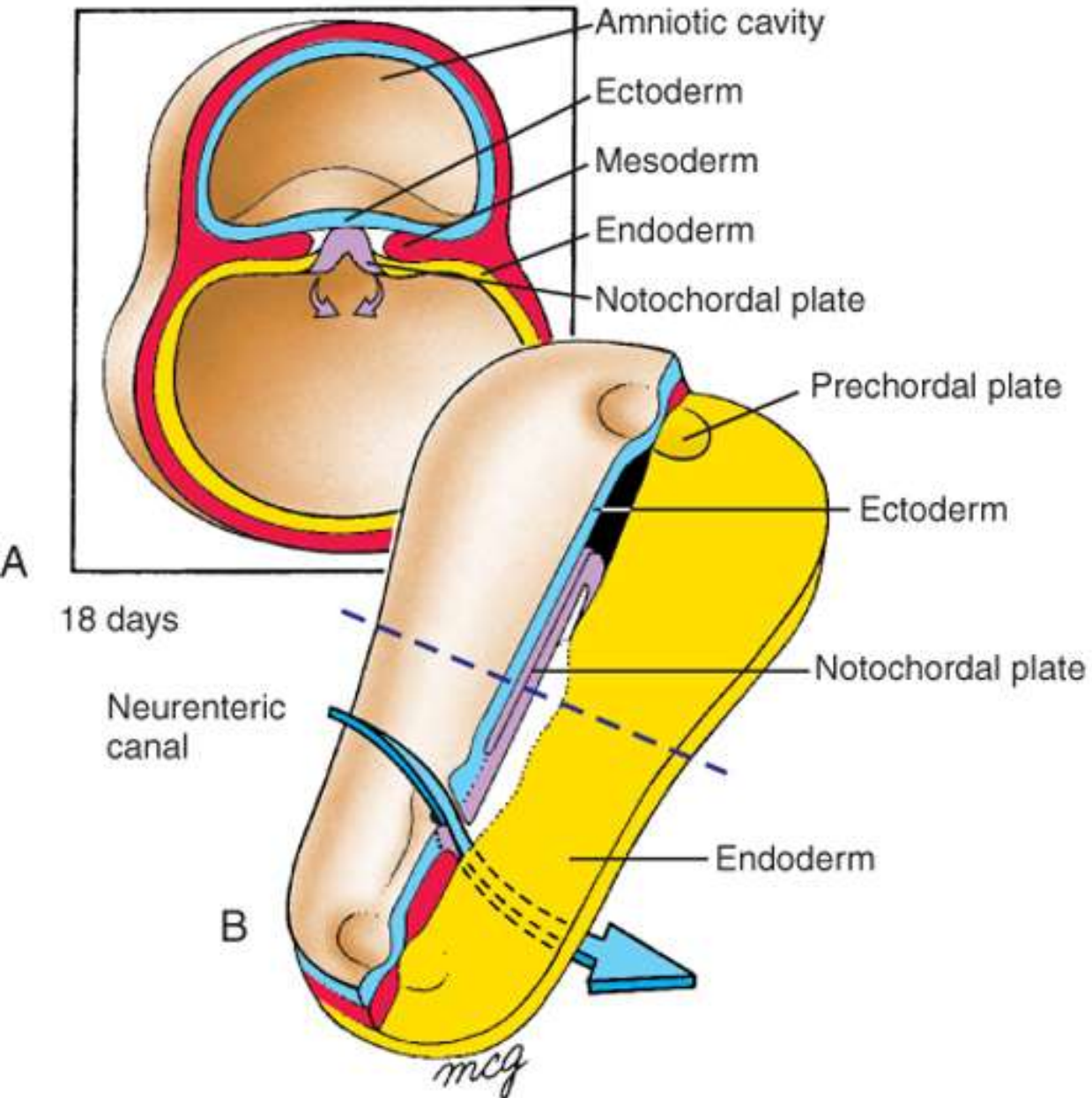


Chicken Gastrulation

An amicable separation: Chick's way of doing EMT. Nakaya Y, Sheng G. Cell Adh Migr. 2009 Apr;3(2):160-3. Epub 2009 Apr 10. PMID: 19262172

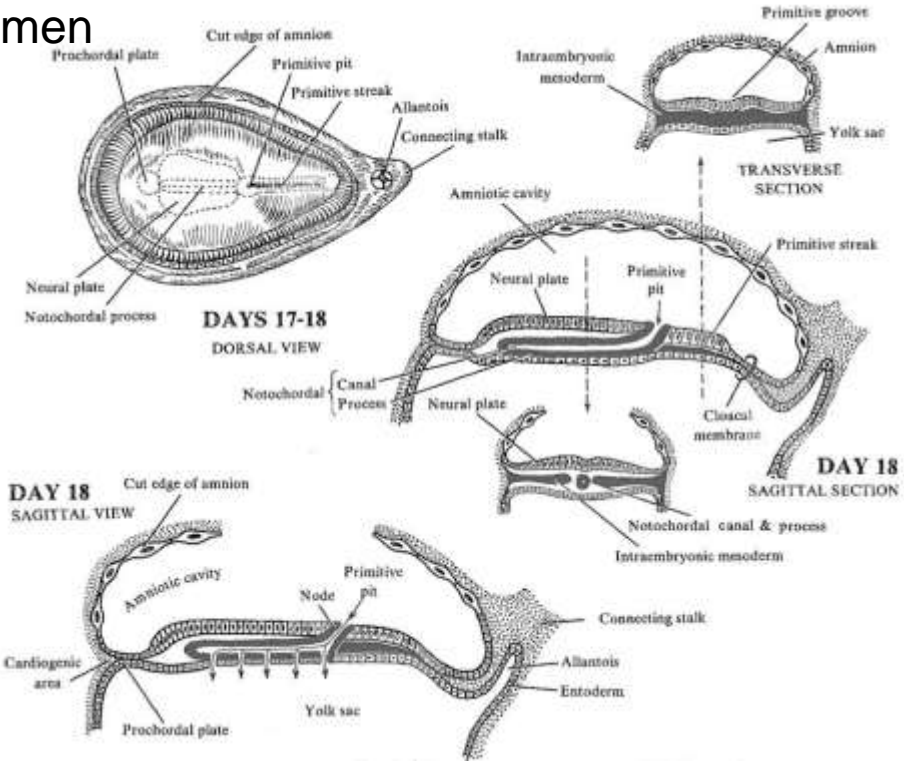


Schoenwolf et al: Larsen's Human Embryology, 4th Edition.
 Copyright © 2008 by Churchill Livingstone, an imprint of Elsevier, Inc. All rights reserved



