

7

CAPÍTULO

EMBRIOLOGIA DO PÂNCREAS E SISTEMA HEPATOBILIAR

Daniela Ogias
Reinaldo Barreto Oriá
Estela Bevilacqua

7.1 DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DO PÂNCREAS

O pâncreas embrionário é constituído de evaginações do endoderma ventral e dorsal do intestino anterior primitivo próximo à junção com o intestino médio. Estes brotos endodérmicos crescem e se fusionam durante o desenvolvimento, para formar o pâncreas. As células progenitoras endodérmicas destas regiões dão origem às linhagens de células dutais, acinares e endócrinas.

A primeira evidência morfológica de desenvolvimento pancreático é uma condensação do mesênquima que recobre o endoderma dorsal do intestino na

região onde se inicia a diferenciação do duodeno. Neste local, próximo à aorta e mesênquima dorsais, inicia-se a proliferação das células endodérmicas e sua evaginação no mesênquima circunjacente, com o subsequente alongamento dessa estrutura. Este brotamento que forma o broto pancreático dorsal, ocorre ao redor do 26º dia de desenvolvimento (estágio de 25 somitos). Nessa fase, o epitélio celômico, em torno do pâncreas, move-se dorsalmente e compartimentaliza o pâncreas e o intestino, distanciando estas estruturas da aorta dorsal e de outras estruturas dorsais não intestinais (Figuras 7.1 e 7.2)

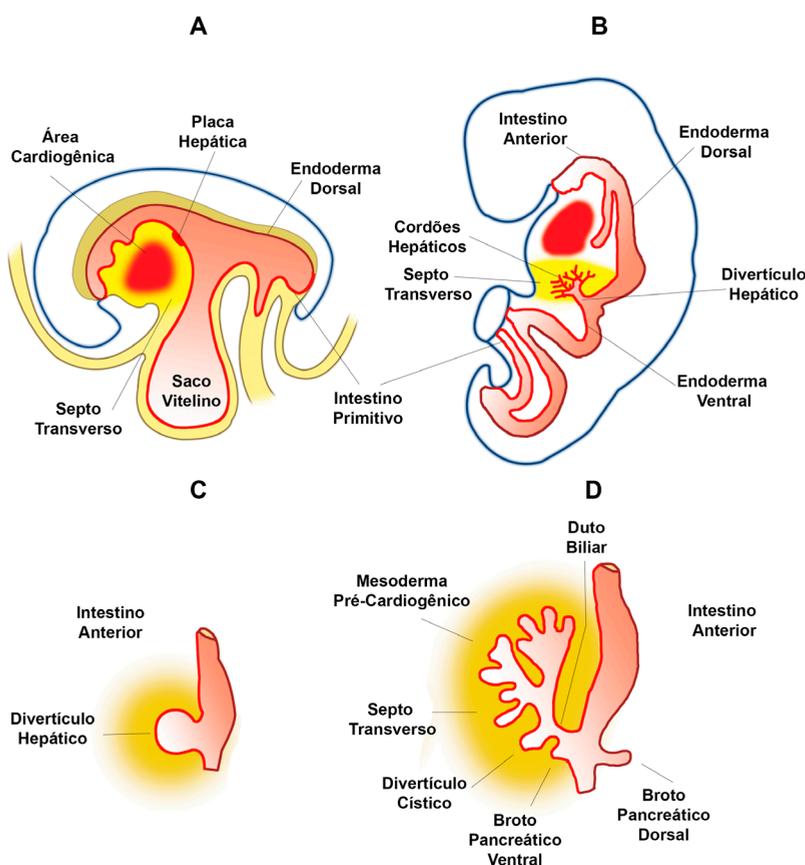


Figura 7.1 - Estágios iniciais da organogênese hepática e pancreática. (A) Durante o fechamento do corpo do embrião na 4ª semana do desenvolvimento, o epitélio do saco vitelino é incorporado ao intestino primitivo. Na parede endodérmica contígua ao septo transversal e o mesoderma pré-cardiogênico surge a placa hepática. (B) A proliferação das células da placa hepática forma o divertículo hepático. (C-D) O divertículo hepático cresce no mesoderma do septo transversal e dá origem aos cordões hepáticos, ao duto cístico e ao broto pancreático dorsal.

