

**Langman** We know  
books

# Embriologie medicală

Ediția a 10-a

**T.W. Sadler, Ph.D.**

Consultant, Birth Defects Prevention  
Twin Bridges  
Madison County, Montana

Ilustrații originale:

**Jill Leland**

Ilustrații electronice:

**Susan L. Sadler-Redmond**

Scanare microfotografii:

**Kathy Tosney**

**Jennifer Burgoon**

Imagini ultrasonografice:

**Nancy Chescheir**

**Hytham Imseis**

E d i t u r a M e d i c a l ă C A L L I S T O

## Partea întâi Embriologie generală

<b>Capitolul 1</b>	<b>Embriologia: frontiere vechi și noi și introducere în mecanismele moleculare de reglare și semnalizare,</b>	<b>3</b>
	Importanță clinică,	3
	Scurt istoric al embriologiei,	3
	Introducere în mecanismele moleculare de reglare și semnalizare,	5
<b>Capitolul 2</b>	<b>Gametogeneza: transformarea celulelor germinative în gameți masculini și gameți feminini,</b>	<b>11</b>
	Celulele germinative primordiale,	11
	Corelații clinice,	11
	Teoria cromozomială a eredității,	11
	Corelații clinice,	14
	Modificări morfologice produse în decursul procesului de maturare a gameților,	22
	Corelații clinice,	28
<b>Capitolul 3</b>	<b>Prima săptămână de dezvoltare: de la ovulație la implantare,</b>	<b>31</b>
	Ciclul ovarian,	31
	Corelații clinice,	32
	Fertilizarea,	35
	Corelații clinice,	37
	Procesul de clivare,	38
	Formarea blastocistului,	38
	Corelații clinice,	40
	Uterul în momentul implantării,	41
<b>Capitolul 4</b>	<b>A doua săptămână de dezvoltare: discul embrionar bilaminar,</b>	<b>45</b>
	Ziua 8,	45
	Ziua 9,	45
	Zilele 11 și 12,	45
	Ziua 13,	49
	Corelații clinice,	49
<b>Capitolul 5</b>	<b>A treia săptămână de dezvoltare: discul embrionar trilaminar,</b>	<b>55</b>
	Gastrulația: formarea mezodermului și a endodermului embrionar,	55
	Formarea notocordului,	55
	Stabilirea axelor corpului,	56
	Harta specificității celulare este stabilită în timpul gastrulației,	60

Creșterea discului embrionar,	60
Corelații clinice,	62
Dezvoltarea ulterioară a trofoblastului,	63

**Capitolul 6 Perioada embrionară (embriogeneza): săptămânile 3- 8 67**

Structurile derivate din stratul germinativ ectodermic,	67
Structurile derivate din stratul germinativ mezodermic,	72
Corelații clinice,	79
Structurile derivate din stratul germinal endodermic,	79
Formarea structurilor caracteristice axei antero-posterioare: controlul exercitat de genele homeotice,	83
Aspectul exterior al embrionului în timpul lunii a doua,	84
Corelații clinice,	84

**Capitolul 7 Perioada fetală (organogeneza) - luna a 3-a și naștere: fătul și placenta, 89**

Dezvoltarea fătului,	89
Corelații clinice,	93
Membranele fetale și placenta,	93
Corelații clinice,	95
Structura placentei,	95
Corelații clinice,	100
Corelații clinice,	101
Sacul amniotic și cordonul ombilical,	101
Corelații clinice,	102
Modificările suferite de placentă la sfârșitul sarcinii,	103
Lichidul amniotic,	103
Corelații clinice,	104
Membranele fetale la gemeni,	104
Corelații clinice,	104
Parturiția (nașterea),	107
Corelații clinice,	109

**Capitolul 8 Malformațiile congenitale și diagnosticul prenatal, 111**

Malformațiile congenitale,	111
Corelații clinice,	118
Diagnosticul prenatal,	118
Terapia fetală,	121

**Partea a doua Embriologie specială: dezvoltarea organelor și sistemelor**

**Capitolul 9 Sistemul scheletic, 125**

Craniul,	125
Viscerocraniul,	127
Corelații clinice,	128
Membrele,	132
Corelații clinice,	137
Vertebrele și coloana vertebrală,	140
Corelații clinice,	141
Coastele și sternul,	141

**Capitolul 10 Sistemul muscular, 143**

	Musculatura striată (scheletică),	143
	Reglarea moleculară a dezvoltării musculaturii,	143
	Distribuția specifică a musculaturii,	143
	Structurile derivate din celulele musculare precursore,	144
	Musculatura capului,	146
	Musculatura membrilor,	146
	Corelații clinice,	148
	Miocardul,	148
	Musculatura netedă,	148
<b>Capitolul 11</b>	<b>Cavitățile corpului,</b>	<b>151</b>
	Formarea cavității intraembrionare,	151
	Corelații clinice,	151
	Membranele seroase,	153
	Diafragma și cavitatea toracică,	153
	Formarea diafragmului,	154
	Corelații clinice,	157
<b>Capitolul 12</b>	<b>Sistemul cardiovascular,</b>	<b>159</b>
	Localizarea câmpului cardiogen,	159
	Formarea și așezarea tubului cardiac,	159
	Formarea ansei cardiace,	162
	Corelații clinice,	163
	Reglarea moleculară a dezvoltării cardiace,	165
	Dezvoltarea sinusului venos,	165
	Formarea septurilor cardiace,	167
	Corelații clinice,	168
	Corelații clinice,	172
	Corelații clinice,	177
	Formarea sistemului de conducere al inimii,	180
	Dezvoltarea sistemului vascular,	180
	Corelații clinice,	184
	Corelații clinice,	189
	Circulația înainte și după naștere,	189
<b>Capitolul 13</b>	<b>Sistemul respirator,</b>	<b>195</b>
	Formarea primordiilor plămânilor,	195
	Corelații clinice,	195
	Laringele,	195
	Traheea, bronhiile și plămâni,	197
	Maturarea plămânilor,	199
	Corelații clinice,	200
<b>Capitolul 14</b>	<b>Sistemul digestiv,</b>	<b>203</b>
	Diviziunile tubului digestiv,	203
	Reglarea moleculară a dezvoltării tubului digestiv,	203
	Mezenterele,	203
	Proenteronul,	206
	Corelații clinice,	206
	Corelații clinice,	210
	Corelații clinice,	214
	Reglarea moleculară a formării ficatului,	215
	Pancreasul,	215

