

9. Lezione del 12/10/17

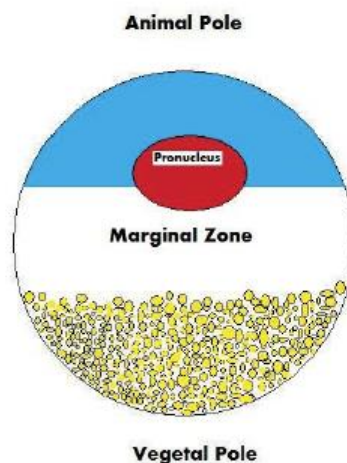
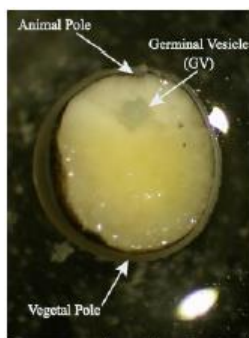
Sviluppo a mosaico e sviluppo regolativo

Nella scorsa lezione è stato trattato come argomento la segmentazione. La segmentazione è un processo biologico al termine del quale si ha la formazione della blastula; quest'ultima va poi incontro a gastrulazione. Prima di affrontare lo studio della gastrulazione (altra fase dell'organogenesi) è bene conoscere e capire le differenze che ci sono tra lo *sviluppo a mosaico* e lo *sviluppo regolativo*.

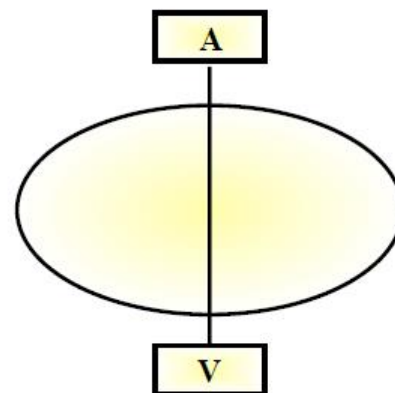
Nello *sviluppo a mosaico* il destino delle cellule dipende dai componenti presenti nel citoplasma di ciascuna cellula; quindi, i blastomeri che si formano in seguito alle divisioni non sono tutti uguali tra loro (potrebbero esserlo da un punto di vista fenotipico ma di certo non a livello di contenuto del citoplasma). Ogni blastomero presenta dei *determinanti*, cioè un qualcosa che ne determina il destino verso un tipo cellulare piuttosto che un altro; se i blastomeri di questi organismi venissero isolati, da un singolo blastomero non sarebbe possibile il proseguo e il completamento dello sviluppo. Dunque, tutti i blastomeri, che via via si formano, sono essenziali affinché ci sia uno sviluppo completo; inoltre, questi blastomeri non sono interscambiabili tra loro. Lo sviluppo a mosaico è tipico dei protostomi, cioè quegli organismi (tutti gli invertebrati, echinodermi esclusi) in cui l'apertura boccale rappresenta la prima apertura esterna che viene a formarsi durante lo sviluppo embrionale.

Nello *sviluppo regolativo*, invece, il destino delle cellule non dipende solamente dal contenuto del citoplasma ma dipende, soprattutto, dalle interazioni con le cellule circostanti. Quindi, ciò che determina il destino della cellula (blastomero) sono anche la sua posizione spaziale e le cellule circostanti. Nello sviluppo regolativo i blastomeri non vanno considerati come singole entità ma come entità dinamiche che cooperano e interagiscono con altri blastomeri che si trovano intorno. In questo caso, se le cellule venissero isolate nei primi stadi di sviluppo (stadio a 2 o 4 blastomeri), da ogni blastomero sarebbe possibile ottenere un individuo completo.

Lo sviluppo regolativo è tipico dei deuterostomi. Gli invertebrati hanno indubbiamente ottenuto un maggior successo rispetto ai vertebrati da un punto di vista del numero delle specie; d'altro canto, i vertebrati hanno avuto un maggior successo evolutivo rispetto agli invertebrati. Lo sviluppo regolativo comparso nei deuterostomi può essere considerato "la molla" che ha favorito questo grande successo.



