

12

Mesoderma della lamina laterale ed endoderma

Il cuore delle creature è il fondamento della vita, il sovrano di tutto, il Sole del microcosmo da cui dipende tutta la vegetazione, dal quale fluisce tutto il vigore e la forza.

WILLIAM HARVEY (1628)

Blut is ein ganz besonderer Saft. [Il sangue è un fluido davvero singolare].

WOLFGANG GOETHE (1805)

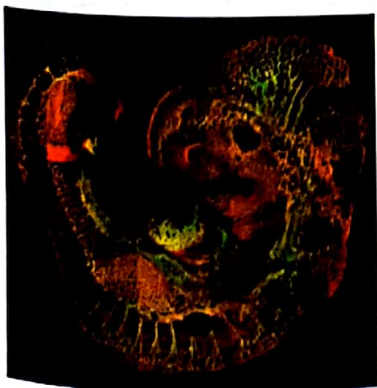
Nel caos delle guerre civili d'Inghilterra, William Harvey, medico del re e scopritore del blastoderma, si confortava nel considerare il cuore come il sovrano incontrastato del corpo, attraverso i poteri del quale, decretati per ordine divino, era assicurato il legittimo accrescimento dell'organismo. Gli embriologi che gli succedettero guardarono al cuore più come a un servitore che a un sovrano, il ciambellano della famiglia, il quale assicurava che fossero nutriti il cervello, collocato in cima, e i muscoli, collocati in periferia. Nell'una metafora e nell'altra, il cuore, la circolazione e il sistema digerente erano visti come assolutamente fondamentali per lo sviluppo. Come Harvey argomentò in modo convincente nel 1651, l'embrione di pollo deve formare il proprio sangue senza alcun aiuto da parte della gallina, e il sangue neoformato è cruciale per lo sviluppo dell'embrione. Come questo avvenisse, rimaneva un mistero. «Quale artefice», egli scrisse, potrebbe produrre il sangue «quando ancora non esiste un fegato?». Anche il nutrimento fornito dall'uovo era di somma importanza per Harvey. La sua conclusione sul valore nutritivo del tuorlo e dell'albume era che «l'uovo è, per così dire, un utero esposto, in cui si trova una sostanza giudicata come la Rappresentante e Sostituta, o Vicaria delle mammelle».

In questo capitolo, saranno delineati i meccanismi con cui compaiono, nell'embrione degli amnioti, il sistema circolatorio, l'apparato respiratorio e l'apparato digerente. Tratteremo per prima cosa la formazione del cuore e poi procederemo con i meccanismi con cui si sviluppano i vasi sanguigni e le cellule del sangue. Alla fine del capitolo, seguiremo brevemente lo sviluppo del tubo digerente e dei suoi organi associati. Come si vedrà, il mesoderma della lamina laterale e l'endoderma interagiscono nel dare origine agli organi sia del sistema circolatorio che dell'apparato digerente¹.

MESODERMA DELLA LAMINA LATERALE

Ai lati esterni delle due fasce di mesoderma intermedio si trova il **mesoderma della lamina laterale** (vedi Figure 11.1 e 11.2). Ogni lamina si divide orizzontalmente in due strati. Lo strato dorsale è il **mesoderma somatico (parietale)**, che è situato al di sotto dell'ectoderma e che, insieme all'ectoderma, forma la **somatopleura**. Lo strato ventrale è il **mesoderma splancnico (viscerale)**, che è situato al di sopra dell'endoderma e che, insieme all'endoderma, forma la **splancnopleura** (Figura 12.1A). Lo spazio compreso tra questi due strati

¹ Alcuni scienziati ritengono che il mesoderma e l'endoderma costituissero in origine un unico foglietto embrionale, il "mesendoderma", che svolgeva le funzioni di entrambi. Si ricordi, dal Capitolo 5, che quello che nei vertebrati è un ampio territorio di cellule embrionali, è effettivamente in molti invertebrati il derivato di un unico "mesentoblasto". I segnali che regolano il mesentoblasto e l'intero territorio mesodermico ed endodermico dei vertebrati possono essere molto simili (Maduro et al. 2001; Rodaway e Patient 2001).