	Corelații clinice,	217
	Mezenteronul,	217
	Corelații clinice,	220
	Metenteronul,	224
	Corelații clinice,	226
<b>Capitolul 15</b>	<b>Sistemul urogenital,</b>	<b>229</b>
	Sistemul urinar,	229
	Corelații clinice,	234
	Corelații clinice,	236
	Corelații clinice,	238
	Sistemul genital,	239
	Corelații clinice,	247
	Corelații clinice,	250
	Corelații clinice,	251
	Corelații clinice,	254
<b>Capitolul 16</b>	<b>Dezvoltarea capului și a gâtului,</b>	<b>257</b>
	Arcurile faringiene (branhiale),	257
	Recesurile faringiene (pungile branhiale)	261
	Fantele (șanțurile) faringiene,	264
	Reglarea moleculară a dezvoltării regiunii faciale,	264
	Corelații clinice,	267
	Limba,	269
	Corelații clinice,	270
	Glanda tiroidă,	270
	Corelații clinice,	270
	Regiunea facială,	271
	Segmentul intermaxilar,	272
	Palatul secundar,	273
	Corelații clinice,	273
	Cavitățile nazale,	278
	Dinții,	278
	Reglarea moleculară a dezvoltării dinților,	281
	Corelații clinice,	282
<b>Capitolul 17</b>	<b>Sistemul nervos central,</b>	<b>285</b>
	Măduva spinării,	285
	Corelații clinice,	293
	Creierul,	295
	Corelații clinice,	301
	Reglarea moleculară a dezvoltării creierului,	305
	Corelații clinice,	307
	Nervii cranieni,	311
	Sistemul nervos autonom,	311
	Corelații clinice,	315
<b>Capitolul 18</b>	<b>Urechea,</b>	<b>317</b>
	Urechea internă,	317
	Urechea medie,	320
	Urechea externă,	322
	Corelații clinice,	322

<b>Capitolul 19</b>	<b>Ochiul,</b>	<b>325</b>
	Cupa optică și vezicula cristaliniană,	325
	Retina, irisul și corpul ciliar,	325
	Cristalinul,	326
	Coroida, sclera și corneea,	326
	Corpul vitros,	329
	Nervul optic,	330
	Reglarea moleculară a dezvoltării ochiului,	330
	Corelații clinice,	331
<b>Capitolul 20</b>	<b>Sistemul tegumentar și structurile asociate,</b>	<b>335</b>
	Tegumentul,	335
	Corelații clinice,	335
	Corelații clinice,	336
	Părul,	336
	Corelații clinice,	337
	Glandele mamare,	337
	Corelații clinice,	338
<b>Partea a treia</b>	<b>Anexe</b>	
	Răspunsuri la probleme,	341
	Glosar de termeni cheie,	349
	Figuri,	355
<b>Index,</b>		<b>359</b>

# Embriologie: Frontiere vechi și noi; introducere în mecanismele moleculare de reglare și semnalizare

## IMPORTANTĂ CLINICĂ

De la stadiul de celulă unică la nou-născut cu vârsta de nouă luni (Fig. 1.1 A,B). Un proces de dezvoltare care reprezintă integrarea uimitoare a unor fenomene de o complexitate din ce în ce mai mare. Știința care studiază aceste fenomene este denumită **embriologie**, iar domeniul include cercetări efectuate asupra factorilor moleculari, celulari și structurali care contribuie la formarea unui organism. Importanța acestor studii derivă din faptul că furnizează informații esențiale pentru punerea la punct a unor strategii de îngrijire medicală care conduc la obținerea unor rezultate superioare. Așadar, creșterea gradului de înțelegere a embriologiei a condus la crearea unor tehnici noi de diagnosticare și de tratament prenatal, a unor proceduri terapeutice cu ajutorul cărora sunt depășite unele probleme legate de infertilitate și la punerea la punct a unor metode de prevenire a malformațiilor congenitale, care reprezintă cauza principală a mortalității infantile. Toate aceste progrese în domeniul îngrijirilor medicale prenatale și în domeniul sănătății reproducerii sunt semnificative nu numai pentru contribuția lor la creșterea ratei nașterilor normale, ci și pentru efectele lor pe termen lung în perioada postnatală. De fapt, atât capacitatea cognitivă a unui individ, cât și caracteristicile comportamentale ale acestuia sunt influențate de condițiile de viață intrauterină, iar anumite probleme mateme, cum ar fi fumatul, starea de nutriție, stresul, diabetul și altele influențează starea de sănătate a copilului după naștere. Mai mult, aceste influențe, asociate cu factori moleculari și celulari, stabilesc riscul potențial de declanșare a anumitor boli la vârsta adultă, cum ar fi cancerul și afecțiunile cardiovasculare. Așadar, factorii care acționează în perioada prenatală au numeroase efecte care influențează starea de sănătate atât pe termen scurt cât și pe termen lung, astfel încât embriologia și dezvoltarea

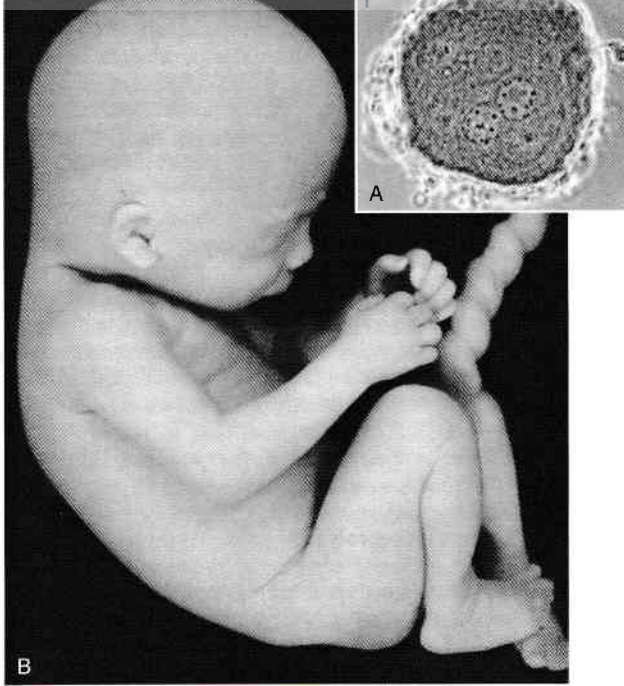
fetală reprezintă un obiect de interes pentru toți specialiștii din domeniul medical. De asemenea, cu excepția medicilor din câteva specialități, marea majoritate a celorlalți medici și specialiști din domeniul sănătății vor avea ca paciente femei aflate la vârsta reproducerii, astfel încât există posibilitatea ca ei să aibă o influență majoră asupra rezultatului final al acestor procese de dezvoltare și asupra urmărilor negative ale acestora.

