

# Razvoj zametnih listića i signali centri kod miševa

---

**Biočić, Josip**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2023**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:708850>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-23**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Josip Biočić

**Razvoj zametnih listića i signali centri kod  
miševa**

Završni rad

Zagreb, 2023.

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Josip Biočić

**Development of germ layers and signaling  
centers in mice**

Bachelor thesis

Zagreb, 2023.

---

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Molekularne biologije na Zoologijskom zavodu Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom izv.prof.dr.sc. Romane Gračan.

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Završni rad

## Razvoj zametnih listića i signalni centri kod miševa

Josip Biočić

Horvatovac 102 A, 10000 Zagreb, Hrvatska

U ovom radu analiza napravljen je pregled dosadašnjih istraživanja i saznanja vezanih uz razvoj zametnih listića i signalnih centara kod miševa. Razvoj ovih ključnih bioloških procesa ima važan utjecaj na embriogenezu miševa te pruža dublje razumijevanje fundamentalnih mehanizama razvoja organizama. Proučavaju se faze embrionalnog razvoja miševa, mehanizmi diferencijacije stanica u zametnim listićima i uloga specifičnih signalnih centara tijekom embriogeneze. Genetske osnove razvoja zametnih listića istražuju se kroz analizu ključnih regulatornih gena. Zaključno, raspravlja se o rezultatima istraživanja i daje preporuke za daljnja istraživanja koja bi doprinijela produbljivanju saznanja o razvoju zametnih listića i signalnih centara kod miševa.

Ključne riječi:

(35 stranica, 2 slike, 18 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski jezik)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: Romana Gračan

# BASIC DOCUMENTATION CARD

---

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Bachelor thesis

## Development of germ layers and signaling centers in mice

Josip Biočić

Horvatovac 102 A, 10000 Zagreb, Hrvatska

This study explores the fundamental issues related to the development of germ layers and signaling centers in mice. The development of these crucial biological processes plays a significant role in mouse embryogenesis and provides deeper insights into the fundamental mechanisms of organism development. The study examines the stages of embryonic development in mice, mechanisms of cell differentiation in germ layers, and the role of specific signaling centers during embryogenesis. The genetic basis of germ layer development is investigated through the analysis of key regulatory genes. In conclusion, the research findings are discussed, and recommendations for further studies contributing to a better understanding of primordial bud and signaling center development in mice are provided.

### Keywords:

(35 pages, 2 figures, 18 references, original in: croatian language)  
Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: Romana Gračan

## SADRŽAJ:

1. UVOD.....	1
2. EMBRIOGENEZA MIŠEVA.....	2
2.1 Uloga zametnih listića u razvoju embrija.....	5
2.2 Faze embrionalnog razvoja miševa.....	7
2.3 Mehanizmi diferencijacije stanica u zametnim listićima.....	11
2.4 Utjecaj vanjskih čimbenika na razvoj zametnih listića.....	13
3. SIGNALNI CENTRI U RAZVOJU MIŠEVA.....	14
3.1 Identifikacija i uloga specifičnih signalnih centara kod miševa.....	18
3.2. Međusobna interakcija signalnih centara tijekom embriogeneze.....	18
4. GENETSKE OSNOVE RAZVOJA ZAMETNIH LISTIĆA I SIGNALNIH CENTARA.....	20
4.1 Ključni regulatorni geni u razvoju zametnih listića.....	24
4.2 Ekspresija gena tijekom embriogeneze miševa.....	26
4.3 Uloga gena u formiranju signalnih centara i njihovoj funkciji.....	27
5. RASPRAVA.....	29
5.1. Preporuke za daljnja istraživanja o razvoju mišjih zametnih listića.....	30
6. ZAKLJUČAK.....	31
7. LITERATURA.....	33
8. ŽIVOTOPIS.....	35

## 1. UVOD

U procesu embriogeneze sisavaca, razvoj zametnih listića i signalnih centara predstavlja ključni aspekt koji duboko oblikuje složen put formiranja funkcionalnih organa i sustava unutar organizma. Ovaj fascinantni proces, koji seže unatrag do najranijih faza razvoja, iznimno je osjetljiv na pažljivo usklađene biološke interakcije i signalne puteve. Razumijevanje mehanizama koji stoje iza ovog razvoja nije samo temeljno za biološke znanosti, već ima i značajne implikacije za medicinske primjene i terapije.

Ovaj rad usmjeren je na analizu dublje problematike vezane uz razvoj zametnih listića i signalnih centara kod miševa te istražuje njihovu ključnu ulogu u embriogenezi miševa. Središnja svrha ovog istraživanja je razotkriti temeljne biološke mehanizme koji upravljaju ovim ključnim fazama razvoja. Kroz preciznu analizu faza embrionalnog razvoja miševa, od samih početaka do faze organogeneze, te istraživanje mehanizama diferencijacije stanica unutar zametnih listića, cilj je dobiti dublje razumijevanje ovog iznimno važnog procesa.

Razvoj zametnih listića predstavlja ključni korak u embriogenezi. Ti rani embrionalni strukturni elementi usmjereni su prema formiranju budućih organa i tkiva, a njihova precizna organizacija i interakcije imaju dalekosežne posljedice za zdrav razvoj organizma. Posebna pažnja posvećuje se ulozi signalnih centara tijekom ovog procesa. Oni djeluju kao dirigenti, koordinirajući stanične interakcije i komunikaciju unutar embrija. Analizom ovih signalnih centara, istraživači pokušavaju razumjeti kako su precizno usmjereni i regulirani, te kako utječu na sudbinu i diferencijaciju stanica. Nadalje, genetske osnove razvoja zametnih listića i signalnih centara ključne su za razumijevanje ove teme. Analiza ključnih regulatornih gena pruža uvid u mehanizme genetske kontrole koji upravljaju ovim procesima. Otkrivanje ovih gena i njihovih interakcija može osvijetliti ključne točke u regulaciji embrionalnog razvoja i doprinijeti dublje razumijevanju evolucijski konzerviranih procesa.



U skladu s tim, ovaj rad donosi sveobuhvatan pregled relevantne literature koja se bavi razvojem zametnih listića i signalnih centara kod miševa. Kroz analizu prethodnih istraživanja, teoretskih okvira i rezultata, rad kontekstualizira vlastite spoznaje i doprinosi postojećem tijelu znanja. U radu se ističe da je razvoj zametnih listića i signalnih centara ključni događaj u embriogenezi miševa, sa širim implikacijama za razumijevanje razvoja organizama općenito. Analizom ovog procesa otvaraju se putevi za dublje razumijevanje evolucijski konzerviranih mehanizama i interakcija unutar embrija. Daljnja istraživanja u ovom području ne samo da će doprinijeti temeljitijem razumijevanju fiziologije embriogeneze miševa, već će također postaviti osnove za primjenu ovih spoznaja u medicinskim i terapijskim kontekstima.

## 2. EMBRIOGENEZA MIŠEVA

Razvoj mišje embriogeneze predstavlja složen i fascinantan proces koji leži u osnovi formiranja organizma sisavaca. Ovaj iznimno regulirani niz događaja, pokreće se nakon oplodnje jajne stanice i rezultira stvaranjem raznolikih i visoko organiziranih tkiva i organa unutar embrija. Embriogeneza miševa predstavlja dragocjen model za proučavanje temeljnih bioloških principa koji se odražavaju u razvoju svih živih organizama.

Oplodnjom mišje jajne stanice, što rezultira stvaranjem zigote, započinje perimplantacijski period razvoja mišjeg embrija (Mihajlović i Bruce, 2017). Ovaj događaj označava početak razvoja novog organizma, gdje se kritični genetički i epigenetski mehanizmi postavljaju kako bi se osigurala pravilna regulacija staničnih događaja. Prva podjela zigota stvara dvije stanice, koje nastavljaju dijeljenje i formiranje blastociste, multicelularne strukture koja se zatim usađuje u zid maternice. Ovaj proces prethodi stvaranju zametnih listića, iz kojih će se kasnije razviti različiti organi (Buljubašić, 2020).

Razvoj zametnih listića, kao ključna faza embriogeneze, igra presudnu ulogu u usmjeravanju budućeg organizma. U ovom razdoblju, stanične populacije počinju diferencirati se

i organizirati kako bi formirale različite tkivne strukture. Shahbazi i Zernicka-Goetz (2018) ističu važnost razvoja zametnih listića u formiranju organa te naglašavaju kako su pravilna organizacija i diferencijacija ovih tkiva od ključne važnosti za pravilno funkcioniranje budućih organa i sustava (Shahbazi i Zernicka-Goetz, 2018).

Dva ključna događaja u razvoju embrija sa osam stanica koji prethode formiranju dviju prostorno različitih populacija stanica i ključni su za prvu odluku o sudbini stanica su kompakcija i polarizacija (Mihajlović i Bruce 2017). Kompakcija je prvi morfogenetski događaj u razvoju mišjeg embrija, tijekom kojeg prvotno sferne blastomere mijenjaju oblik kako se intenzivira međustanični kontakt i stanice se spljošte jedna na drugu (Mihajlović i Bruce 2017). Stanična polarizacija definira se kao strukturalna i funkcionalna asimetrična organizacija staničnih komponenata koja doprinosi staničnoj asimetriji i očuvana je i prenosi se tijekom staničnih dioba (Mihajlović i Bruce 2017).

Signalni centri, druga ključna komponenta embriogeneze, igraju ulogu dirigenta u ovom procesu. Oni djeluju putem različitih signalnih molekula i putova, koordinirajući stanične događaje i osiguravajući pravilnu prostornu i vremensku regulaciju embriogeneze. Analiza ovih signalnih centara omogućava nam bolje razumijevanje mehanizama koji leže u osnovi usmjerenja staničnih interakcija i migracije tokom embrionalnog razvoja (Buljubašić, 2020).

Genetske osnove embriogeneze miševa proučavaju se kroz analizu regulatornih gena. Otkrića o ključnim genima odgovornim za regulaciju diferencijacije stanica, organizaciju tkiva i oblikovanje organa pružaju dublji uvid u genetske mehanizme koji upravljaju ovim procesima. Kroz preciznu analizu ovih gena, istraživači su u mogućnosti razumjeti kako se stanični programi uključuju i isključuju kako bi se stvorili različiti tipovi stanica potrebni za razvoj organa (Smith, 2001).