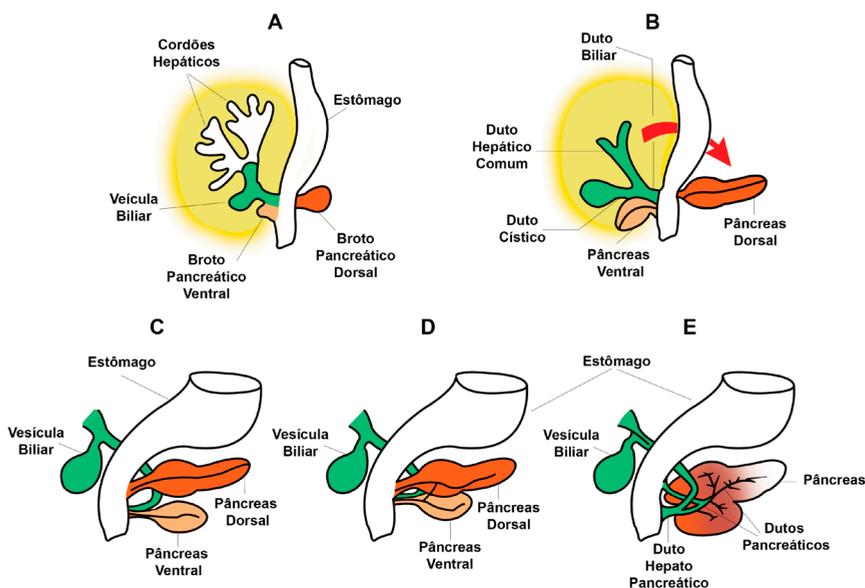


Figura 7.2 - Dois divertículos podem ser observados na 4ª semana do desenvolvimento na base do divertículo hepático (A). O broto superior forma o duto cístico e a vesícula biliar e o inferior o pâncreas ventral (B). O broto pancreático dorsal se forma a partir do endoderma dorsal do intestino primitivo que dará origem ao estômago (A-B). Na 6ª semana do desenvolvimento, o pâncreas ventral e o duto hepático comum sofrem uma rotação de 180° no sentido horário (B). Os brotos ventral e dorsal do pâncreas se aproximam e fusionam após a rotação do broto ventral ao redor do intestino (C-E). Os dutos pancreáticos principais do pâncreas dorsal e ventral também se fusionam e se juntam ao duto biliar, formando o canal de drenagem das secreções pancreáticas. O duto hepatopancreático compartilha áreas do duto pancreático principal e do duto hepático comum em sua região proximal ao intestino.

O broto pancreático ventral surge na região caudal do broto hepatobiliar, aproximadamente 12 horas após o surgimento do broto dorsal. O surgimento dos dois brotos pancreáticos guardam semelhanças entre si no que diz respeito ao processo de proliferação e evaginação das células endodérmicas, mas apresentam mecanismos moleculares de controle, indução e sinalização diferenciados. Ambos, no entanto, originam células exócrinas e endócrinas.

Os brotos pancreáticos se alongam em forma de haste apresentando ramificações em suas extremidades apicais. Estas ramificações seguem um padrão peculiar em ângulo agudo, resultando na ausência de mesênquima entre estas estruturas, o que se acredita seja importante para a diferenciação de determinados tipos celulares. Diferente de outras estruturas epiteliais tubulares, o endoderma pancreático cresce, formando aglomerados celulares. À medida que as células endodérmicas proliferam, delimitam áreas luminiais, dando início à morfogênese acinar. Posteriormente, essas estruturas se conectam em um arranjo em árvore. Esse arranjo

permite a interligação desses canais e a excreção do conteúdo pancreático exócrino diretamente no duodeno através de um único duto. A diferenciação das células endodérmicas pancreáticas em exócrinas e endócrinas é modulada por vários fatores, muitos dos quais já identificados.

Nessa fase também ocorre a diferenciação das células endócrinas do pâncreas (células com grânulos citoplasmáticos) que, paralelamente à sua proliferação, se organizam em grupos denominados de ilhotas pancreáticas (ou de Langerhans). Estas células também se formam a partir dos dutos pancreáticos ramificados, por meio de brotamento de suas extremidades distais, mas perdem contato com essas estruturas. Inicialmente há um predomínio de células secretoras de glucagon e, mais tardiamente, no de células B (beta). Durante a formação do pâncreas, as células endócrinas se dispõem em fita no meio das células exócrinas em diferenciação. O crescimento da população de células exócrinas parece determinar a organização subsequente das células endócrinas em “pérolas em um cordão”. Capilares do mesênquima adjacente ao pâncreas em formação penetram por entre os aglomerados de células endócrinas. O fator de crescimento endotelial (VEGF), secretado pelo mesênquima, desempenha funções importantes na diferenciação das células endócrinas, particularmente para as células B.