## SCURT ISTORIC AL EMBRIOLOGIEI

Intervalul de timp în care se realizează progresia de la stadiul de celulă unică la stadiul în care primordiile organelor sunt formate (la om, primele 8 săptămâni de dezvoltare) este denumit perioada de **embriogeneză**; intervalul de timp între acest moment și naștere este denumit **perioada fetală**, în timpul căreia diferențierea continuă iar fătul crește și câștigă în greutate. Metodele științifice de studiu al embriologiei au evoluat pe parcursul mai multor sute de ani. Nu este deloc surprinzător faptul că inițial au predominat abordările de tip anatomic. S-au efectuat observații, iar acestea au devenit din ce în ce mai sofisticate odată cu perfecționarea instrumentelor optice și a tehnicilor de disecție. Pe măsură ce oamenii de știință au făcut comparații între specii și au început astfel să înțeleagă succesiunea fenomenelor dezvoltării, cercetările au inclus și studii comparative și de evoluție. Au fost de asemenea studiați copiii cu malformații congenitale, iar observațiile au fost comparate cu cele efectuate la copiii care au prezentat tipare normale de dezvoltare. Studiul originii și cauzelor embriologice ale malformațiilor congenitale a fost denumit **teratologie**.

În secolul XX, domeniul embriologiei experimentale a cunoscut o dezvoltare explozivă. Au fost puse la punct numeroase experimente având ca





**Figura 1.1** A. Ovulul fecundat, imediat înainte de fuziunea dintre pronucleii masculine și feminine. B. Făt la vârsta de șapte luni.

scop urmărirea celulelor în timpul perioadei de dezvoltare pentru a stabili care sunt structurile care se formează pornind de la o anumită celulă. Aceste abordări au inclus observații ale embrionilor transparenți de la organisme din genul *Urochordata*, care conțin celule pigmentate vizibile la microscop. Ulterior au fost utilizate colorații vitale pentru a colora celulele vii, astfel încât dezvoltarea acestora să poată fi urmărită. La sfârșitul anilor '60 au început să fie folosite tehnici de marcarea radioactivă și de autoradiografie. În această perioadă a fost descoperit unul dintre primii markeri genetici, odată cu crearea organismelor himeră pui-prepelită. În cadrul acestei abordări, celulele de prepeliță, care prezintă un tipar unic de distribuție perinucleolară a heterocromatinei, au fost grefate la embrioni de pui aflați în stadiile incipiente de dezvoltare. Ulterior, embrionii gazdă au fost examinați din punct de vedere histologic pentru a determina evoluția celulelor de prepeliță. Variante ale acestei abordări au inclus obținerea unor anticorpi orientați împotriva unor antigene specifice prezente pe suprafața celulelor de prepeliță, fapt care a contribuit semnificativ la identificarea acestor celule. Monitorizarea celulelor prin aceste metode și prin alte tehnici furnizează informații valoroase despre originea diferitelor organe și țesuturi.

Experimentele de grefare au furnizat primele date despre schimbul de semnale care se derulează între diferitele țesuturi. Exemple de astfel de experimente includ grefarea nodului primitiv din poziția sa normală pe axa corpului în altă poziție, urmată de constatarea faptului că această structură induce dezvoltarea unei a doua axe a corpului. Un alt experiment, în cadrul căruia au fost utilizate primordiile

ale membrilor, a dovedit că dacă un fragment tisular din marginea axială posterioară a unui membru este grefat la nivelul marginii anterioare a unui alt membru, atunci degetele de la nivelul membrului gazdă vor fi duplicate, având aspectul de imagine în oglindă. Această regiune posterioară cu rol de semnalizare a fost denumită **zona de activitate polarizată (ZPA)**, iar în prezent se cunoaște faptul că molecula proteică cu rol de semnal este *sonic hedgehog*.

Aproximativ în aceeași perioadă (1961), teratologia ca disciplină a ajuns în centrul atenției din cauza unui medicament denumit Thalidomidă, care a fost administrat la femeile însărcinate ca agent antiemetic și sedativ. Din nefericire, medicamentul a indus apariția unor malformații congenitale, inclusiv malformații ale extremităților, caracterizate prin absența unuia sau mai multor membre (amelie) sau prin absența oaselor lungi ale membrilor, astfel încât la nivelul toracelui erau atașate direct mâna sau piciorul membrului afectat (focomelie; Fig. 1.2). Asocierea dintre medicament și malformațiile congenitale a fost stabilită în mod independent de doi clinicieni - W. Lenz și W. McBride - și a constituit dovada faptului că produsul de concepție este vulnerabil la factori materni care traversează placenta. La scurt timp, numeroase modele pe animale, care demonstrau influența asupra procesului de dezvoltare a factorilor de mediu, a medicamentelor și a mutațiilor genetice, au furnizat informații suplimentare despre etapele dezvoltării și originea malformațiilor congenitale.

În prezent, la lista metodelor experimentale utilizate pentru studierea proceselor normale și anormale ale dezvoltării au fost adăugate metodele moleculare. Numeroase metode de identificare a celulelor



**Figura 1.2** Copil cu focomelie (absența oaselor lungi ale unui membru) cauzată de medicamentul thalidomidă.

- prin utilizarea unor markeri genetici, a sondelor fluorescente și a altor tehnici de marcarea - au crescut capacitatea cercetătorilor de a urmări dezvoltarea celulelor individuale. Utilizarea altor tehnici - cum ar fi tehnologiile knock-out, knock-in și antisens - cu scopul de a modifica expresia genică a condus la crearea unor modalități noi de inducere a dezvoltării anormale și a permis studiul funcției unei singure gene prezente într-un țesut specific. Astfel, apariția biologiei moleculare a condus embriologia spre un nivel superior, iar pe măsură ce sunt descifrate rolurile genelor individuale și sunt descoperite interacțiunile dintre gene și factorii de mediu, înțelegerea proceselor normale și anormale de dezvoltare devine din ce în ce mai aprofundată.

## INTRODUCERE ÎN MECANISMELE MOLECULARE DE REGLARE ȘI SEMNALIZARE

Biologia moleculară a deschis calea către noi modalități de studiere a embriologiei și de aprofundare a înțelegerii aspectelor normale și patologice ale procesului de dezvoltare. Secvențierea genomului uman, împreună cu crearea unor tehnici de investigare a reglării genetice la mai multe niveluri de complexitate, au condus embriologia către un nivel superior. Așadar, embriologia a progresat de la nivel anatomic la nivel biochimic și apoi la nivel molecular, iar fiecare etapă a condus la creșterea gradului de cunoaștere.

