

Embryologie člověka a základy teratologie

RNDr. Mária Hovořáková, PhD.

1.LF UK, Ústav Histologie a Embryologie, Albertov

E-mail: Maria.Hovorakova@lf1.cuni.cz

Přednáška 1:

Vymezení základních pojmů.

Gametogeneze 1, poruchy gametogeneze a její následky pro vývoj plodu, vznik chromozomálních aberací.

Základní pojmy

- Embryologie - vědecká disciplína, která se zabývá studiem vývojového procesu, při němž se z 1 buňky stane organizmus (od oplození do porodu).

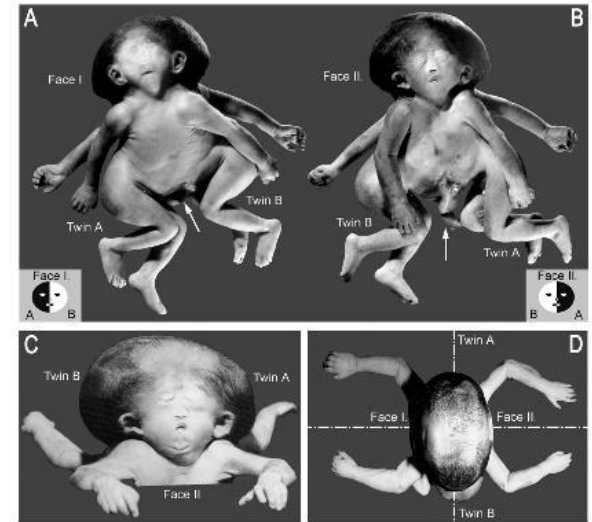
Základní pojmy

- Embryologie - vědecká disciplína, která se zabývá studiem vývojového procesu, při němž se z 1 buňky stane organizmus (od oplození do porodu).
- Prenatální období dělíme na embryonální a fetální:
 - ✓ Embryonální období - embryogeneze – prvních 8 týdnů lidského vývoje (blastogeneze + organogeneze)
 - ✓ Fetální období – od ukončeného 8.týdne do porodu

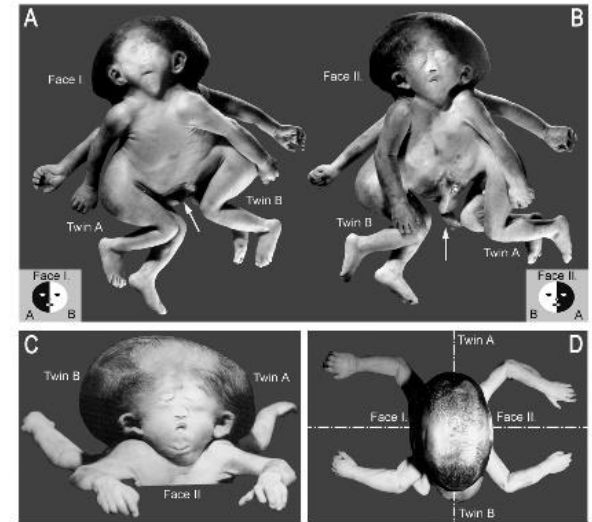
Prenatální období

- Od oplození do porodu –
- Embryologicky - 266 dnů, tj. 38 týdnů, 9 měsíců lunárních (28 dní) – podle termínu oplození – **koncepční věk**
- Klinicky – 280 dnů, 40 týdnů, tj. 10 lunárních měsíců – určováno podle data poslední menstruace (LMP) – **menstruační věk**
- Vývoj člověka však nekončí porodem! Většina vývojových procesů pokračuje **i po narození**.

- Teratologie - studium malformovaných zárodků s cílem odhalit příčiny a mechanismus vzniku vrozených vad (z řeckého *teras*, *teratos*, což znamená zrůda, obluda)



- Teratologie - studium malformovaných zárodků s cílem odhalit příčiny a mechanismus vzniku vrozených vad (z řeckého *teras*, *teratos*, což znamená zrůda, obluda)
- Teratogen – látka, která způsobí vznik vývojové vady (teratologii jako takové bude věnována přednáška), například thalidomid ($C_{13}H_{10}N_2O_4$) – fokomelie (1961 – německý pediatr Lenz) – lék Contergan – léčba nevolnosti v těhotenství (sedativum a hypnotikum)



(Hovořáková et al., 2008)



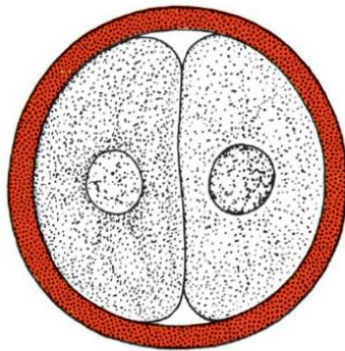
- Teratom – nádor diskutabilního původu - často obsahují nejrůznější tkáně (střevní epitel, kosti, vlasy, svaly) – předpokládá se, že vznikají z pluripotentních kmenových buněk – schopné se diferencovat v kterýkoliv ze tří zárodečných listů nebo jejich derivátů, jejich zdrojem mohou být také prvopohlavní buňky vychýlené ze své migrační dráhy, či buňky epiblastu migrující skrze primitivní proužek



Copyright © 2013 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

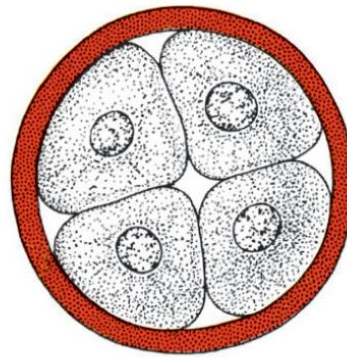
- Mechanismy mbryogeneze:
 - Proliferace buněk
 - Diferenciace buněk
 - Migrace buněk
 - Růst
 - Asociace (adhezivní proteiny, buněčné spoje)
 - Apoptóza (naprogramovaná buněčná smrt)