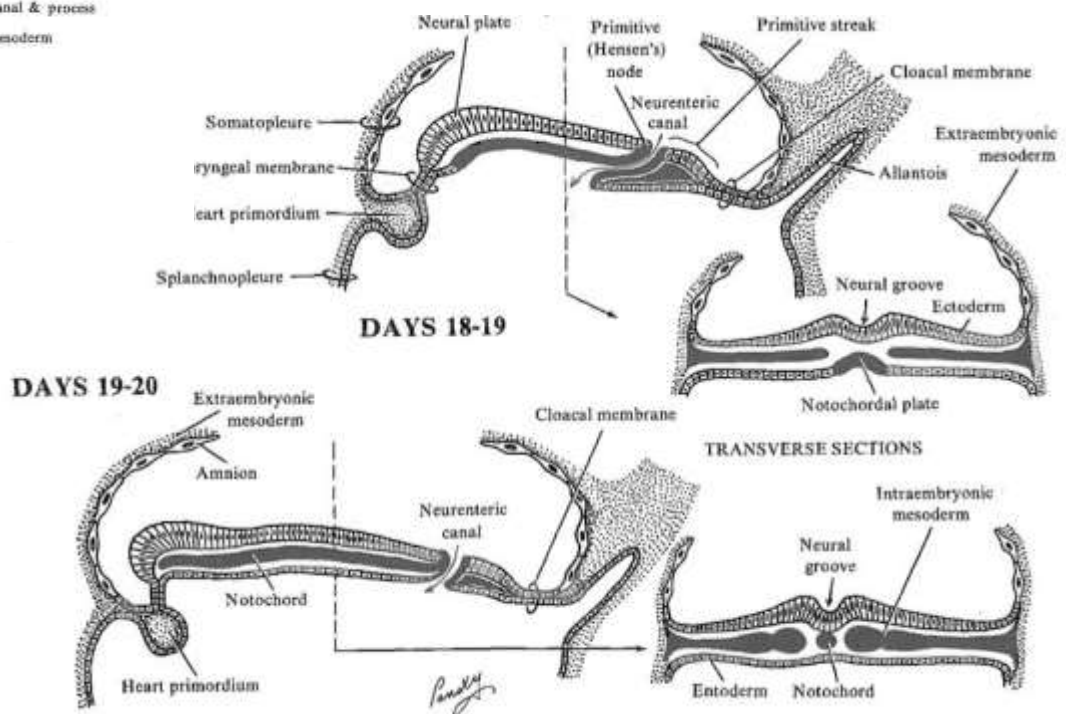
Transformation of notochordal process: days 16-22

1.: At the beginning of the notochord process first form a notochord canal with a central lumen

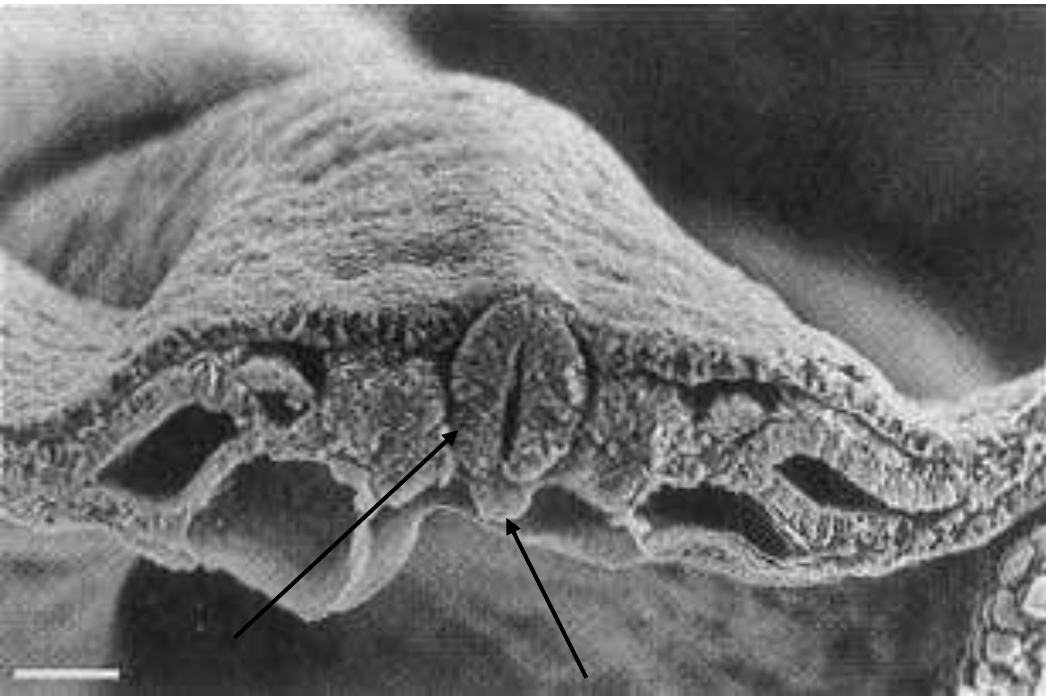
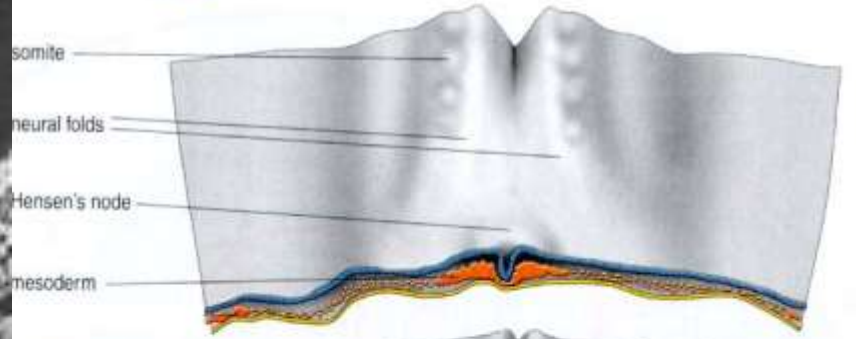
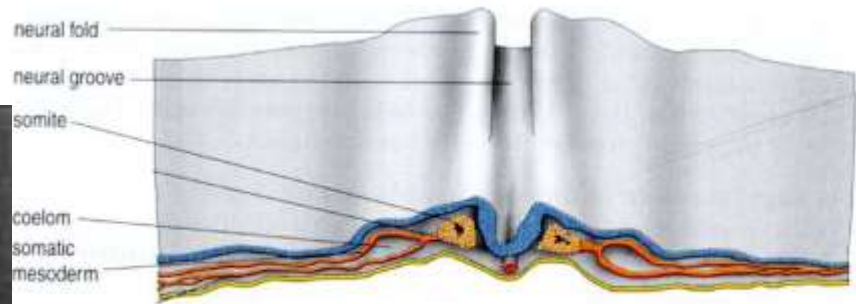
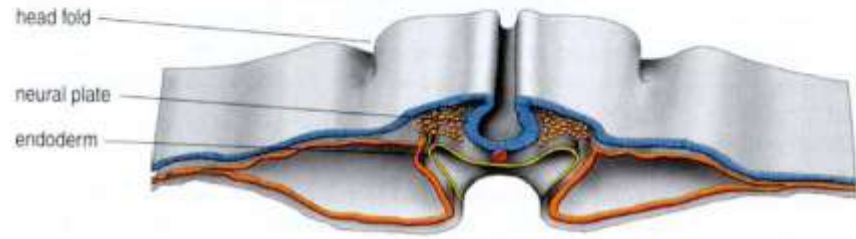
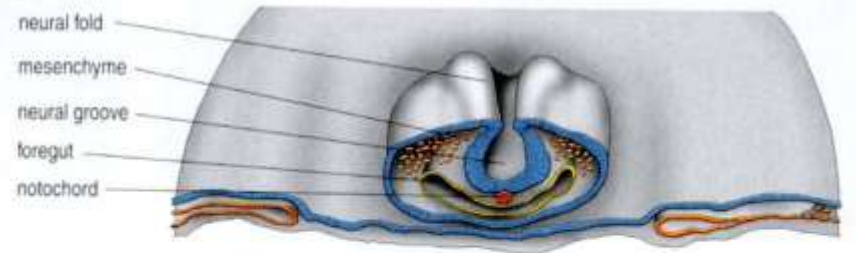