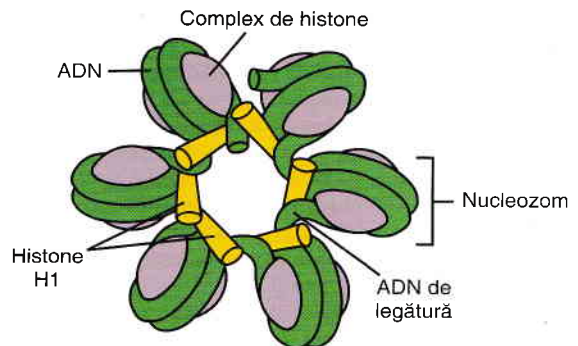
În genomul uman există aproximativ 35.000 de gene, valoare care reprezintă numai o

treime din numărul de gene postulat înainte de finalizarea Proiectului Genomului Uman. Însă, datorită diverselor niveluri de reglare a expresiei genice, numărul proteinelor sintetizate pornind de la aceste gene se apropie de numărul de gene prezis inițial. Ipoteza "o genă - o proteină" a fost însă infirmată. Astfel, prin diferite mecanisme, pe baza informației conținute într-o singură genă pot fi sintetizate mai multe proteine.

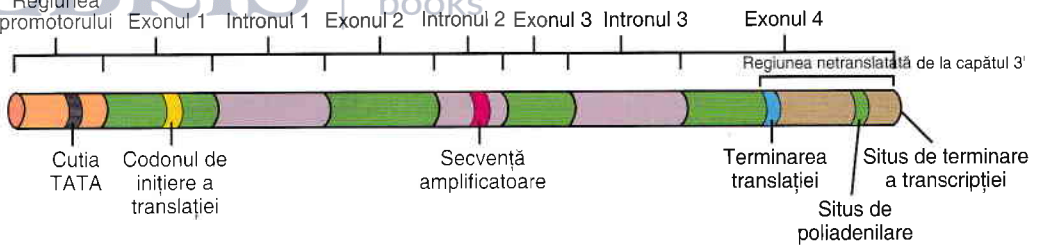
Expresia genică poate fi reglată la mai multe niveluri: (1) pot fi transcrise numai anumite gene, (2) molecula de ARN premesager care se formează prin transcripția ADN-ului unei gene poate fi procesată selectiv și astfel poate da naștere mai multor tipuri de ARN mesager (ARNm), care apoi sunt transportate în citoplasmă, (3) moleculele de ARNm pot fi traduse selectiv și (4) proteinele sintetizate pe baza informațiilor conținute în moleculele de ARNm traduse pot fi modificate în mod diferențiat.

### Transcripția genică

Genele sunt incluse într-un complex de ADN și proteine (în cea mai mare parte histone) denumit **cro-matină**, iar unitatea structurală elementară a acestui complex este **nucleozomul** (Fig. 1.3). Structura fiecărui nucleozom constă dintr-un octamer de **proteine histonice** și dintr-un segment de ADN cu lungimea de aproximativ 140 perechi de baze. Doi nucleozomi adiacenți sunt uniți între ei printr-un segment de ADN (**ADN de legătură**), atașat de o altă proteină histonică (histona H1; Fig. 1.3). Nucleozomii asigură împachetarea strânsă a ADN-ului, astfel încât transcripția nu se poate realiza. În această stare inactivă cromatina are aspectul unui șirag (ADN-ul) de mărgele (nucleozomii) și este denumită **heterocromatină**. Pentru realizarea transcripției, ADN-ul din nucleozomi trebuie desfășurat. Cromatina care conține ADN desfășurat este denumită **eucromatină**.



**Figura 1.3** Desen care ilustrează nucleozomii, unitățile structurale elementare ale cromatinei. Fiecare nucleozom este alcătuit dintr-un octamer de proteine histonice și dintr-un segment de ADN care conține aproximativ 140 perechi de baze. Nucleozomii adiacenți sunt uniți printr-un segment de ADN de legătură atașat de o proteină histonică de alt tip.

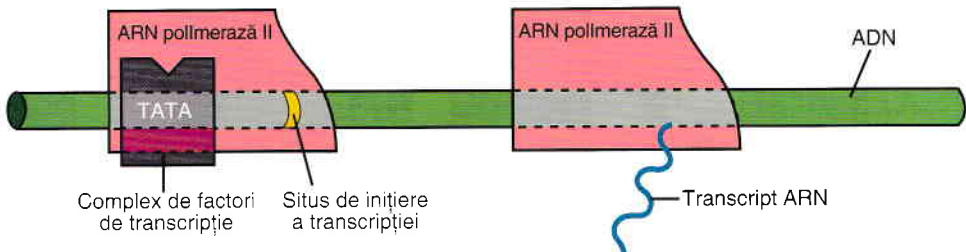


**Figura 1.4** Schemă a unei gene "tipice", observându-se promotorul care conține cutia TATA; exonii, care reprezintă secvențe de ADN ce vor fi traduse în proteine; intronii; situsul de inițiere a transcripției; situsul de inițiere a translației, care conține codonul corespunzător primului aminoacid din structura proteinei; regiunea 3', care nu este tradusă și care include situsul de poliadenilare - poliadenilarea contribuie la stabilizarea moleculei de ARNm, face posibil transportul acestei molecule în afara nucleului și permite derularea procesului de translație.

Genele sunt localizate în lanțul de ADN și conțin regiuni care pot fi traduse în proteine, denumite **exoni**, precum și regiuni localizate între exoni și care nu sunt traduse, denumite **introni** (Fig. 1.4). Pe lângă exoni și introni, structura unei gene tipice include următoarele elemente: **promotorul**, un segment de ADN la nivelul căruia se atașează **ARN polimeraza** pentru a iniția transcripția; un **situs pentru inițierea transcripției**; un **situs pentru inițierea translației**, care are rolul de a specifica primul aminoacid din structura proteinei; un **codon care semnalizează încetarea procesului de translație**; și o regiune 3' care nu este tradusă și care include o secvență (situsul de poliadenilare, la nivelul căruia se adaugă după transcripție un polimer de adenină - poli-A) care servește la creșterea stabilității ARNm, face posibil transportul acestei molecule din nucleu în citoplasmă și permite inițierea procesului de translație (Fig. 1.4). Prin convenție, capetele 5' și 3' ale unei gene sunt specificate în relație cu molecula de ARN transcrisă pe baza informației din gena respectivă. Astfel, ADN-ul este transcris de la capătul 5' la capătul 3', astfel încât promotorul este localizat în amonte de situsul de inițiere a transcripției (Fig. 1.4). Promotorul, la nivelul căruia se atașează ARN-polimeraza, conține de obicei secvența de baze TATA, motiv pentru care acest situs este denumit **cutia TATA** (Fig. 1.4). Însă, pentru ca polimeraza să se poată atașa la nivelul promotorului, este necesară prezența unor proteine adiționale denumite **factori de transcripție** (Fig. 1.5). Factorii de transcripție au și un **domeniu specific de legare la molecula de ADN**,

precum și un **domeniu de transactivare**, care activează sau inhibă transcripția genei de a cărei regiune promotor sau amplificator sunt atașați factorii de transcripție. În asociere cu alte proteine, factorii de transcripție activează expresia genică prin inducerea desfășurării segmentului de ADN care intră în structura nucleozomului, prin eliberarea polimerazei (care astfel poate transcrie matricea ADN) și prin împiedicarea formării unor noi nucleozomi la nivelul segmentului respectiv de ADN.