U okviru procesa embrionalnog razvoja miševa, posebna pažnja posvećuje se fenomenu poznatom kao t-kompleks na trećini mišjeg kromosoma 17. T-haplotip predstavlja varijabilni oblik ovog područja, sadržeći četiri uzastopne inverzije u usporedbi s divljim tipom t-kompleksa. Ovaj t-haplotip povezan je s mnogim recesivnim letalnim mutacijama, poznatim kao t-kompleks

letalne mutacije, koje su otkrivene tijekom detaljnih fenotipskih analiza. Zanimljivo je da su funkcije t-letalnih gena usko povezane s ključnim događajima u embrionalnom razvoju miševa. Rane studije t-haplotipa otkrile su snažno suzbijanje rekombinacije unutar šireg područja koje je povezano s karakterističnim fenotipom bez repa. Ovo potisnuto područje rekombinacije protezalo se od područja centromere do distalnog dijela glavnog kompleksa histokompatibilnosti (MHC-a). Artzt i njegovi kolege identificirali su veliku inverziju u distalnoj polovici t-haplotipa, a konačno su četiri neprekidne uzastopne inverzije definirale potpuni t-haplotip, iako se precizne granice još uvijek istražuju. Unatoč genetičkoj izolaciji t-haplotipa od mišjeg genoma zbog potisnute rekombinacije, procjenjuje se da t-haplotip postoji u populaciji miševa već više od milijun godina. To je rezultiralo akumulacijom različitih mutacija unutar t-haplotipa. Ovaj složeni genetički fenomen t-kompleksa dodatno obogaćuje naše razumijevanje embrionalnog razvoja miševa te ukazuje na važnost molekularnih i genetičkih procesa koji reguliraju ovu evolucijski očuvanu karakteristiku (Sugimoto, 2014).

Važno je istaknuti da analiza relevantne literature, poput informacija dostupnih putem Nacionalnog Centra za Biotehnoške Informacije (NCBI) i Informacijskog Sustava Genoma Miša (MGI), osigurava kvalitetu i pouzdanost istraživanja. Pravilno citiranje izvora temeljno je za očuvanje znanstvene integriteta i potvrđivanje točnosti informacija koje se koriste za razumijevanje procesa embriogeneze miševa. Razvoj mišje embriogeneze predstavlja ključan model za razumijevanje osnovnih bioloških principa. Kroz daljnja istraživanja, koja se temelje na dubokom razumijevanju zametnih listića, signalnih centara i genetskih osnova ovih procesa, možemo se nadati otkrićima koja će unaprijediti naše znanje o embriogenezi miševa. To će pridonijeti razvoju novih terapija i tehnologija, te otvoriti put za primjenu ovih spoznaja u medicinskim kontekstima.

## 2.1 Uloga zametnih listića u razvoju embrija

Uloga zametnih listića u procesu embriogeneze miševa predstavlja ključnu komponentu koja oblikuje put formiranja složenih i funkcionalnih organizama sisavaca. Ti listići, koji se razvijaju iz zigote nakon oplodnje jajne stanice, postavljaju temelje za razvoj raznolikih tkiva i organa unutar embrija. Kroz precizno usklađene biološke interakcije i regulacijske mehanizme, ovi listići vode diferencijaciju stanica i organizaciju tkiva, čime osiguravaju pravilno oblikovanje organizma.

U ranim stadijima embrionalnog razvoja, nastaje zigota - prva stanica nove jedinke. Taj trenutak označava početak procesa embriogeneze, gdje su ključni genetički i epigenetski mehanizmi postavljeni kako bi regulirali niz staničnih događaja. Kroz niz podjela, zigota postaje blastocista, višestanična struktura koja se usađuje u stijenku maternice. Heterogenost među stanicama također utječe na drugu odluku o sudbini stanica, a kada su sve tri preimplantacijske stanične linije razdvojene, blastocista ulazi u maternicu i izlazi iz zone pellucide. Ovaj proces predstavlja ključnu fazu razvoja mišjeg embrija i omogućuje embrionalnim stanicama da se postave za daljnji razvoj i diferencijaciju (Bedzhov i sur. 2014). Nakon implantacije dolazi do formacije zametnih listića. Ti listići, odnosno endoderm, mezoderm i ektoderm, igraju ključnu ulogu u oblikovanju budućih tkiva i organa. Rani embriji miševa u fazi prve podjele su izrazito prilagodljivi i mogu podnijeti vanjski izazov kao što su eksperimentalno uklanjanje, dodavanje i slično (Mihajlović i Bruce 2017). Zigota prolazi kroz niz podjela kako bi postala blastocista, višestanična struktura koja će se kasnije usađivati u stijenku maternice. Ovaj ključni proces u razvoju miševa obuhvaća formiranje različitih struktura, uključujući trofoektoderm, unutrašnju masu stanica (ICM) i zametni cilindar, koji su važni za daljnji razvoj. Zametni cilindar, također poznat kao embrioblast, ključna je struktura u ranim stadijima embrionalnog razvoja sisavaca, uključujući miševe. To je skupina stanica unutar blastociste, višestanične strukture koja se formira nekoliko dana nakon oplodnje jajeta. Blastocista ima dvije osnovne komponente: trofoektoderm (koji će se razviti u tkivo posteljice) i embrioblast (ili zametni cilindar). Zametni cilindar, odnosno embrioblast, sastoji se od stanica koje su pluripotentne, što znači da imaju

potencijal za diferencijaciju u različite tipove stanica u organizmu. Ove stanice će kasnije dati podrijetlo svim tkivima i organima budućeg organizma. U ranim fazama razvoja, zametni cilindar je odgovoran za formiranje unutarnjih tkiva embrija.

Prije implantacije, u fazi blastociste, formiraju se različite strukture od kojih svaka ima svoju specifičnu ulogu. Trofoektoderm će se kasnije razviti u placentalno tkivo, što je ključno za podršku rastu i razvoju embrija. ICM, ili unutarnja masa stanica, će se diferencirati u primitivni endoderm i epiblastne stanice, što će dalje voditi formiranju različitih embrionalnih tkiva. Također, treba napomenuti da u ovom procesu igra važnu ulogu i zametni cilindar, što je ključna struktura u ranim fazama razvoja i koja će sudjelovati u interakcijama s maternicom tijekom implantacije.

Ovaj složeni niz događaja u razvoju miševa, iako se razlikuje od čovjeka u terminologiji i fazama, izuzetno je važan za razumijevanje temeljnih procesa u embrionalnom razvoju. Studije na modelnim organizmima poput miševa pružaju dublje uvide u biologiju razvoja i imaju šire implikacije za razumijevanje sličnih procesa kod ljudi. Istraživanje Shahbazija i Zernicka-Goetz (2018) naglašava važnost zametnih listića u razvoju mišjeg embrija. Njihova pravilna organizacija i diferencijacija osiguravaju stvaranje specijaliziranih stanica i tkiva, svaka sa svojom karakterističnom funkcijom. Endoderm će se razviti u unutarnje organe poput dišnih puteva i gastrointestinalnog trakta. Mezoderm će dati potporu mišićima, kostima i krvožilnom sustavu. Ektoderm će dati početne ćelije živčanog sustava, osjetilnih organa i kože (Shahbazi i Zernicka-Goetz, 2018). Inicialno se vjerovalo da će odlučujući faktor za diferencijaciju stanica unutar unutarnje mase stanica (ICM) mišjih embrija biti njihova lokacija unutar embrija. Stanice blizu blastocela trebale bi se diferencirati u primitivni endoderm (PrE), dok bi unutarnje stanice ICM-a trebale dati početak epiblastu (EPI) (Rossant, 1975). Međutim, ova hipoteza dovedena je u pitanje demonstracijom diferencijalne ekspresije transkripcijskih faktora u stanicama ICM-a, kao što su Nanog i Gata6. Ovaj otklon od prvotnog modela sugerira da faktori ekspresije i njihova regulacija igraju ključnu ulogu u određivanju sudbine stanica unutar ICM-a, dodatno

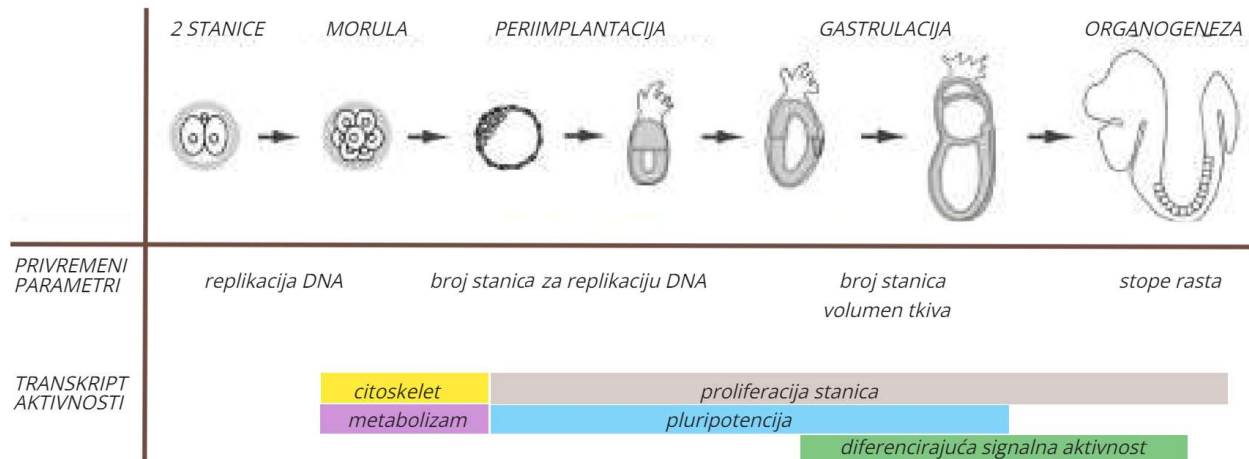
komPLICIRAJUĆI naše razumijevanje uloge zametnih listića u razvoju embrija (Carreiro i sur., 2021).

Razumijevanje genetskih osnova razvoja zametnih listića ključno je za potpuniju sliku ovog procesa. Gilbert (2006) ističe kako regulatorni geni igraju ključnu ulogu u koordinaciji razvoja embrija miševa. Ovi geni djeluju kao prekidači, pokrećući ili blokirajući različite stanične programe. Njihova precizna regulacija osigurava pravilnu diferencijaciju i organizaciju tkiva i organa (Gilbert, 2006).

Integracija kompleksnih procesa formiranja tkiva i organa uz njihovu preciznu koordinaciju putem signalnih centara i genetske regulacije stvara temelje za funkcionalnost budućeg organizma. Ovo razumijevanje ne samo da pridonosi dubljem znanju o biološkim mehanizmima, već također može pružiti nove smjernice za razvoj terapija i medicinskih aplikacija temeljenih na razvoju mišjeg embrija.