Human notochord

3.:The notochord plate starts to infold later form the rope like notochord



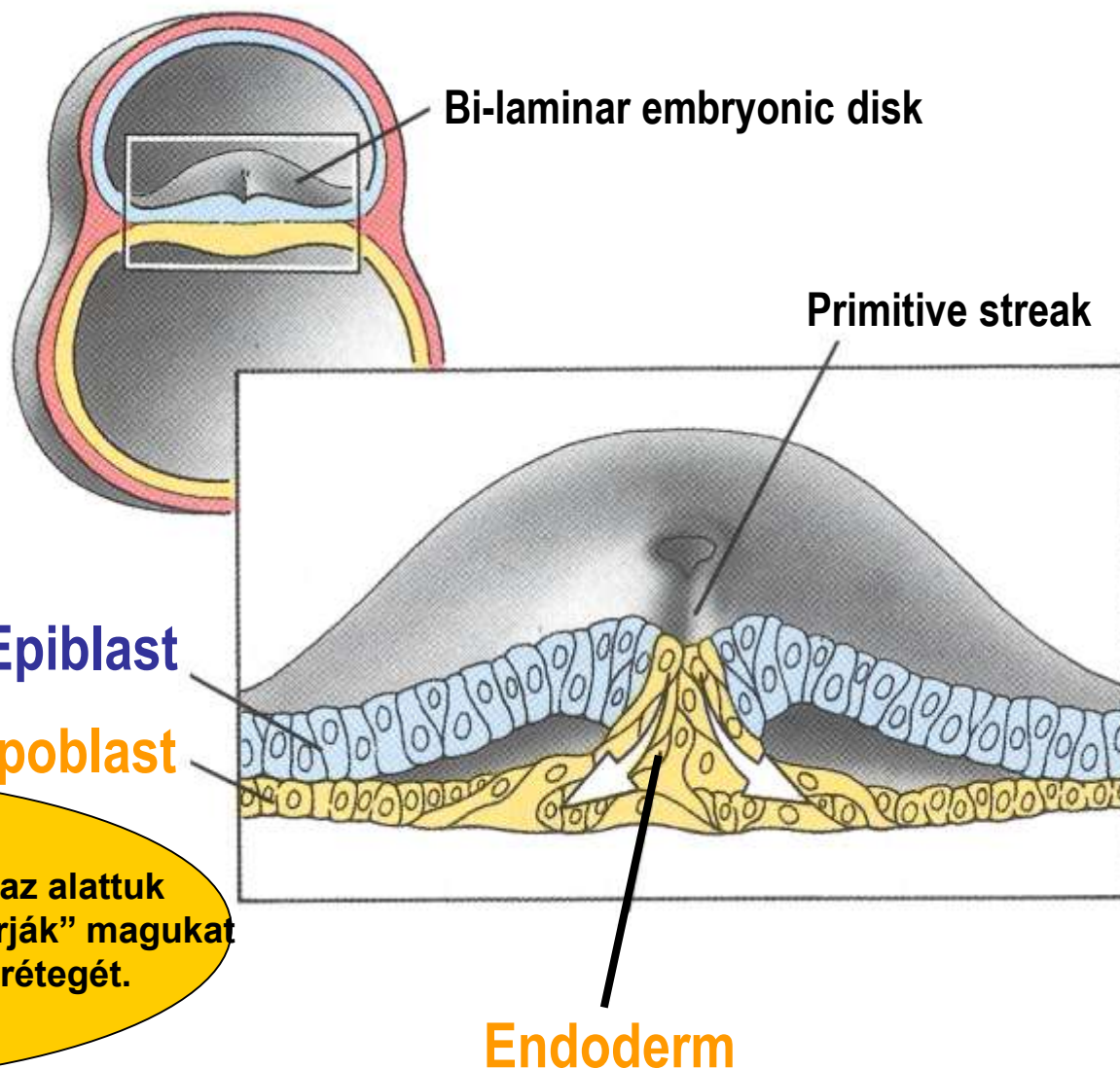
2.:The floor of the notochordal canal disappears remaining a flatten plate (notochordal plate) which incorporate into the definitiv endoderm



Definitív endoderma kialakulása

D14-15

Hypoblast sejtek
extraembrionális
mesodermát
képeznek



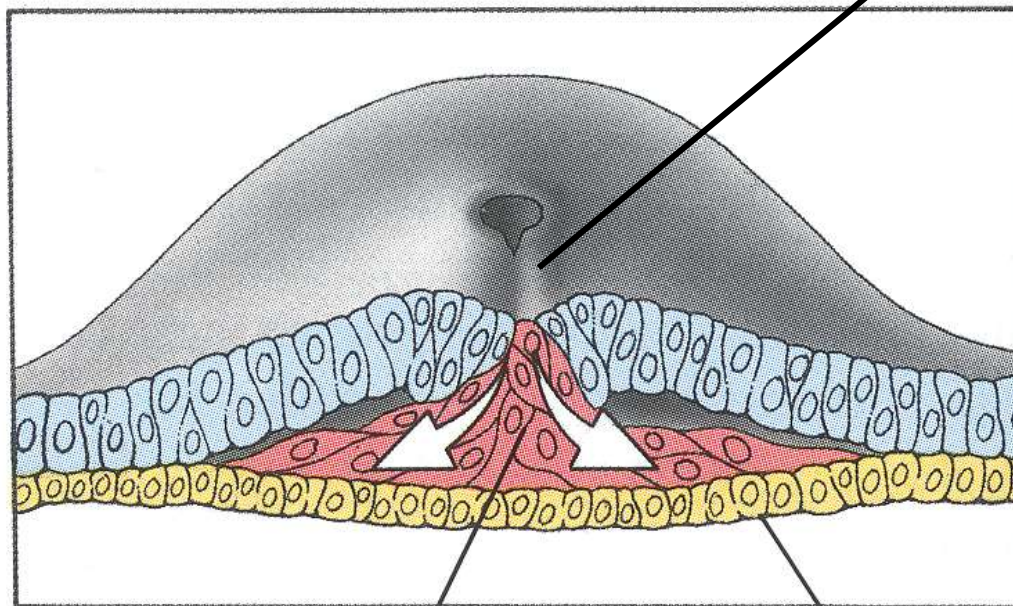
Az elsőként belépő epiblast sejtek, az alattuk elhelyezkedő hypoblast sejtek közé „fúrják” magukat létrehozva az embrió endoderma rétegét.