O compartimento endócrino do pâncreas inclui cinco tipos celulares, cada qual caracterizado por expressões gênicas distintas e produtos endócrinos diferentes. Glucagon é produzido pelas células A (alfa), insulina pelas células B (beta), somatostatina pelas células D (delta), polipeptídeo pancreático pelas células PP e a grelina pelas células E (epsilon).

Para completar o desenvolvimento do pâncreas, ambos os brotos são necessários. Por volta da 5ª semana, a rotação intestinal e o alongamento das hastes dos pâncreas dorsal e ventral aproximam os brotos pancreáticos na região dorsal do duodeno em desenvolvimento. Os brotos pancreáticos ventral e dorsal fundem-se então em estrutura única (**Figura 7.2**). No início da 6ª semana os brotos dorsal e ventral encontram-se adjacentes no plano do mesentério dorsal, iniciando a fusão propriamente dita que é concluída ao final da 6ª semana. A partir do broto dorsal, formam-se cabeça, corpo e cauda do pâncreas definitivo, enquanto que o processo uncinado forma-se a partir do broto ventral.

Todo o sistema de dutos pancreáticos também é definido durante a fusão dos brotos. Na região ventral, na haste do broto forma-se o duto pancreático ventral que está conectado ao ducto biliar comum, também em desenvolvimento (a desembocadura do duto pancreático ventral compartilhada com o duto biliar comum é que migra em direção ao mesentério dorsal). A fusão dos brotos pancreáticos leva à fusão também do duto do broto ventral com a porção distal do duto do broto dorsal. Esta fusão ocorre ao longo do comprimento do pâncreas e forma

o ducto pancreático principal. Junto com o ducto biliar comum, o ducto principal desemboca no duodeno em uma região denominada de papila maior. O segmento proximal do ducto dorsal degenera; no entanto, se persistir (em cerca de 10% dos casos), constituirá o ducto pancreático acessório que desemboca na papila menor.

Ao final de seu desenvolvimento, o pâncreas está fusionado à parede corporal, tornando-se então um órgão retroperitoneal secundário.

7.2 FATORES E VIAS DE SINALIZAÇÃO ASSOCIADAS AO DESENVOLVIMENTO DO PÂNCREAS

A morfogênese hepática e do pâncreas guardam relações. Durante o desenvolvimento hepático, o FGF e as BMPs (secretados pelo mesoderma circunjacente) induzem a formação do divertículo hepático no endoderma ventral do intestino anterior primitivo. As populações de células endodérmicas distantes, que não recebem a ação desses fatores, são recrutadas e dão origem ao broto pancreático ventral. No endoderma dorsal, a indução do broto pancreático dorsal é mais precoce e modulada pela activina- β B e FGF2, liberados pela notocorda e mesoderma adjacente atuando de forma repressora sobre o ligante *sonic* da via *hedgehog* (Shh). Esta repressão é necessária para a expressão do *Pdx1* (do inglês: *pancreatic duodenal homeobox 1*), o maior modulador do desenvolvimento pancreático, que é expresso nas células progenitoras dos dois brotos pancreáticos, ventral e dorsal. Nas fases mais tardias do desenvolvimento pancreático, a expressão de *Pdx1* está restrita às células B.

A diferenciação das populações de células pancreáticas progenitoras é dada por uma sequência ordenada de expressão de determinados fatores de transcrição (Figura 7.3). Especial ênfase tem sido dada à participação dos produtos de expressão dos genes *Nkx2.2*, *Pax4*, *Nkx6.1*, *MafA*, *Pax6* e *Pdx 1* que determinam a diferenciação de células B produtoras de insulina. Em contrapartida a expressão de *Brn4*, *Arx1*, *Nkx6.2* e *MafB* induz a diferenciação de células A produtoras de glucagon. Diversos outros fatores, entretanto, também participam da diferenciação das linhagens de células pancreáticas.