L'asse Animale-Vegetativo è specificato e determinato nell'uovo prima della fecondazione. Esso corrisponderà all'asse Antero-Posteriore dell'embrione



Ciò che caratterizza l'uovo di tipo regolativo, come detto poco fa, è la presenza di determinanti all'interno del citoplasma. L'uovo tipicamente regolativo è l'uovo di riccio di mare, di anfibio e di tutti i vertebrati. All'interno di un uovo è possibile distinguere il polo animale dal polo vegetativo; l'asse animale-vegetativo è fondamentale nello sviluppo regolativo in quanto determina la prima polarità dell'embrione, ovvero l'*asse antero-posteriore* (figura sopra).

Al polo animale si andrà a sviluppare la parte craniale del nuovo organismo mentre al polo vegetativo si svilupperà la parte caudale. Quindi, ancor prima che l'uovo venga fecondato è possibile riconoscere la zona che dà origine alle strutture craniali e la zona che, invece, dà origine alle strutture caudali. Il primo asse di simmetria, la prima polarità (animale-vegetale), viene già stabilita, dunque, a livello della cellula uovo. Affinché i blastomeri siano in grado di dare origine a nuovi individui è importante che nello sviluppo di tipo regolativo ci sia un asse che li separi, un asse passante dal polo animale al polo vegetativo. È proprio per questo motivo che - come abbiamo visto nel riccio di mare, negli anfibi, nello zebrafish, nell'uovo di gallina, nelle segmentazioni meroblastiche (incomplete), e così via - i primi piani di segmentazione sono sempre longitudinali, che partono dal polo animale e vanno verso il polo vegetativo. Un piano di divisione equatoriale lo si ritrova solamente a partire dalla terza divisione in poi.

L'*asse dorso-ventrale* viene anch'esso determinato rapidamente ma non prima che avvenga l'ingresso dello spermatozoo.

