

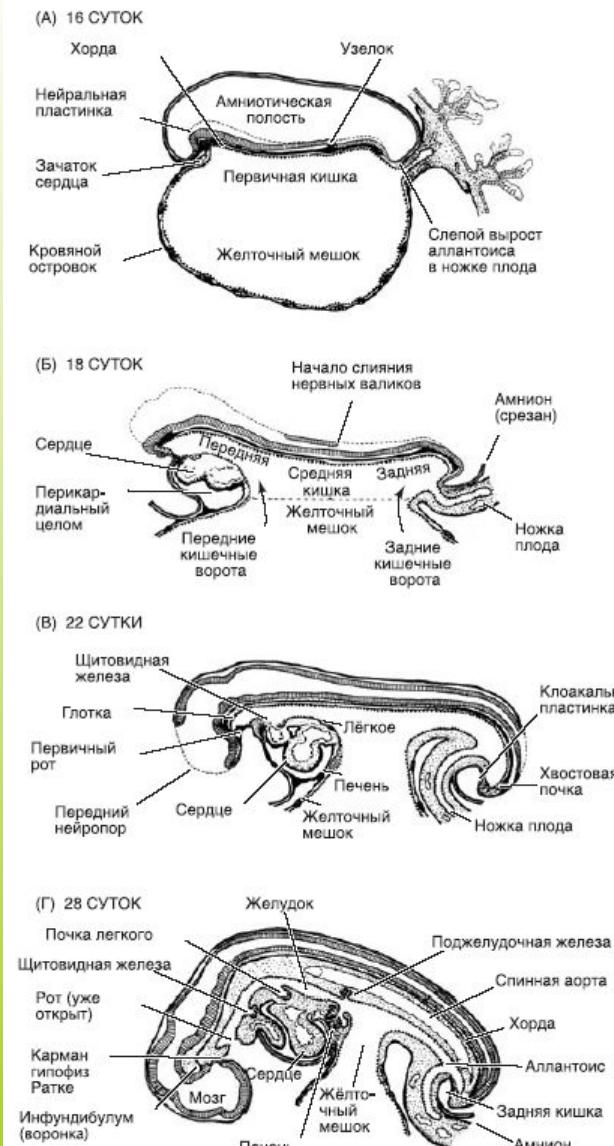
Лекция 06

Производные энтодермы.

1. Печень.

Гепатогенез

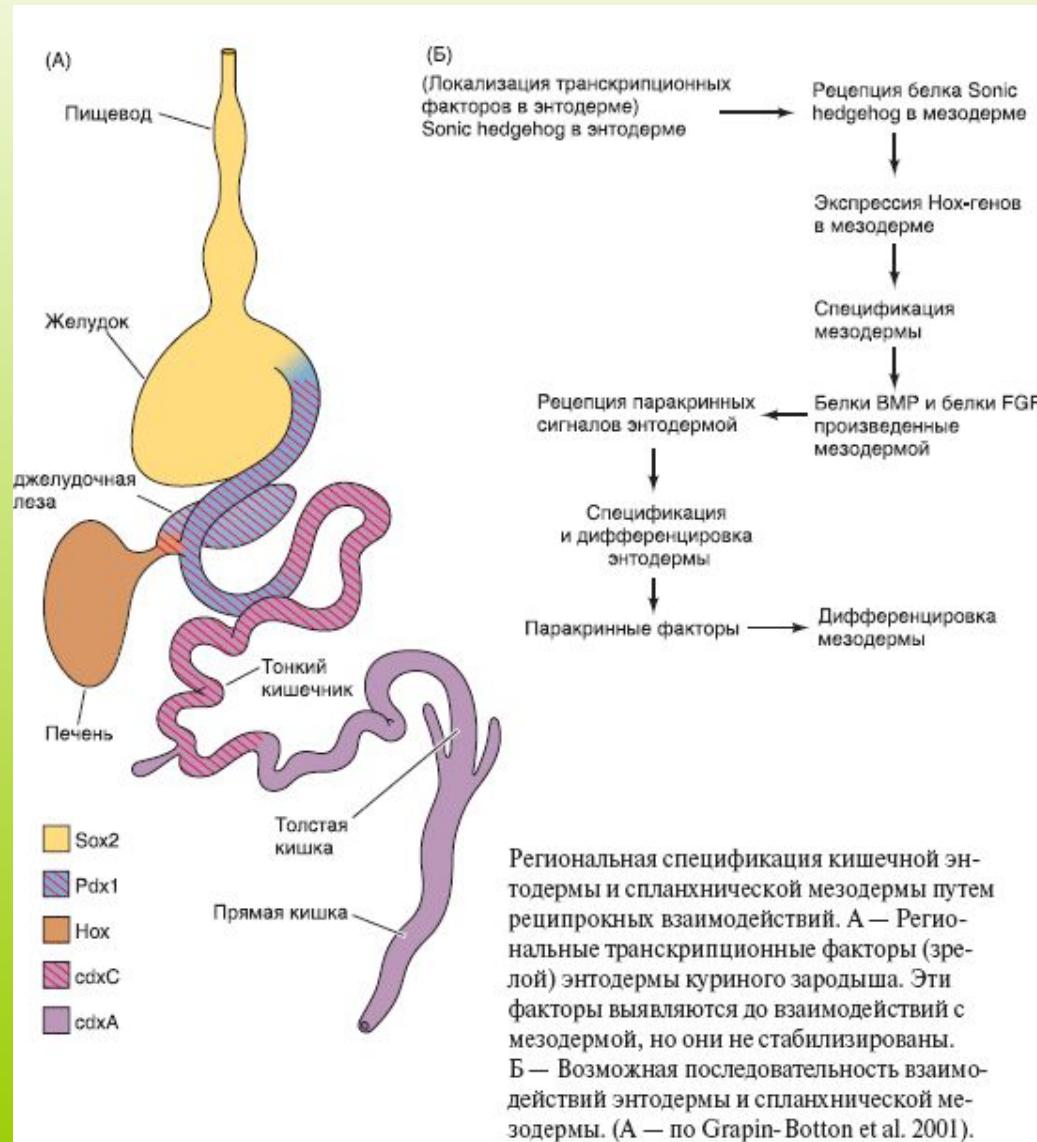
(Gilbert, 2003)