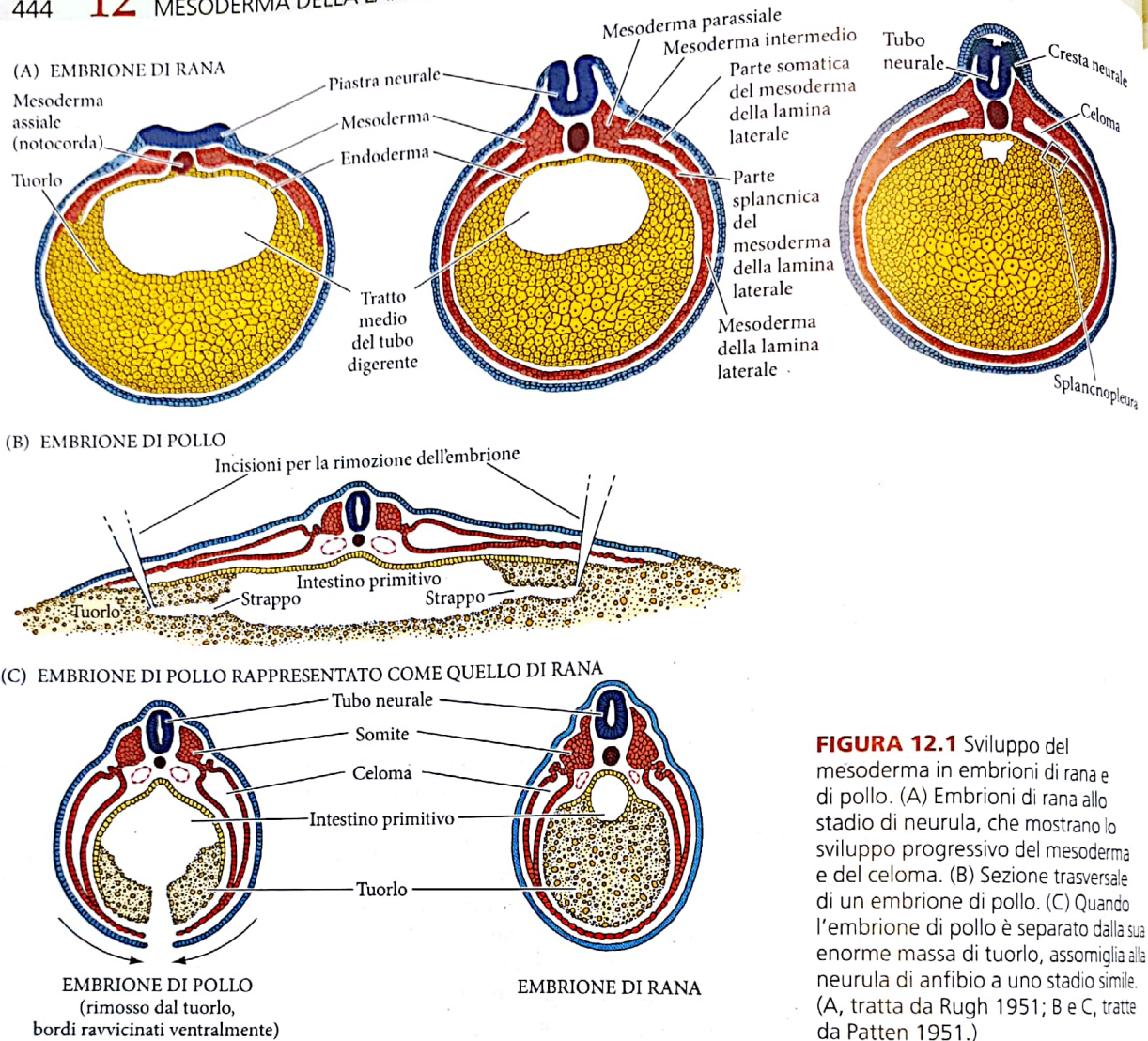


FIGURA 12.1 Sviluppo del mesoderma in embrioni di rana e di pollo. (A) Embrioni di rana allo stadio di neurula, che mostrano lo sviluppo progressivo del mesoderma e del celoma. (B) Sezione trasversale di un embrione di pollo. (C) Quando l'embrione di pollo è separato dalla sua enorme massa di tuorlo, assomiglia alla neurula di anfibio a uno stadio simile. (A, tratta da Rugh 1951; B e C, tratte da Patten 1951.)

diviene la cavità del corpo, il **celoma**, che si estende dalla futura regione del collo alla parte posteriore del corpo. Nello sviluppo successivo, il celoma del lato destro e quello del lato sinistro si fondono e dal mesoderma somatico si estendono pieghe di tessuto che suddividono il celoma in cavità distinte. Nei mammiferi, il celoma è suddiviso nelle cavità **pleurica, pericardica e peritoneale**, che accolgono rispettivamente torace, cuore e addome. Il meccanismo con cui il rivestimento di queste cavità corporee si origina dal mesoderma della lamina laterale si è modificato di poco nel corso dell'evoluzione dei vertebrati, ed è possibile confrontare lo sviluppo del mesoderma dell'embrione di pollo con stadi simili dell'embrione di rana (Figura 12.1B,C).

Q Vedi SITO WEB 12.1
Formazione del celoma
[Coelom formation](#)

Lo sviluppo del cuore