Uovo regolativo di riccio di mare: esperimento di Driesch

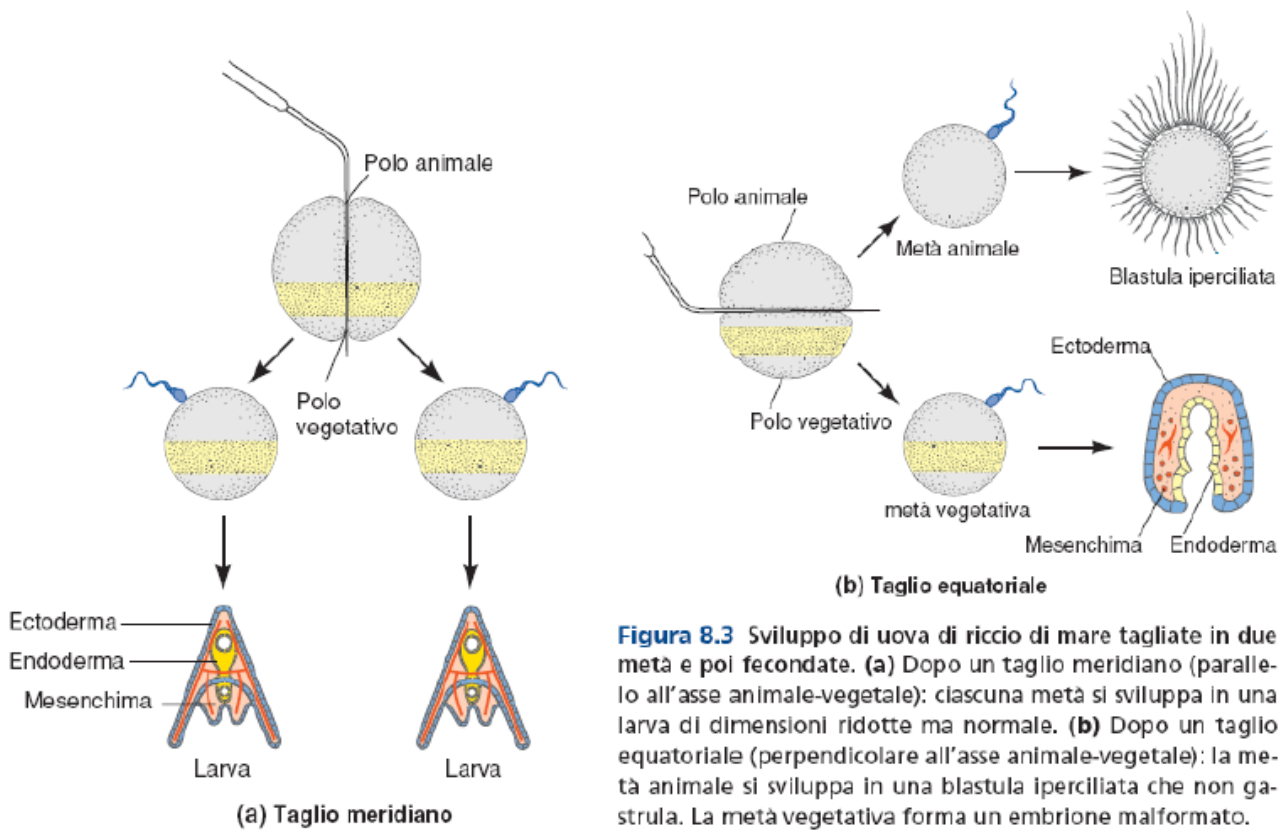


Figura 8.3 Sviluppo di uova di riccio di mare tagliate in due metà e poi fecondate. (a) Dopo un taglio meridiano (parallelo all'asse animale-vegetale): ciascuna metà si sviluppa in una larva di dimensioni ridotte ma normale. (b) Dopo un taglio equatoriale (perpendicolare all'asse animale-vegetale): la metà animale si sviluppa in una blastula iperciliata che non gastrula. La metà vegetativa forma un embrione malformato.

Il primo esperimento che ha dimostrato la differenza tra lo sviluppo di tipo a mosaico e lo sviluppo di tipo regolativo è stato l'*esperimento di Driesch*. Per questo esperimento è stato utilizzato il riccio di mare, organismo modello fondamentale per la ricerca nel campo della biologia dello sviluppo. Prima ancora che avvenisse la fecondazione, Driesch tagliò la cellula uovo in due (ricordiamo che quando viene usato il termine "uovo" nel riccio di mare ci si riferisce alla cellula uovo e non all'ovocita secondario) secondo l'asse animale-vegetativo (figura 8.3), dopodiché fece avvenire la fecondazione in ognuna delle metà derivanti. Con questo primo esperimento si osservò la formazione di due larve complete (figura 8.3a).