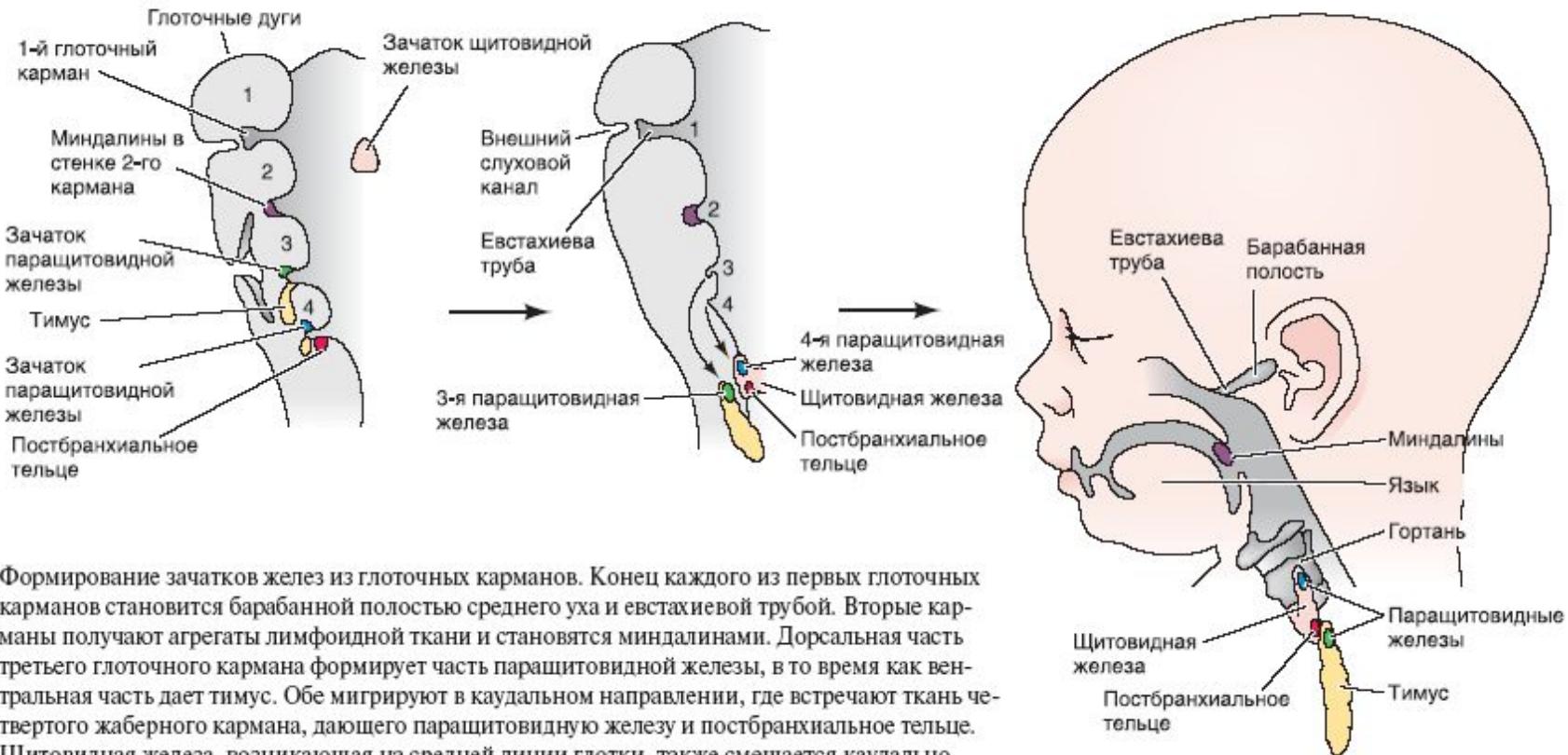
Формирование пищеварительной системы у зародыша человека, отмеченное примерно на (А) 16-е сутки, (Б) 18-е сутки, (В) 22-е сутки и (Г) 28-е сутки. (По Crelin 1961).

Региональная спецификация энтодермы

(Gilbert, 2003)



Формирование энтодермальных зачатков головного отдела млекопитающего (Gilbert, 2003)



Гепатогенез (формирование клеток, составляющие печень)

Печень

- самая большая железа в теле позвоночных. У человека она составляет около 2,5% от массы тела, в среднем 1,5 кг у взрослых мужчин и 1,2 кг у женщин. Печень расположена в правой верхней части брюшной полости; она прикрепляется связками к диафрагме, брюшной стенке, желудку и кишечнику и покрыта тонкой фиброзной оболочкой - глиссоновой капсулой. Печень - мягкий, но плотный орган красно-коричневого цвета и состоит обычно из четырех долей: большой правой доли, меньшей левой и гораздо меньших хвостатой и квадратной долей, образующих заднюю нижнюю поверхность печени.

Функции печени

- Печень участвует в регуляции уровня глюкозы (сахара) в крови. Если этот уровень возрастает, клетки печени превращают глюкозу в гликоген (вещество, сходное с крахмалом) и депонируют его. Если же содержание глюкозы в крови падает ниже нормы, гликоген расщепляется и глюкоза поступает в кровоток. Кроме того, печень способна синтезировать глюкозу из других веществ, например аминокислот; этот процесс называется глюконеогенезом.

ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ

- Еще одна функция печени - детоксикация. Лекарства и другие потенциально токсичные соединения могут превращаться в клетках печени в водорастворимую форму, что позволяет их выводить в составе желчи; они могут также подвергаться разрушению либо конъюгировать (соединяться) с другими веществами с образованием безвредных, легко выводящихся из организма продуктов. Некоторые вещества временно откладываются в клетках Купфера (специальных клетках, поглощающих чужеродные частицы) или в иных клетках печени. Клетки Купфера особенно эффективно удаляют и разрушают бактерии и другие инородные частицы. Благодаря им печень играет важную роль в иммунной защите организма. Обладая густой сетью кровеносных сосудов, печень служит также резервуаром крови (в ней постоянно находится около 0,5 л крови) и участвует в регуляции объема крови и кровотока в организме.

Функции печени

- В целом печень выполняет более 500 различных функций, и ее деятельность пока не удается воспроизвести искусственным путем. Удаление этого органа неизбежно приводит к смерти в течение 1-5 дней. Однако у печени есть громадный внутренний резерв, она обладает удивительной способностью восстанавливаться после повреждений, поэтому человек и другие млекопитающие могут выжить даже после удаления 70% ткани печени.

ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ

- Все питательные вещества, всасываемые в кровь из пищеварительного тракта, - продукты переваривания углеводов, белков и жиров, минералы и витамины - проходят через печень и в ней перерабатываются. При этом часть аминокислот (фрагментов белков) и часть жиров превращаются в углеводы, поэтому печень - крупнейшее "депо" гликогена в организме. В ней синтезируются белки плазмы крови - глобулины и альбумин, а также протекают реакции превращения аминокислот (дезаминирование и переаминирование). Дезаминирование - удаление азотсодержащих аминогрупп из аминокислот - позволяет использовать последние, например, для синтеза углеводов и жиров. Переаминирование - это перенос аминогруппы от аминокислоты на кетокислоту с образованием другой аминокислоты. В печени синтезируются также кетоновые тела (продукты метаболизма жирных кислот) и холестерин.

Строение печени

- Сложная структура печени прекрасно приспособлена для выполнения ее уникальных функций. Доли состоят из мелких структурных единиц - долек. В печени человека их насчитывается около ста тысяч, каждая 1,5-2 мм длиной и 1-1,2 мм шириной. Долька состоит из печеночных клеток - гепатоцитов, расположенных вокруг центральной вены. Гепатоциты объединяются в слои толщиной в одну клетку - т.н. печеночные пластинки. Они радиально расходятся от центральной вены, ветвятся и соединяются друг с другом, формируя сложную систему стенок; узкие щели между ними, наполненные кровью, известны под названием синусоидов. Синусоиды эквивалентны капиллярам; переходя один в другой, они образуют непрерывный лабиринт. Печеночные дольки снабжаются кровью от ветвей воротной вены и печеночной артерии, а образующаяся в дольках желчь поступает в систему канальцев, из них - в желчные протоки и выводится из печени.