Costituito dal cuore, dalle cellule del sangue e da un complicato sistema di vasi sanguigni, il sistema circolatorio serve a nutrire l'embrione in via di sviluppo dei vertebrati. Il sistema

circolatorio è la prima unità funzionale dell'embrione in via di sviluppo, e il cuore è il primo organo funzionale. Il cuore dei vertebrati si origina da due regioni del mesoderma splancnico, una in ciascun lato del corpo, che interagiscono con il tessuto adiacente per essere specificate a sviluppare il cuore.

• Specificazione del tessuto del cuore

Nella gastrula iniziale di un amniote, le cellule progenitrici del cuore (circa 50, nei topi) sono situate in due piccole zone, ciascuna sull'epiblasto, vicino alla porzione rostrale della stria primitiva. Queste cellule migrano attraverso la stria primitiva e formano due gruppi ai lati (e allo stesso livello) del nodo di Hensen (Tam et al. 1997; Colas et al. 2000). Come si può vedere nella Figura 12.2, la specificazione generale di questo **mesoderma cardiogeno**, o **campo del cuore**, è stata già avviata durante questa migrazione. Esperimenti di marcatura, condotti da Stalberg e DeHann (1969) e Abu-Issa e Kirby (2008), hanno dimostrato che le cellule cardiache del campo del cuore migrano in modo tale che la disposizione medio-laterale di queste cellule iniziali diventerà l'asse antero-posteriore (rostro-caudale) del tubo del cuore in via di sviluppo. I