Epiblast sejtekből fejlődik az embrió mindhárom definitív csíralemeze!!

Intraembrionális mesoderma kialakulása

D16

Primitive streak



epithelio-
mesenchymális
átalakulás

*Intraembryonal
mesoderm*

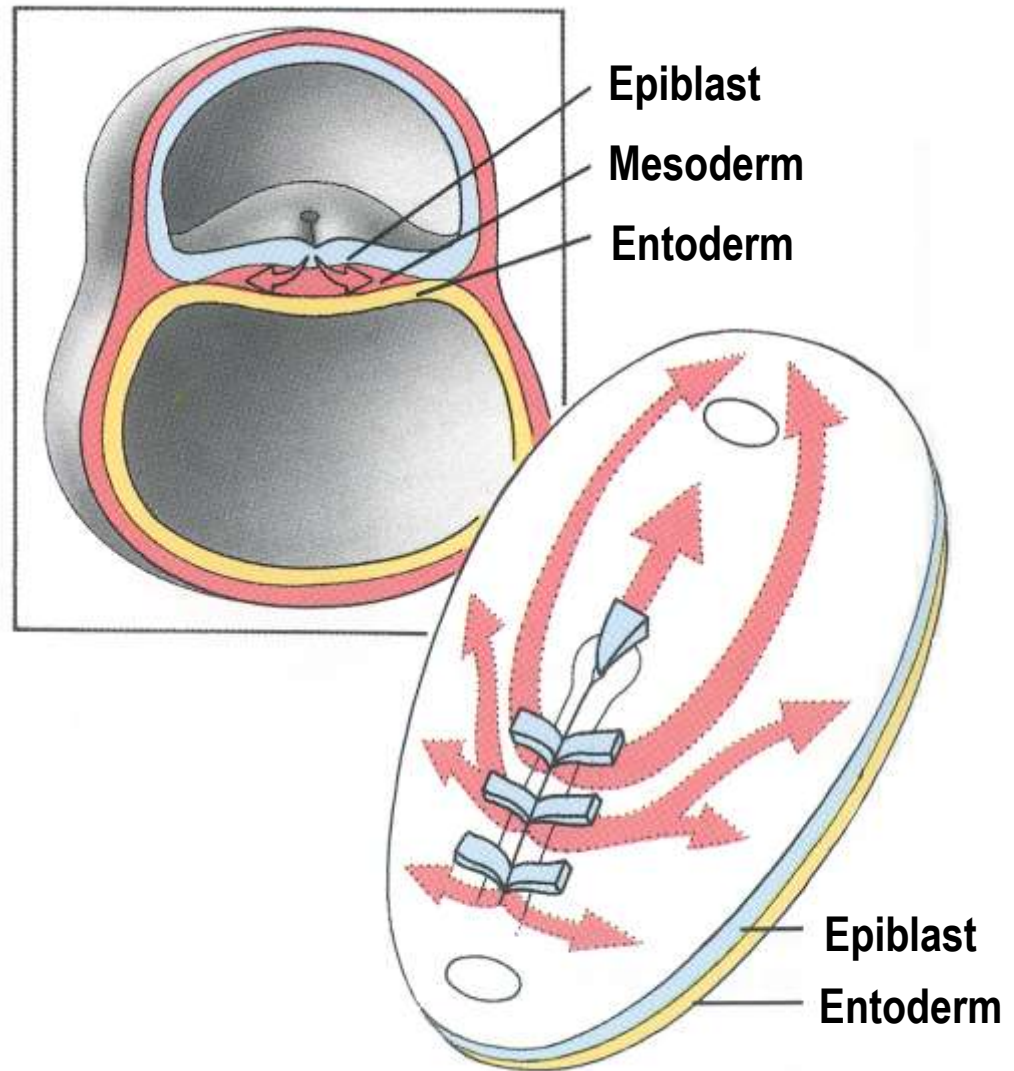
*Definitive
entoderm*

Epiblast sejtek az epiblast és hipoblast réteg közé vándorolva kialakítják az embrió harmadik csíralemezét, a mesodermát