- Proliferace buněk – vznik nových buněk mitotickým dělením – přesné rozdělení genetického materiálu do jader dceřiných buněk, např. rýhování zygoty – s každým dělením menší buňka (objem cytoplazmy všech blastomer = objemu cytoplazmy zygoty)

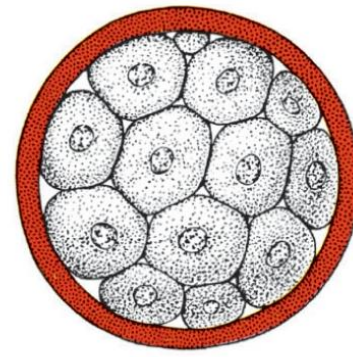


Two-cell stage

Copyright © 2013 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins



Four-cell stage

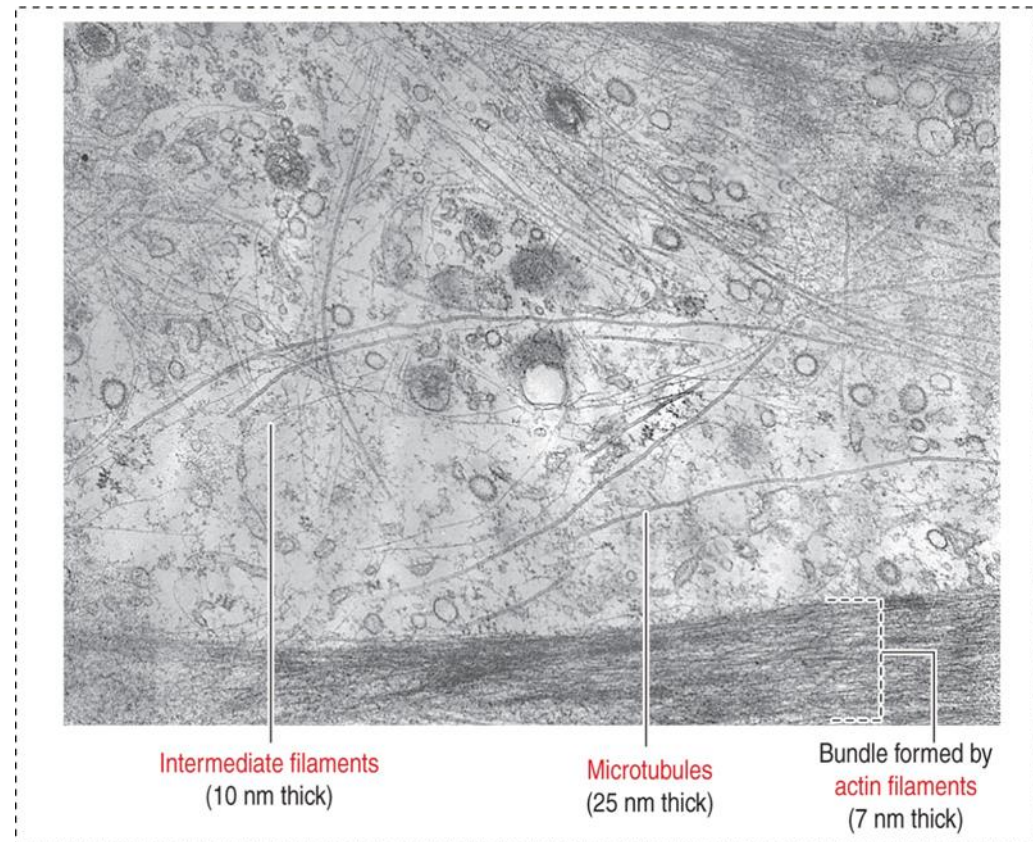


Morula

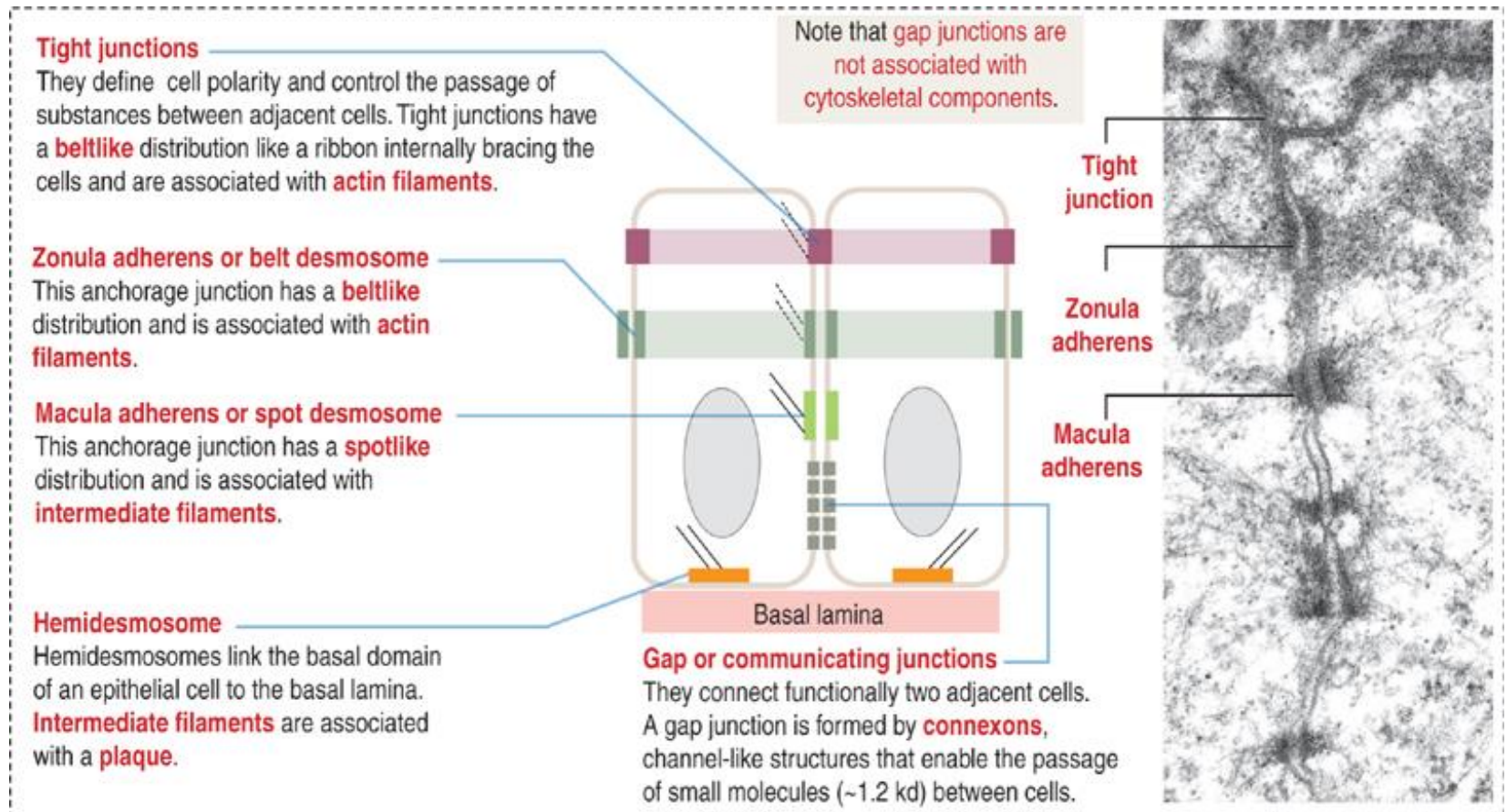
Sadler, 2006

- Diferenciace buněk – proces postupného rozrůžňování strukturního i funkčního – buňky stejných vlastností se sdružují v definované vyšší organizační celky (u člověka vývoj završen vytvořením všech tkání (téměř 200 specializovaných buněčných typů))
- Buněčná diferenciace je jedním z projevů genové exprese, vznikají více determinované buňky s novými strukturními či funkčními znaky (*molekulární diferenciace* – změny chemického složení membrán, *enzymová diferenciace* – různé enzymové vybavení, *cytodiferenciace* – změny ve tvaru nebo velikosti buněk, organelové vybavě)

- Migrace buněk – vznikají buňky s novými vlastnostmi a novými prostorovými vztahy než měly původní (např. migrace prvopohlavních buněk ze žloutkového váčku do genitálních lišt, vznik mezodermy a základů některých orgánů)