Строение печени

- Воротная вена печени и печеночная артерия обеспечивают печень необычным, двойным кровоснабжением. Обогащенная питательными веществами кровь из капилляров желудка, кишечника и нескольких других органов собирается в воротную вену, которая вместо того, чтобы нести кровь к сердцу, как большинство других вен, несет ее в печень. В дольках печени воротная вена распадается на сеть капилляров (синусоидов). Термин "воротная вена" указывает на необычное направление транспорта крови из капилляров одного органа в капилляры другого (сходную систему кровообращения имеют почки и гипофиз)

Строение печени

- Второй источник кровоснабжения печени, печеночная артерия, несет обогащенную кислородом кровь от сердца к наружным поверхностям долек. Воротная вена обеспечивает 75-80%, а печеночная артерия 20-25% общего кровоснабжения печени. В целом за минуту через печень проходит около 1500 мл крови, т.е. четверть сердечного выброса. Кровь из обоих источников попадает в конечном итоге в синусоиды, где смешивается и идет к центральной вене. От центральной вены начинается отток крови к сердцу через долевые вены в печеночную (не путать с воротной веной печени).

Строение печени

- Если у человека печень имеет 2 главные доли, то у других млекопитающих эти доли могут подразделяться на более мелкие, и есть виды, у которых печень состоит из 6 и даже 7 долей. У змей печень представлена одной удлиненной долей. Печень рыб относительно велика; у тех рыб, которые используют печеночный жир для увеличения плавучести, она представляет большую экономическую ценность вследствие значительного содержания жиров и витаминов. Многие млекопитающие, например киты и лошади, и многие птицы, например голуби, лишены желчного пузыря; однако он имеется у всех пресмыкающихся, земноводных и большинства рыб, за исключением нескольких видов акул.

Желчный пузырь

- Желчь секретируется клетками печени в мельчайшие каналцы между клетками - желчные капилляры. По внутренней системе каналцев и протоков она собирается в желчный проток. Часть желчи направляется прямо в общий желчный проток и изливается в тонкий кишечник, но большая часть по пузырному протоку возвращается на хранение в желчный пузырь - небольшой мешочек с мышечными стенками, прикрепленный к печени. Когда пища поступает в кишечник, желчный пузырь сокращается и выбрасывает содержимое в общий желчный проток, открывающийся в двенадцатиперстную кишку. Печень человека производит около 600 мл желчи в сутки.

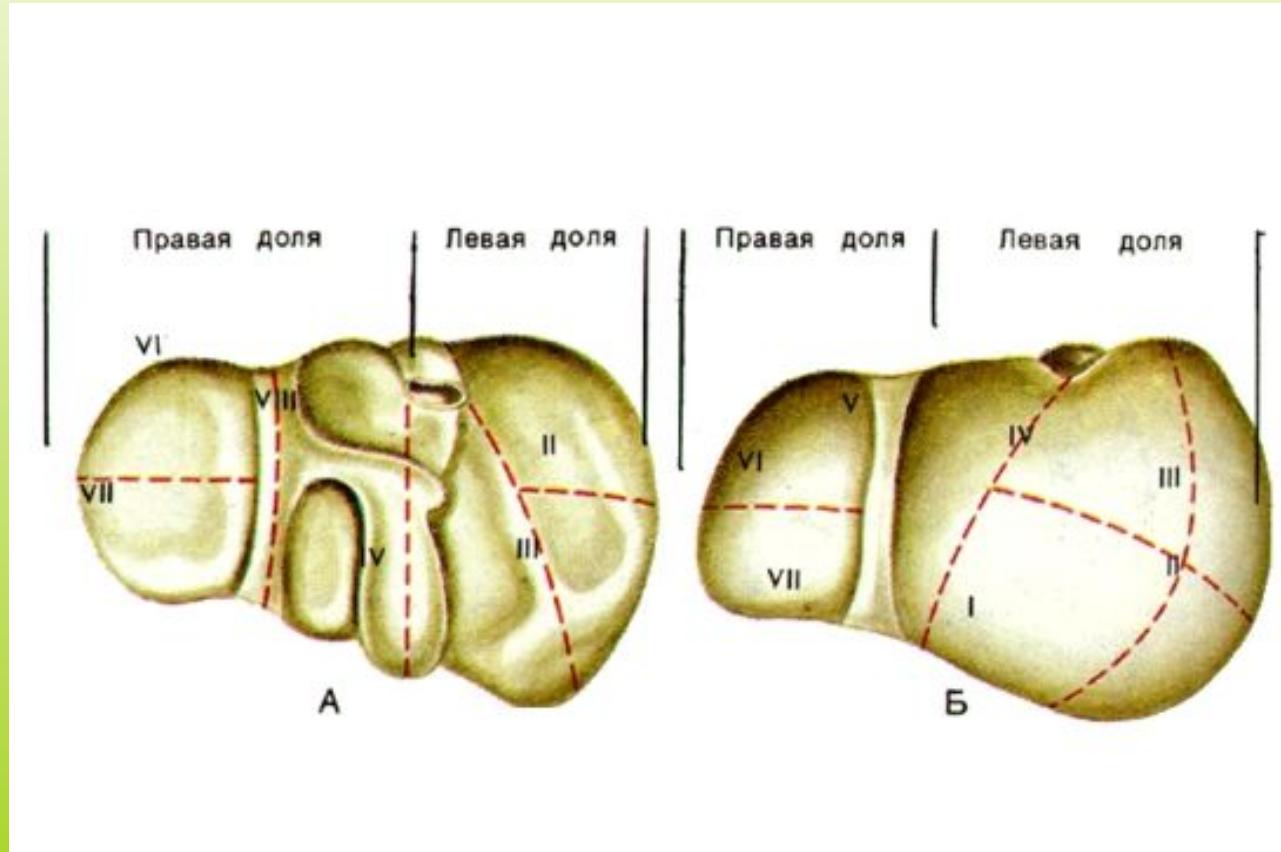
Желчь, вырабатываемая печенью

- Печень - необходимый для жизни орган со множеством различных функций. Одна из главных - образование и выделение желчи, прозрачной жидкости оранжевого или желтого цвета. Желчь содержит кислоты, соли, фосфолипиды (жиры, содержащие фосфатную группу), холестерин и пигменты. Соли желчных кислот и свободные желчные кислоты эмульгируют жиры (т.е. разбивают на мелкие капельки), чем облегчают их переваривание; превращают жирные кислоты в водорастворимые формы (что необходимо для всасывания как самих жирных кислот, так и жирорастворимых витаминов А, D, Е и К); обладают антибактериальным действием.

Сегментарное строение печени

- **Сегментарное строение печени.**
- В связи с развитием хирургии и развитием гепатологии в настоящее время создано учение о сегментарном строении печени, которое изменило прежнее представление о делении печени только на доли и дольки.
- Как отмечалось, в печени имеется **пять трубчатых систем**: 1) желчные пути, 2) артерии, 3) ветви воротной вены (портальная система), 4) печеночные вены (кавальная система) и 5) лимфатические сосуды.
- Портальная и кавальная системы вен не совпадают друг с другом, а остальные трубчатые системы сопровождают разветвления воротной вены, идут параллельно друг другу и образуют сосудисто-секреторные пучки, к которым присоединяются и нервы. Часть лимфатических сосудов выходит вместе с печеночными венами.
- **Сегмент печени** — это пирамидальный участок ее паренхимы, прилегающий к так называемой печеночной триаде: ветвь воротной вены 2-го порядка, сопутствующая ей ветвь собственной печеночной артерии и соответствующая ветвь печеночного протока.