Mesoderma sejtek vándorlása

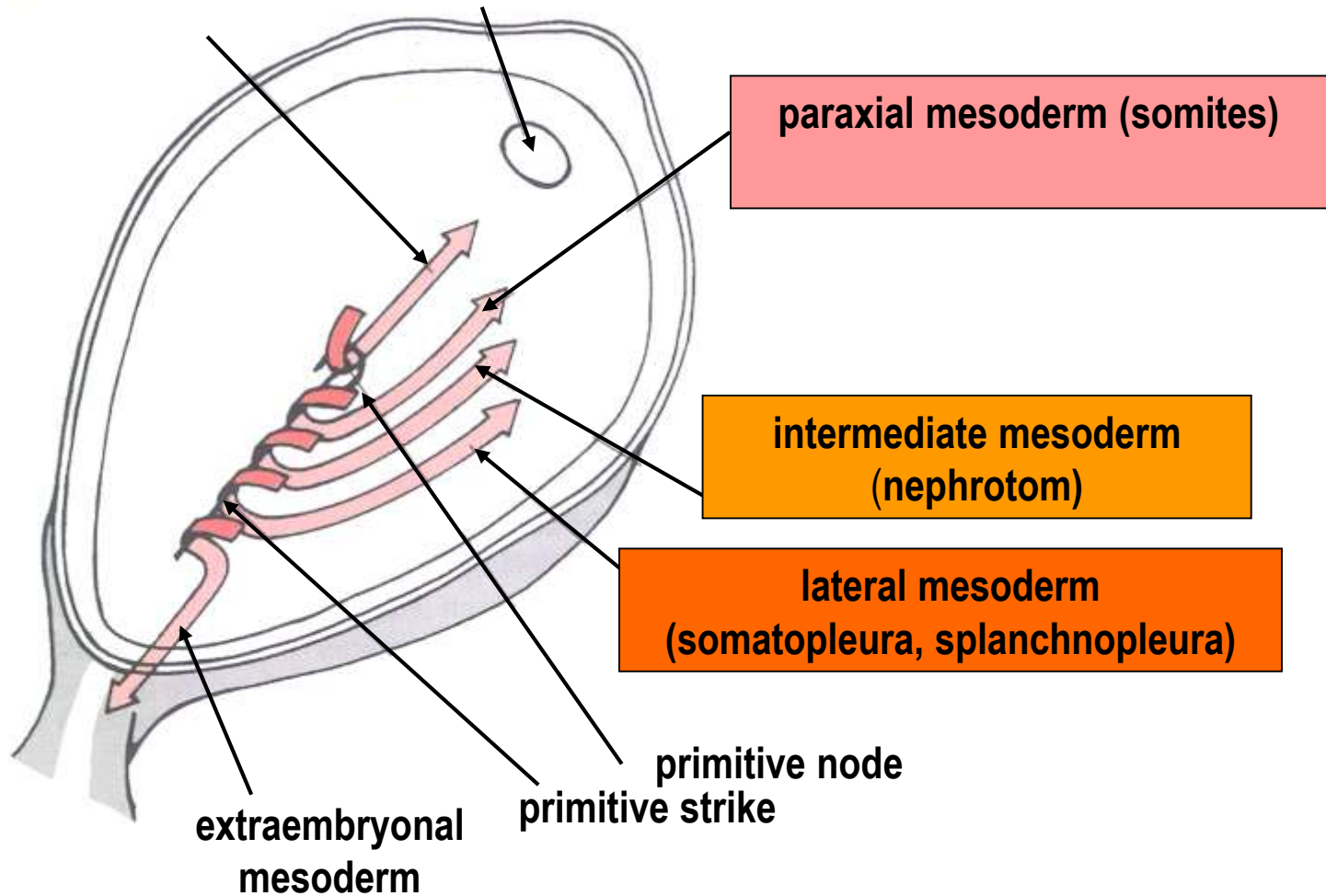
- Bilaterális irányú sejt vándorlás

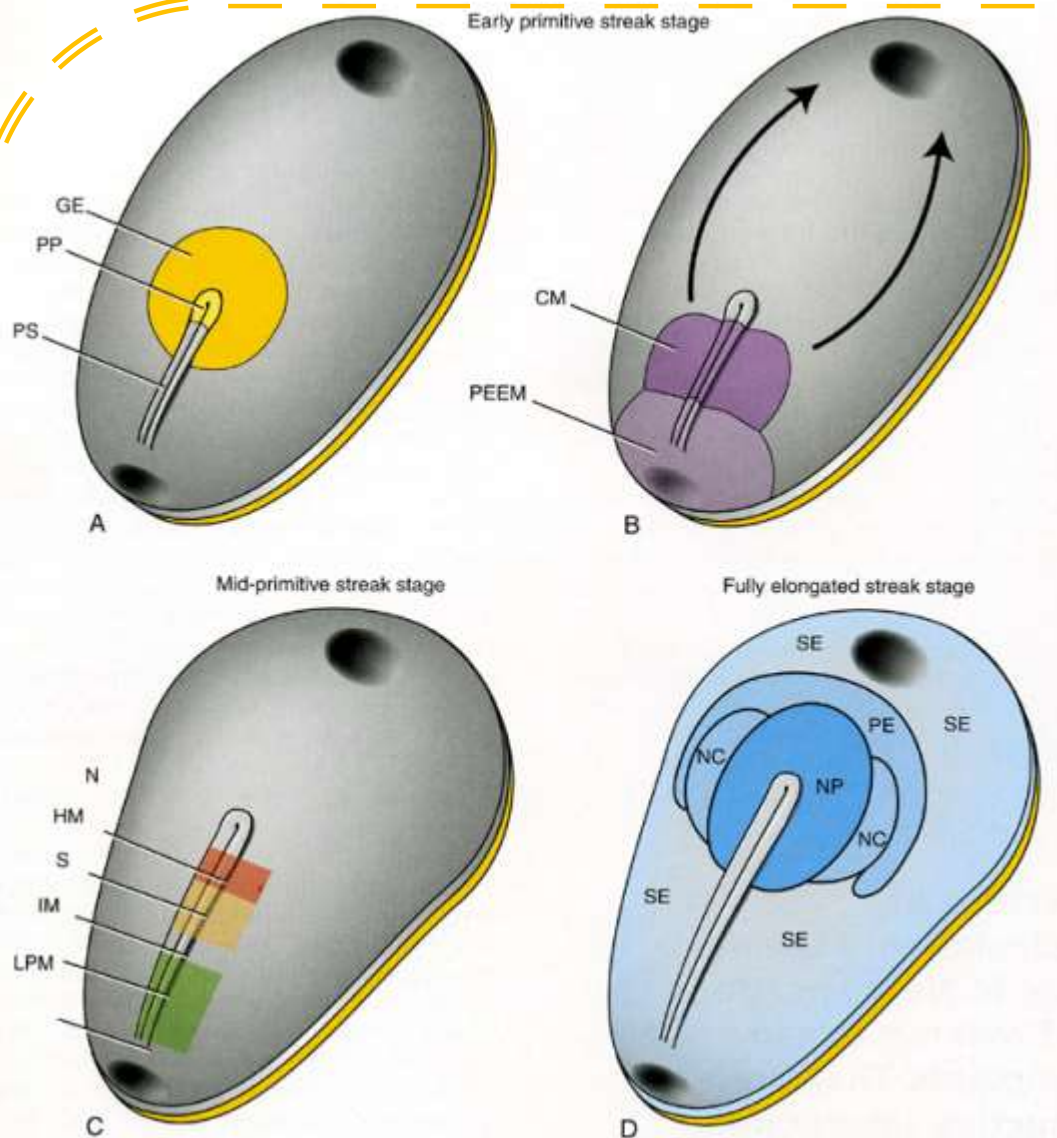
- Azok a sejtek, amelyek a Hensen csomó területén lépnek be az epiblast és hypoblast réteg közé, cranialis irányba vándorolva kialakítják a **prechordalis lemezt**, majd később a **notochordot (chorda dorsalist)**.



Differentiation of the mesoderm, convergent extension

membrana buccopharyngea





Fate map (sorstérkép)

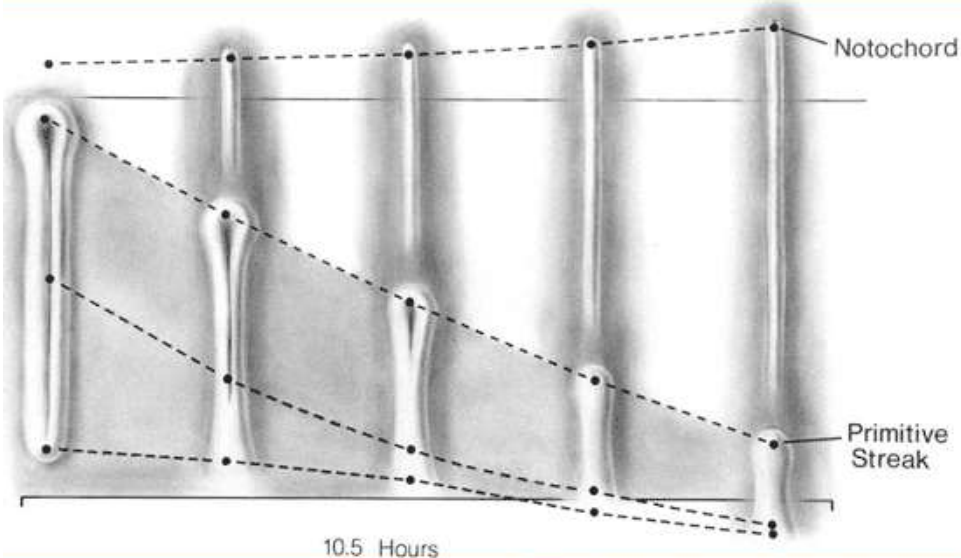
GE: gut endoderm / bél endoderma
 PP: prechordal plate / prechordalis lemez
 PS: primitive streak / primitív csík