- Cytoskeletální struktury – mikrofilamenta, buněčná membrána a améboidní pohyb



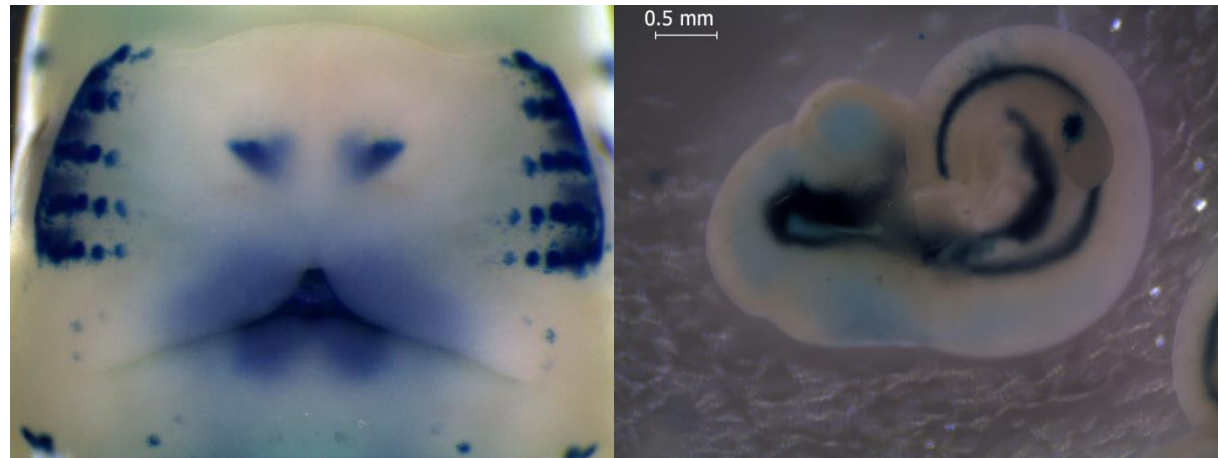
Asociace (adhezivní proteiny, buněčné spoje)



- Apoptóza (naprogramovaná buněčná smrt) – řízený zánik buněk (odlišná od nekrózy – nevratné poškození) – změny na buněčném jádře – chromatin kondenzuje, zahuštění cytoplazmy končí postupným rozpadem buňky – apoptotická tělíčka – likvidace makrofágy
- Regulace zakládání různých orgánů: Interdigitální prostory, Pro- a mezonefrotické kanálky, Buňky srdečních trubic při jejich splynutí, Zuby



- Experimentální embryologie
- Rozvoj ve 20.století
- Experimentální studie osudu buněčných populací během prenatálního vývoje s cílem určit jejich původ (radioaktivní značení, biologické značení – chiméry, Cre-loxP technologie...)



Nepublikováno,
archiv Hovořáková

X-Gal – organická sloučenina složená z galaktózy a indolu (analog laktózy)

Hydrolyticky je X-gal štěpen za vzniku galaktózy a 5-bromo-4-chloro-3-hydroxyindolu, který dimerzuje a je oxidován na modré nerozpustné 5,5'-dibromo-4,4'-dichloro-indigo (modré zbarvení!!!!)