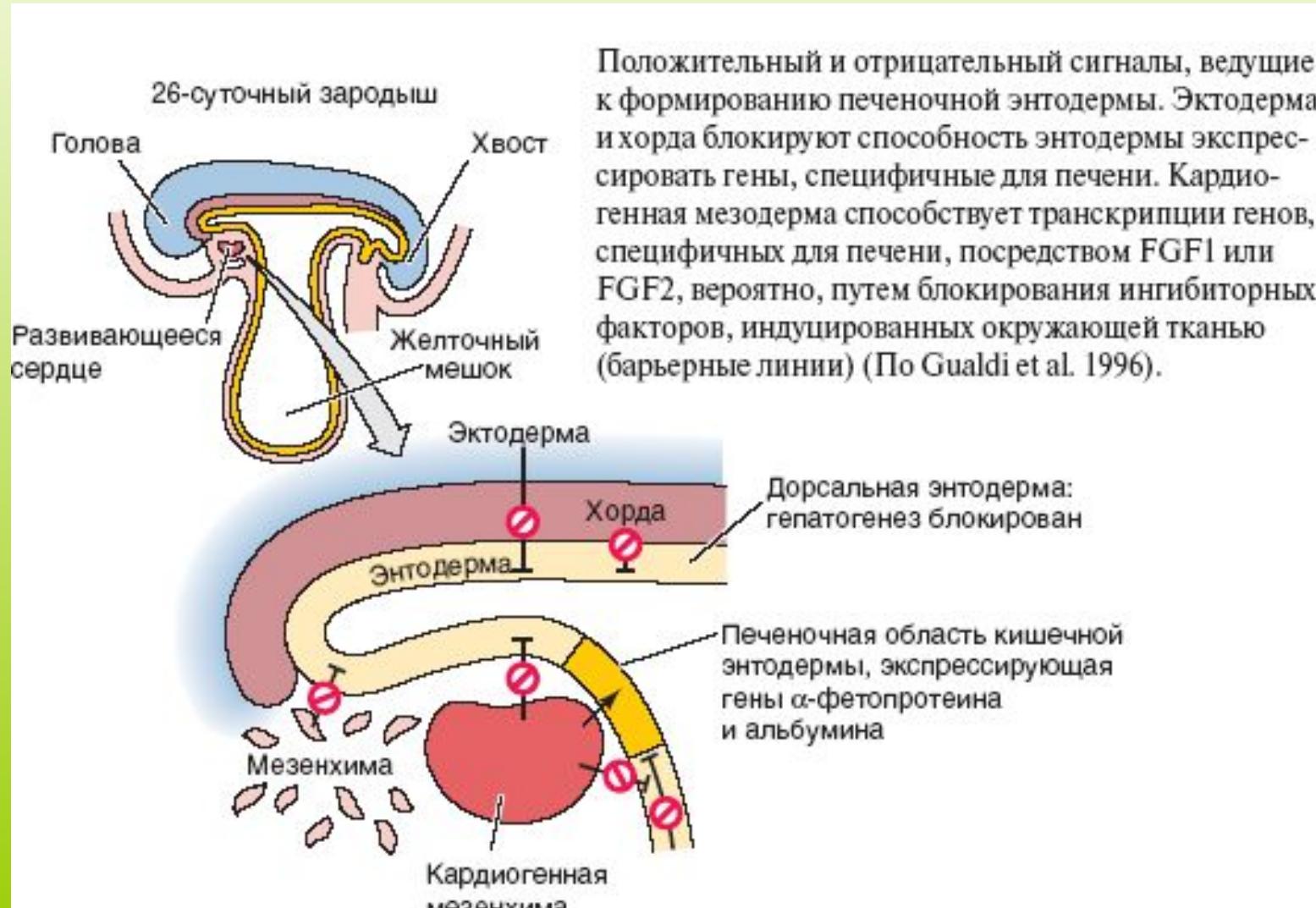
Сегмент печени – это пирамидальный участок её паренхимы, прилегающий к так называемой печёночной триаде: ветвь воротной вены 2-го порядка, сопутствующая ей ветвь печёночной артерии и соответствующая ветвь печёночного протока



Сегментарное строение печени

- Сегменты, группируясь по радиусам вокруг ворот печени, входят в более крупные самостоятельные участки печени, **называемые зонами, или секторами**. Различают пять таких секторов.
- 1. Левый латеральный сектор соответствует II сегменту (моносегментарный сектор).
2. Левый парамедианный сектор образован III и IV сегментами.
3. Правый парамедианный сектор составляют V и VIII сегменты.
4. Правый латеральный сектор включает VI и VII сегменты.
5. Левый дорсальный сектор соответствует I сегменту (моносегментарный сектор).
- **Сегменты печени формируются** уже в утробном периоде и ясно выражены к моменту рождения. Учение о сегментарном строении печени углубляет прежнее представление о делении ее только на доли и дольки.

Начальные стадии образования печени млекопитающих (Gilbert, 2003)

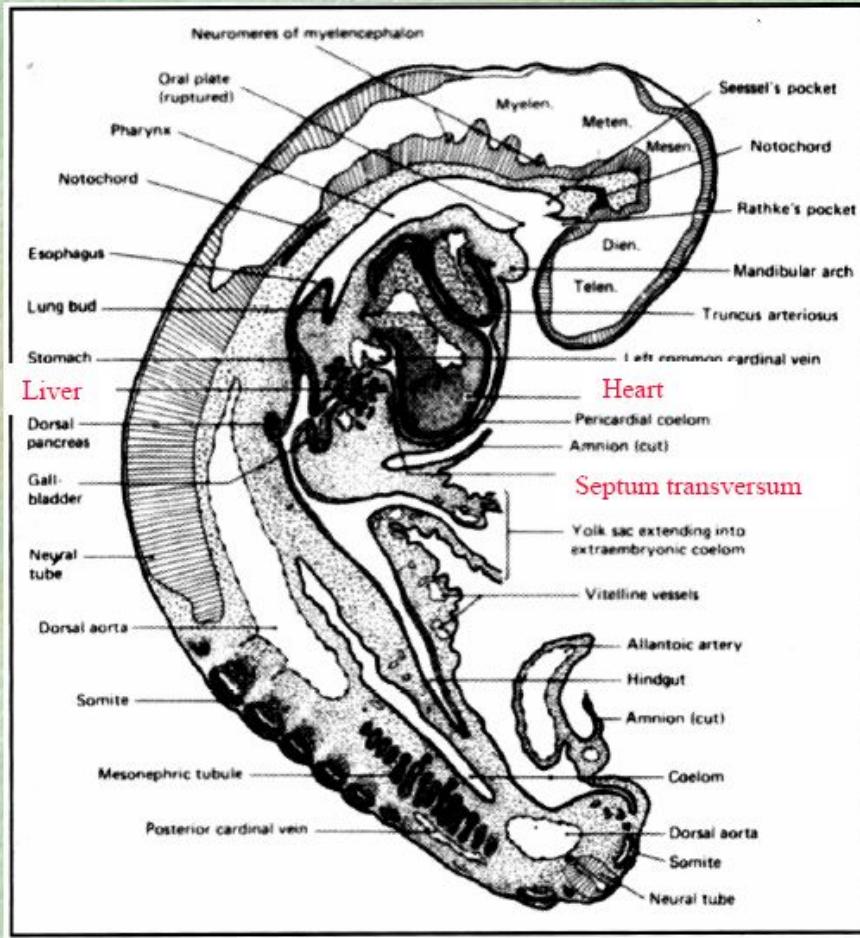


Early liver morphogenesis

- ❖ Liver is derived from **endoderm**.
- ❖ It forms from a diverticulum (bud) which branches out from the primitive gut.
- ❖ The pancreas develops dorsally, while the liver bud develops ventrally.
- ❖ The liver metabolises nutrients absorbed from the gut. Therefore first organ to receive intake.
- ❖ It removes toxic compounds which are absorbed by modifying them so they are soluble.