## 2.2 Faze embrionalnog razvoja miševa

Faze embrionalnog razvoja miševa predstavljaju kronološki niz precizno usklađenih događaja koji oblikuju buduću organizam. Ovaj dinamičan proces započinje nakon oplodnje jajne stanice i proteže se kroz niz ključnih etapa, svaka s vlastitim karakteristikama i ulogama. Proučavanje ovih faza pruža dublji uvid u osnovne mehanizme embriogeneze miševa te otkriva ključne točke u razvoju organizma.



Slika 1. Faza embrionalnog razvoja miša

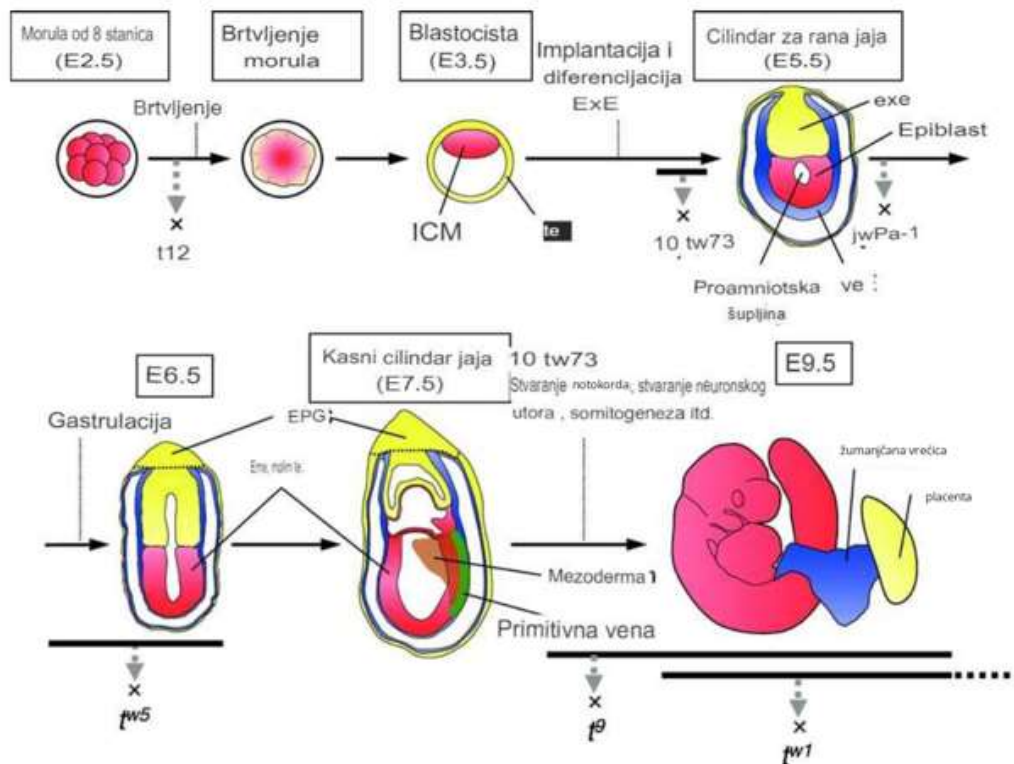
(preuzeto sa: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1084952114001839?via%3Dihub>)

Prva faza embrionalnog razvoja miševa je brazdanje. U preimplantacijskoj fazi razvoja, nakon što dođe do oplodnje unutar jajovoda, zigota se postupno dijeli i oblikuje blastocistu. Blastocista je višestanična struktura koja će kasnije biti usađena u stijenku maternice radi nastavka razvoja. Ključni događaji u ovoj fazi uključuju kompakciju blastomera i formiranje blastociste. Ova brza podjela osigurava pravilan prijenos genetičke informacije na buduće generacije stanica, pripremajući embrij za daljnji razvoj. Nakon implantacije blastociste u maternicu, unutarnja stanična masa raste u šupljini blastociste i formira periimplantacijski epiblast. Ovdje dolazi do preuređenja epiblasta, prvo stvaranjem rozetiranih polariziranih stanica, a zatim organizacijom epitela oko centralne šupljine, poznate kao proamniotska šupljina. Slijedi gastrulacija koja označava početak formiranja primarnih zametnih listića endoderma, mezoderma i ektoderma. Nadalje, neurulacija predstavlja ključnu fazu u razvoju živčanog sustava. Ova kompleksna faza započinje kada se dio ektodermalni sloj embrija počne zgušnjavati, dok se drugi dio počne savijati stvarajući tako neuralnu cijev, preteču budućeg mozga i leđne moždine. Ova neuralna cijev tijekom daljnjeg razvoja podvrgava se preciznoj diferencijaciji, gdje se razvijaju

različiti dijelovi mozga, kao i leđne moždine. Ovaj visoko regulirani proces osigurava pravilan razvoj živčanog sustava embrija, a igra ključnu ulogu u stvaranju struktura koje će kasnije postati temeljna središta za percepciju, obradu informacija i upravljanje tijelom, te je stoga od posebnog značaja za razumijevanje razvoja živčanog sustava. Fetalni razvoj označava posljednju fazu embrionalnog razvoja miševa. Tijekom ovog razdoblja, organi i tkiva postaju sve više funkcionalni i zreli. Tkiva se diferenciraju i rastu, a organizacija unutar embrija postaje složenija. (Buljubašić, 2020.; Shahbazi i Zernicka-Goetz, 2018).

Dva ključna događaja u razvoju embrija u stadiju od 8 stanica, koja prethode formiranju dviju prostorno odvojenih populacija stanica i od suštinskog su značaja za prvu odluku o sudbini stanica, su kompakcija i polarizacija. Iako su blisko povezani vremenski, ova dva događaja, kompakcija, koja se odnosi na međustaničnu organizaciju embrija, i polarizacija, koja odražava unutarstaničnu organizaciju pojedine blastomere, mogu se razdvojiti jedan od drugoga. To uključuje dva neovisna istraživanja koja ističu ključnu važnost proteina angiomin (Amot) i regulaciju njegove podstanične lokalizacije u vezi s diferencijalnom aktivacijom Hippo-signalnog puta između unutarnjih i vanjskih stanica (Mihajlović i Bruce 2017). Kombinirajući razumijevanje međustanične kompakcije i unutarstanične polarizacije s ulogom ključnih molekularnih igrača, otvaramo vrata za dublje razumijevanje kako se stanice embrija diferenciraju i organiziraju tijekom razvoja. Ova saznanja također mogu imati šire implikacije za razvoj terapija i intervencija usmjerenih na poboljšanje zdravlja organizama tijekom embriogeneze.





Slika 2. Shematski dijagram rane embriogeneze miševa

(Izvor: [https://www.researchgate.net/figure/A-schematic-diagram-of-early-mouse-embryogenesis-showing-the-lethal-period-of-each\\_fig1\\_269181068](https://www.researchgate.net/figure/A-schematic-diagram-of-early-mouse-embryogenesis-showing-the-lethal-period-of-each_fig1_269181068) )

U procesu embriogeneze miševa, formiranje šupljine blastociste, poznate kao kavitacija, započinje oko faze od 32 stanice putem difuzije vode preko osmotskih gradijenata i prijenosa vode kroz akvaporine na apikalnoj i bazolateralnoj strani stanica trofoektoderma (TE). Proces usađivanja embrija u materničnu stijenku može se podijeliti u tri faze: približavanje, pričvršćivanje i prodiranje. U miševa, muralni trofoektoderm (koji okružuje šupljinu blastociste) prvi dolazi u kontakt s tkivima maternice i kasnije se diferencira u primarne stanice gigantskog trofoektoderma (TGCs). Nakon usađivanja, održava se populacija samoproducirajućih stanica (TS stanica) u izvanembrionalnom ektodermalnom (ExE) dijelu, koja pruža progenitore za epiblast (EPC). Ovaj kompleksan niz događaja uključuje mehanizme poput kavitacije, procesa

usađivanja i očuvanja stanica TS, čineći ga ključnim za razumijevanje rane faze razvoja mišjeg embrija i osiguravajući formiranje vitalnih tkiva i organa. (Bedzhov i sur., 2014).

### 2.3 Mehanizmi diferencijacije stanica u zametnim listićima

Uloga zametnih listića u embriogenezi miševa predstavlja temeljni aspekt formiranja organizma sisavaca. Zametni listići su prvi građevni blokovi razvoja, određujući osnovne smjernice za stvaranje raznolikih tkiva i organa tijekom embriogeneze. Kroz precizno koordinirane procese, ovi listići usmjeravaju diferencijaciju stanica i organizaciju tkiva, pružajući temelje za složenu strukturu organizma.

Zametni listići se formiraju u ranim fazama razvoja embrija i oblikuju se putem složenih staničnih interakcija (Shahbazi i Zernicka-Goetz, 2018). Prva faza embrionalnog razvoja miševa je brazdanje, gdje zigota prolazi kroz brze podjele i stvara blastomere - prve stanice embrija. Ovaj proces omogućava pravilno raspoređivanje genetičkog materijala na buduće generacije stanica (Gilbert, 2006).

Rastući broj novih dokaza pokazuje prisutnost jasnih molekularnih razlika između konstitutivnih stanica embrija prije 16. stadija, koje su različito prijavljivane kao utemeljene na sudbini potomstva, s obzirom na naseljavanje ICM-a ili trofoektoderma blastociste (Mihajlović i Bruce 2017). Ove molekularne razlike uključuju ekspresiju specifičnih gena, epigenetske markere i signalne puteve koji su aktivirani u različitim populacijama stanica embrija. Ovo sugerira da se sudbina stanica u ranoj fazi embrionalnog razvoja može unaprijed odrediti na temelju njihovih molekularnih karakteristika. Ova molekularna divergencija ima duboke posljedice za daljnji razvoj embrija. Stanice koje se diferenciraju prema ICM-u imaju potencijal razviti se u sve tipove stanica prisutnih u odraslom organizmu, dok će stanice koje se razvijaju prema trofoektodermu formirati dijelove posteljice i vanjske strukture embrija. Stoga, razumijevanje molekularnih mehanizama koji stoje iza ove rane sudbine stanica ključno je za

razvoj tehnika u regenerativnoj medicini, gdje se stanice koriste za liječenje različitih bolesti i ozljeda.