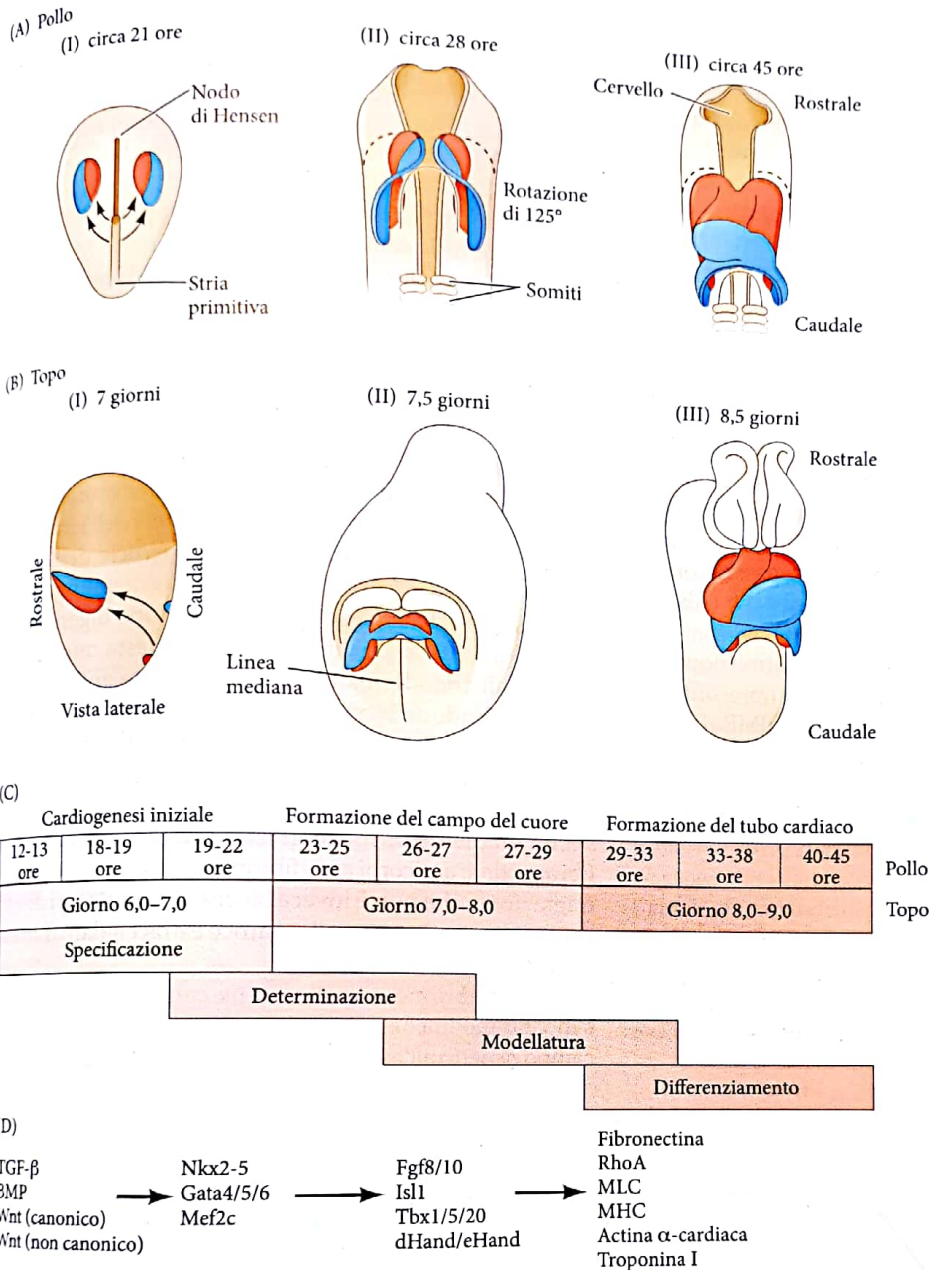


FIGURA 12.2 Panoramica dello sviluppo del cuore. (A, B) Schema di sviluppo del cuore dell'embrione di pollo e di topo. I progenitori della regione ascendente, o tratto effluente, del tubo cardiaco (ventricolo destro, cono e tronco arterioso) sono mostrati in rosso, quelli della regione discendente, o tratto affluente (atri, ventricolo sinistro) sono in blu. Fatta eccezione per l'immagine (I) del topo, gli embrioni sono raffigurati dal lato ventrale. In entrambi i disegni rappresentanti le fasi iniziali (I), le cellule progenitrici del miocardio migrano nel mesoderma della lamina laterale (freccie) e vanno incontro a specificazione. Nell'embrione di pollo queste regioni sono separate, mentre in quello di topo sono unite sulla linea mediana. (C) Tempi di sviluppo degli eventi raffigurati in (A) e in (B), che mostrano il susseguirsi dei quattro processi dello sviluppo. (D) Alcune delle principali proteine associate a questi processi. (Tratta da Abu Issa e Kirby 2007).