Proximity of developing liver (gut endoderm) and cardiac mesoderm

G. Yeoh



Cardiac mesoderm is necessary for liver formation

❖ In mid 1960's Le Douarin developed a model using cultured fragments of tissue from chick embryos.

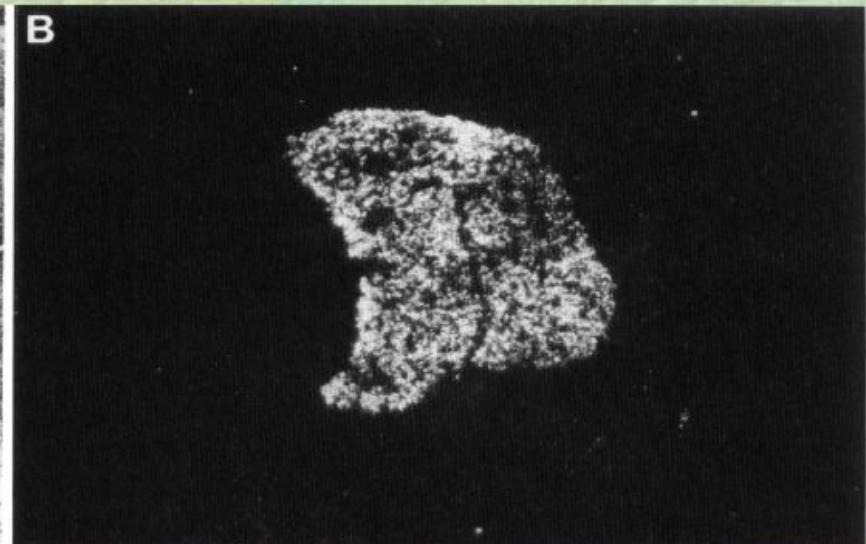
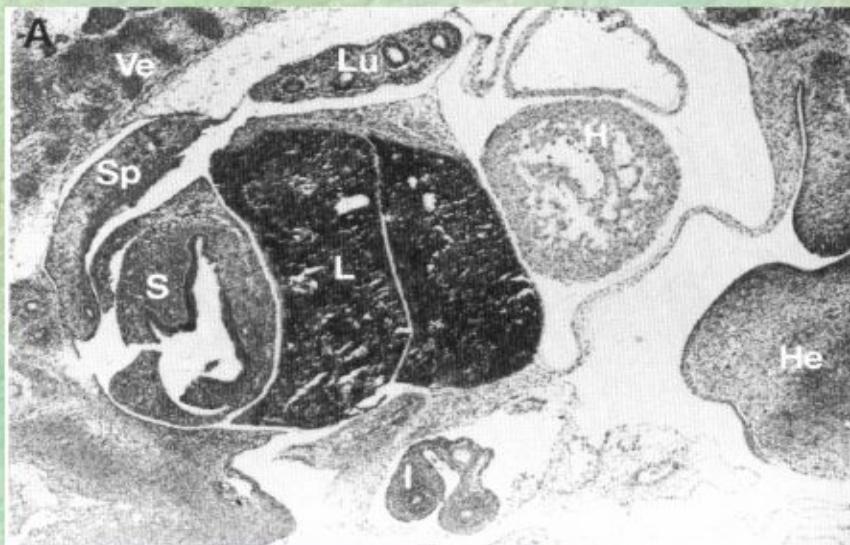
- Piece of primitive gut (endoderm) cannot develop into liver by itself.
- Requires interaction with cardiac mesoderm to produce glycogen storing hepatocytes.
- A physical barrier between the two fragments would block hepatogenesis.

Zaret & coworkers using a mouse model and current molecular and cell biology techniques established the following:

- ❖ Endoderm is capable of synthesising alpha-fetoprotein.
- ❖ Albumin expression in endoderm coincides with the appearance of the first hepatoblasts, therefore Alb mRNA is used as marker for first hepatocytes.
- ❖ In the mouse, liver forms from ventral endoderm at between the 4-6 somite (8-8.5d) and the 7-8 somite (9-9.5d) stage.
- ❖ Endoderm cells harbour large numbers of aFGF receptors and aFGF can substitute for cardiac mesoderm in a culture model.

G. Yeoh

Albumin mRNA expression visualised by in situ hybridisation in whole embryo



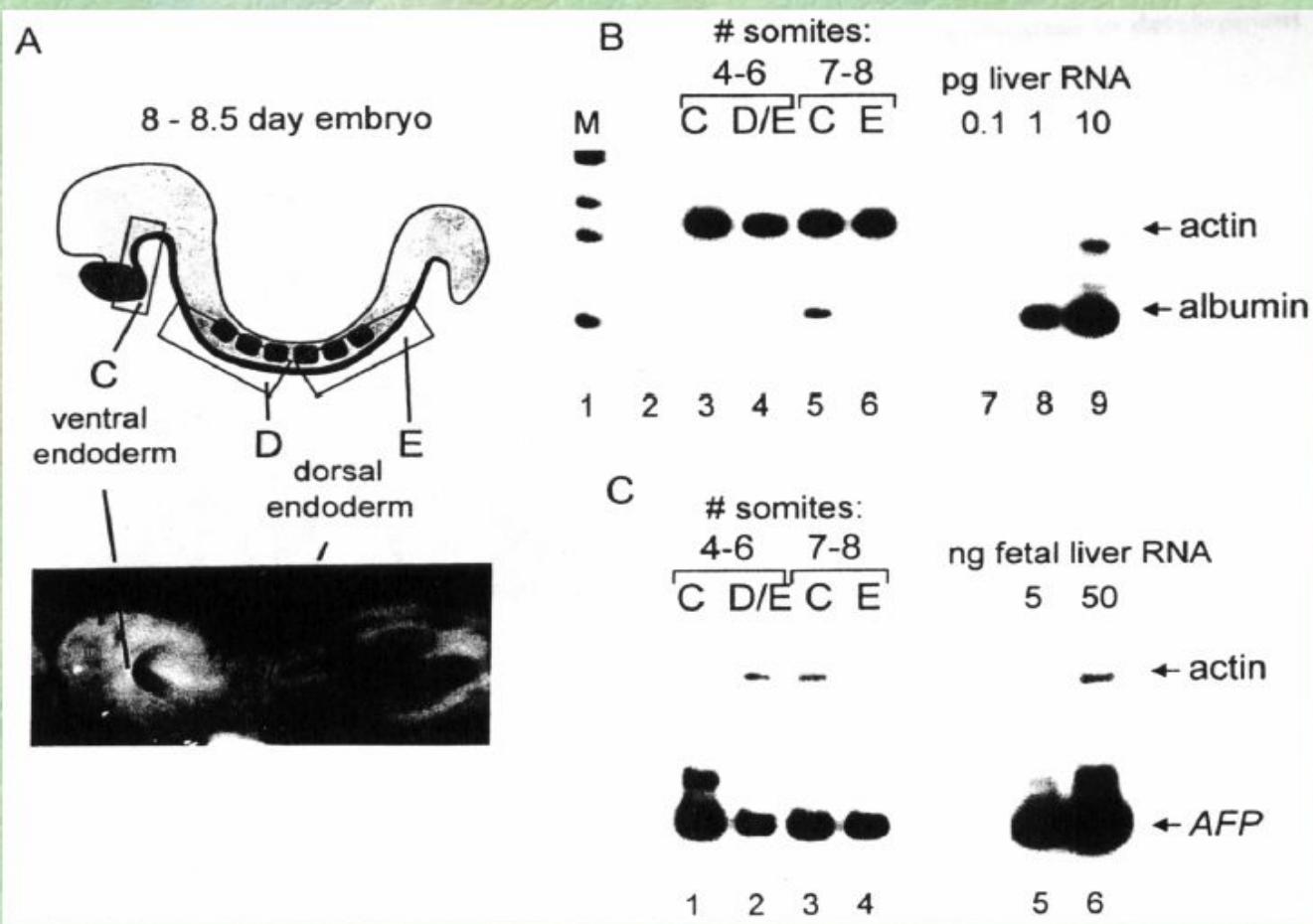
Why in situ hybridisation?