U kontekstu mehanizama diferencijacije stanica u embrionalnim slojevima mišjeg embrija, ključni čimbenici i procesi igraju esencijalnu ulogu u oblikovanju sudbine stanica i tkiva. Transkripcijski faktor T-boks Eomes, reguliran nizvodno od Cdx2, ima ključnu ulogu u diferencijaciji trofoektoderma (TE). S druge strane, Ets2 potiče ekspresiju gena Elf5, Cdx2 i Eomes u izvanembrionalnom ektodermalnom sloju (ExE), što dodatno utječe na sudbinu TE stanica. Ekspresija Fgf4 u epiblastu (EPI) održava se putem signalnog puta koji uključuje Nodal i Smad2/Smad3 signalnu kaskadu. Važno je napomenuti da bazalna membrana, sloj koji okružuje epiblast, igra ključnu ulogu u usmjeravanju diferencijacije EPI stanica putem pružanja signala polarizacije zrelog EPI-a. Osim toga, bazalna membrana stvara mikrosredinu koja je od suštinske važnosti za pravilno oblikovanje embrionalnih slojeva i njihovih funkcija. Kroz precizno regulirane mehanizme i interakcije između ovih faktora, embrio usklađuje svoj razvoj i osigurava nastanak različitih tkiva i organa unutar organizma. Ovo razumijevanje mehanizama diferencijacije stanica predstavlja ključnu komponentu u proučavanju rane embriogeneze miševa te pruža temelje za daljnje istraživanje u području razvojne biologije (Bedzhov i sur., 2014). Dva trenutno prihvaćena modela nastoje objasniti mehanizme uključene u prvu diferencijaciju stanica u miševa, posebice u kontekstu signalnih centara. Prvi model usredotočen je na uspostavu polariteta i asimetrične diobe stanica, što utječe na aktivnost Hippo signalnog puta. Ovaj signalni put se ponaša različito u polariziranim i nepolariziranim stanicama, kontrolirajući njihovu sudbinu. Drugi model istražuje utišavanje majčinog zigotnog proteina SOX2, što dovodi do oštećenja formiranja mišje blastociste (Carreiro i sur., 2021).

Kroz interakciju sa signalnim centrima, zametni listići usklađuju svoje aktivnosti kako bi stvorili složene obrasce razvoja (Buljubašić, 2020). Ti signalni centri igraju ključnu ulogu u koordinaciji staničnih interakcija, pravilnoj migraciji stanica i organizaciji tkiva i organa (Shahbazi i Zernicka-Goetz, 2018). Uloga zametnih listića nije samo ograničena na formiranje osnovnih tkiva, već je ključna za stvaranje složenih organa i sustava (Coward i Wells, 2013).

Pravilna organizacija, diferencijacija i interakcije zametnih listića omogućuju usklađeni razvoj svih komponenti budućeg organizma.

Proučavanje genetskih osnova embriogeneze miševa otkriva ključne regulacijske gene koji sudjeluju u ovom procesu. Žižić Mitrečić (2012) istražuje ulogu gena Noto u razvoju kaudalnog notokorda u mišjem zametku. Ovi geni djeluju kao prekidači, uključujući i isključujući određene stanične programe kako bi stvorili različite tipove stanica potrebne za razvoj organa (Smith, 2001).

#### 2.4 Utjecaj vanjskih čimbenika na razvoj zametnih listića

Utjecaj vanjskih čimbenika na razvoj zametnih listića predstavlja važan aspekt embriogeneze miševa, jer pokazuje kako okoliš može oblikovati razvoj organizma tijekom ključnih faza. Vanjski čimbenici, kao što su prehrambene tvari, hormonalne promjene, temperature i izloženost toksinima, mogu imati značajan utjecaj na procese diferencijacije i organizacije stanica unutar zametnih listića. Jedan od ključnih vanjskih čimbenika je prehrambena podrška tijekom embrionalnog razvoja. Pravilna opskrba hranjivim tvarima važna je za osiguranje pravilne diferencijacije stanica unutar zametnih listića. Nedostatak određenih hranjivih tvari može dovesti do abnormalnog razvoja organa i tkiva, što naglašava važnost uravnotežene ishrane tijekom trudnoće (Slack, 2012).

Hormoni također igraju ključnu ulogu u utjecaju vanjskih čimbenika na razvoj zametnih listića. Hormonalne promjene tijekom trudnoće mogu utjecati na ekspresiju gena i staničnu diferencijaciju unutar embrija. Hormoni poput estrogena i progesterona imaju ključnu ulogu u održavanju trudnoće i pravilnom razvoju embrija (Gilbert, 2006).

Temperatura okoliša također može imati utjecaj na embrionalni razvoj. Ekstremne temperature mogu izazvati oštećenje stanica i uzrokovati abnormalnosti u razvoju zametnih listića. U literaturi se navodi primjere iz studija na drugim životinjskim modelima gdje su visoke temperature povezane s defektima u razvoju (Gilbert, 2006).

Izloženost toksinima i kemikalijama u okolišu može imati ozbiljan utjecaj na razvoj embrija. Kritično je razumjeti kako kemikalije mogu poremetiti procese diferencijacije i organizacije stanica unutar zametnih listića. Utjecaj vanjskih čimbenika na razvoj zametnih listića naglašava kompleksnost embrionalnog razvoja miševa. Prehrambena podrška, hormonalne promjene, temperatura i izloženost toksinima mogu značajno oblikovati procese diferencijacije i organizacije stanica. Razumijevanje ovog utjecaja ne samo da pruža dublji uvid u osnovne biološke mehanizme, već također ima implikacije za zdravlje i razvoj organizma tijekom embriogeneze.

### 3. SIGNALNI CENTRI U RAZVOJU MIŠEVA

Signalni centri igraju ključnu ulogu u regulaciji razvoja miševa, omogućavajući precizno usmjeravanje procesa diferencijacije i organizacije stanica unutar embrija. Ovi specifični područji tkiva djeluju kao komunikacijski čvorišta, prenoseći ključne signale između različitih dijelova embrija i usmjeravajući stanične aktivnosti na temelju tih signala. Kroz složene mreže interakcija, signalni centri koordiniraju različite faze razvoja i osiguravaju pravilan oblik i funkciju organa i tkiva.

Signalni centri se formiraju tijekom embrionalnog razvoja i djeluju kao ključni organizatori morfogeneze. Ti centri emitiraju signalne molekule koje imaju sposobnost vezanja na specifične receptore na površini stanica (Mitrečić, 2006). Ove signalne molekule aktiviraju unutarnje signalne puteve unutar stanica, pokrećući kaskadu reakcija koje rezultiraju promjenom stanične sudbine i funkcije. Jedan od najpoznatijih signalnih centara u razvoju miševa je notokordalni centar. Notokord igra ključnu ulogu u organizaciji tijela i razvoju kralježnice. Signalne molekule koje se oslobađaju iz notokordalnog centra utječu na staničnu diferencijaciju okolnih tkiva, određujući budući identitet i funkciju različitih dijelova tijela. Osim notokorda, drugi signalni centri, kao što su zona polarizacijske aktivnosti (ZPA) i apikalni ektodermalni

greben (AER), također igraju ključne uloge u razvoju miševa. ZPA je odgovorna za formiranje asimetrije u razvoju udova, dok AER regulira razvoj ekstremiteta. Kroz izdavanje specifičnih signalnih molekula, ovi centri omogućavaju preciznu organizaciju tkiva i organa tijekom embrionalnog razvoja (Mitrečić, 2006).

U kontekstu signalnih centara tijekom embrionalnog razvoja miševa, trenutak implantacije predstavlja ključnu fazu u kojoj se složeni procesi signalizacije odvijaju kako bi koordinirali potpunu reorganizaciju embrija, a istovremeno potaknuli intenzivan rast broja stanica. Ovaj proces ne samo da uključuje komunikaciju između embrija i maternice, već i unutar samog embrija, između njegovih embrionalnih i izvan embrionalnih dijelova. Jedan od izuzetno važnih aspekata ovog modela je način na koji pluripotentne stanice, koje će kasnije postati temelj razvoja fetusa, usklađuju svoje aktivnosti. U ovom modelu, pluripotentne stanice same sebe organiziraju u složenu trodimenzionalnu strukturu koja podsjeća na rozetu. Ova struktura inicira formiranje spolnih gonada, što je presudno za nastavak embrionalnog razvoja. Ova organizacija u rozetu ukazuje na dublje mehanizme samoorganiziranja stanica, gdje se one "dogovaraju" kako bi stvorile pravilan oblik i funkciju. Taj proces omogućuje embriju da precizno organizira svoje različite komponente i programe razvoja.

Ključno je razumjeti kako se prvotno uspostavlja međusobna komunikacija između označivača za trofoektoderma (TE) i unutarnju masu stanica (ICM). Ovaj rani događaj igra ključnu ulogu u određivanju sudbine stanica tijekom embrionalnog razvoja miševa. Kroz precizno regulirane mehanizme signalizacije, embrio usklađuje svoje procese kako bi formirao različita tkiva i organe, osiguravajući pravilan tijek razvoja (Bedzhov i sur. 2014).

U kontekstu koncepta signalnih centara i njihove ključne uloge u razvoju organizama, istraživanja provedena na izoliranim matičnim stanicama iz odraslih tkiva, uključujući mezenhimalne matične stanice (MSC), naglašavaju izniman značaj mehaničkih svojstava mikrookoliša u regulaciji procesa diferencijacije. Fascinantno je da ova mehanička svojstva mikrookoliša ne samo da surađuju s biokemijskim signalima, već ponekad i prevladavaju nad

njima, potičući tako diferencijaciju stanica. Ova otkrića pružaju dublje razumijevanje kompleksnih procesa koji reguliraju sudbinu stanica i ukazuju na važnost fizičkih čimbenika u oblikovanju razvoja organizama. Nakon što se stanice oplodjenog jajeta odrede kao embrionalne ili izvanembrionalne, one prolaze kroz složen i visoko koordiniran niz preuređenja kako bi se transformirale iz jednog sloja tkiva, poznatog kao epiblast, u tri susjedna sloja endoderma, mezoderma i ektoderma. Ovaj proces detaljno regulira kako embrionalne stanice postaju različite slojeve tkiva koji se nazivaju primarni zametni listići. Razumijevanje uloge signalnih centara i mehaničkih svojstava okoline u ovim procesima otvara nova područja istraživanja u razvojnoj biologiji i naglašava kompleksnost koja leži u osnovi razvoja organizama.

Signalni centri su ključni igrači u razvoju miševa, omogućavajući precizno usmjeravanje staničnih procesa i organizaciju tkiva. Njihova sposobnost da prenose signale između različitih dijelova embrija omogućava koordinaciju kompleksnih faza razvoja. Razumijevanje ovih signalnih centara pruža dublji uvid u osnovne mehanizme razvoja i može imati implikacije za razvoj terapija i intervencija usmjerenih na poboljšanje zdravlja organizma tijekom embriogeneze.