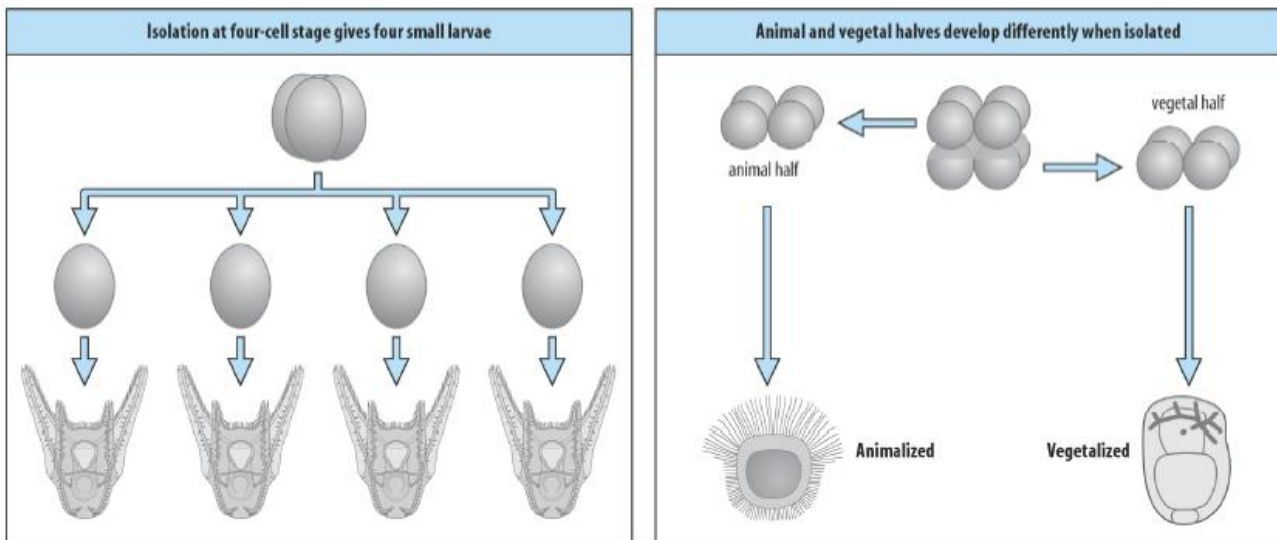
Driesch poi condusse un secondo esperimento in cui la cellula uovo fu tagliata in due secondo un taglio equatoriale, dividendo in questo modo il polo animale dal polo vegetativo (figura 8.3b). In questo caso, una volta fatta avvenire la fecondazione per ciascuna metà ottenuta, Driesch non ottenne alcuna larva completa.

La metà contenente il polo animale (metà animale) una volta fecondata diede origine ad una *blastula iperciliata* (si formò solamente la parte esterna dell'embrione); invece, la metà contenente il polo vegetativo (metà vegetativa) una volta fecondata diede origine alle parti interne della larva (spicole calcaree e archenteron, ovvero intestino primitivo). Dunque, i risultati dell'esperimento di Driesch evidenziano che:

all'interno dello zigote è importante che sia rappresentato tanto il polo animale quanto quello vegetativo

Se il polo animale viene separato dal polo vegetativo non è possibile ottenere un embrione completo. Quindi, il blastomero, nonostante sia totipotente, riuscirà a dare origine ad un embrione completo solo nel caso in cui il piano di divisione sia avvenuto longitudinalmente (ricordiamo che un blastomero totipotente è un singolo blastomero in grado di formare un embrione completo).

La totipotenza è una caratteristica che viene mantenuta fino allo stadio di 4 blastomeri. Il secondo piano di segmentazione, allo stadio di 2 blastomeri, è longitudinale e perpendicolare al primo, e forma 4 blastomeri ciascuno dei quali aventi un polo animale e un polo vegetativo. Se questi 4 blastomeri venissero isolati, ognuno di essi potrebbe dare origine a 4 larve complete, e quindi, a 4 ricci di mare (concetto schematizzato nel primo riquadro a sinistra della figura in basso).



* [Nel caso in cui, invece, allo stadio di 2 blastomeri, il secondo piano di segmentazione fosse equatoriale e non longitudinale, si formerebbero 4 blastomeri di cui 2 contenenti il polo animale e gli altri 2 contenenti il polo vegetativo; questi 4 blastomeri, se isolati, non riuscirebbero a formare un organismo completo.