Why not immunohistochemistry?

Analysis of Alb and AFP mRNA transcripts by RT-PCR in segments of embryonic gut endoderm

A&B) Only ventral endoderm at 7-8 somite stage (lane 5) transcribes Alb mRNA.

C) All of endoderm transcribes AFP mRNA



Zaret's findings (cont/d)

- There is a “window of opportunity”, for by day 11.5, the endoderm (gut) can no longer be induced to produce hepatoblasts. It has irreversibly committed to gut.
- Dorsal endoderm in culture will readily differentiate into hepatoblasts (albumin mRNA positive), even in the absence of cardiac mesoderm.
- Explant co-culture experiments suggest that dorsal mesoderm exerts an inhibitory influence on dorsal endoderm which prevents it differentiating into liver and ensures it becomes gut. Hence there are positive and negative “differentiation” factors.

Mesenchyme interaction is necessary for liver development

- ❖ The septum transversum (ST) is mesenchyme which comes from mesoderm.
- ❖ It ultimately gives rise to the epicardium and the diaphragm.
- ❖ Several research groups have proposed a role for the ST in liver development.
- ❖ Early experiments provided contradictory data which depended on whether ventral endoderm cultures were contaminated with mesenchymal cells.

Mesenchyme interaction is necessary for liver development

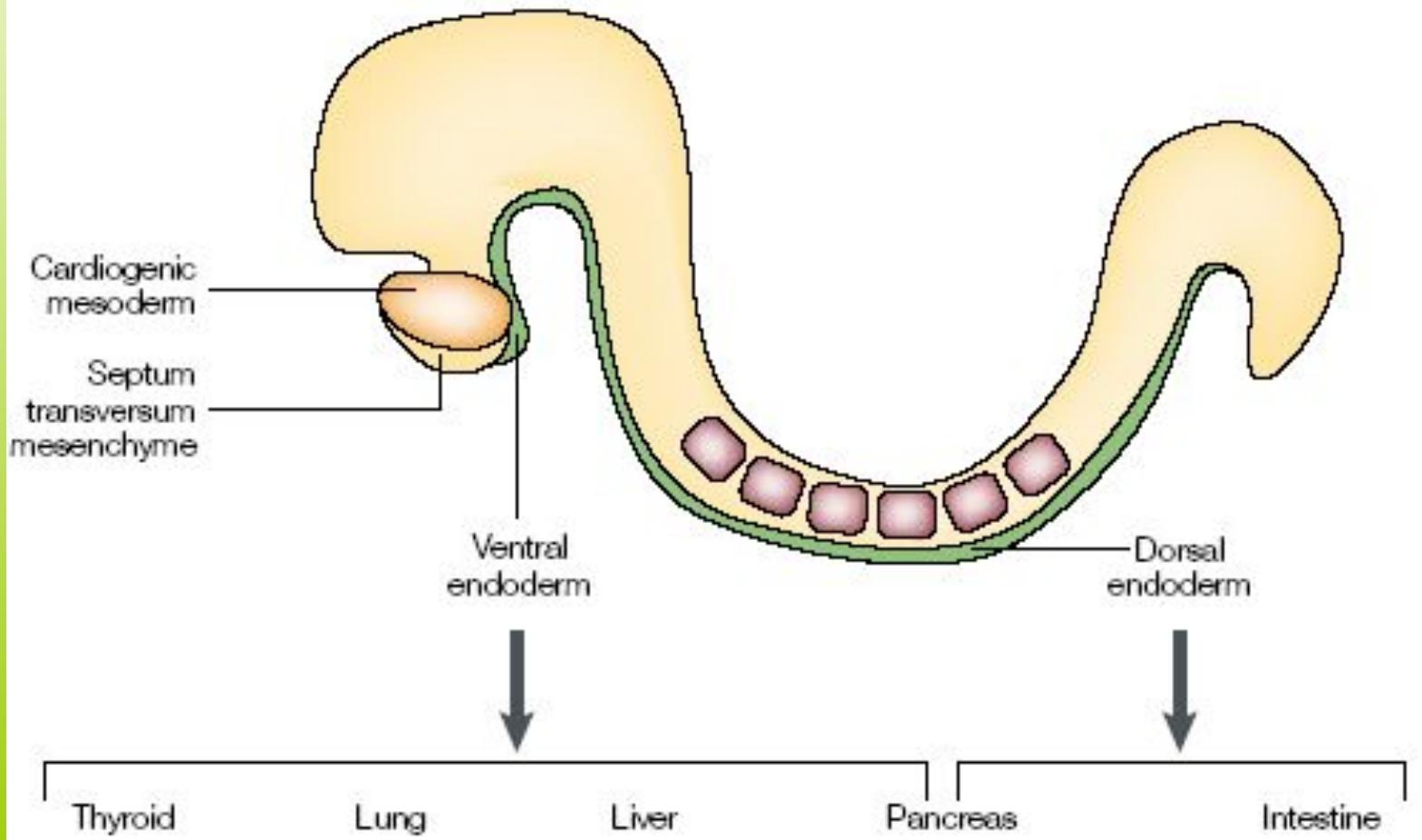
- ❖ The septum transversum (ST) is mesenchyme which comes from mesoderm.
- ❖ It ultimately gives rise to the epicardium and the diaphragm.
- ❖ Several research groups have proposed a role for the ST in liver development.
- ❖ Early experiments provided contradictory data which depended on whether ventral endoderm cultures were contaminated with mesenchymal cells.

Experiments suggesting a role for the ST and Bmp4 in liver development

- ❖ Cultures of ventral endoderm when care was taken to exclude ST cells fail to develop into liver.
- ❖ ST expresses high levels of Bmp4, and the importance of Bmp4 is shown in knock in transgenic mice.
- ❖ Bmp4 $^{--/}$ mice fail to develop a liver bud.
- ❖ Co-cultures of ventral endoderm and cardiac mesoderm exposed to noggin (an antagonist of Bmp4) do not express albumin.

Формирование и паттернирование энтодермы (Zaret, 2004).