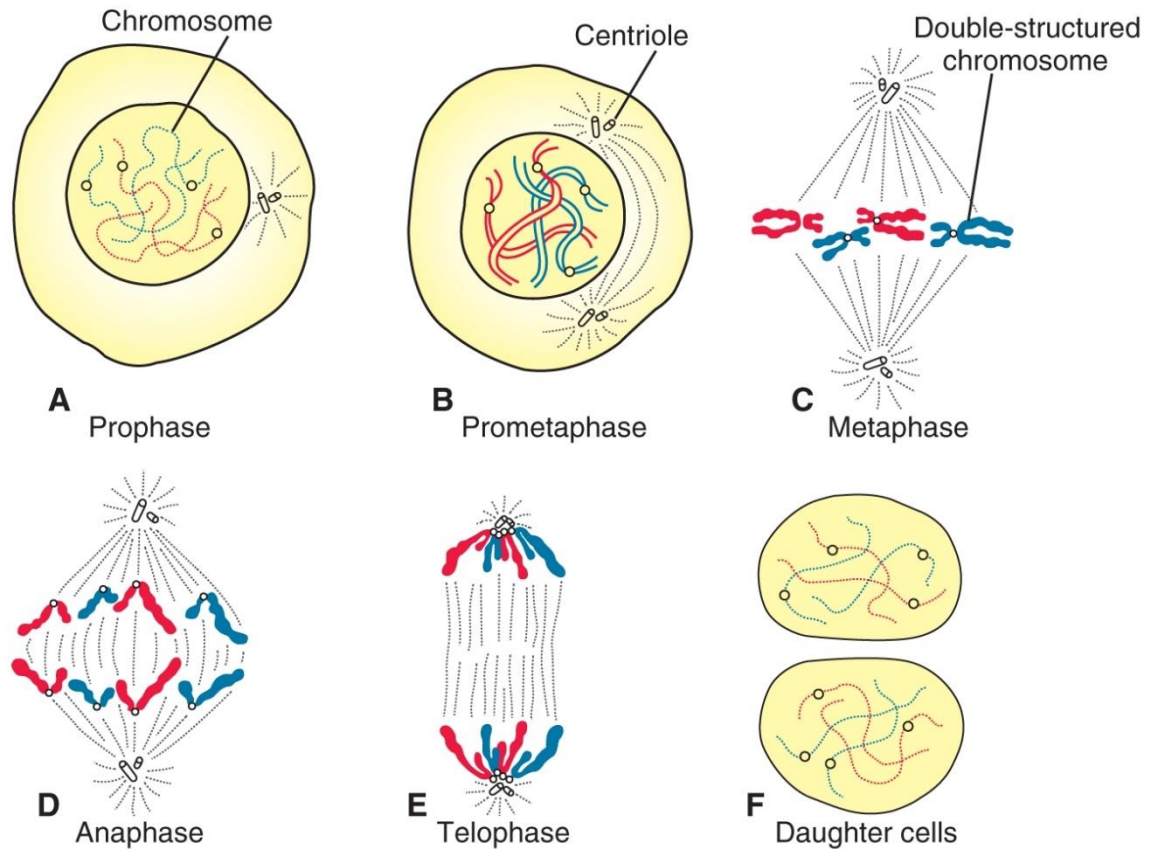
- Gametogeneze, poruchy gametogeneze a její následky pro vývoj plodu, vznik chromozomálních aberací
- Člověk – 23 homologních párů chromozomů = 46 chromozomů (diploidie) – 22 párů autozomů (homologních chromozomů) a 1 pár heterozomů (pohlavních chromozomů)
 - 1 z oocyty + 1 ze spermie (každá gameta – 23 chromozomů
 - haploidie, oplození – opět diploidie – 46 chromozomů)

Gametogeneze

- Gamety – vznikají z prvopohlavních buněk (gonocyty – primordial germ cells), které se objevují v epiblastu (2.týden), během 4.týdne migrace ze žloutkového váčku ke gonádám (5.týden) – stoupá počet mitotických dělení
- Příprava k oplození – gametogeneze (meiosa – redukce chromozomů a cytodiferenciace – završí zrání gamet)

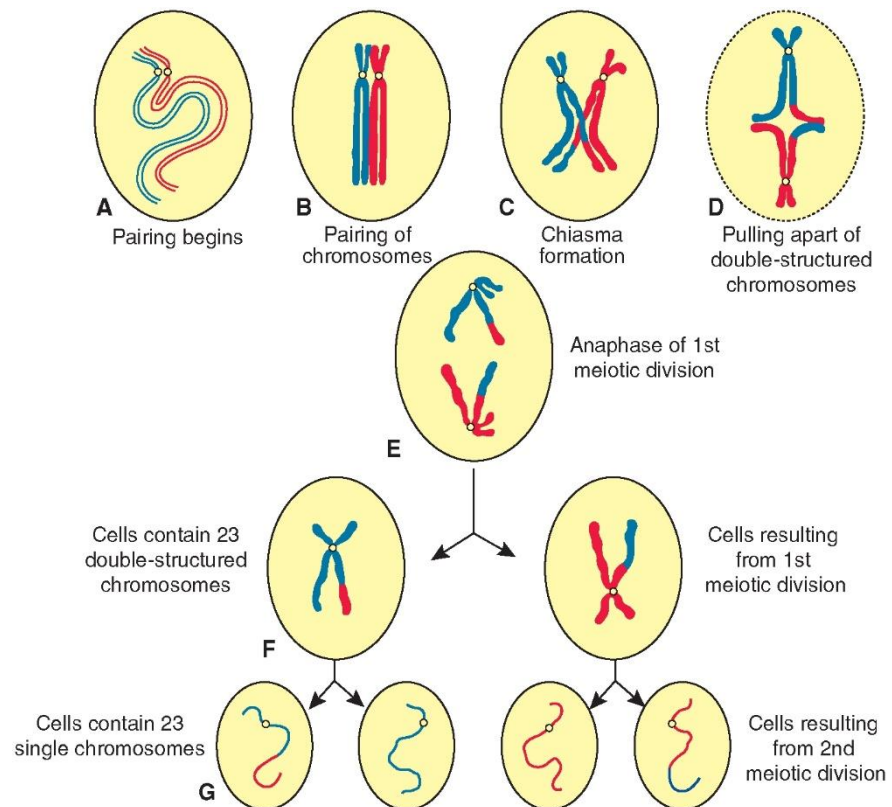
Mitoza

- Vznik dvou dceřiných buněk identických s mateřskou (replikace – zdvojení chromozomů – rozcházejí se do dvou identických dceřiných buněk)