Os fatores *Ptf1a*, *Mist1*, *Hlsb9* e o *Isl1* estão envolvidos nas fases iniciais do desenvolvimento pancreático; os dois primeiros estão envolvidos no controle do desenvolvimento exócrino e os dois últimos ao início do desenvolvimento do pâncreas dorsal. O fator de transcrição *neurogenina 3* (*Ngn3*) é expresso após a expressão de *Pdx1* nas células comprometidas com a formação das linhagens endócrinas. Sua ação ocorre por meio da ativação de outros fatores como o *NeuroD1* e *Pax4*, considerados de grande relevância na diferenciação da linhagem de

células endócrinas. *Arx* e *Pax4* são antagonicamente expressos em células precursoras expressando *MafB*. Células expressando *Pax4* destinam-se à formação de células B e D, enquanto células expressando *Arx* estão associadas à formação de células A. Muitos outros fatores de transcrição também participam das decisões de destino das células pancreáticas. Células que coexpressam *Brn4-Pax6* e *Isl1* dão origem a células A e a expressão das proteínas *Nkx6.1*, *Nkx6.2* e *Nkx2.2* parecem estar associadas ao desenvolvimento de células A, B e PP.

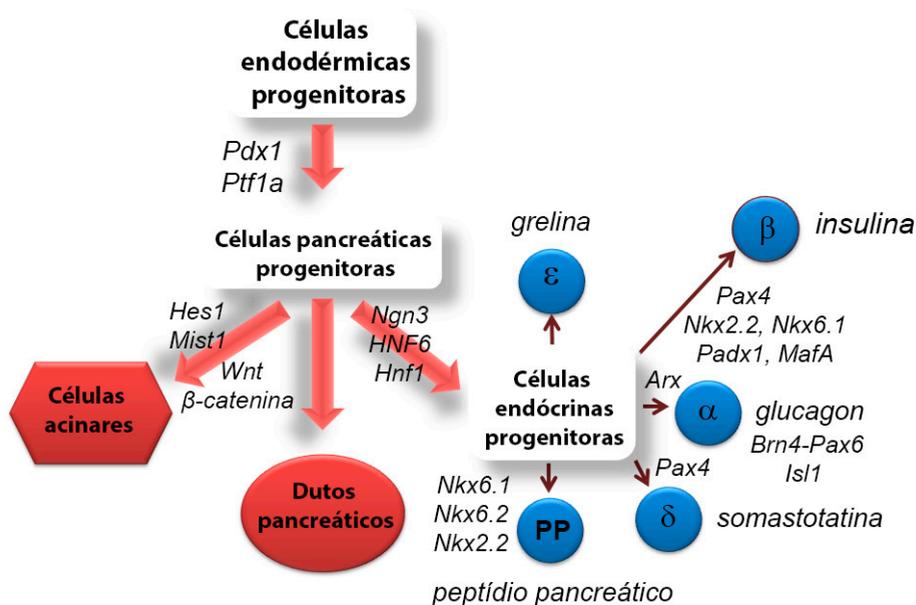


Figura 7.3 - Fatores de transcrição e vias de sinalização envolvidos na diferenciação das células pancreáticas. Células endodérmicas progenitoras ativadas pelos fatores *Pdx1* e *Ptf1a* dão origem à células progenitoras pancreáticas para a formação dos dutos, ácinos e células endócrinas pancreáticas (modificado de Rojas et al., 2010).

Os estudos certamente apontam para a importância desses fatores no desenvolvimento de um pâncreas funcional, mas também ressaltam sua complexidade e interações ainda não completamente elucidadas. O papel das estruturas circundantes não deve ser minimizado. As interações das células progenitoras com os produtos secretados pela notocorda, vasos sanguíneos, células mesenquimais de variadas procedências também são de grande importância.

A linhagem de células exócrinas, por sua vez, expressa os fatores transcripcionais *Hes1* e *Mist1*. Estudos também apontam a via *Wnt*/ β -catenina como ne-

cessária para o correto desenvolvimento das estruturas acinares, uma vez que sua inativação causa hipoplasia pós-natal da porção exócrina do pâncreas.

7.3 HEPATOGÊNESE

As glândulas do sistema digestório incluem as glândulas salivares, fígado, vesícula biliar e pâncreas. O fígado, o pâncreas e a vesícula biliar têm origem no epitélio endodérmico do intestino primitivo anterior (duodeno) e dependem de interações indutoras com o mesênquima circunjacente que detém propriedades singulares e cruciais para a diferenciação dos brotos endodérmicos destes órgãos.