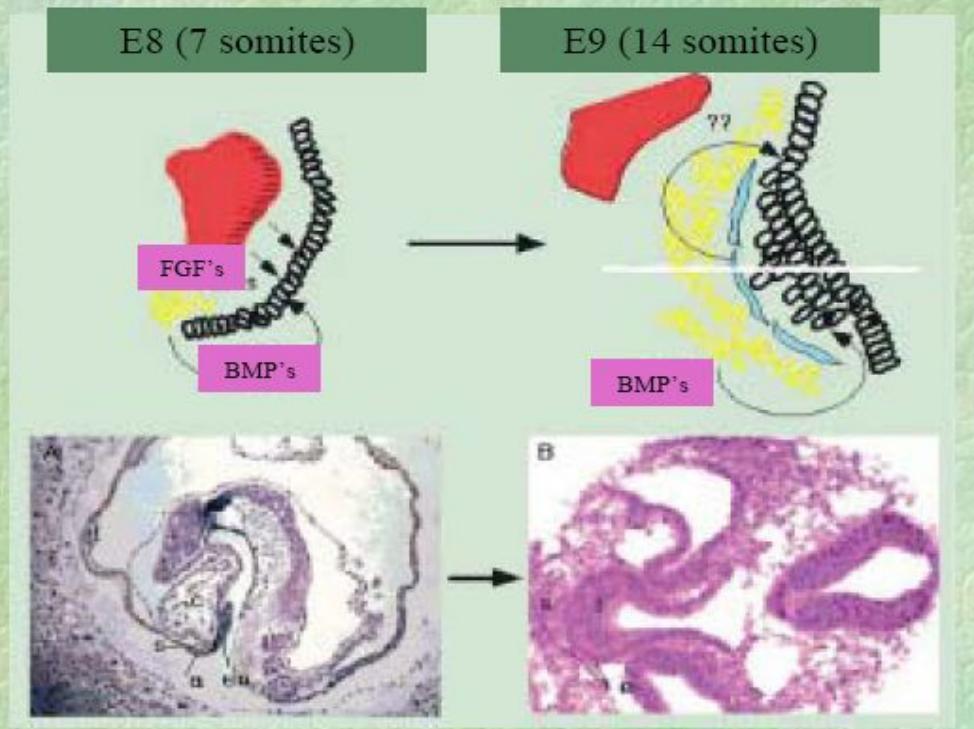
Formation and patterning of the endoderm



Current knowledge of the role of FGF and Bmp4 in liver development

FGF secreted by cardiac mesoderm (red) induces ventral endoderm to produce hepatoblasts.

BMP produced by the septum transversum - primitive epicardium and diaphragm (yellow) converts hepatoblasts to hepatocytes.



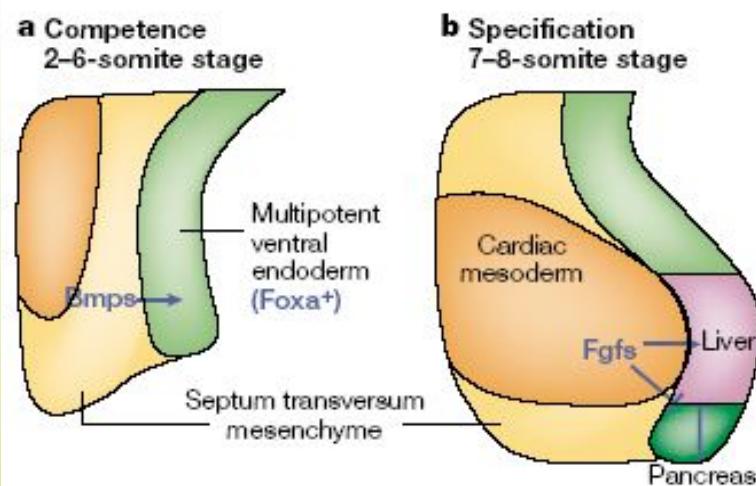


Figure 2 | Signals and tissue interactions that pattern the hepatic domain. **a** | The ventral foregut endoderm gains the competence to develop into various tissues as a result of the expression of transcription factors in the endoderm. These include Foxa proteins, as well as signals that affect the endoderm, including bone morphogenetic proteins (Bmps) that emanate from the adjacent cells of septum transversum mesenchyme (STM). **b** | During tissue specification, fibroblast growth factor (Fgf) signals from the cardiogenic mesoderm, perhaps in conjunction with Bmp signals from the STM, initiate the liver gene programme in proximal endoderm, as well as blocking that for pancreas. Ventral endoderm cells sufficiently distal to the cardiogenic mesoderm escape the latter inhibitory effect and initiate the pancreatic gene programme. Ventral foregut explants were found to initiate liver gene expression, if exposed to cardiogenic mesoderm or Fgfs, or initiate pancreatic gene expression in the absence of such effectors⁷⁰. The ventral endoderm explant studies therefore indicate that the pancreatic programme is the default state for this domain of endoderm.

Сигналы, индуцирующие формирование печени (гепатогенез)(Zaret, 2004).

Развитие зачатка печени (Zaret, 2004).