**Amplificatorii** (engl. enhancers) sunt segmente de ADN cu funcție reglatoare, care activează utilizarea promotorilor și controlează eficiența acestora și rata transcripției. Amplificatorii pot fi localizați la orice nivel de-a lungul unei catene de ADN și nu este obligatoriu să fie situați în apropierea promotorului. La fel ca și promotorii, amplificatorii leagă factori de transcripție (atașarea acestora se realizează prin intermediul domeniului de transactivare) și au rolul de a regla momentul expresiei unei gene și tipul de celule în care gena respectivă este transcrisă. De exemplu, controlul expresiei aceleiași gene în țesuturi diferite se poate realiza cu ajutorul unor amplificatori diferiți. Astfel, gena pentru factorul de transcripție PAX6, care este implicat în dezvoltarea pancreasului, a globilor oculari și a tubului neural, conține trei amplificatori separați, iar fiecare dintre aceștia reglează expresia genei într-un anumit tip de țesut. Amplificatorii acționează prin modificarea cromatinei, astfel încât promotorul devine accesibil pentru enzimele cu rol în transcripție, sau prin facilitarea atașării ARN-polimerazei. Există și secvențe de ADN care inhibă



**Figura 1.5** Schemă în care se observă atașarea enzimei ARN-polimerază II de cutia TATA a promotorului unei gene. Atașarea necesită prezența unui complex de proteine, precum și a unor proteine suplimentare denumite factori de transcripție. Factorii de transcripție conțin un domeniu specific pentru atașarea de molecula de ADN și au rolul de a regla expresia genică.

transcripția, motiv pentru care sunt denumite **atenuatori** (silencers). Fenomenul permite unui factor de transcripție să activeze o anumită genă în timp ce inhibă expresia altei gene, prin atașarea moleculelor acestuia la diverși amplificatori și atenuatori. Așadar, factorii de transcripție conțin un domeniu de legare la ADN care este specific pentru o anumită secvență de baze, precum și un domeniu de transactivare care se atașează la nivelul unui promotor, al unui amplificator sau al unui atenuator și care activează sau inhibă gena reglată de aceste elemente.

### Alți factori care reglează expresia genică

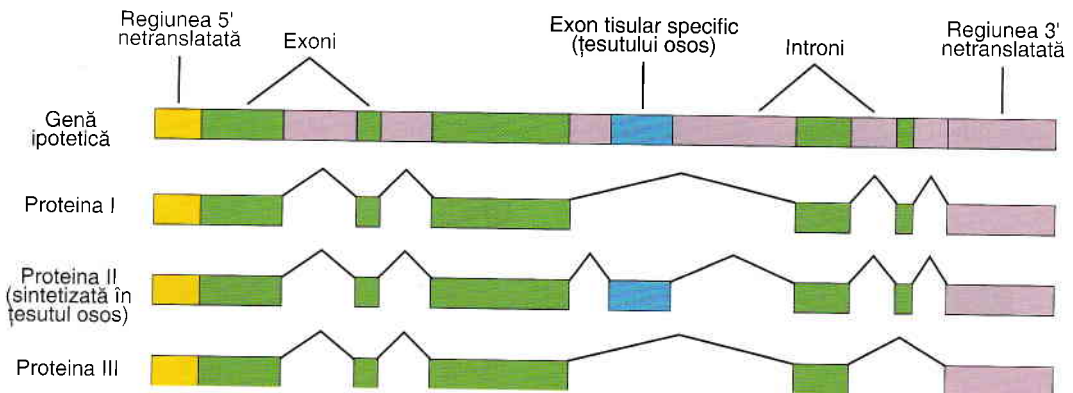
Transcriptul inițial al unei gene este denumit **ARN nuclear (ARNn)** sau uneori ARN premessenger. ARNn are o lungime mai mare decât ARNm, deoarece conține intronii care sunt îndepărtați (**în cadrul procesului de excizie a intronilor**) pe măsură ce ARNn este transportat din nucleu în citoplasmă. De fapt, procesul de excizie a intronilor oferă celulelor posibilitatea de a produce diferite proteine pe baza informației conținute într-o singură genă. De exemplu, prin îndepărtarea unor introni diferiți se realizează diverse combinații de exoni, proces denumit **splicing alternativ (excizie-unire alternativă)** (Fig. 1.6). Acest proces se desfășoară la nivelul **spliceozomilor**, care reprezintă complexe alcătuite din **molecule de ARN nuclear mic (ARNsn)** și proteine și care recunosc situsuri specifice de excizie localizate în interiorul moleculei de ARNn. Proteinele sintetizate pe baza informației conținute în aceeași genă sunt denumite **izoforme de splicing** (numite și **variante de splicing** sau **forme alternative de splicing**), iar acestea oferă unor celule diferite posibilitatea de a utiliza aceeași genă pentru a sintetiza proteine specifice pentru tipul celular respectiv. De exemplu, pe baza informației conținute în gena WT1 se sintetizează anumite izoforme în celulele implicate în dezvoltarea gonadelor și izoforme diferite în celulele implicate în dezvoltarea rinichilor.

Chiar și după ce o proteină este sintetizată

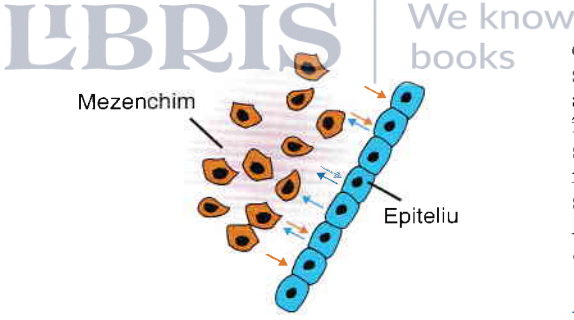
(translatată), aceasta poate suferi **modificări post-translaționale** care îi influențează funcția. De exemplu, unele proteine trebuie clivate sau fosforilate pentru a deveni active. Altele trebuie să se combine cu alte proteine, să fie eliberate din zonele în care au fost sechestrate sau să fie transportate în anumite regiuni ale celulei. Așadar, există numeroase niveluri de reglare a sintezei și activării proteinelor, astfel încât deși genomul uman conține numai aproximativ 35.000 de gene, numărul proteinelor care pot fi sintetizate este probabil de aproximativ trei ori mai mare decât numărul de gene.