CM: cardiac mesoderm / szív mesoderma
 PEEM: extraembryonic mesoderm

HM: head mesoderm / fej mesoderma
 S: somitic mesoderm / somita mesoderma
 IM: intermedial mesoderm
 LPM: lateral plate mesoderm / oldallemez mesoderma

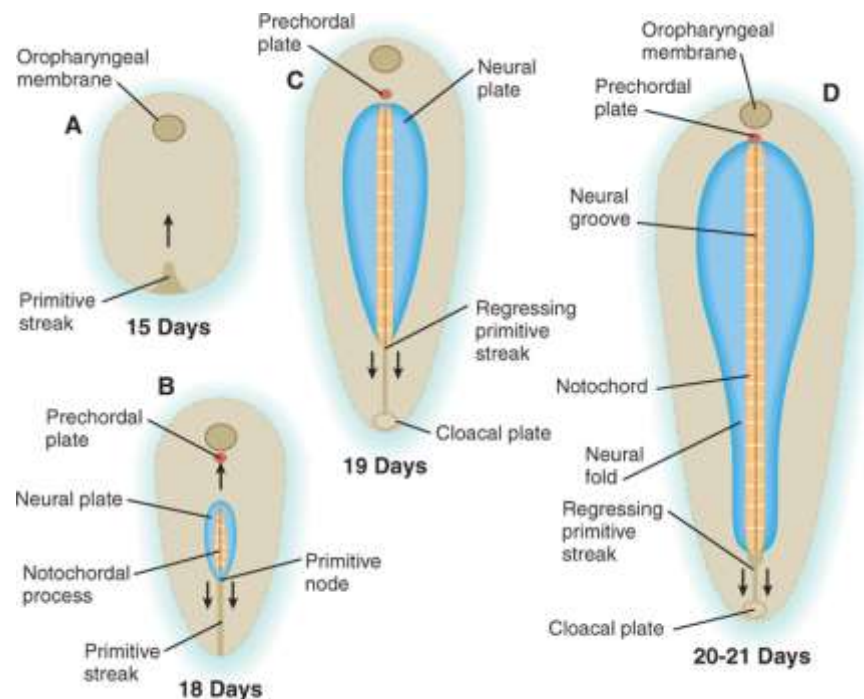
SE: surface ectoderm / felszíni hám, epidermis
 NP: neural plate / velőlemez
 PE: placod ectoderm
 NC: neural crest / dúcléc

Primitív csík regresszió



Source: Neurosurg Focus © 2004 American Association of Neurological Surgeons

- A gasztruláció kezdeti szakaszában craniális irányba növekvő primitív csík hossza, fokozatosan caudális irányba haladva csökken
- A regressziós folyamat összefügg a notochord képződésével