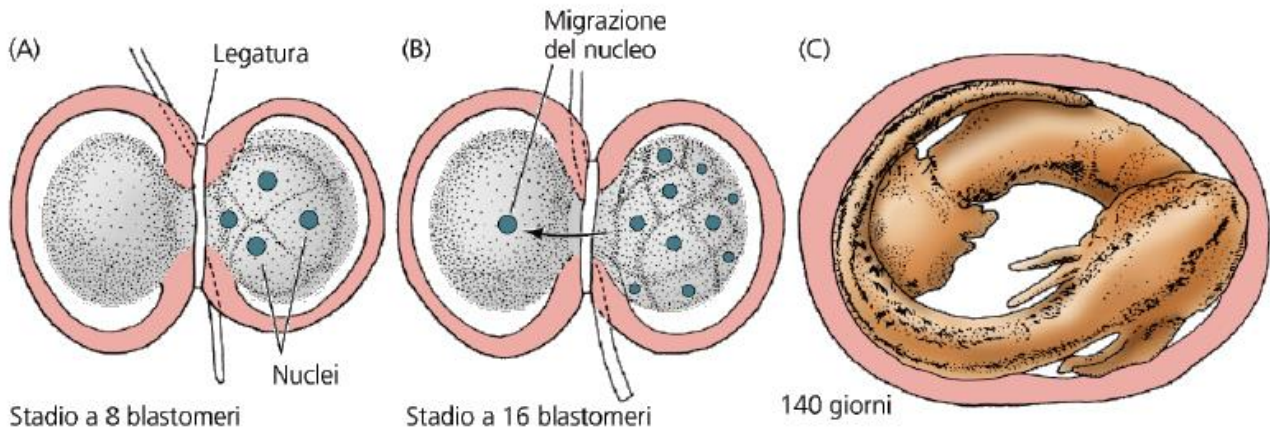
Passiamo ora al secondo riquadro presente nell'immagine. Il terzo piano di segmentazione, che segue i primi due longitudinali e perpendicolari tra loro, è equatoriale e determina la formazione di 8 blastomeri, 4 contenenti la metà animale e 4 contenenti la metà vegetativa. Se i blastomeri contenenti la metà animale vengono separati da quelli contenenti la metà vegetativa, anche in questo caso non si avrà alcuna larva completa: infatti, se isolati, i blastomeri del polo animale danno origine ad una blastula iperciliata, quelli del polo vegetativo, invece, una blastula formata soltanto dall'endoderma (intestino) e dalle spicole calcaree].

In base a quanto detto, risulta chiaro che lo sviluppo regolativo consente ai blastomeri delle prime fasi di sviluppo (fino allo stadio a 4 blastomeri) di poter dare origine a organismi completi se isolati; ciò è reso possibile grazie al mantenimento della *polarità animale-vegetativa* da parte di ciascun blastomero.

Lo sviluppo regolativo ha anche un'altra caratteristica vantaggiosa. Abbiamo detto che se un blastomero di un embrione che si trova ad uno stadio maggiore di 4 blastomeri (8, 16, 32, 64, etc.) venisse isolato, il blastomero stesso non potrebbe dare origine ad un individuo completo. L'embrione con il blastomero mancante, invece, riuscirà sempre a formare un organismo completo. La sottrazione di uno o più blastomeri, dunque, non pregiudica lo sviluppo della blastula.

Queste due caratteristiche dello sviluppo regolativo appena descritte dipendono dalla presenza di determinanti citoplasmatici nei blastomeri e dalle interazioni tra i blastomeri stessi. L'interazione è una capacità che permette di rimediare, di correre ai ripari, in caso di mancanza di uno o più blastomeri.

Dimostrazione dell'equivalenza dei nuclei nella segmentazione di tritone (Spemann)



L'esperimento che di seguito descriviamo è stato condotto sugli anfibii ed ha dimostrato un altro concetto fondamentale.

Con il termine blastomero si indica una cellula che non ha ancora intrapreso la via differenziativa. I nuclei dei blastomeri, fino al momento in cui quest'ultimi non abbiano intrapreso il percorso differenziale, sono **totipotenti**, interscambiabili tra di loro. Ad esempio, il nucleo di un blastomero situato al polo vegetativo può essere spostato tranquillamente in un blastomero del polo animale e viceversa; ciò dimostra che il destino di quel determinato blastomero non dipende dal nucleo.