### Inducția și formarea organelor

Organele se formează în urma interacțiunilor între celule și țesuturi. De cele mai multe ori, un grup de celule sau țesuturi induce modificarea dezvoltării unui alt grup de celule sau țesuturi, procesul fiind denumit **inducție**. În cazul fiecărei astfel de interacțiuni, un tip celular sau tisular reprezintă **inductorul** care produce un semnal, iar celălalt este **respondentul** la semnalul respectiv. Capacitatea de a răspunde la un astfel de semnal este denumită **competență**, iar competența presupune activarea țesutului respondent de către un **factor de competență**. Între celulele epiteliale și celulele mezenchimale există numeroase interacțiuni inductive, care sunt denumite **interacțiuni epitelio-mezenchimale** (Fig. 1.7). Celulele epiteliale sunt unite între ele și formează tuburi sau straturi, pe când celulele mezenchimale au aspect de fibroblaști și sunt dispersate în matricea extracelulară (Fig. 1.7). Exemple de interacțiuni epitelio-mezenchimale sunt următoarele: între endodermul intestinal și mezenchimul înconjurător, cu formarea organelor derivate din intestin, inclusiv ficatul și pancreasul; între mezenchimul membrilor și ectodermul supraiacent (epiteliul), cu formarea primordiilor membrilor și dezvoltarea acestora; între endodermul corespunzător mugurilor ureterali și mezenchimul corespunzător blastemului metanefric, cu formarea nefronilor.



**Figura 1.6** Schematizare a unei gene ipotetice, care ilustrează procesul de excizie-unire alternativă a intronilor, cu formarea unor proteine diferite pornind de la aceeași genă. Spliceozomii recunosc situsuri specifice localizate la nivelul transcriptului inițial (ARN nuclear) al unei gene. Pe baza acestui proces de recunoaștere se realizează excizia unor introni diferiți, ceea ce face posibilă sinteza mai multor proteine pornind de la o genă unică. Proteinele care pot fi sintetizate pornind de la informația conținută într-o singură genă sunt denumite izoforme de splicing.



**Figura 1.7** Desen care ilustrează interacțiunea epitelio-mezenchimală. După emiterea unui semnal inițial de către unul dintre țesuturi, se realizează inducția celuilalt țesut, care se va diferenția într-o structură specifică. Primul țesut constituie inductorul, iar cel de-al doilea respondentul. După inițierea inducției, sunt transmise semnale (*săgețile*) în ambele direcții pentru finalizarea procesului de diferențiere.

Interacțiuni inductive se pot realiza și între două țesuturi de tip epitelial, un exemplu fiind inducția formării cristalinului de către epitelul depresiunii (cupei) optice. Deși inducția este declanșată de un semnal inițial emis de inductor către respondent, **comunicarea bidirecțională** între cele două tipuri de țesuturi sau celule este esențială pentru continuarea diferențierii (Fig. 1.7, *săgețile*).

### Comunicarea intercelulară

Comunicările intercelulare sunt esențiale pentru inducție, pentru elaborarea răspunsului țesutului competent și pentru interacțiunea dintre celulele inductoare și celulele respondente. Aceste "linii de comunicație" au ca substrat **interacțiuni paracrine** (prin care proteinele sintetizate de o celulă difuzează pe distanțe scurte și interacționează cu alte celule) sau **interacțiuni juxtacrine** (care nu implică proteine difuzive). Proteinele difuzive responsabile pentru **semnalizarea paracrină** sunt denumite **factori paracrini** sau **factori de creștere și diferențiere (GDF)**. Există numeroși GDF, însă majoritatea sunt grupați în patru familii, iar membrii aceleiași familii sunt utilizați în mod repetat pentru reglarea dezvoltării și a diferențierii sistemelor de organe. Mai mult, aceiași GDF reglează dezvoltarea organelor în tot regnul animal, de la *Drosophila* la om. Cele patru familii de GDF sunt familia **factorului de creștere a fibroblaștilor (FGF)**, familia **WNT**, familia **hedgehog** și familia **factorului  $\beta$  de transformare a creșterii**.

#### Familia FGF

Au fost identificate 24 de gene pentru **FGF**, iar informația pe care o conțin este folosită pentru sinteza a sute de proteine izoforme prin excizia alternativă a intronilor sau prin modificarea codonilor inițiatori. Proteinele FGF sintetizate pe baza informațiilor conținute de aceste gene activează un grup de **receptori cu funcție tirozin-kinazică** denumiți **receptori pentru factorii de creștere a fibroblaștilor (FGFR)**. La rândul lor, acești receptori activează diverse căi de semnalizare, FGF sunt deosebit de importanți în

cadrul proceselor de angiogeneză, de creștere axonală și de diferențiere a mezodermului. Cu toate că în această familie există un grad de redundanță, astfel încât un anumit FGF îl poate înlocui pe altul în unele situații, fiecare moleculă de FGF pare a fi responsabilă pentru producerea unor evenimente specifice ale procesului de dezvoltare. De exemplu, *FGF8* este important pentru dezvoltarea membrilor și a structurilor cerebrale.

#### Proteinele hedgehog

Există trei gene hedgehog: **Desert**, **Indian** și **sonic hedgehog**. Tipul *sonic hedgehog* are rol în numeroase etape ale dezvoltării, care includ formarea primordiilor membrilor, inducția tubului neural și dezvoltarea acestuia, diferențierea somitelor, segmentarea intestinului și altele. Receptorul pentru proteinele din familia hedgehog este denumit **Patched**, iar acesta se leagă de o proteină denumită **Smoothened**. Proteina Smoothened realizează **transducția** semnalului hedgehog, însă este inhibată de Patched până în momentul în care o proteină hedgehog se atașează de acest receptor. Așadar, rolul factorului paracrin hedgehog în acest exemplu este de a se atașa de receptorul său specific pentru a opri inhibiția unei molecule transductor care în caz contrar ar fi activă și nu de a activa în mod direct această moleculă.

#### Proteinele WNT

Există cel puțin 15 tipuri diferite de proteine **WNT**, care au rol în procesele dezvoltării. Receptorii acestora sunt membrii unei familii de **proteine ondulate**. Proteinele WNT sunt implicate în reglarea formării primordiilor membrilor, în dezvoltarea mezencefalului și în controlul anumitor aspecte ale diferențierii urogenitale și a somitelor.