progenitori del tratto affluente (il ventricolo sinistro e gli atri, che ricevono il sangue) si trovano più lateralmente, mentre i precursori del tratto di efflusso (il **cono arterioso** e il **tronco arterioso**, che danno luogo alla struttura di base dell'aorta e delle arterie polmonari, e al ventricolo destro) si trovano medialmente, più vicino alla stria primitiva. Tutte le cellule del cuore (i **cardiomociti** che formano gli strati muscolari, l'**endocardio** che forma lo strato interno, i **cuscinetti endocardici** delle valvole, l'**epicardio** che forma i vasi sanguigni coronarici che alimentano il cuore, e le **fibre del Purkinje**² che coordinano il battito cardiaco) sono

generate da questi due gruppi di cellule (Mikawa 1999; van Wijk et al. 2009). Queste cellule saranno integrate da cellule reclutate in luoghi specifici, come le cellule della cresta neurale cardiaca che formano il setto (che separa l'aorta dal tronco polmonare) e porzioni del tratto effluente (vedi Figura 10.15; Pórras e Brown 2008).

Le cellule del cuore, su entrambi i lati della stria primitiva, sono specificate ma non ancora determinate. Questo significa che, se lo sviluppo è normale, queste cellule acquisiranno identità dettate dalle loro posizioni. Tuttavia, se in questa fase le cellule vengono trapiantate in un'altra parte del campo del cuore, assumeranno una nuova identità, anziché mantenere quella precedente. Si noti anche che ogni lato del campo del cuore può essere suddiviso in unità più piccole (vedi Figura 12.2). Questa compartimentazione anatomica del campo del cuore si basa su quelle

² Si noti che queste fibre nervose specializzate del miocardio non sono la stessa cosa delle cellule del Purkinje del cervelletto, citate nel Capitolo 9. Entrambe sono state però identificate nel Diciannovesimo secolo dall'anatomista e istologo ceco Jan Purkinje.

cellule che contribuiranno ai tratti affluente ed effluente. Il tratto affluente (ventricolo sinistro e atri) si definisce anche *campo primario del cuore*, mentre le cellule che formano il tratto effluente (ventricolo destro, cono e tronco arterioso) sono comprese nel *campo anteriore del cuore*³ (vedi Abu-Issa e Kirby 2007).

La specificazione delle cellule del mesoderma cardiogeno è indotta dall'endoderma adiacente al cuore, mediante le vie di segnalazione BMP e FGF. Il cuore non si forma qualora l'endoderma anteriore venga rimosso e in questo caso l'endoderma posteriore non può indurre la formazione delle cellule cardiache. Inoltre, il mesoderma isolato da questa regione formerà muscolo cardiaco solo se combinato con endoderma anteriore, e non con endoderma posteriore (Nascone e Mercola 1995; Schultheiss et al. 1995). Il segnale endodermico è mediato dai fattori BMP, specialmente BMP2. Le BMP prodotte dall'endoderma inducono inoltre la sintesi di Fgf8 nell'endoderma direttamente sottostante al mesoderma cardiogeno, e Fgf8 sembra essere fondamentale per l'espressione di proteine cardiache (Alsan e Schultheiss 2002).

Dei segnali inibitori impediscono la formazione del cuore laddove non dovrebbe verificarsi. La notocorda secreta Noggin e cordina, bloccando il segnale BMP al centro dell'embrione, e proteine Wnt secrete dal tubo neurale, specialmente Wnt3a e Wnt8, *inibiscono* la formazione del cuore ma *promuovono* la formazione del sangue. L'endoderma anteriore, tuttavia, produce inibitori delle Wnt, come Cerberus,

3 La Natura, tuttavia, non sempre si può rappresentare con tali semplici distinzioni; è infatti emerso che alcune delle cellule del campo principale condividono una cellula progenitrice con le cellule del campo anteriore del cuore. Così, un altro tipo di organizzazione può basarsi sulle popolazioni cellulari clonali assegnandole al **primo campo del cuore** o al **secondo campo del cuore**, in base alla loro linea di discendenza.