Koncept signalnih centara predstavlja iznimno bitan element u dubokom razumijevanju procesa embrionalnog razvoja organizama, uključujući miševе. Ova dinamična područja tkiva igraju ključnu ulogu kao dirigenti tijekom embriogeneze, prenoseći ključne informacije između stanica te koordinirajući njihove aktivnosti kako bi osigurali preciznu formaciju različitih tkiva i organa. Signalni centri su osnovni akteri u usklađivanju procesa diferencijacije, morfogeneze te oblikovanja tijela unutar embrionalnog razvoja (Kostović-Knežević i sur., 1999).

Aktivacija programa sudbine stanica trofoektoderma (TE) u vanjskim stanicama dodatno je poticana pozitivnom povratnom spregom u kojoj ekspresija gena *Cdx2* inhibira ekspresiju gena pluripotentnosti te pozitivno regulira vlastiti ekspresiju. Ova kompleksna regulacija igra presudnu ulogu u usmjeravanju stanica prema sudbini TE. Direktni kontakt embrija s maternicom dovodi do apoptoze stanica trofoblasta embrionalne ljuske na mjestu pričvršćivanja, omogućavajući prodiranje TE u endometrij. U miševa, muralni TE (koji okružuje šupljinu blastociste) prvi dolazi

u kontakt s majčinskim tkivima i kasnije se diferencira u primarne gigantske stanice trofoblasta (TGCs). Nakon implantacije, održava se populacija samoobnavljajućih stanica TS u izvanembrionalnom ektodermalnom (ExE) dijelu, koja pruža preteče za epiblast (EPC). Ovaj složeni niz događaja odražava dubinu mehanizama regulacije u embriju i ključan je za razumijevanje rane faze razvoja mišjeg embrija, osiguravajući formiranje vitalnih tkiva i organa (Bedzhov i sur., 2014).

Središnja uloga signalnih centara leži u njihovoj sposobnosti emitiranja signalnih molekula koje putuju među stanicama i reguliraju njihove sudbine. Te molekule imaju moć aktiviranja specifičnih staničnih putova unutar ciljanih stanica, rezultirajući promjenama u genskoj ekspresiji i staničnim odgovorima. Kroz ove kaskade signaliziranja, stanice primaju upute o svojoj budućoj sudbini, bilo da se radi o diferencijaciji u određene tipove stanica ili oblikovanju specifičnih tkiva.

U kontekstu koncepta signalnih centara i njihove ključne uloge u razvoju organizama, istraživanja provedena na izoliranim matičnim stanicama iz odraslih tkiva, uključujući mezenhimalne matične stanice (MSC), naglašavaju izniman značaj mehaničkih svojstava mikrookoliša u regulaciji procesa diferencijacije. Fascinantno je da ova mehanička svojstva mikrookoliša ne samo da surađuju s biokemijskim signalima, već ponekad i prevladavaju nad njima, potičući tako diferencijaciju stanica. Ova otkrića pružaju dublje razumijevanje kompleksnih procesa koji reguliraju sudbinu stanica i ukazuju na važnost fizičkih čimbenika u oblikovanju razvoja organizama.

Uloga signalnih centara u embrionalnom razvoju organizama ključna je za osiguranje precizne organizacije i funkcionalnosti tkiva i organa. Analizirajući ove centre, produbljujemo svoje spoznaje o mehanizmima koji leže u temeljima različitih faza razvoja. Integrirajući ova saznanja, otvaraju se mnoge mogućnosti, uključujući razvoj terapijskih pristupa i intervencija za unapređenje zdravlja organizama tijekom embrionalnog razvoja. Konačno, koncept signalnih centara ističe važnost komunikacije među stanicama te njihovu sposobnost usmjeravanja složenih procesa koji čine temelje budućih organizama.



### 3.1 Identifikacija i uloga specifičnih signalnih centara kod miševa

Signalni centri, često lokalizirani na precizno definiranim mjestima unutar embrija, igraju odlučujuću ulogu u usmjeravanju diferencijacije stanica i organizaciji tkiva i organa.

Notokordalni centar igra ključnu ulogu u razvoju embrija miševa emitirajući signalne molekule koje značajno utječu na diferencijaciju stanica u okolnim tkivima. Ovaj centar predstavlja jedan od najvažnijih signalnih centara tijekom embrionalnog razvoja i ključan je za pravilan razvoj kralježnice i organizaciju tijela (Žižić Mitrečić, 2012). Nodal je jedna od ključnih signalnih molekula koje se emitiraju iz notokordalnog centra. Nodal signalizacija ima značajnu ulogu u regulaciji sudbine stanica u embriju. Ona kontrolira procese kao što su određivanje prednjeg i stražnjeg kraja embrija te diferencijacija različitih tipova stanica. Osim toga, Nodal je važan za formiranje osnovnih tjelesnih struktura i organa. SHH (*sonic hedgehog*) je još jedan ključni signalni protein koji se eksprimira u notokordalnom centru. On igra ulogu u usmjeravanju razvoja kralježnice i centralnog živčanog sustava. SHH signalizacija pomaže u stvaranju različitih slojeva i struktura u embrionu te je važna za oblikovanje tijela. Wnt signalna ruta također sudjeluje u notokordalnom centru. Ona je odgovorna za regulaciju staničnih procesa poput proliferacije, diferencijacije i polarizacije. Wnt signalizacija ima ključnu ulogu u oblikovanju tkiva i organa tijekom embrionalnog razvoja. Ove signalne molekule, u interakciji s okolnim stanicama, usmjeravaju procese diferencijacije i organizacije tkiva tijekom embrionalnog razvoja miševa, čime osiguravaju pravilan razvoj kralježnice i drugih važnih tjelesnih struktura (Žižić Mitrečić, 2012).

### 3.2. Međusobna interakcija signalnih centara tijekom embriogeneze

Međusobna interakcija signalnih centara tijekom embriogeneze ima ključnu ulogu u preciznom usklađivanju i oblikovanju različitih dijelova embrija. Ovi složeni komunikacijski mehanizmi omogućavaju usmjereni tok informacija između različitih tkivnih područja, osiguravajući da se stanične aktivnosti precizno koordiniraju i usmjere prema određenim

smjernicama. Takve interakcije omogućuju signalnim centrima da djeluju kao regulatori razvoja, osiguravajući da procesi stanične diferencijacije, proliferacije i migracije budu usklađeni na način koji pridonosi pravilnom obliku i funkciji organa.

Primjerice, notokordalni centar može usklađeno djelovati s drugim signalnim centrima poput ZPA i AER-a kako bi omogućio usklađeno formiranje kralježnice i ekstremiteta. Notokordalni centar, emitirajući signalne molekule kao što je Nodal, igra ključnu ulogu u regulaciji sudbine stanica u okolnim tkivima. Nodal signalizacija kontrolira procese kao što su određivanje prednjeg i stražnjeg kraja embriona te diferencijacija različitih tipova stanica. Osim toga, SHH (*sonic hedgehog*) signalizacija iz notokordalnog centra igra ulogu u usmjeravanju razvoja kralježnice i centralnog živčanog sustava.

Kada govorimo o interakcijama s ZPA-om, ovaj signalni centar regulira razvoj ekstremiteta. ZPA djeluje kao signalni centar koji emitira molekule poput SHH kako bi usmjeravao razvoj struktura ekstremiteta. SHH iz ZPA interagira s okolnim stanicama i potiče određene promjene u ekspresiji gena i organizaciji tkiva, što rezultira razvojem udova.

S druge strane, AER igra ključnu ulogu u razvoju ekstremiteta. AER je sloj stanica na vrhu razvijajuće udove i služi kao signalni centar koji kontrolira rast i diferencijaciju tkiva ekstremiteta. Ovaj centar komunicira s drugim stanicama u razvijajućem udovima, osiguravajući precizan razvoj ekstremiteta.

Ove interakcije nisu statične; one su dinamične i strogo regulirane vremenom i prostorom. Signali se prenose u precizno određenim vremenskim intervalima i na specifičnim mjestima kako bi se osiguralo koordinirano oblikovanje embrija. Ova dinamična regulacija omogućava prilagodbu razvoja različitim uvjetima i potrebama organizma. Ovi složeni komunikacijski sustavi neophodni su za precizno oblikovanje organa i tkiva te igraju ključnu ulogu u osiguranju integriteta funkcionalnosti organizama. Razumijevanje dubljih slojeva ovih interakcija nosi potencijal za primjenu u razvoju novih terapija i intervencija usmjerenih na unaprjeđenje zdravlja organizama tijekom procesa embrionalnog razvoja.

#### 4. GENETSKE OSNOVE RAZVOJA ZAMETNIH LISTIĆA I SIGNALNIH CENTARA

U širem kontekstu razvoja mišjih organizama, genetske osnove razvoja zametnih listića i signalnih centara predstavljaju izuzetno važan aspekt. Ovaj intrigantan proces koji oblikuje organizam od samog početka do zrelosti ovisi o preciznoj regulaciji gena i signalnih puteva koji koordiniraju formiranje i diferencijaciju zametnih listića, te usmjeravaju aktivnosti signalnih centara koji igraju ključnu ulogu u organizaciji tkiva i organa. Istraživanja su se fokusirala na utjecaj epigenetski aktivnih tvari na rast i razvoj eksperimentalnog tumora zametnih stanica miša *in vitro*, pružajući dublji uvid u mehanizme koji leže u osnovi razvoja i kako ih epigenetičke promjene mogu modulirati (Buljubašić, 2020). Nastavno, istražuje se i razvoj zametaka miševa i ljudi, dodatno osvjetljavajući kompleksne puteve i interakcije koje oblikuju rani embrionalni razvoj (Shahbazi i Zernicka-Goetz, 2018).