A diferenciação do fígado se inicia precocemente, ao redor do 22º dia de gestação, durante o fechamento do corpo do embrião, por meio da proliferação de células endodérmicas na extremidade distal do intestino primitivo em sua região anterior, formando uma estrutura denominada de **placa hepática**. Essa placa dá origem ao **divertículo ou broto hepático**, cuja forma determinará a formação que o órgão terá ao final do seu desenvolvimento (**Figura 7.1**). O mesênquima que participa da formação do fígado e da vesícula biliar e respectivas vias é derivado do mesoderma intermediário (septo transversal) ou do mesoderma lateral (mesoderma cardiogênico), sem qualquer participação do mesoderma paraxial. O divertículo hepático também origina os dutos biliares extra-hepáticos, a vesícula biliar e o pâncreas ventral. Estas estruturas podem ser reconhecidas em embriões, a partir da 5ª semana.

Muito do que se sabe sobre a embriogênese hepática e seus indutores moleculares advém de estudos com roedores. Estes ensaios mostraram que o epitélio da placa hepática se organiza a partir de um epitélio colunar em um epitélio pseudoestratificado sob a influência da expressão do gene *Homeobox Hex* (*Hhex* ou *Hex*, *HOX* (*Hox* genes são fatores de transcrição evolutivamente conservados com ações no estabelecimento de padrões regionais no organismo)). Camundongos com o gene *Hhex* silenciado não apresentam brotamento hepático e, por conseguinte, não formam o fígado, nem outros órgãos que também se constituem por processos de brotamento. Sinais moleculares representados por fatores de crescimento oriundos da mesoderme, ectoderma e notocorda e inúmeros fatores de transcrição participam da hepatogênese, como fatores indutores ou bloqueadores da expressão de genes específicos na endoderme para a formação do fígado. O HNF-4 (do inglês *Hepatocyte Nuclear Factor-4*), por exemplo, se mostrou essencial para as modificações bioquímicas e morfológicas que acontecem desde o brotamento hepático até a formação do tecido hepático propriamente dito (**Figura 7.4**).

As células epiteliais da placa hepática perdem as características adesivas e migram pelo mesênquima em direção ao septo transversal, formando o divertículo hepático e suas ramificações, os cordões hepáticos (**Figura 7.1**). As células destes cordões, denominadas de hepatoblastos, darão origem aos hepatócitos que, nessa precoce fase do desenvolvimento, já expressam os genes para a produção de alfa-fetoproteína e de albumina, característicos dessas células no adulto. A expressão dessas proteínas peculiares, no entanto, parece depender da expressão dos fatores de transcrição FoxA e HNF-4. Outras funções hepáticas, como armazenamento de glicogênio e produção de enzimas associadas à síntese de ureia a partir de metabólitos nitrogenados, também se iniciam precocemente e progridem gradativamente durante o período fetal. Ao nascimento, o fígado é capaz de desempenhar todas as atividades funcionais.

O divertículo hepático fica constituído pelos muitos cordões hepáticos que se formam durante a hepatogênese. Estes cordões mantêm estreito contato com o mesoderma esplâncnico do septo transversal (placa mesodérmica entre a cavidade pericárdica e o pedículo do saco vitelino, ver **Figura 7.1**), que oferece suporte para o crescimento e proliferação dos componentes epiteliais. O fator de crescimento hepático, HGF (do inglês *Hepatic Growth Factor*) produzido pelas células mesodérmicas tem papel fundamental nesse processo; seu receptor c-Met está presente na superfície das células endodérmicas dos cordões hepáticos.

Além de dar origem aos hepatócitos, as células nobres, responsáveis pela fisiologia hepática, os hepatoblastos também se diferenciam em colangiócitos (células epiteliais que formam o revestimento dos ductos biliares intra-hepáticos) por meio da sinalização de HNF-6, da ativação da via de sinalização do fator de crescimento TGF- β e de NOTCH e, da expressão de SOX-9 (**Figura 7.4**). Neste processo, os hepatoblastos formam uma camada denominada de placa ductal ao redor da veia porta e suas ramificações, a partir da qual formam-se alças celulares que constituem o duto biliar. As células do duto biliar são denominadas de colangiócitos; a rede de dutos é componente intra-hepático do sistema de dutos biliares.

As células hematopoiéticas, as células de Kupffer e o estroma (estrutura de sustentação do órgão) originam-se do mesoderma do septo transversal e do mesoderma esplâncnico. Até o nascimento, os hepatócitos se mantêm uninucleados.