Dickkopf e Crescent, che impediscono alle proteine Wnt di legarsi ai loro recettori. In questo modo, i precursori delle cellule cardiache sono specificati nelle sedi in cui l'attività delle BMP (mesoderma laterale ed endoderma) e degli antagonisti delle Wnt (endoderma anteriore) coincidono (Figura 12.3; Marvin et al. 2001; Schneider e Mercola 2001; Tzahor e Lassar 2001). Al fine di evitare che le cellule cardiache vengano rispecificate, una delle prime proteine a essere sintetizzate nelle cellule del campo del cuore è *Mesp1*, un fattore di trascrizione che attiva il gene *Dickkopf* in queste cellule (David et al. 2008).

● Migrazione dei precursori cellulari del cuore

Quando l'embrione di pollo ha soltanto 18-20 ore, le cellule cardiache presuntive si spostano in direzione anteriore tra l'ectoderma e l'endoderma verso la metà dell'embrione, restando in stretto contatto con la superficie dell'endoderma (Linask e Lash 1986). Quando raggiungono le pareti laterali della parte anteriore del tubo digerente, la migrazione cessa. La direzionalità di questa migrazione è data dall'endoderma del tratto digerente anteriore. Se si ruota l'endoderma della regione cardiaca rispetto al resto dell'embrione, la migrazione delle cellule del mesoderma cardiogeno è invertita. Si ritiene che la componente endodermica responsabile di questo movimento sia un gradiente di concentrazione antero-posteriore di fibronectina: anticorpi anti-fibronectina infatti bloccano la migrazione, che non è invece bloccata da anticorpi diretti contro altri costituenti della matrice extracellulare (Linask e Lash 1988).

Nell'embrione di pollo, i due campi del cuore non s'incontrano finché non avviene una rotazione di 120° del campo rispetto all'asse antero-posteriore. Questa rotazione

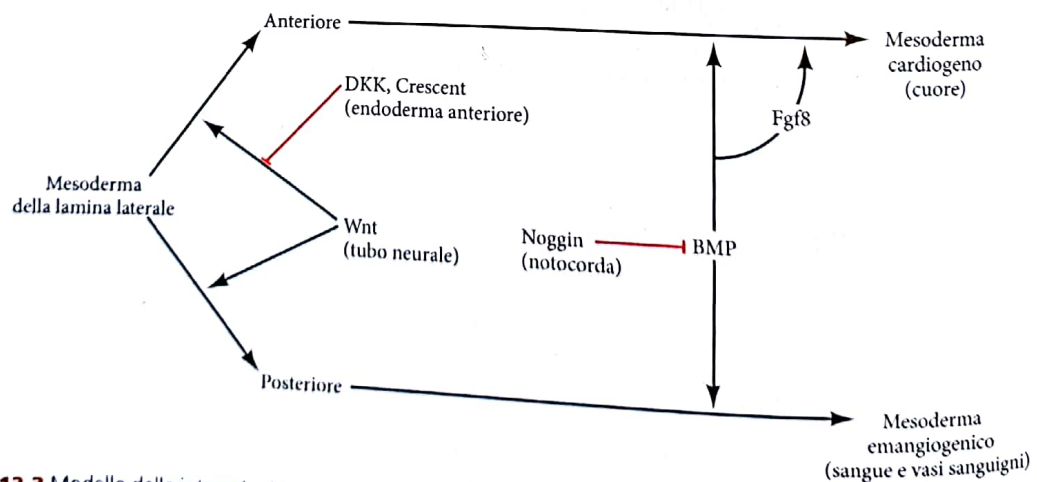


FIGURA 12.3 Modello delle interazioni induttive che coinvolgono le vie di trasduzione del segnale BMP e Wnt nella formazione dei confini del mesoderma cardiogeno. Segnali Wnt provenienti dal tubo neurale istruiscono il mesoderma della lamina laterale a dar luogo ai precursori del sangue e dei vasi sanguigni. Nella parte anteriore del corpo, tuttavia, gli inibitori della via di Wnt (Dickkopf, Crescent) prodotti dall'endoderma faringeo impediscono a Wnt di funzionare, permettendo a