Prva odluka o sudbini stanica u embrionalnom razvoju miševa oblikuje se kroz dvije glavne serije asimetričnih staničnih podjela, jednu između 8. i 16. stadija, te drugu između 16. i 32. stadija, uz manji val između 32. i 64. stanice. Ovi procesi stvaraju vanjske i unutarnje stanice koje se razlikuju po staničnim svojstvima, položaju unutar embrija i sudbini. Vanjske stanice diferenciraju se u trofoektoderm, prekursoran linije placente, dok unutarnje stanice čine pluripotentnu unutarnju staničnu masu (ICM). U drugoj odluci o sudbini, unutarnje stanice podvrgavaju se daljnjem razdvajanju na diferencirajući proliferativni endoderm (PE), koji uglavnom daje podlogu žumanjčanoj vrećici, i pluripotentni epiblast (EPI), koji je preteča budućeg fetusa. Iako su postojali sporovi oko ovih rezultata, nedavna studija praćenja genetske linije pomoću Rainbow miševa potvrđuje značajnu pristranost linije koja se inicira već pri 4-staničnom stadiju. Osim toga, nekoliko studija identificiralo je heterogenu ekspresiju ili aktivnost specifičnih gena u blastomerama 4-staničnog stadija, što pruža dodatne dokaze da se pojedine stanice razlikuju jedna od druge već u ovom ranom razvojnom stadiju. Jednostanično sekvenciranje RNA iz izoliranih ICM stanica potvrdilo je diferencijalnu ekspresiju Fgf liganda i receptora kao karakteristike ICM-a prije ekspimiranja Gata6 i Nanog te istaknulo važnost

heterogenosti unutar ICM-a za uspostavu dviju različitih sudbina stanica. Heterogenost između stanica također utječe na drugu odluku o sudbini. Stoga heterogenost pruža predispozicije koje usmjeravaju, ali ne određuju, odluke o sudbini stanica, pružajući fleksibilnost u procesu diferencijacije. Unatoč očekivanjima da će eksprimiranje Tead4 biti ograničeno na TE prekursore, otkriveno je da se ovaj gen eksprimira konstitutivno ne samo u vanjskim, već i unutarnjim stanicama blastociste (Bedzhov i sur., 2014).

Saznajemo da su geni poput Pax6, Nkx2.5 i Wnt5a ključni regulatorni geni čija se ekspresija i aktivnost strogo reguliraju, čime oblikuju stanične sudbine, diferencijaciju i organizaciju tkiva. Ovi geni djeluju u specifičnim vremenskim i prostornim obrascima, sudjelujući u razvoju različitih dijelova embrija. To postaje očito kroz istraživanje ekspresije ključnih regulatornih gena tijekom embrionalnog razvoja. (Buljubašić, 2020.; Shahbazi i Zernicka-Goetz, 2018). Pax6, primjerice, djeluje kao transkripcijski faktor koji kontrolira ekspresiju gena povezanih s razvojem očiju i mozga. U ranim stadijima embrionalnog razvoja, Pax6 pomaže odrediti sudbinu stanica, usmjeravajući ih prema razvoju specifičnih tkiva i organa. Nkx2.5, s druge strane, igra ključnu ulogu u razvoju srca. Ovaj gen regulira ekspresiju drugih gena koji su odgovorni za formiranje srčanih stanica i usmjerava njihovu diferencijaciju kako bi se stvorio funkcionalan srčani sustav. Wnt5a, kao član Wnt obitelji signalnih molekula, sudjeluje u staničnim signalnim putevima koji kontroliraju staničnu migraciju i organizaciju tkiva tijekom embrionalnog razvoja. Ovaj gen pomaže stanicama da se usmjere prema određenim područjima embrija i sudjeluje u oblikovanju struktura poput ekstremiteta. Kroz precizno regulirane procese, ovi geni doprinose stvaranju različitih dijelova embrija i omogućavaju formiranje funkcionalnih organa i tkiva.

Ovi genetski mehanizmi nisu statični. Naprotiv, oni su dinamični i vremenski regulirani. Točno se šalju signalni impulsi u precizno definiranim trenucima i mjestima, usmjeravajući razvoj embrionalnih struktura. Identifikacija ključnih gena, kao i signalnih puteva i interakcija koji kontroliraju ove procese, pruža nam dragocjen uvid u kompleksne mreže komunikacije unutar organizma.

Istraživanje genetskog kompleksa miša poznatog kao t-kompleks otkriva mnoge zanimljive aspekte razvoja i genetske osnove u kontekstu formiranja zametnih listića i signalnih centara. Mutacije s vidljivim fenotipovima, koje su se pojavile unutar t-kompleks regije divlje vrste kromosoma 17, korištene su kao označivači za utvrđivanje prisutnosti ili odsutnosti t-haplotipa. Jedna od najstarijih takvih oznaka je T mutacija koja se temelji na bezrepnosti kod miševa T/t. Slično, mutacija Fu (eng. fused) prvotno je identificirana kao dominantna mutacija koja rezultira nepravilnostima repa. Osim toga, t-letalni geni su dugo bili predmet istraživanja razvojne genetike, a napora je uloženo u identifikaciju potencijalnih podregija za te t-letalne mutacije koristeći se sastavnim heterozigotima između različitih komplementacijskih grupa t-haplotipova. Tijekom istraživanja t-haplotipa, iz divljih populacija miševa izolirano je stotine t-haplotipnih linija. Zanimljivo, prema krajem 2012. godine, t-letalni gen *t w5* je prvi puta pozicijski kloniran, što predstavlja značajan korak u razumijevanju genetskih osnova razvoja zametnih listića i signalnih centara. Ovo istraživanje također je otkrilo nove genetske elemente i mehanizme u razvoju miševa, što dodatno obogaćuje naše razumijevanje složenih procesa embrionalnog razvoja (Sugimoto, 2014).

Genetske osnove razvoja zametnih listića i signalnih centara su ključne za razumijevanje procesa embriogeneze miševa. Uz genetske čimbenike, lokalizacija proteina polariteta igra važnu ulogu u koordinaciji staničnih interakcija i organizaciji tkiva unutar embrija. Kroz precizno usklađene biološke interakcije, stanice aktivno pozicioniraju/sortiraju se unutar embrija kako razvoj napreduje iako stanice ne zadržavaju nužno početni položaj koji su stekle odmah nakon diobe stanica, već taj položaj aktivno mijenjaju kako bi uskladile razvoj sa zahtjevima organizma. Ovaj proces podlozan je promjenama u lokalizaciji proteina polariteta, a te promjene su ključne kako embrio postaje kompleksniji tijekom razvoja. Također, interakcija između proteina polariteta i signalnih centara igra važnu ulogu u ovom procesu. Na primjer, za aktivaciju Hippo-signalnog puta, Amot protein mora asociirati s kinazama Lats1/2 smještenim na adherentnim spojevima, koji se formiraju na bazolateralnim područjima međustaničnog kontakta nakon kompakcije embrija. Osim toga, nedavna istraživanja ukazuju na važnost proteina Nf2/Merlin tijekom ovog procesa. Razumijevanje genetskih osnova razvoja zametnih listića i uloge lokalizacije proteina polariteta

te interakcije s signalnim centrima pruža dublje uvide u osnovne mehanizme embrionalnog razvoja miševa (Mihalović i Bruce, 2017).

U okviru ovog poglavlja spominjemo i istraživanja su se usredotočila na razumijevanje ključnih molekularnih procesa koji kontroliraju razvoj embrija. Molekularni mehanizam TGF- $\beta$  signalizacije detaljno je razjašnjen, gdje se vezivanjem liganda pokreće niz događaja koji uključuju dimerizaciju receptora i aktivaciju Smad proteina putem fosforilacije. Smadovi djeluju kao inhibitori BMP (*Bone Morphogenetic Protein*) signalizacije, posebno u suprotstavljanju djelovanju BMP4, proteina koji potiskuje razvoj neuralnih stanica. Na temelju ovih spoznaja, razvija se jednostavan molekularni model neuralne indukcije: ektoderm izvan embrionalnog tkiva proizvodi BMP-e kako bi potaknuo epidermalnu diferencijaciju, dok organizacijska tkiva u embrionalnom razvoju suprotstavljaju djelovanju BMP-a kako bi omogućila neuralnu indukciju. Osim toga, različiti signali FGF-a sudjeluju u regulaciji ekspimiranja primarnih Hox gena prije nego što dodatni signali precizno oblikuju ekspresiju Hox gena unutar specifičnih podskupina. Za ventralne aspekte neuralnog oblikovanja, kao što je ploča dna leđne moždine, ključna je Nodal signalizacija, dok se FGF također široko povezuje s procesom ventralnog oblikovanja u neuraksu.

Sva navedena saznanja imaju značajne implikacije za razumijevanje razvojnih poremećaja i kongenitalnih defekata kod miševa. Poznavanje genetskih osnova omogućava nam da identificiramo mutacije ili varijacije gena koje mogu dovesti do nepravilnosti u formiranju zametnih listića ili funkciji signalnih centara. Na temelju ovih saznanja, možemo se usmjeriti prema razvoju terapija usmjerenih na ispravljanje genetskih defekata i unaprjeđenje zdravlja organizama tijekom embrionalnog razvoja. Kroz istraživanja kao što su ona koja provodi Buljubašić (2020) i Shahbazi i Zernicka-Goetz (2018), te koristeći podatke iz izvora poput Mouse Genome Informatics i baze podataka Gene Expression Omnibus, sve dublje prođiremo u genetske osnove razvoja zametnih listića i signalnih centara. Razumijevanje ovih osnova omogućuje nam da osvijetlimo tajanstvene puteve koji oblikuju embrionalni razvoj, otvarajući vrata za inovacije u terapijskim pristupima i intervencijama koje će unaprijediti zdravlje i razvoj organizama tokom embrionalnog razvoja.

#### 4.1 Ključni regulatorni geni u razvoju zametnih listića

Ključni regulatorni geni igraju presudnu ulogu u preciznom usmjeravanju procesa razvoja zametnih listića tijekom embrionalne morfogeneze miševa. Regulatorni geni su geni koji kontroliraju aktivnost drugih gena i sudjeluju u stvaranju staničnih sudbina, diferencijaciji stanica, te organizaciji tkiva i organa u tijelu embrija. Primjerice, već navedeni Pax6, Nkx2.5 i Wnt5a su specifični regulatorni geni koji su od iznimne važnosti za embrionalni razvoj miševa. Pax6, poznat kao "gen za oči", igra ključnu ulogu u regulaciji gena koji su odgovorni za razvoj očiju i mozga. Nkx2.5, s druge strane, fokusira se na formiranje srčanih stanica i razvoj srca, a Wnt5a sudjeluje u organizaciji različitih dijelova embrija. Ovi regulatorni geni nisu samo "prekidači" koji uključuju i isključuju druge gene; oni također kontroliraju kada i gdje će se ti geni aktivirati tijekom embrionalnog razvoja. Na primjer, Pax6 će biti aktiviran u određenim fazama razvoja kako bi započeo procese koji će dovesti do formiranja očiju, dok će Nkx2.5 biti aktiviran u drugim vremenskim i prostornim uvjetima kako bi pravilno razvio srce. Kroz precizno regulirane mehanizme ekspresije i aktivacije, ovi ključni regulatorni geni omogućuju organizmu da precizno koordinira različite aspekte razvoja, osiguravajući formiranje funkcionalnih organa i tkiva. To znači da oni nisu samo "ključni" u smislu da su bitni, već su ključni jer upravljaju i kontroliraju raznolike procese tijekom embrionalnog razvoja miševa (Smith, 2001.; Shahbazi i Zernicka-Goetz, 2018).