#### Superfamilia TGF $\beta$

Superfamilia **TGF $\beta$**  cuprinde peste 30 de membri și include **factorul  $\beta$ s de transformare a creșterii**, **proteinele morfogenetice osoase (BMP)**, **familia activinei**, **factorul inhibitor müllerian (MIF, hormonul anti-müllerian)** și altele. Membrii superfamiliei **TGF $\beta$**  dețin roluri importante în cadrul proceselor de formare a matricei extracelulare și de ramificare epitelială care se produce în timpul dezvoltării plămânilor, rinichilor și a glandelor salivare. Proteinele din familia BMP induc formarea oaselor și au roluri multiple, printre care reglarea diviziunii celulare, a morții celulare (apoptoza) și a migrării celulare.

#### Căile de transducție a semnalelor

##### Factori paracrini

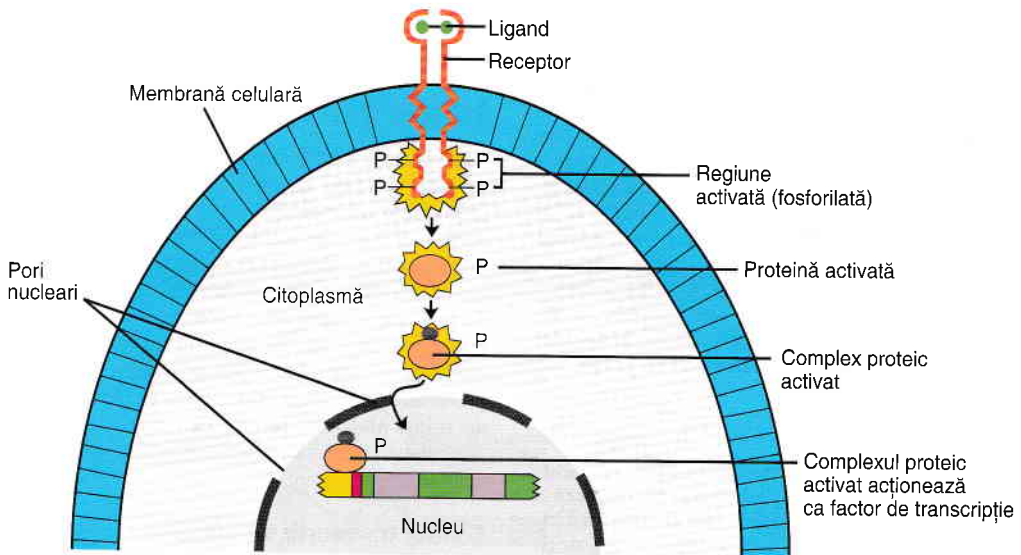
Factorii paracrini acționează prin intermediul **căilor de transducție a semnalului**, activând în mod direct o astfel de cale sau blocând activitatea unui factor in-

hibitor al căii respective (inhibiția inhibitorului, situație întâlnită în cazul semnalizării cu ajutorul proteinelor hedgehog). Căile de transducție a semnalului includ o **moleculă semnal (ligandul)** și un **receptor** (Fig. 1.8). Receptorul străbate membrana celulară și are un **domeniu extracelular (regiunea de atașare a ligandului)**, un **domeniu transmembranar** și un **domeniu citoplasmatic**. Prin atașarea de un receptor, ligandul induce o modificare conformațională a structurii receptorului, cu activarea consecutivă a domeniului citoplasmatic. De obicei, în urma acestei activări receptorul dobândește activitate enzimatică, iar de cele mai multe ori este vorba de **activitate protein-kinazică**, astfel încât receptorul poate **fosforila** alte proteine utilizând ATP ca donator de grupări fosfat. Fosforilarea activează aceste proteine, care la rândul lor fosforilează alte proteine, astfel încât se formează o cascadă de interacțiuni proteice care în final conduce la activarea unui **factor de transcripție**. Factorul de transcripție activează sau inhibă expresia anumitor gene. Căile de transmitere a semnalelor sunt foarte numeroase și complexe, iar în anumite situații se caracterizează prin faptul că o proteină inhibă o altă proteină care la rândul ei activează o a treia moleculă proteică (situație similară cu cea întâlnită în cazul semnalizării prin intermediul proteinelor hedgehog).

### Comunicarea juxtacrină

Substratul **comunicării juxtacrine** este reprezentat de asemenea de căi de transducție a semnalelor, însă nu implică utilizarea unor factori difuzivi. În schimb, există trei modalități de realizare a acestui tip de comunicare: (1) O proteină localizată pe suprafața unei celule interacționează cu un receptor situat pe suprafața unei celule adiacente, într-o manieră

analogă cu cea întâlnită în cazul comunicării paracrine (Fig. 1.8). **Calea Notch** reprezintă un exemplu al acestui tip de comunicare. Proteina receptor Notch traversează membrana celulară și se leagă de celulele a căror membrană conține **proteine Delta, Serrate sau Jagged**. Interacțiunea între una dintre aceste proteine și Notch induce o modificare conformațională a proteinei Notch, astfel încât o parte din segmentul citoplasmatic al acestei proteine receptor este clivată. Porțiunea clivată se atașează apoi de un factor de transcripție și activează expresia anumitor gene. Comunicarea mediată de proteina Notch este deosebit de importantă în cadrul proceselor de diferențiere neuronală, de formare a diferitelor tipuri de vase sanguine și de segmentare a somitelor. (2) Una dintre celulele secretă în matricea extracelulară substanțe cu rol de liganzi, care interacționează cu receptori specifici prezenți la nivelul celulelor din vecinătate. Matricea extracelulară reprezintă mediul în care există celulele. Acest mediu este alcătuit din molecule de dimensiuni mari secretate de către celule, care includ diverse tipuri de **colagen, proteoglicani (condroitin-sulfati, acid hialuronic și alții) și glicoproteine**, cum ar fi **fibronectina și laminina**. Aceste molecule formează un substrat de care celulele se pot atașa și pe care acestea pot migra. De exemplu, laminina și colagenul de tip IV reprezintă componente ale **laminei bazale** care au rolul de a media atașarea celulelor epiteliale, iar moleculele de fibronectină formează structuri pe care se poate realiza migrația celulară. Receptorii care realizează legătura între moleculele extracelulare - cum sunt fibronectina și laminina - și celule sunt denumiți **integrine**. Acești receptori "integrează" moleculele matricei extracelulare și moleculele care intră în componența **citoscheletului celular**, de exemplu **microfilamentele de actină**, astfel încât conferă celulelor ca-