segnali più tardivi (BMP, Fgf8) di convertire il mesoderma della lamina laterale in mesoderma cardiogeno. I segnali BMP saranno importanti anche per la differenziazione del mesoderma emangiogenico (sangue, vasi sanguigni). Nel centro dell'embrione, segnali Noggin provenienti dalla notocorda bloccano i fattori BMP. In questo modo, i campi del cuore e della formazione del sangue non possono costituirsi nel centro dell'embrione.

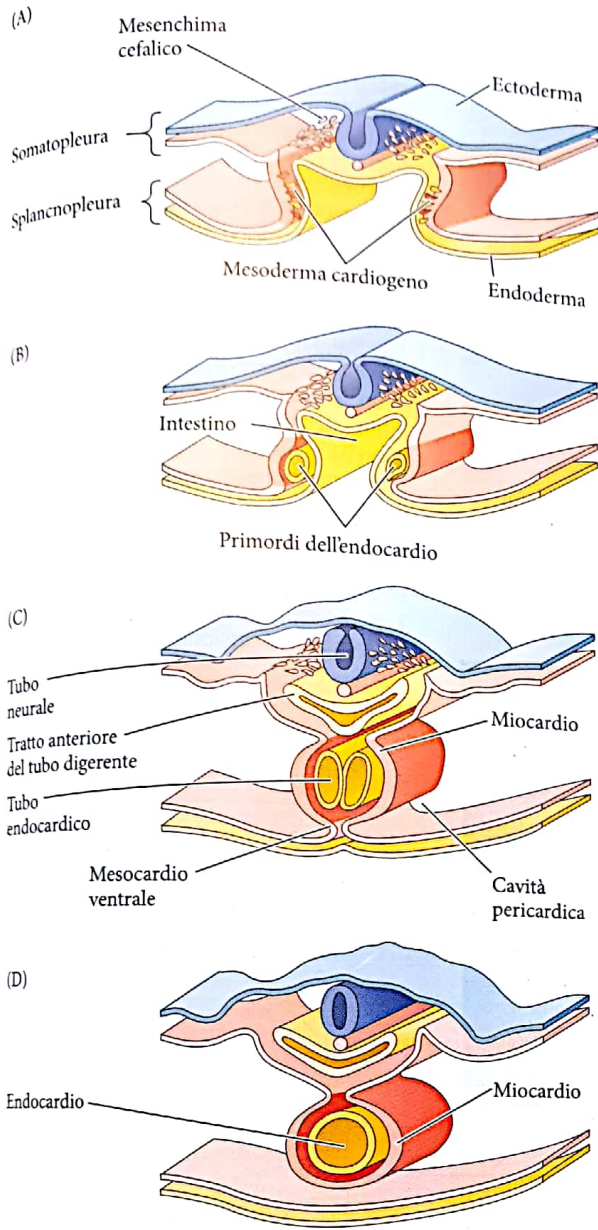


FIGURA 12.4 Formazione del cuore negli uccelli, a partire dal mesoderma splancnico della lamina laterale. L'endocardio forma il rivestimento interno del cuore, il miocardio costituisce la muscolatura cardiaca, e l'epicardio alla fine ricoprirà il cuore. Sono raffigurate sezioni trasversali della regione cardiogena dell'embrione di pollo di (A) 25 ore, (B) 26 ore, (C) 28 ore, e (D) 29 ore. (Tratta da Carlson 1981.)

riposiziona le cellule in modo tale che quelle della porzione ascendente (tratto effluente) del tubo cardiaco (ventricolo destro, cono e tronco arterioso) siano portate avanti in direzione rostrale, mentre quelle della porzione discendente (tratto affluente: atri, canale atrio-ventricolare, ventricolo sinistro) vengano portate in direzione caudale (vedi Figura 12.2A, immagine II). Nel topo e nella specie umana, i campi bilaterali vengono riuniti a formare un unico campo a ferro di cavallo, a volte denominato *semiluna cardiaca* (vedi Figura 12.2B, immagine II).