U procesu razvoja zametnih listića, niz ključnih regulatornih gena igra presudnu ulogu u oblikovanju sudbine stanica i organizaciji tkiva. Razumijevanje ovih gena i njihove uloge ključno je za rasvjetljavanje kompleksnih procesa koji se odvijaju tijekom embrionalnog razvoja sisavaca. Neki od najvažnijih aktera u ovom procesu uključuju transkripcijski faktor T-boks Eomes, koji igra ključnu ulogu u diferencijaciji trofoektoderma (TE), te transkripcijski faktor Ets2, koji potiče ekspresiju važnih gena u izvanembrionalnom ektodermalnom sloju (ExE) (Bedzhov i sur., 2014).

U razvoju zametnih listića, ključni regulatorni geni igraju presudnu ulogu u određivanju sudbine stanica i formiranju različitih tkiva i organa. Osim tradicionalnih istraživanja na živim

organizmima, istraživanja fokusirana na diferencijaciju pojedinih stanica u kulturi omogućila su stvaranje trodimenzionalnih (3D) in vitro modela tkiva i organa poznatih kao organoidi. Ovi modeli omogućuju detaljno proučavanje procesa diferencijacije stanica i identifikaciju ključnih regulatornih gena. U srednjem stadiju razvoja blastociste, unutar TE-a stanice su već podijeljene u dvije različite populacije s potpuno različitim sudbinama. Prva populacija, polarizirani trofoblastni sloj, izravno kontaktira s ICM-om. Druga populacija, muralni trofoblastni sloj, nema takve heterotipne kontakte s ICM-om, ali okružuje tekućinom ispunjenu blastocelu. Ovaj proces segregacije i polarizacije stanica u TE sloju ključan je za kasniji razvoj i formiranje različitih tkiva i organa u embrionalnom razvoju. Pored toga, gen Yap igra značajnu ulogu u ovom procesu. Visoko je izražen u embrionalnim stanicama (ES stanice) te je inaktiviran tijekom njihove diferencijacije. Obratno, Yap je pojačan tijekom reprogramiranja induciranih pluripotentnih stanica (iPS stanica). Ovi nalazi sugeriraju da je sam gen Yap, zajedno s mogućom mehaničkom signalizacijom, uključen u ključne promjene u stanicama tijekom njihove tranzicije iz pluripotentnog stanja u diferencirane stanične linije i obratno (Nelson, 2022).

Razumijevanje regulatornih gena omogućava dublji uvid u njihovu ulogu u aktivaciji specifičnih staničnih putova i signalnih kaskada. Ovi putevi često imaju dubok utjecaj na procese kao što su diferencijacija stanica, formiranje organa i strukturiranje tijela. Istraživanje ekspresije i funkcije ovih gena pruža ključne uvide u složene mehanizme koji leže u temeljima embrionalnog razvoja. Bitno je naglasiti da mutacije ili poremećaji ključnih regulatornih gena mogu rezultirati ozbiljnim razvojnim poremećajima i kongenitalnim defektima kod miševa (Smith, 2001). Saznanje o njihovoj ulozi otvara vrata razumijevanju uzroka tih poremećaja te mogućem razvoju terapija usmjerenih na korekciju genetskih nedostataka.

Ključni regulatorni geni igraju ključnu ulogu u razvoju zametnih listića i preciznom oblikovanju tkiva i organa miševa. Identifikacija, ekspresija i funkcija ovih gena pružaju dubok uvid u temeljne mehanizme koji oblikuju organizme tijekom embrionalne morfogeneze. Saznanja iz ovih istraživanja mogu imati značajne implikacije za razvoj terapija i intervencija usmjerenih na poboljšanje zdravlja organizama tijekom embrionalnog razvoja.



## 4.2 Ekspresija gena tijekom embriogeneze miševa

Embriogeneza miševa je kompleksan proces tijekom kojeg se geni precizno reguliraju kako bi se postigla diferencijacija stanica i organizacija tkiva i organa. Geni se aktiviraju ili isključuju u specifičnim vremenima i mjestima, stvarajući precizne obrasce ekspresije koji su ključni za pravilan embrionalni razvoj (Shahbazi i Zernicka-Goetz, 2018). Ekspresija gena odnosi se na proces stvaranja funkcionalnog proteina iz genetskog koda putem transkripcije i translacije. Tijekom embriogeneze, ovi procesi su strogo regulirani kako bi omogućili pravilan razvoj embrionalnih struktura. Ekspresija gena tijekom embriogeneze miševa odvija se u nekoliko ključnih faza.

Ekspresija gena tijekom embriogeneze miševa ima ključnu ulogu u regulaciji procesa diferencijacije stanica i razvoja. Organoidi dobiveni iz matičnih stanica koriste se kao moćan alat za proučavanje ovih procesa i istraživanje gena koji su odgovorni za kontrolu staničnih sudbina. Kroz analizu ekspresije gena u ovim *in vitro* modelima, istraživači mogu identificirati ključne regulatore i signalne putove u razvoju zametnih listića i drugih tkiva. Osim toga, promjene u ekspresiji gena često su povezane s tranzicijama između različitih stanja stanica tijekom razvoja, kao što je tranzicija epiblasta iz nativnog u primarni pluripotentni status. Razumijevanje kako mehaničke sile i preuređenja stanica mogu utjecati na ekspresiju gena i procese diferencijacije također je važno za potpuno razumijevanje razvojnih mehanizama. Dakle, ekspresija gena i mehanički signalizirani procesi su međusobno povezani i zajedno doprinose regulaciji razvoja stanica i tkiva tijekom embriogeneze (Nelson, 2022).

Signalni putevi koji dolaze od signalnih centara poput notokordalnog centra i ZPA igraju ključnu ulogu u regulaciji ekspresije gena tijekom embriogeneze miševa. Ovi putevi koordiniraju aktivaciju gena u specifičnim vremenima i mjestima kako bi se osigurao usklađeni razvoj tkiva i organa (Saitou i Yamaji, 2012).

Suvremene tehnologije sekvenciranja omogućuju nam detaljnu analizu ekspresije tisuća gena istovremeno, što pruža globalne obrasce ekspresije i međusobne interakcije gena tijekom embrionalne morfogeneze. Razumijevanje ovog procesa dublje nas uranja u osnovne mehanizme

razvoja, što može biti ključno za razvoj terapija usmjerenih na genetske poremećaje i razvojne defekte (Shahbazi i Zernicka-Goetz, 2018; Smith, 2001; Saitou i Yamaji, 2012).

#### 4.3 Uloga gena u formiranju signalnih centara i njihovoj funkciji

Tijekom embriogeneze miševa, geni igraju ključnu ulogu u određivanju identiteta i aktivnosti signalnih centara, što dalje utječe na organizaciju i razvoj tkiva i organa (Shahbazi i Zernicka-Goetz, 2018; Smith, 2001; Saitou i Yamaji, 2012). Važni geni kao što su SHH, Fgf8, Wnt i Noggin sudjeluju u formiranju i funkciji signalnih centara. Primjerice, gen SHH ključan je za formiranje ZPA, koji regulira razvoj struktura poput ekstremiteta. Ekspresija ovih gena usmjerava stanične interakcije i regulira diferencijaciju susjednih tkiva (Shahbazi i Zernicka-Goetz, 2018; Smith, 2001; Saitou i Yamaji, 2012).

SHH ima ključnu ulogu u formiranju Zone polarizacijske aktivnosti (ZPA), signalnog centra odgovornog za razvoj ekstremiteta. SHH se eksprimira u ZPA i djeluje kao signalna molekula koja usmjerava stanične interakcije u susjednim tkivima. Na primjer, SHH signalizira stanicama u udaljenim dijelovima embrija da se razlikuju u specifične tipove stanica potrebne za formiranje ekstremiteta. Ovo koordinira razvoj ekstremiteta i osigurava pravilan oblik i funkciju ovih struktura. SHH iz ZPA šalje signalne molekule drugim stanicama u okolnim tkivima. Ove molekule aktiviraju receptore na površini susjednih stanica i pokreću niz reakcija. Ovo uključuje promjene u ekspresiji gena, koje dovode do diferencijacije ovih stanica u određene tipove, kao što su stanice kostiju ili mišića. Slični procesi događaju se u drugim dijelovima embrija pod utjecajem različitih gena.

Gen Fgf8 (*Fibroblast Growth Factor 8*) je još jedan važan regulator u formiranju signalnih centara. Ekspresija Fgf8 odvija se u određenim područjima embrija i igra ključnu ulogu u diferencijaciji i migraciji stanica. Na primjer, Fgf8 sudjeluje u razvoju mozga i srca tijekom embrionalnog razvoja miševa. Signali iz Fgf8 reguliraju aktivnosti stanica u tim organima, pridonoseći njihovom pravilnom razvoju.

Grupa gena poznatih kao Wnt geni također ima značajnu ulogu u formiranju signalnih centara i njihovoj funkciji. Ti geni sudjeluju u procesima regulacije stanične sudbine i organizacije tkiva. Na primjer, Wnt signalizira u formiranju neuralne cijevi tijekom embrionalnog razvoja i pomaže u usmjeravanju diferencijacije stanica u ovom ključnom signalnom centru.

Gen Noggin je regulatorni gen koji djeluje inhibirajući aktivnost drugih signalnih molekula poput BMP. Noggin pomaže u održavanju ravnoteže između različitih signalnih puteva tijekom embrionalnog razvoja. Ovo je ključno za pravilan razvoj različitih tkiva i organa.

Ovi geni djeluju kao signalne molekule koje komuniciraju s okolnim stanicama putem specifičnih receptora. Te signalne interakcije pokreću kaskadu reakcija u susjednim tkivima, što dovodi do diferencijacije, proliferacije i migracije stanica. Na taj način, geni u signalnim centrima koordiniraju razvoj različitih dijelova embrija (Smith, 2001). Razumijevanje uloge ovih gena omogućava nam bolje razumijevanje mehanizama koji stoje iza formiranja signalnih centara i njihove funkcije. Saznanja o ulozi gena u formiranju signalnih centara pridonose dubljem razumijevanju osnovnih mehanizama razvoja i mogu imati potencijalnu primjenu u razvoju terapija i intervencija za razvojne poremećaje i genetske defekte (Shahbazi i Zernicka-Goetz, 2018.; Žižić Mitrečić, 2012.; Smith, 2001).

Geni imaju ključnu ulogu u formiranju signalnih centara i regulaciji njihove funkcije tijekom embriogeneze miševa. Njihova ekspresija i interakcije s okolnim stanicama omogućavaju usklađeni razvoj različitih dijelova embrija. Razumijevanje ovog procesa pridonosi dubljem uvidu u osnovne mehanizme razvoja i ima potencijalnu primjenu u razvoju terapija i intervencija usmjerenih na razvojne poremećaje i genetske defekte.