L'esperimento, illustrato in alto, fu condotto verso la fine dell'ottocento, periodo in cui le manipolazioni in laboratorio erano piuttosto grossolane. Oggigiorno un tale esperimento potrebbe essere fatto semplicemente con una micromanipolazione associata ad un buon microscopio, effettuando un inserimento o un'eliminazione del nucleo (procedimento molto simile a quanto visto per la fecondazione assistita).

In quegli anni **Spemann** usò un filo sottilissimo (praticamente un capello) per eseguire una legatura ad un embrione che si trovava allo stadio di 8 blastomeri. Lo scopo della legatura era di posizionare 7 blastomeri da un lato e 1 blastomero dall'altro privato però del suo nucleo (la legatura doveva essere non molto forte per evitare fenomeni di necrosi ma sufficientemente stretta da impedire al nucleo di ritornare in sede). A questo punto si attese il processo di duplicazione dei nuclei situati in uno dei lati della costrizione, processo in seguito al quale si ebbe il passaggio da 8 a 16 blastomeri, e quindi 16 nuclei. Successivamente la legatura venne allentata per permettere il passaggio di un nucleo dalla parte destra alla parte sinistra priva di nuclei (si osservi la figura in alto). Tale separazione fu mantenuta e alla fine si ottennero, partendo da un solo zigote iniziale, due embrioni pressoché completi. Questo succede perché la "situazione tipo", cioè la situazione "singolo blastomero", viene ripristinata nel momento in cui un nucleo si sposta dalla parte destra alla parte sinistra della legatura. Da ciò si deduce che le informazioni necessarie alla formazione della larva non sono contenute nel nucleo; peraltro, il nucleo che dal lato destro passa al lato sinistro della strozzatura potrebbe anche essere, con molta probabilità, non lo stesso di quello di partenza. Questo dimostra che:

i nuclei sono totipotenti, sono interscambiabili tra loro

Lo sviluppo di tipo regolativo si trova alla base della possibile nascita dei **gemelli** (effettivamente, le larve presenti nella figura C in alto sono gemelle).