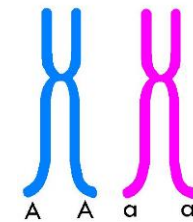
Meioza

- Redukční dělení – výsledkem dvě dceřiné buňky s haploidním počtem chromozomů (typický crossing over – výměna segmentů chromatid mezi spárovanými chromozomy, při každé meiose I 30-40 výměn (1-2 u každého chromozomu)

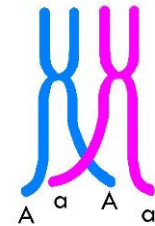


Profáze meiosis I

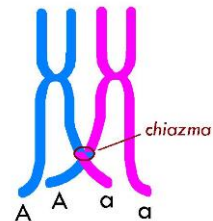
- Leptotenní stadium- dochází ke spiralizaci vláken DNA a diferenciaci chromozómů.
- Zygotenní stadium- homologické chromozomy (chromozomy jednoho páru) se přibližují k sobě a za pomoci speciální bílkoviny se spojují v tzv. bivalent nebo gemini.
- Pachytenní stadium- chromozomy dokončují spiralizaci. Nesesterské chromatidy se přitom proplétají a dochází ke vzniku chiazmat (uzlíků). Dochází k tzv. crossing-oweru, kdy se rekombinují části homologických chromatid.
- Diplotenní stadium- uvolňují se bílkovinné vazby mezi homologickými chromozomy a dochází k jejich postupnému oddalování. Vzniklé uzlíky mezi nehomologickými chromatidami jsou stále spojené.
- Diakineze- přeuspořádání a rozchod homologických chromozómů. Chiazmata se posunují na konec chromatid kde zanikají (terminalizace chiazmat).



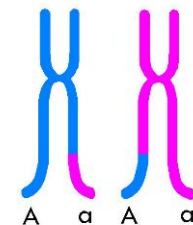
1.) Párovanie homologických chromozómov počas meiózy