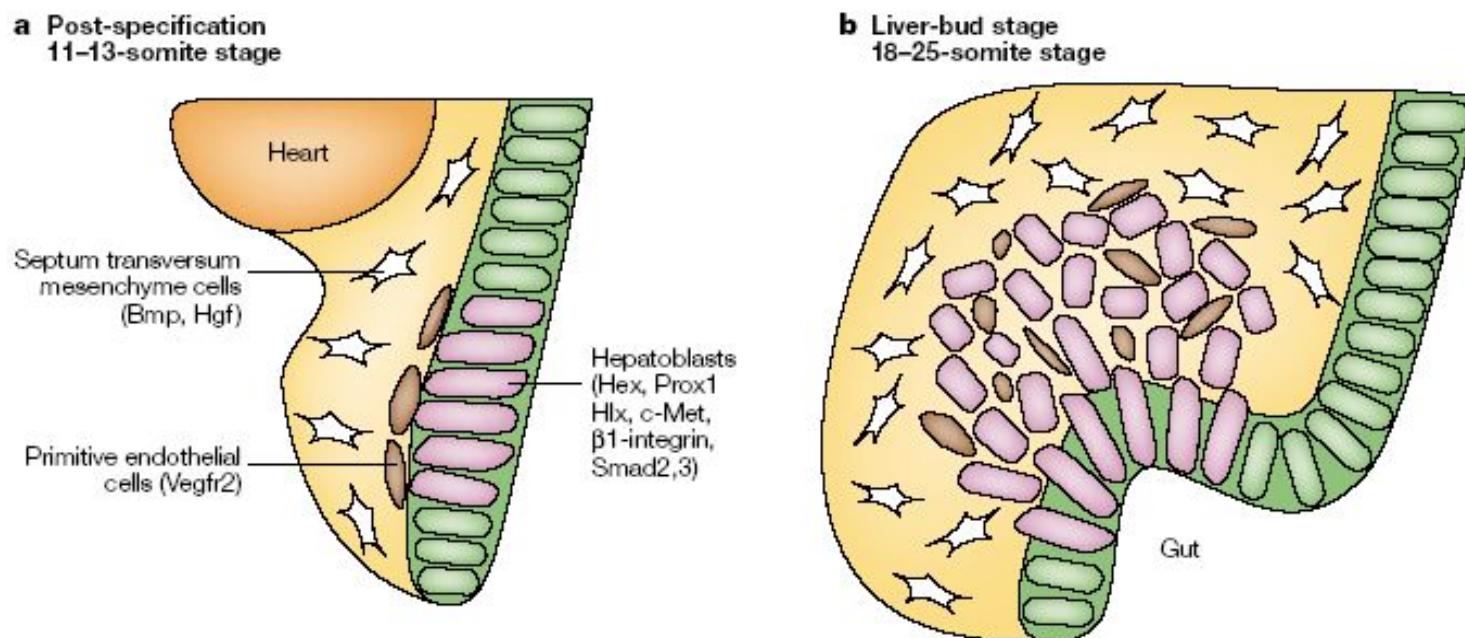
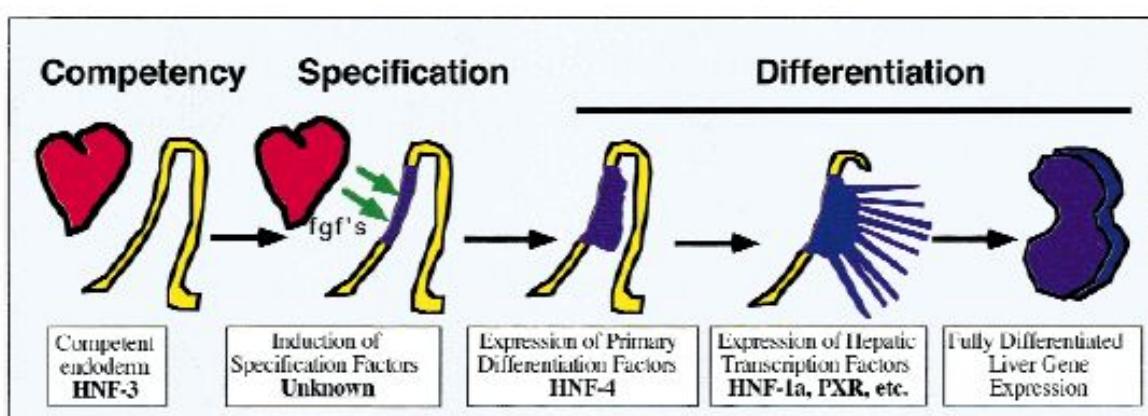
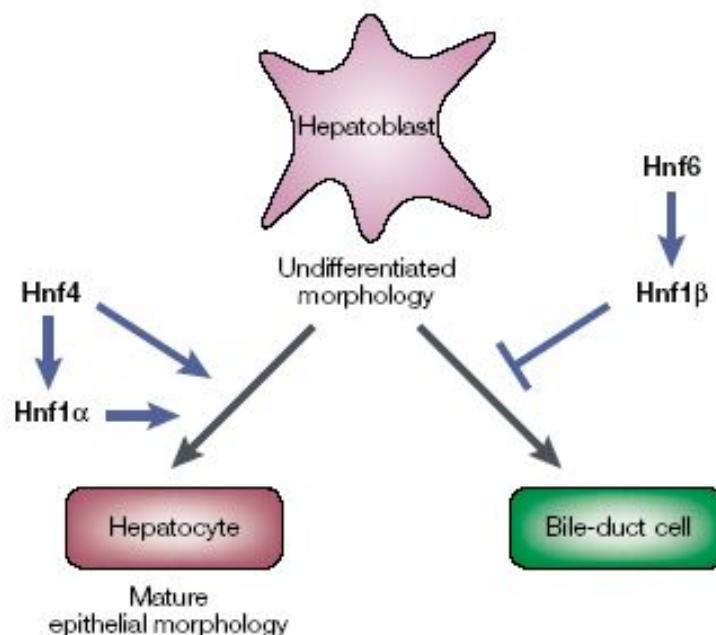


Figure 3 | Development of the liver bud. **a |** After the hepatic endoderm has been specified, it begins to extend towards the midgut. This process is abetted by turning of the embryo from the 'gut out' position (see figure in BOX 1) to the inward curve shown by the typical fetus. At the same time, the hepatic endoderm cells become columnar in shape. These transitions seem to be elicited by signals that specify the endoderm (FIG. 2). Cells such as septum transversum mesenchyme (STM) cells and primitive endothelial cells, signalling molecules (such as Bmp, Hgf and Vegfr2) and transcription factors (such as Hex, Prox1, Hlx and c-Met) are essential to promote the morphogenesis of the liver bud itself (see b). **b |** Liver-bud morphogenesis is marked by the formation of the rostral diverticulum of the gut, remodelling of the extracellular matrix around the hepatoblasts and of E-cadherin-based connections between the cells, and proliferation and migration into the surrounding STM (beige). So, the hepatic endoderm (green) makes a transition from an epithelium to a non-polarized cell type during this period. Primitive endothelial cells, or angioblasts, appear near the hepatoblasts (a) and also promote outgrowth of the latter into the STM. During the outgrowth, the endothelial cells coalesce around spaces in the loose STM and create vesicles that fuse to form blood vessels (not shown). Haematopoietic cells then invade the growing liver and the organ becomes distinct from the gut epithelium. Bmp, bone morphogenetic protein; c-Met, HGF receptor; Hgf, hepatocyte growth factor; Vegfr2, vascular endothelial growth factor receptor 2.

Роль факторов транскрипции в гепатогенезе

Schematic depicting key points during hepatic development and the stage at which specific transcription factors first act. During gastrulation, at ~7.0 days of gestation in the mouse, the definitive endoderm (yellow) is generated from the primitive ectoderm. Both ventral and dorsal aspects of the definitive embryonic endoderm express HNF-3 and are competent to adopt a hepatic fate. By the four- to six-somite stage a ventral portion of the embryonic endoderm (blue) lies close to the developing heart. During hepatic specification, FGFs (fgf's) from the developing cardiac mesoderm (red) induce the underlying endoderm to commit to a hepatic fate. In response to this signal the endodermal cells proliferate, expand into the surrounding septum transversum, and adopt a stellate morphology. At this point these cells are considered hepatoblasts. The hepatoblasts continue to proliferate and begin to differentiate to become mature hepatocyte in a process that requires HNF-4 α .





Дифференцировка гепатоцитов и холангиоцитов (клеток желчных протоков). Показана трансдифференцировка этих клеток (Zaret, 2004).

Figure 4 | Transcriptional cascades that control the differentiation of hepatoblasts into hepatic lineages.

Expression data of marker genes are consistent with hepatocytes and bile duct cells (cholangiocytes) being derived from hepatoblasts^{127,128}, but definitive lineage-marking studies still need to be done. Inactivation of the transcription factor genes shown here leads to defects in differentiation of the corresponding lineages. Hepatocyte nuclear factor 6 (Hnf6) promotes hepatocyte over biliary development by activating Hnf1 β ¹³², which, in turn, seems to attenuate early biliary-cell commitment¹³³. Significantly, these genes also positively control the later differentiation of biliary epithelia and the morphogenesis of bile ducts and of the gall bladder. Hnf4 directly promotes hepatocyte gene expression and the formation of hepatocyte epithelial morphology, independently of Hnf1 α and by its activation¹⁴⁶⁻¹⁵⁰. Hnf1 α and Hnf1 β are highly related homeodomain proteins that control overlapping but non-identical gene sets in hepatoblasts and hepatocytes¹³³.