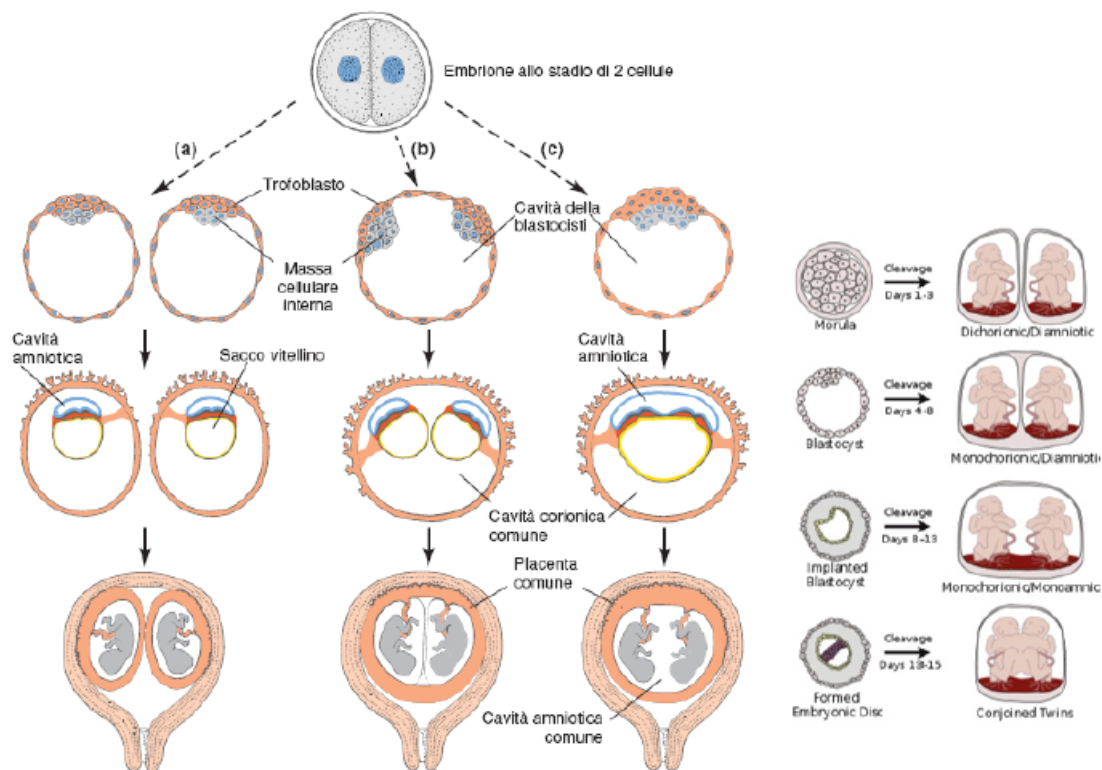


Figura 6.24 Sviluppo dei gemelli monozigotici nella specie umana. Quando la separazione: **(a)** avviene allo stadio di 2 cellule (prima della formazione della massa cellulare interna), ciascun embrione avrà la propria placenta, il proprio corion e il proprio amnios; **(b)** avviene dopo la separazione completa della massa cellulare interna, i due embrioni avranno in comune la placenta e il corion, ma ognuno avrà il proprio amnios; **(c)** è più tardiva o incompleta come nei gemelli siamesi: gli embrioni condividono la stessa placenta, lo stesso corion e lo stesso amnios.

L'uovo dei mammiferi è un uovo di tipo regolativo. Anche nella specie umana (mammiferi), come è ben noto, vi è la possibilità di avere dei gemelli. Precisamente, nella specie umana esistono i seguenti tipi di gemelli.

- **Gemelli eterozigoti:** il caso più semplice di gemelli, si ha quando due ovuli (doppia ovulazione) vengono fecondati da due diversi spermatozoi nello stesso periodo. Questi gemelli vengono chiamati **gemelli eterozigoti** (detti anche **gemelli dizigotici**, o **gemelli biovulari**, o **gemelli fraterni**) che fondamentalmente sono dei semplici fratelli. Questi gemelli, dal momento che sono stati coinvolti due spermatozoi diversi, possono presentare sessi diversi ma condividono lo stesso periodo di gestazione. Ognuno di questi fratelli deriva da una cellula uovo e da uno spermatozoo e tra di loro non si somigliano più di qualsiasi altri fratelli nati in periodi diversi; i gemelli eterozigoti condividono solamente la data di nascita. Come nel caso dei fratelli nati in periodi diversi, anche i gemelli eterozigoti presentano genotipi diversi.
- **Gemelli monozigoti:** detti anche **gemelli monovulari**, o **gemelli omozigoti**, o semplicemente **gemelli identici**, sono i gemelli veri e propri. Si hanno quando, in seguito ad un evento naturale, i due blastomeri di un embrione formati all'atto della prima divisione dello zigote intraprendono la via della segmentazione come due diverse entità (praticamente, si comportano come 2 zigoti). I **gemelli monozigoti** condividono lo stesso corredo cromosomico e, di conseguenza, sono dello stesso sesso. Analizziamo i vari casi di sviluppo di gemelli monozigoti schematizzati in figura 6.24.
 - **Figura 6.24 (a):** i due blastomeri derivanti dalla prima divisione si separano e si ottengono due blastocisti. La separazione dei due blastomeri avviene in maniera naturale (nell'esperimento visto in precedenza la separazione è avvenuta per mano dell'uomo attraverso un sottile capello) e ciascuno di essi va incontro a segmentazione come se fosse uno zigote. Da questi due zigoti, quindi, si formeranno due blastocisti completamente separate, ciascuna delle quali darà origine ad un embrione; nell'utero ogni embrione avrà la propria camera amniotica e la propria placenta. In questo caso, i gemelli omozigoti condividono lo stesso patrimonio genetico ma ciascuno di essi avrà il proprio amnios e la propria placenta.