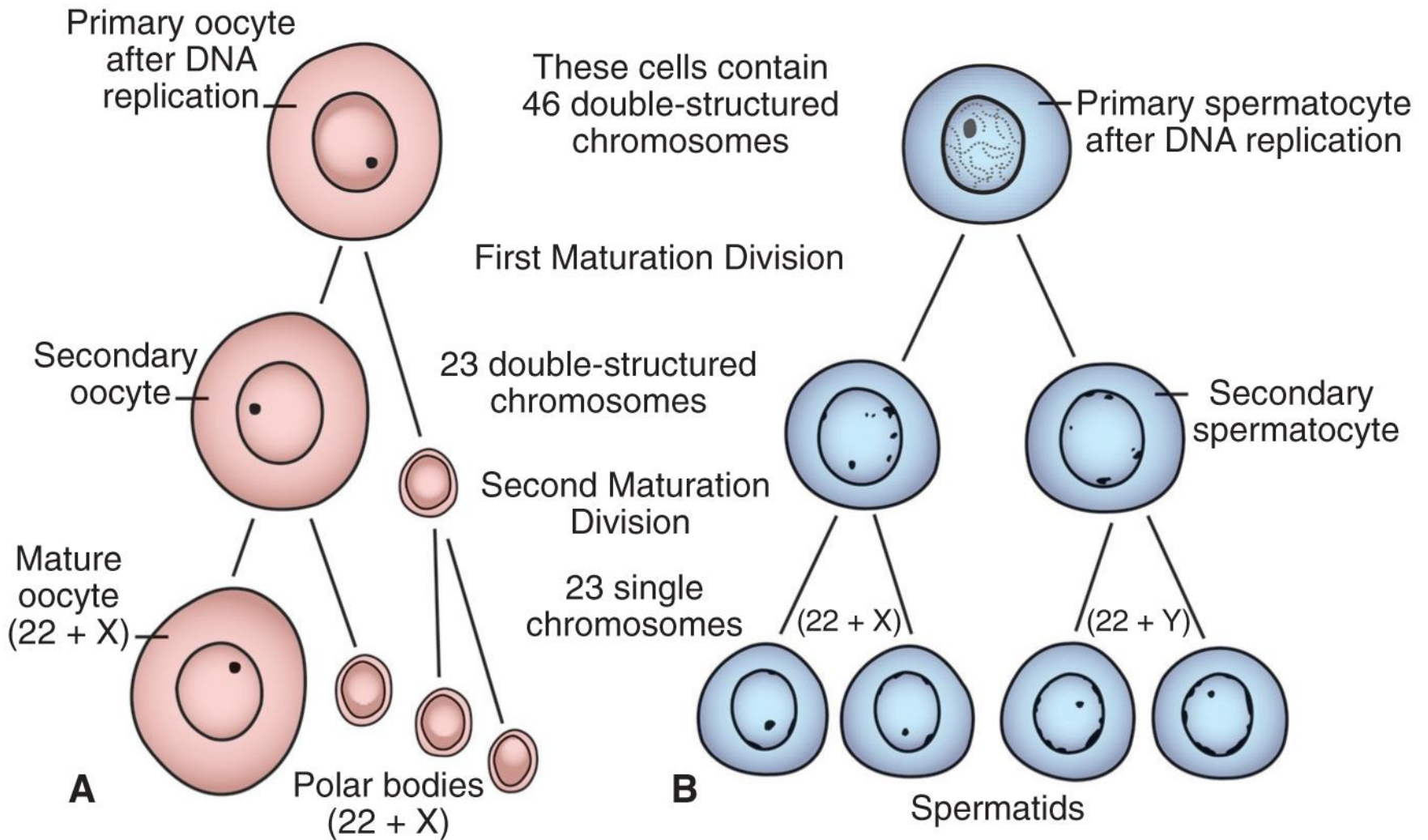
2.) Priblíženie a prekríženie chromatíd



3.) Výmena nesesterských chromatíd homologických chromozómov - **crossing-over**



4.) Nová kombinácia usporiadania génov



Vrozené vady a spontánní potraty: Chromozomové a genetické faktory

- Cca 50% gravidit končí potratem – z toho cca 50% významné chromozomové abnormality (cca 25% všech zárodků má významný chromosomový defekt)
- Dvojnásobně časté je genetické poškození u vajíčka než u spermie (20% vajíček, 10% spermií)
- I u zdravých partnerů jen cca $\frac{1}{4}$ exponovaných cyklů vede k těhotenství. Většina spontánních potratů ještě v preimplantačních stádiích – závažné vrozené defekty neslučitelné se životem

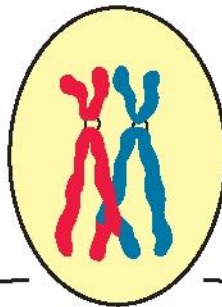
Chromozomové aberace

- Numerické
- Strukturální

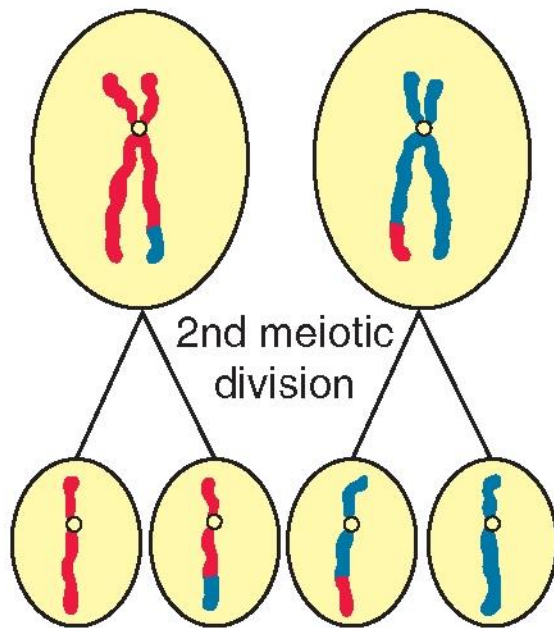
Numerické abnormality

- Somatické buňky - diploidie – $2n$
- Gamety – haploidie – n
- **Euploidie** – celý násobek (diploidie, triploidie...) (polyploidie – stav, kdy počet chromozomových sad překročí dvě)
- **Aneuploidie** – abnormální počet chromozomů, který však není násobkem celé sady, tj. obvykle v chromosomovém páru jeden chromozom navíc (trisomie) anebo jeden chybí (monosomie), většinou důsledkem nondisjunkce chromozomů při meioze (oba členové páru přejdou do jedné dceřiné gamety – jedna potom má 22 a druhá 24 chromozomů – po oplození tedy zygota obsahuje 45 – monosomie nebo 47 - trisomie)
- U žen – zvýšené riziko po 35

Primary oocyte or spermatocyte
after DNA duplication
46 double-structured
chromosomes