## 5. RASPRAVA

U diskusiji o razvoju mišjih zametnih listića i signalnih centara, postavljeni su temelji za dublje razumijevanje ovog složenog procesa. Istraživanje embrija miševa pruža jasan uvid u fundamentalne mehanizme razvoja organizama. Analiza faza embrionalnog razvoja miševa omogućila je precizno kartiranje ključnih događaja, pružajući uvid u kako se stanične linije formiraju i diferenciraju tokom razvoja. Identificirane su važne etape i signalni centri koji sudjeluju u usklađenom oblikovanju organa, ističući važnost međusobne interakcije tijekom embriogeneze.

Raspravljajući o ulozi zametnih listića, jasno je postalo da su oni temeljni gradivni blokovi embrionalnog razvoja. Upravo su oni nositelji genetske informacije i programske sekvence koje usmjeravaju staničnu sudbinu. Njihova raznovrsnost i specifična svojstva omogućuju formiranje različitih organa i tkiva, osiguravajući potrebnu raznolikost organizama. Analiza faza embrionalnog razvoja omogućila je prepoznavanje ključnih trenutaka kada se stanice diferenciraju i usmjeravaju prema specifičnim sudbinama. Ta faza prelaska iz pluripotentnih stanica u različite linije stanica pokazuje kako precizno reguliran proces može rezultirati raznovrsnošću i kompleksnošću organizama. Nadalje, saznanja o mehanizmima diferencijacije stanica u zametnim listićima svijetle svjetlo na kompleksne procese regulacije gena. Saznali smo da su interakcije između gena, regulacijske mreže i signalni putevi ključni za usmjerenje stanične sudbine. Ovo otkriće je revolucionarno jer nam pokazuje da je genska ekspresija duboko integrirani proces koji određuje raznolikost i funkcionalnost stanica.

Diskusija o genetskim osnovama razvoja zametnih listića i signalnih centara naglašava ulogu ključnih regulatornih gena u oblikovanju embrionalnih struktura. Identifikacija ovih gena pruža ključ za razumijevanje regulatornih mreža koje dirigiraju stanične sudbine i oblikovanje organa. Uloga gena u formiranju signalnih centara dodatno potvrđuje njihovu važnost u usmjeravanju razvoja. Ekspresija gena tijekom embriogeneze miševa osvjetljava dinamiku

regulacije gena u različitim fazama razvoja, pružajući uvid u promjene koje se događaju kako embrionalne strukture napreduju.

Istraživanje razvoja mišjih zametnih listića i signalnih centara predstavlja ključan aspekt biologije razvoja. Kroz analizu faza razvoja, uloge gena i signalnih centara te korištenje elektronskih izvora, postiže se holistički pristup razumijevanju procesa koji leže u temelju formiranja organa. Ove spoznaje mogu poslužiti kao polazište za daljnja istraživanja koja će doprinijeti širem razumijevanju bioloških procesa i eventualno otvoriti vrata za primjenu u medicini i biomedicinskim istraživanjima.

### 5.1. Preporuke za daljnja istraživanja o razvoju mišjih zametnih listića

Kako bismo dalje produbili naše razumijevanje razvoja mišjih zametnih listića i signalnih centara, postoji nekoliko ključnih smjernica za buduća istraživanja. Prvo, daljnja istraživanja mogu usmjeriti svoju pažnju na detaljnu analizu specifičnih gena i signalnih puteva koji su ključni za određene faze embrionalnog razvoja. Identificiranje novih gena i faktora koji reguliraju diferencijaciju stanica i interakciju signalnih centara moglo bi osvijetliti nepoznate aspekte ovog procesa. Dalje, tehnološki napredak u metodičkim pristupima poput single-cell RNA-seq omogućava istraživačima analizu genomske ekspresije na pojedinačnoj staničnoj razini. Ova tehnika omogućava dublje razumijevanje heterogenosti stanica unutar embrija te bolje razumijevanje staničnih sudbina i regulacijskih mreža.

Važno je također istražiti kako vanjski čimbenici, poput okoliša i hormonalnih promjena, utječu na razvoj zametnih listića i signalnih centara. Ovi čimbenici igraju ključnu ulogu u usmjeravanju staničnih sudbina te njihova uloga može biti dublje istražena kako bi se bolje razumjelo kako embrionalni razvoj reagira na promjene u okolini. Također je potrebno usmjeriti istraživanja na međusobne interakcije između različitih signalnih centara i kako te interakcije utječu na konačni oblik i funkciju organa. Proučavanje ovih interakcija može otkriti nove složene regulacijske mreže i omogućiti bolje razumijevanje kako se koordinira razvoj različitih struktura.

Konačno, buduća istraživanja mogla bi se usmjeriti prema primjeni saznanja o razvoju zametnih listića i signalnih centara u medicinske svrhe. Ova istraživanja mogla bi rezultirati novim terapijskim pristupima za tretiranje različitih genetskih i razvojnih poremećaja, kao i za regeneraciju tkiva i organa. Daljnja istraživanja o razvoju mišjih zametnih listića i signalnih centara imaju širok spektar mogućnosti koje će obogatiti naše razumijevanje embriogeneze, regulacije gena i formiranja organa. Implementacija novih tehnika i metoda u istraživanje ovih procesa donijet će dragocjene uvide koji će oblikovati budućnost bioloških istraživanja i potencijalno pružiti nove terapijske pristupe za medicinske izazove.

## 6. ZAKLJUČAK

Osnovni zaključci koji su proizašli iz analize razvoja zametnih listića i signalnih centara kod miševa naglašavaju duboku povezanost između genetskog programiranja i embrionalnog razvoja. Osim toga, uloga signalnih centara u koordiniranju ovih procesa je ključna za postizanje precizno usmjerenog razvoja.

Razumijevanje mehanizama koji leže u temelju razvoja zametnih listića i signalnih centara pruža ključne uvide u genetsku regulaciju i staničnu diferencijaciju tijekom embrionalnog razvoja. Ova saznanja ne samo da osvjetljavaju procese koji oblikuju organizme već također postavljaju temelje za razvoj inovativnih terapija i medicinskih pristupa.

Ova istraživanja mogu poslužiti kao temelj za usmjeravanje budućih istraživanja u različitim organizmima, uključujući i čovjeka. Otkrića o genetskim mrežama, interakcijama signalnih centara i mehanizmima stanične diferencijacije mogu se primijeniti na šire područje biomedicinskih istraživanja, potencijalno otvarajući vrata za razvoj novih terapija i regenerativnih pristupa.

U konačnici, istraživanje razvoja zametnih listića i signalnih centara kod miševa predstavlja dragocjen doprinos razumijevanju bioloških procesa i njihove primjene u medicinskom kontekstu. Ova saznanja nisu samo korisna za temeljna istraživanja, već imaju i potencijal za transformaciju medicinske prakse. S obzirom na stalne tehnološke napretke, daljnja istraživanja ovog područja mogla bi osvijetliti nove aspekte razvoja organizama i pružiti odgovore na dosad nerazjašnjena pitanja u biologiji i medicini.

## 7. LITERATURA

1. Bedzhov, I., Graham, S. J. L., Leung, C. Y., i Zernicka-Goetz, M. (2014). Developmental plasticity, cell fate specification, and morphogenesis in the early mouse embryo. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 369.
2. Buljubašić, R. (2020). Utjecaj epigenetički aktivnih tvari na rast i razvoj eksperimentalnog tumora zametnih stanica miša in vitro. Doktorska disertacija, \*Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet. Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:675814>
3. Carreiro, L. E., Santos, G. S., Luedke, F. E., i Goissis, M. D. (2021). Cell differentiation events in pre-implantation mouse and bovine embryos. *Anim. Reprod.*, 18(4).
4. Coward, K., & Wells, D. (2013). *Textbook of Clinical Embryology*, 1st Edition. Cambridge University Press.
5. Gilbert, S. F. (2006). *Developmental Biology*, Eighth Edition (8th ed.). Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts, USA.
6. Kostović-Knežević, L., Gajović S. i Belovari T. (1999). Eksperimentalni modeli proučavanja rane embriogeneze sisavaca. *Med. Vjesnik*, 31 (1-4), 23-26.
7. Larsson, N. G., Wang, J., Wilhelmsson, H., Oldfors, A., Rustin, P., Lewandoski, M., Barsh, G. S., i Clayton, D. A. (1998). Mitochondrial transcription factor A is necessary for mtDNA maintenance and embryogenesis in mice. *\*Nature Genetics\**, 18(3), 231-236. doi:10.1038/ng0398-231
8. Mihajlović, A. I., i Bruce, A. W. (2017). The first cell-fate decision of mouse preimplantation embryo development: integrating cell position and polarity. *Open Biol.*, 7.
9. Mitrečić, D. (2006). Razvoj kaudalnog dijela zametka u mišjih mutanata *sploth* i *truncate*. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet. Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:324494>



10. Mouse Genome Informatics. [Internet]. Dostupno na: [www.informatics.jax.org/](http://www.informatics.jax.org/)
11. National Center for Biotechnology Information. Gene Expression Omnibus. [Internet]. Dostupno na: [www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/)
12. Nelson, C. M. (2022). Mechanical Control of Cell Differentiation: Insights from the Early Embryo. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 24, 307-322.
13. Saitou, M., i Yamaji, M. (2012). Primordial Germ Cells in Mice. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4 (11), a008375. Trajna poveznica: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a008375>
14. Shahbazi, M. N., i Zernicka-Goetz, M. (2018). Deconstructing and reconstructing the mouse and human early embryo. *Nat. Cell. Biol.* 20(8), 878–887. Trajna poveznica: <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0144-x>
15. Slack, J. M. W. (2012). *Essential Developmental Biology*, 3rd Edition. Wiley-Blackwell.
16. Smith A. G. (2001). Embryo-derived stem cells: Of mice and men. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17 (1), 435-462. Trajna poveznica: <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.17.1.435>
17. Sugimoto, M. (2014). Developmental genetics of the mouse t-complex. *Genes Genet Syst.* 2014;89(3):109-20.
18. Žižić Mitrečić, M. (2012). Uloga gena Noto u razvoju kaudalnog notokorda u zametku miša. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet. Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:111783>

## 8. ŽIVOTOPIS

Josip Biočić rođen je 26.05.1997 u Makarskoj. Nakon završene osnovne škole Oca Petra Perice upisuje Srednju školu fra Andrije Kačića Miošića. Prirodoslovno-matematički fakultet u Zagrebu u akademskoj godini 2019./2020.