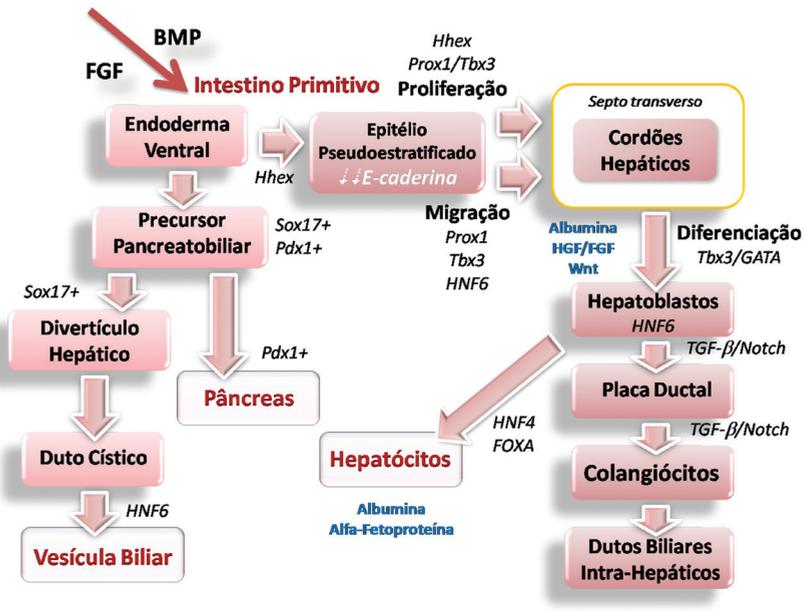


Figura 7.4 - Esquema dos mecanismos regulatórios e marcadores de superfície encontrados durante a diferenciação do fígado, pâncreas e vesícula biliar.

No mesoderma do septo transversal, os cordões hepáticos entremeiam-se aos capilares (primórdios dos sinusoides hepáticos) que se formam nesta região entre as veias vitelínicas: onfalomesentérica e umbilical, que partem do saco vitelino em direção ao embrião (Figura 7.5). Estes capilares se mantêm alinhados aos hepatócitos e irão se ligar, mais tarde, às veias vitelínicas. Estudos em roedores sugerem que estes capilares podem também se originar, por angiogênese, a partir das veias vitelínicas. Os sinusoides são os primeiros vasos a se formarem dentro do parênquima hepático e surgem do mesênquima pró-epicárdico e do septo transversal, de onde também surgem células estreladas que armazenam vitamina A e que residem no espaço (de Disse) entre os hepatócitos e o endotélio sinusoidal. Após o nascimento, quando ativadas por injúria, atuam modulando a circulação sinusoidal, e contribuem para os processos de fibrose hepática. O fator de crescimento endotelial - VEGF (do inglês: *Vascular Endothelial Growth Factor*), responsável pelo crescimento dos capilares sinusoides durante a organogênese hepática, é produzido pelos hepatoblastos, hepatócitos e células hematopoiéticas e atua sobre as células endoteliais dos sinusoides hepáticos em formação que expressam seu receptor 1 (VEGFR1 ou Flt-1, do inglês: *Fms-like tyrosine kinase 1*). A inativação do gene que codifica este receptor promove a agenesia do desenvolvimento

vascular e anormalidades na formação do fígado. Por outro lado, estudos *in vitro* também sugerem que a produção de fatores humorais pelas células endoteliais é altamente relevante para a diferenciação dos hepatócitos. Dentre estes fatores, um que tem se mostrado de especial atividade no crescimento e maturação dos hepatócitos fetais é o fator de crescimento hepático (HGF).

Os fatores de crescimento como TGF- β , BMPs e FGFs produzidos pelo mesoderma cardiogênico, endotélio e células mesenquimais do septo transversal também são fundamentais para o desenvolvimento do parênquima hepático. Estes, entre muitos outros fatores, são necessários para a caracterização de territórios específicos na endoderme e para o desenvolvimento dos órgãos associados a esse folheto. Vários aspectos da diferenciação do intestino são atribuídos à sinalização por proteínas da família do fator de crescimento fibroblástico (FGF). A partir de estudos em roedores, principalmente, especial participação tem sido dada ao FGF na padronização anteroposterior da endoderme, na indução de genes específicos associados à hepatogênese, na proliferação e migração das células do broto ou divertículo hepático. Os hepatócitos continuam a proliferar até o final do desenvolvimento pós-natal, principalmente por mecanismos autócrinos. A partir daí, as células requerem fatores de crescimento externos como o EGF e o fator de crescimento hepático (HGF).