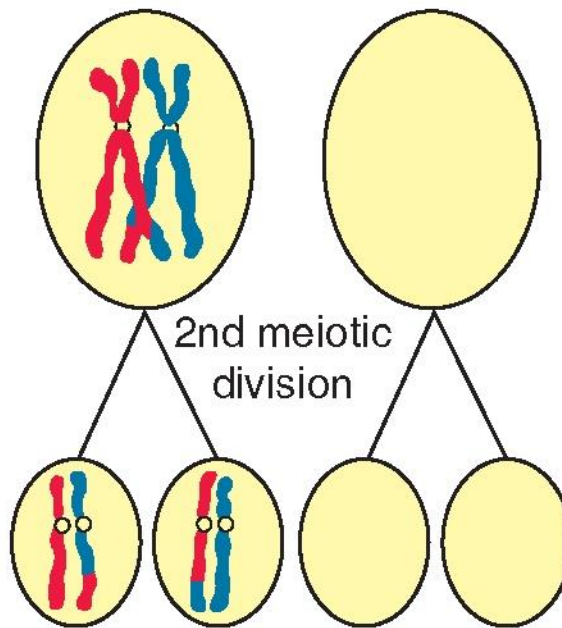
**Normal meiotic
division**



23 single chromosomes

A

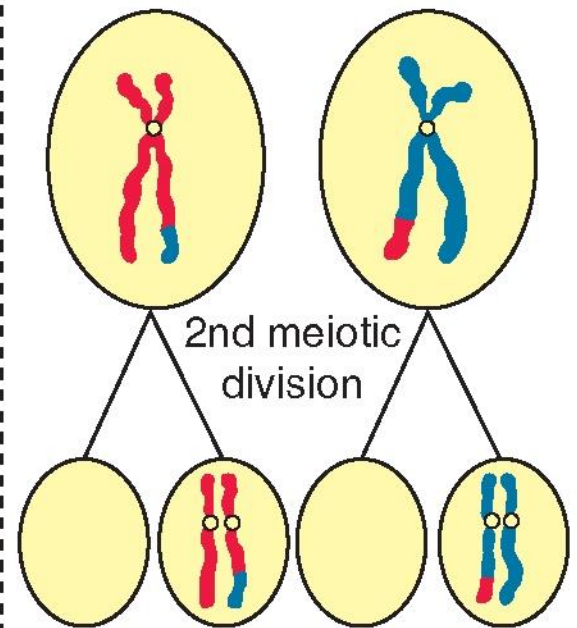
**Nondisjunction
1st meiotic division**



24
chromosomes

B

**Nondisjunction
2nd meiotic division**



22
24
chromosomes

C

Numerické abnormality

- Mosaicismus – nondisjunkce během prvních mitotických dělení u $2n$ embrya – mitotická nondisjunkce (některé buňky těla mají abnormální počet chromosomů, jiné jsou normální)
- Translokace – zlomy chromosomů, kdy část jednoho chromozomu se připojí k jinému:
 - ☐ Balancované – neztratí se žádný genetický materiál (strukturální)
 - ☐ Nebalancované – část jednoho chromozomu je ztracena – dojde ke změně fenotypu (výsledkem může být např. trisomie 21 – Downův syndrom)

Trisomie 21

- Downův syndrom:
- Zpomalený růst, různý stupeň mentální retardace, kraniofaciální deformity, epikantus, srdeční vady, svalová hypotonie...
- Cca 95% meiotická nondisjunkce (1/2000 do 25, 1/100 ve 40, někteří autoři uvádějí až 1/40 po 45)



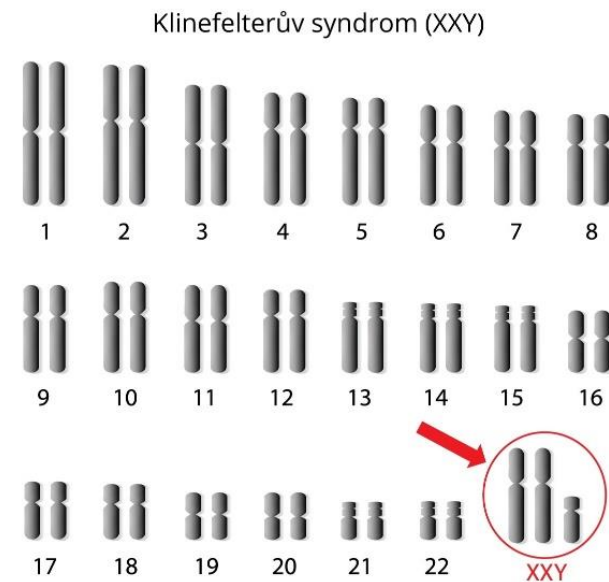
Copyright © 2012 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

Klinefelterův syndrom

- Jen u chlapců (47 chromozomů – XXY, vzácně 48 - XXXY) – neplodnost, atrofie varlat, gynekomastie (1/500, nondisjunkce XX)



Moore et al: Before We Are Born, 8e
Copyright © 2013 by Saunders, an imprint of Elsevier Inc.

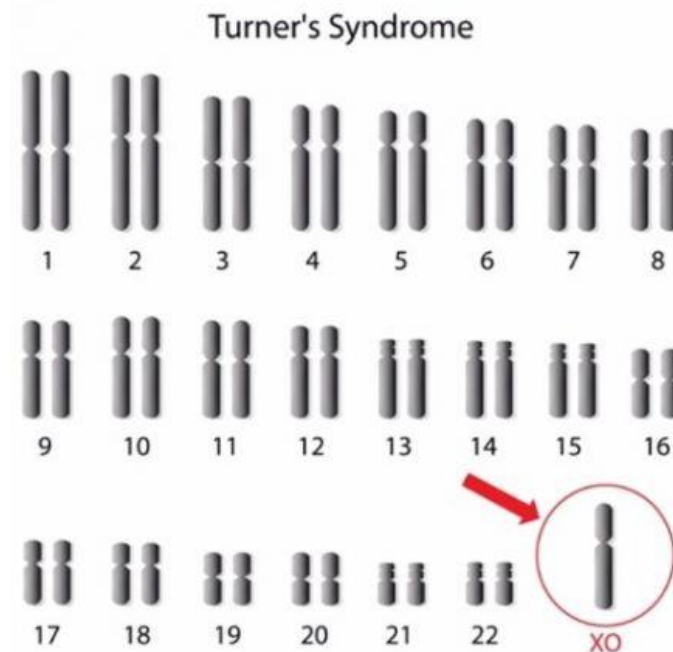
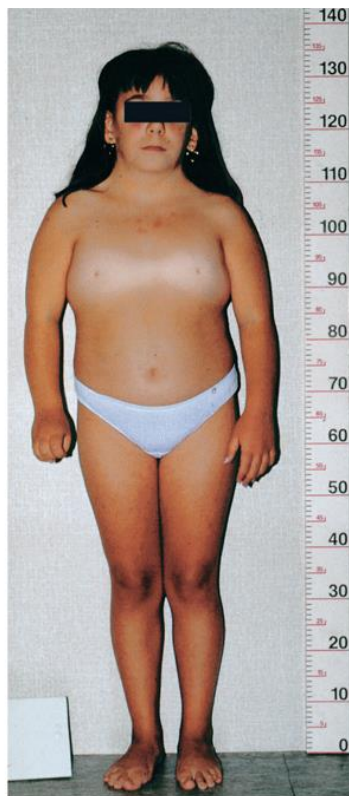


Narušení vývoje varlat.
Neplodnost.
Nedostatek testosteronu.
Často bezpříznakové.

Terapie – podávání testosteronu.