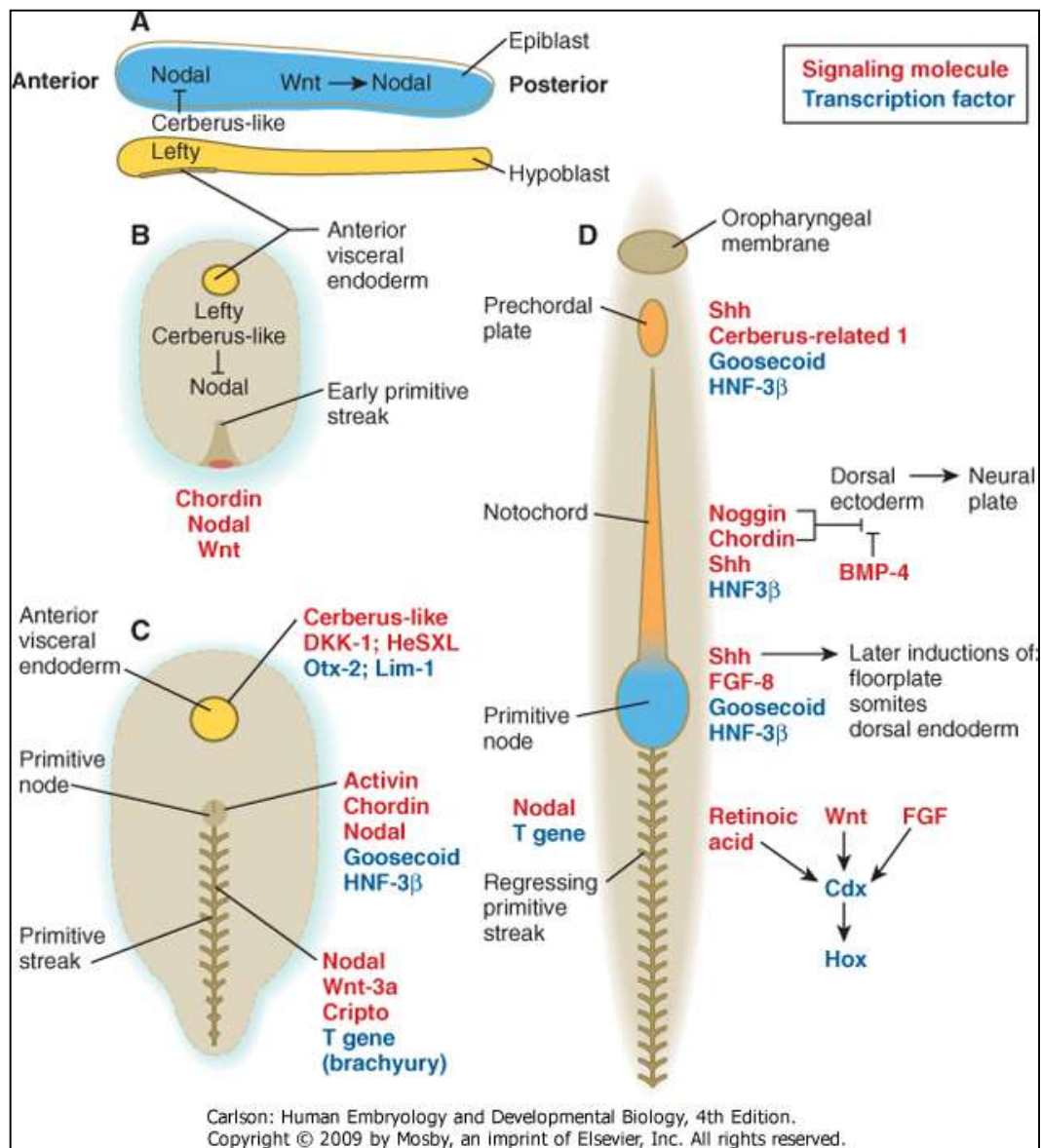
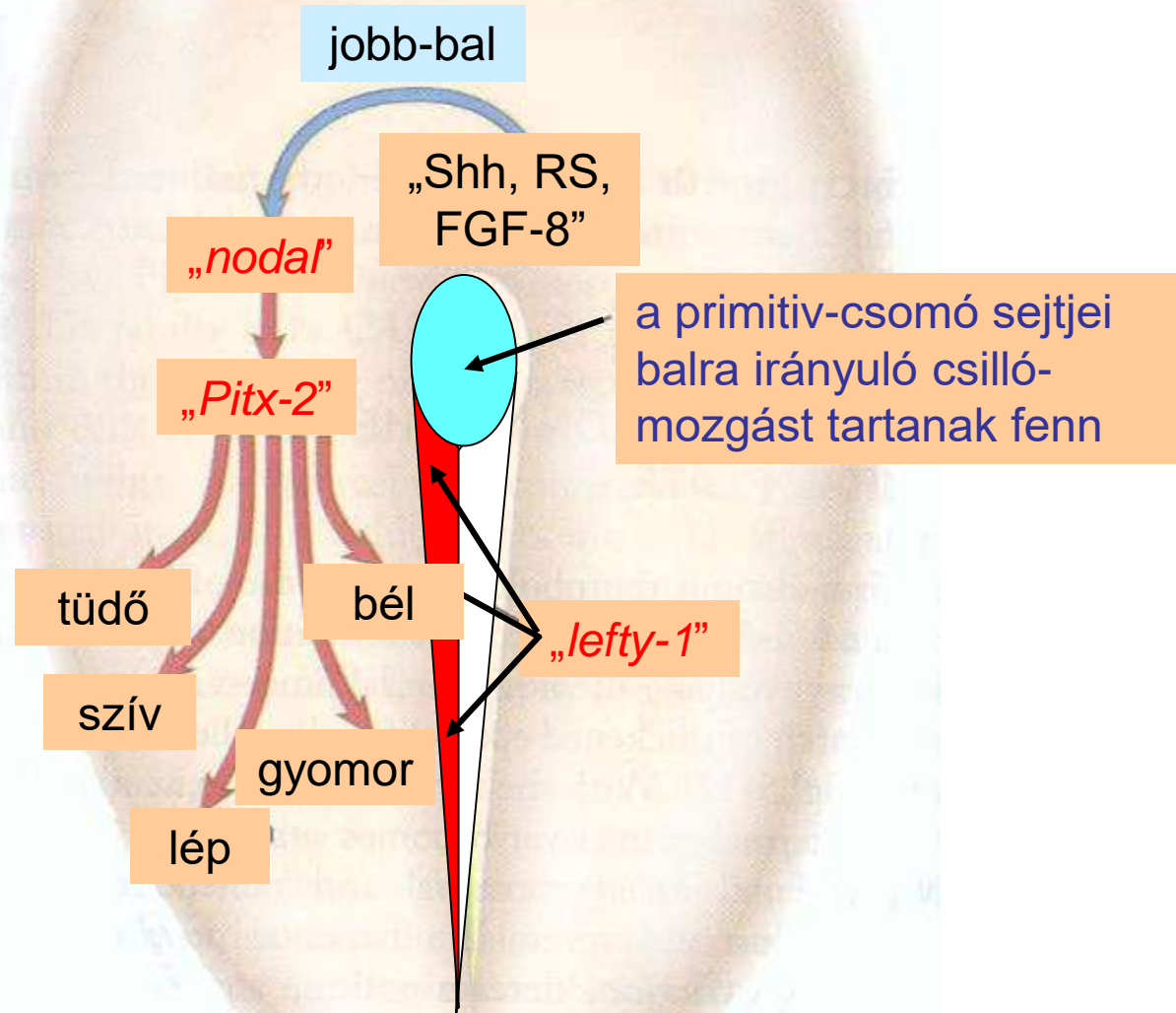


Figure 5-7 Summary of major genes involved in various stages of early embryonic development. A, Preprimitive streak (sagittal section). B, Early formation of the primitive streak. C, Gastrulation (period of germ layer formation). D, Late gastrulation and neural induction. The molecules in red are signaling molecules, and the molecules in blue are transcription factors. Names of specific molecules (bold) are placed by the structures in which they are expressed.

Bal-jobb aszimmetria



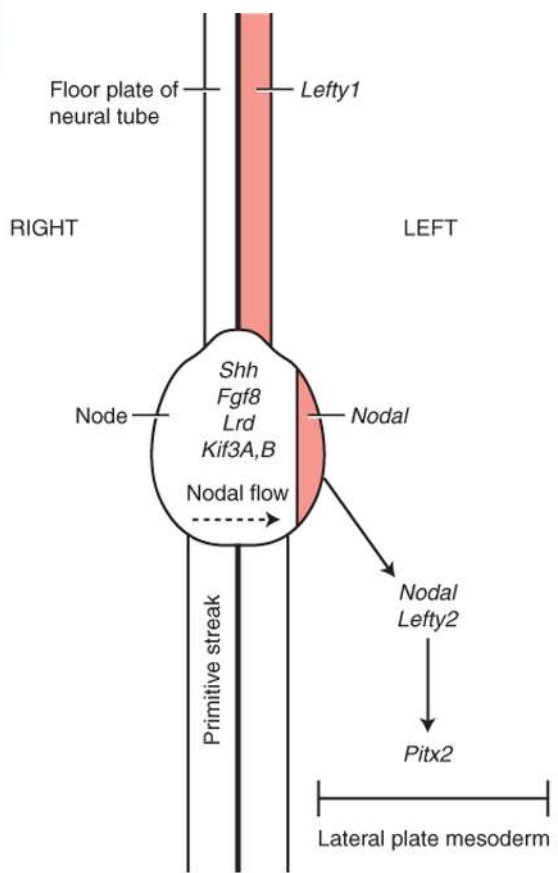
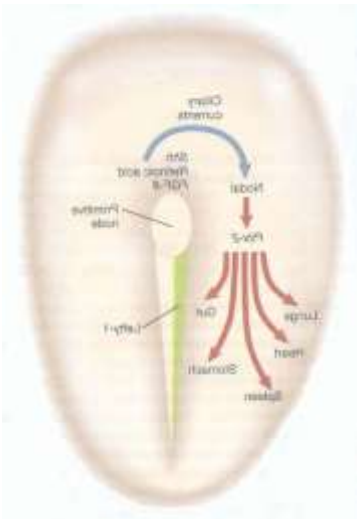
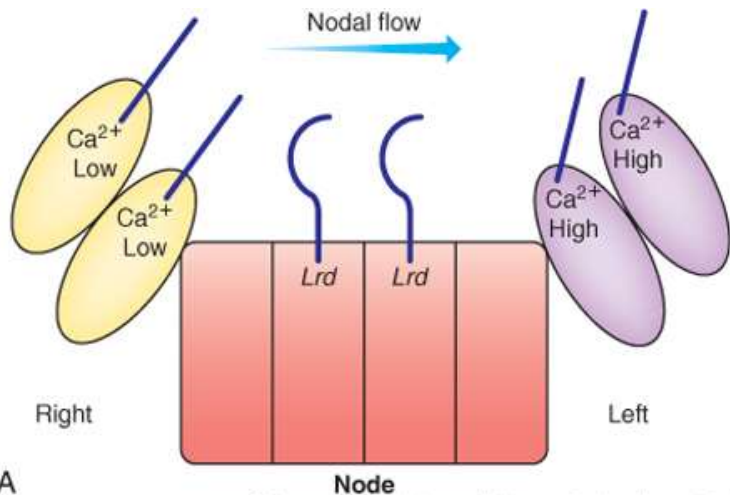