Nell'embrione degli uccelli, i due campi vengono posti a contatto allo stadio di 7 somiti, quando si forma il tratto digerente anteriore grazie al ripiegamento verso l'interno della splancnopleura (Figura 12.4, vedi anche la Figura 12.2A, immagini I e II). Questo movimento avvicina l'uno all'altro i due tubi cardiaci. I due tubi endocardici giacciono per breve tempo all'interno di un tubo comune, per poi fondersi anch'essi. L'origine bilaterale del cuore può essere confermata impedendo chirurgicamente la fusione del mesoderma della lamina laterale (Gräper 1907; DeHaan 1959); questa manipolazione porta a una condizione detta **cardia bifida**, in cui si formano due cuori distinti, uno in ciascun lato del corpo (Figura 12.5A).

In zebrafish, i precursori cellulari del cuore migrano attivamente dai margini laterali verso la linea mediana. Diverse mutazioni che colpiscono il differenziamento dell'endoderma interferiscono con questo processo, indicando che, come negli uccelli, anche nei pesci l'endoderma ha un ruolo critico nella migrazione dei precursori cardiaci. Il gene *faust*, che codifica la proteina GATA5, si esprime nell'endoderma ed è necessario per la migrazione dei precursori delle cellule cardiache verso la linea mediana nonché per la loro divisione e specificazione. Sembra essere importante anche nella via che porta all'attivazione del gene *Nkx2-5* nei precursori cardiaci (Reiter et al. 1999). Una mutazione di zebrafish particolarmente interessante è *miles apart* (in italiano, "a chilometri di distanza", N.d.T.), il cui fenotipo riguarda la migrazione dei precursori cardiaci e assomiglia a quello osservato nella condizione di cardia bifida dell'embrione di pollo manipolato sperimentalmente (Figura 12.5B,C). Il gene *miles apart* codifica il recettore per una molecola sfingolipidica della superficie cellulare ed è espresso nell'endoderma su entrambi i lati della linea mediana (Kupperman et al. 2000).

Nei topi, la condizione di cardia bifida può essere indotta anche da mutazioni di geni che si esprimono nell'endoderma. Uno di questi, *Foxp4*, codifica un fattore di trascrizione espresso nelle cellule iniziali del tratto digerente anteriore, lungo il percorso dei precursori cardiaci che viaggiano verso la linea mediana. In questi mutanti ogni abbozzo del cuore si sviluppa separatamente, e l'embrione di topo contiene due cuori, uno su ciascun lato del corpo (Figura 12.5 D, E; Li et al. 2004).

● **Determinazione dei domini cardiaci anteriori e posteriori**

Appena i precursori cardiaci migrano, la regione posteriore diventa esposta a concentrazioni sempre più elevate di acido retinoico (RA), prodotto dal mesoderma posteriore (vedi Figura 8.13). RA è un fattore cruciale nello specificare i precursori posteriori cardiaci a dar luogo alla porzione affluente, o "venosa", del cuore (il seno venoso e gli atri). In origine, questi destini non sono prefissati: esperimenti di trapianto o di rotazione mostrano che i precursori sono in grado di regolarsi e differenziarsi in base a un nuovo ambiente. Ma una volta che i precursori posteriori cardiaci entrano nel dominio di attiva sintesi dell'RA, iniziano a esprimere il gene per la retinaldeide deidrogenasi, possono produrre il proprio RA, e il loro destino posteriore diventa determinato (Figura 12.6A, B; Simões-Costa et al.