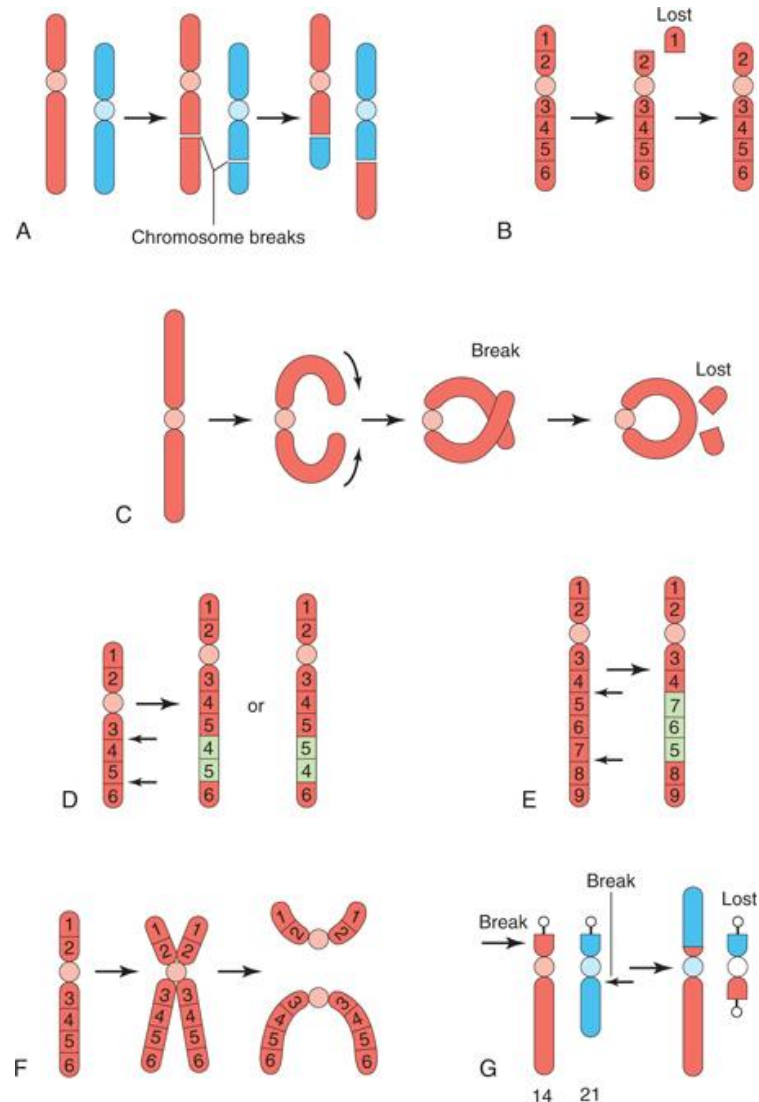
Turnerův syndrom

- Jediná monosomie slučitelná se životem! (45 chromozomů – X0) – ženský vzhled, absence ovarii, malá postava, kožní řasa na krku (80% nondisjunkce v mužských gametách, zbytek strukturální abnormality v X nebo mitotická nondisjunkce - mosaicismus)



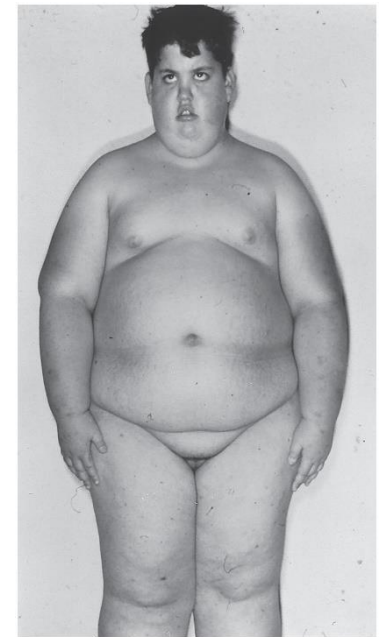
Strukturální abnormality

- Obvykle následkem chromozomového zlomu u jednoho či více chromozomů (viry, radiace, léky) – mutace, např. delece, mikrodelece



Strukturální abnormality

- Cri-du-chat syndrom (syndrom kočičího křiku) – delece krátkého raménka ch.5 (mikrocefalie, kraniofaciální abnormality, mentální retardace, srdeční vady)
- Mikrodelece u mateřského chromozomu 15 – Angelmanův syndrom (15q11 – 15q13) – mentální retardace, bezdůvodné záchvaty smíchu, omezená motorika
- Mikrodelece u otcovského chromozomu 15 – Prader-Williho syndrom – (porucha funkce hypotalamu) mentální retardace, hypotonie, obesita, hypogonadizmus, kryptochorizmus



Prader-Williho syndrom

Strukturální abnormality

- Mutace – dominantní, recesivní, monogenní, polygenní
- Kromě vrozených vad i vrozené metabolické poruchy – fenylketonurie, homocystinurie, galaktosemie

Strukturální abnormality

- Mutace – dominantní, recesivní, monogenní, polygenní
- Kromě vrozených vad i vrozené metabolické poruchy – fenylketonurie, homocystinurie, galaktosemie
- Fragilní místa – místa na chromozomech se sklonem k strukturálním abnormalitám – zlomům (opakování CCG sekvencí) – například Syndrom fragilního X (fragilní místo v pruhu Xq27) – mentální retardace, velké uši, vystouplá čelist a bledé oční duhovky (muži 1/1000, ženy 1/2000, ženy přenašečky až 50% pravděpodobnost postižení syna). Spolu s DS druhá nejčastější příčina mentální retardace způsobená ch. abnormalitami.

Diagnostika genetických odchylek

- Cytogenetická analýza – zjištění počtu a integrity chromozomů (buněčná kultura – zastavení dělení v metafázi – Giemsovo barvení – G-proužky jedinečné pro každý chromozom)
- FISH (fluorescenční in situ hybridizace) – specifické DNA sondy (značící určité chromozomy) označené fluorochromy jsou hybridizovány s chromozomy v buňkách na sklíčkách (identifikace ploidie u vybraných chromozomů)