**Figura 1.8** Schemă a unei căi tipice de transducție a semnalului, care are ca substrat un ligand și receptorul său specific. Receptorul este activat consecutiv atașării ligandului. În mod tipic, în urma activării receptorul dobândește activitate enzimatică tirozin-kinazică, deși în unele situații această activitate poate fi de alt tip. Activitatea kinazică declanșează fosforilarea în cascadă a numeroase alte proteine, iar în final este activat un factor de transcripție care reglează expresia anumitor gene.

pacitatea de a migra de-a lungul structurilor din matricea extracelulară prin utilizarea unor proteine contractile, cum ar fi **actina**. De asemenea, integrele pot induce expresia anumitor gene și pot regla diferențierea celulară, așa cum este cazul condrocitelor, care trebuie să fie atașate de matricea extracelulară pentru a putea forma țesut cartilaginous. (3) Există și o cale directă de transmitere a semnalelor de la o celulă la alta, prin intermediul **joncțiunilor gap** (de comunicare). Aceste joncțiuni cu structură canaliculară sunt dispuse între celule și permit trecerea unor molecule mici și a ionilor. Comunicarea pe această cale este importantă în cazul celulelor aflate în strânsă vecinătate, cum sunt celulele epiteliale de la nivelul intestinului și al tubului neural, deoarece permite acestor celule să acționeze simultan. Fiecare astfel de joncțiune este formată din proteine denumite **conexine**, care sunt dispuse astfel încât formează canale transmembranare, iar joncțiunea ia naștere prin alinierea acestor canale ce aparțin unor celule adiacente.

Este important de reținut că procesul transducției unui semnal se caracterizează printr-un grad înalt de redundanță. Datorită acestui fapt, pierderea funcției unei proteine-semnal, consecutivă unei mutații genetice, nu conduce întotdeauna la apariția de anomalii ale procesului de dezvoltare sau la deces, deoarece poate fi compensată prin acțiunile altor membri din aceeași familie. De asemenea, există interacțiuni strânse între diferitele căi de transducție a semnalelor. Aceste interacțiuni dau naștere la numeroase puncte de control la nivelul cărora transducția semnalelor poate fi reglată.

## REZUMAT



Pe parcursul ultimului secol, embriologia a progresat de la o știință pur observațională la o știință care implică utilizarea unor metode tehnologice și moleculare sofisticate. Utilizate împreună, observațiile și tehnicile moderne conduc spre înțelegerea mai clară a originilor proceselor normale și anormale ale dezvoltării și totodată sugerează modalități profilactice și terapeutice care pot fi utilizate pentru a preveni și trata malformațiile congenitale. În această privință, cunoștințele despre funcțiile genelor au determinat crearea unor metode complet noi de abordare a subiectului.

În genomul uman există aproximativ 35.000 de gene, însă aceste gene codifică aproximativ 100.000 de proteine. Genele sunt conținute într-un complex de ADN și proteine denumit **chromatină**, a cărui unitate structurală elementară este **nucleozomul**. Chromatina are aspectul unui șirag (ADN-ul) de mărgelă (nucleozomii), strâns împachetat, iar acest tip de organizare poartă denumirea de **heterochromatină**. Pentru a se realiza transcripția, ADN-ul trebuie să fie despachetat din nucleozomi, iar chromatina cu noua structură este denumită **euchromatină**. Genele sunt localizate în catenele de ADN și conțin regiuni care sunt translatate în proteine, denumite **exoni**, și regiuni care nu sunt translatate, denumite **introni**. Din structura unei gene tipice mai fac parte o **regiune promotor**, la nivelul căreia se leagă **ARN-polimeraza** pentru a iniția transcripția; un **situs de inițiere a transcripției**, care

conține informația referitoare la primul aminoacid din lanțul proteic; un **codon de terminare a translației**; și un **segment 3'** care nu este translatat și care include o secvență (situsul de poliadenilare) ce contribuie la stabilizarea moleculei de ARNm. ARN polimeraza se atașează la nivelul unui segment al regiunii promotor care de obicei conține secvența TATA, segment denumit **cutia TATA**. Procesul de atașare necesită prezența unor proteine suplimentare denumite **factori de transcripție**.

Pomind de la informația conținută într-o singură genă, uneori pot fi sintetizate mai multe proteine diferite prin procesul de **excizie-unire alternativă a intronilor**, în urma căruia **spliceozomii** îndepărtează selectiv anumiți introni. Proteinele sintetizate astfel sunt denumite **izoforme de splicing** sau **variante de splicing**. Structura proteinelor poate fi schimbată și prin **modificări posttranslaționale**, cum ar fi fosforilarea sau scindarea.

**Inducția** reprezintă procesul prin care un grup de celule sau țesuturi (**inductorul**) determină modificarea evoluției unui alt grup de celule sau țesuturi (**respondentul**). Capacitatea de a răspunde la semnalul emis de inductor este denumită **competență**, iar aceasta este determinată de către un **factor de competență**. Numeroase fenomene de inducție au la bază **interacțiuni epitelio-mezenchimale**.

Comunicările intercelulare se pot realiza prin mijloace **paracrine**, care implică **factori difuzivi**, sau **juxtacrine**, care implică diferiți **factori non-difuzivi**. Proteinele responsabile pentru comunicarea prin mijloace paracrine sunt denumite **factori paracrini** sau **factori de creștere și diferențiere (GDF)**. Există patru familii principale de GDF: familia **factorilor de creștere a fibroblaștilor (FGF)**, familia **proteinelor WNT**, familia **proteinelor hedgehog** și familia **factorului βs de transformare a creșterii (TGFβs)**. Comunicarea prin mijloace juxtacrine se realizează cu ajutorul unor produși de la nivelul matricei extracelulare, al unor liganzi care se atașează de receptorii de pe suprafețele celulare și al comunicărilor intercelulare directe.

**Căile de transducție a semnalelor** includ fiecare o moleculă semnal (**ligandul**) și un **receptor**. De obicei, receptorul străbate integral membrana celulară și este activat atunci când la nivelul său se atașează ligandul specific. Activarea induce de cele mai multe ori capacitatea de a fosforila alte proteine, cel mai frecvent prin dobândirea unei **activități kinazice**. Ca urmare, este declanșată o cascadă de acțiuni enzimatice, care în final conduce la activarea unui factor de transcripție specific, urmată de expresia anumitor gene.

## PROBLEME

1. În condiții normale, *FGF* și receptorii lor specifici (*FGFR*) sunt responsabili pentru dezvoltarea craniului și a suturilor craniene. Cum pot fi întrerupte căile de comunicare implicate în aceste procese ale dezvoltării? Substratul acestor căi de transmitere a semnalelor este de tip paracrin sau juxtacrin? Puteți exemplifica o situație în care atunci când expresia unei anumite gene din familia *FGF* este întreruptă, consecințele negative pot fi absente?