Figure 3-2. Diagram illustrating a simplified scheme of key genes involved in establishing left-right asymmetry. The primitive streak, node, and early floor plate of the neural tube are viewed from the ventral side.

Motor proteins (Lrd, Kif3A, B) expressed by the node regulate leftward (dashed arrow) nodal flow.

Secreted factors (Shh, Fgf8, Nodal) expressed by the node result in signaling to the lateral plate mesoderm, thereby resulting in asymmetric gene expression in the lateral plate mesoderm (e.g., Nodal, Lefty2 in left lateral plate).

This in turn results in expression of Pitx2 in the left lateral plate and changes in cell behaviors that result in asymmetric morphogenesis. Lefty1 is expressed in the left floor plate of the neural tube. It is believed to serve a barrier function, allowing information that specifies left and right sides to remain separate.



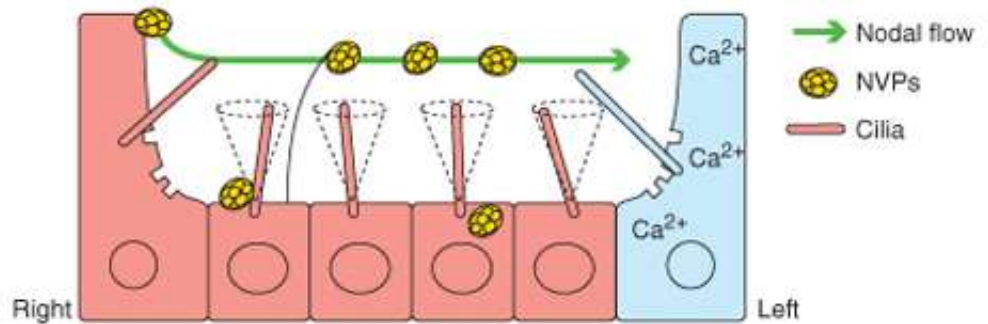
A

Schoenwolf et al: Larsen's Human Embryology, 4th Edition
Copyright © 2008 by Churchill Livingstone, an imprint of

The mechanosensory model of nodal flow. Model showing that nodal flow, generated by motile monocilia in cells expressing *Lrd*, stimulates calcium flux in cells containing nonmotile cilia that sense flow on the left side.

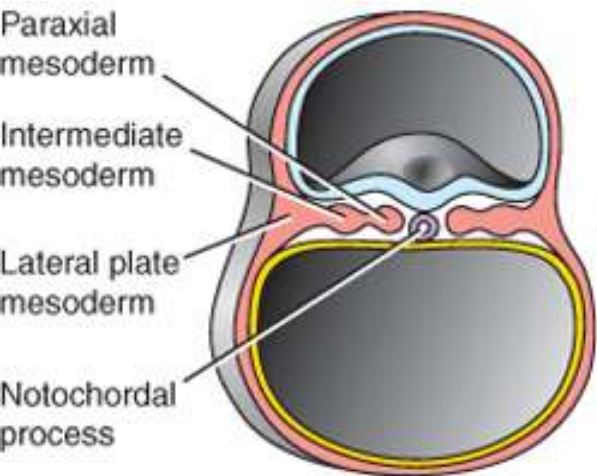


Model showing the transport of nodal vesicular parcels by motile cilia and the stimulation of calcium signaling (blue) at the left side of the node by nonmotile cilia.

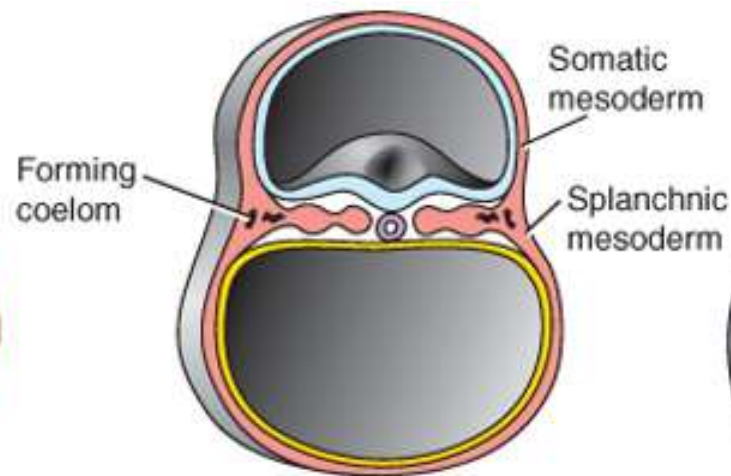


B

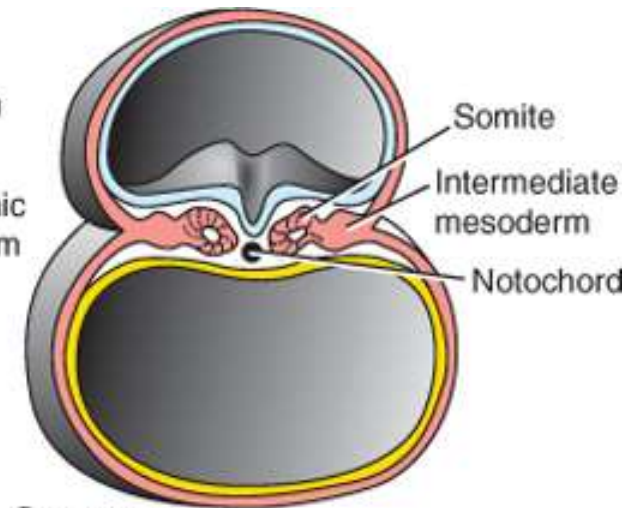
Schoenwolf et al: Larsen's Human Embryology, 4th Edition.
Copyright © 2008 by Churchill Livingstone, an imprint of Elsevier, Inc. All rights reserved



A 17 days



B 18 days



C 21 days

Schoenwolf et al: Larsen's Human Embryology, 4th Edition.

Copyright © 2008 by Churchill Livingstone, an imprint of Elsevier, Inc. All rights reserved

Gastrulatio