Na medida em que as células hepáticas penetram o mesoderma do septo transversal, a conexão entre o divertículo hepático e o intestino anterior se estreita, e forma o ducto biliar, que por sua vez dá origem ao divertículo cístico e o broto pancreático ventral. Em sua porção proximal aos cordões hepáticos formam também o ducto hepático. O divertículo cístico constitui a vesícula biliar e o ducto cístico em sua região ventral (**Figura 7.6**).

O pedículo de conexão entre o divertículo hepático e o intestino primitivo anterior constitui a origem do ducto hepático e do ducto biliar. Esta formação se inicia com um espessamento na base do divertículo hepático, que cresce em direção ao mesentério ventral e que é alvo de um processo de evaginação para formar o divertículo cístico (**Figura 7.1**). Este, por sua vez, dará origem à vesícula biliar e ao ducto cístico. O ducto cístico e a vesícula biliar, juntamente com o ducto biliar comum e o ducto hepático (que se ramifica e forma os ductos hepáticos maiores), formam um sistema de ductos biliares fora do corpo principal do fígado, em conjunto, denominados de árvore biliar extra-hepática (**Figura 7.6**).

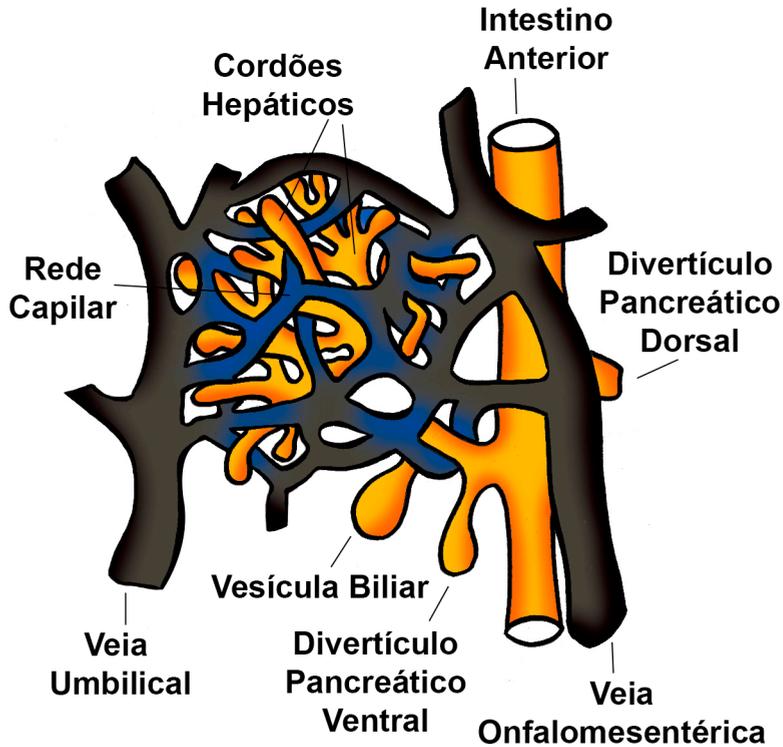


Figura 7.5 - A ramificação dos cordões hepáticos forma os primeiros ácinos hepáticos por entre a rede capilar que se constitui entre as veias umbilical e onfalomesentérica ou vitelínica.

As células precursoras deste sistema de dutos surgem a partir de um precursor comum pancreatobiliar, localizado na região caudal da endoderme hepática. Essas células coexpressam *SOX-17* e *PDX-1* e podem tomar rumos diferentes no processo de diferenciação. Aquelas que cessam expressão de *PDX-1*, mas mantêm a de *SOX-17*, tornam-se precursoras das vias biliares extra-hepáticas, enquanto as que mantêm a de *PDX-1*, expressando apenas *SOX-17* formam o pâncreas ventral (Figura 7.4). As precursoras que expressam *SOX-17* formam o ducto cístico e uma dilatação que prenuncia o desenvolvimento da vesícula biliar. Este sistema de dutos torna-se canalizado da 5ª à 6ª semana de desenvolvimento. Ainda não se conhecem detalhes de como ocorre a ligação entre as vias biliares intra- e extra-hepáticas. Em roedores, a expressão do gene *Hex* está relacionada ao desenvolvimento do ducto hepatobiliar.

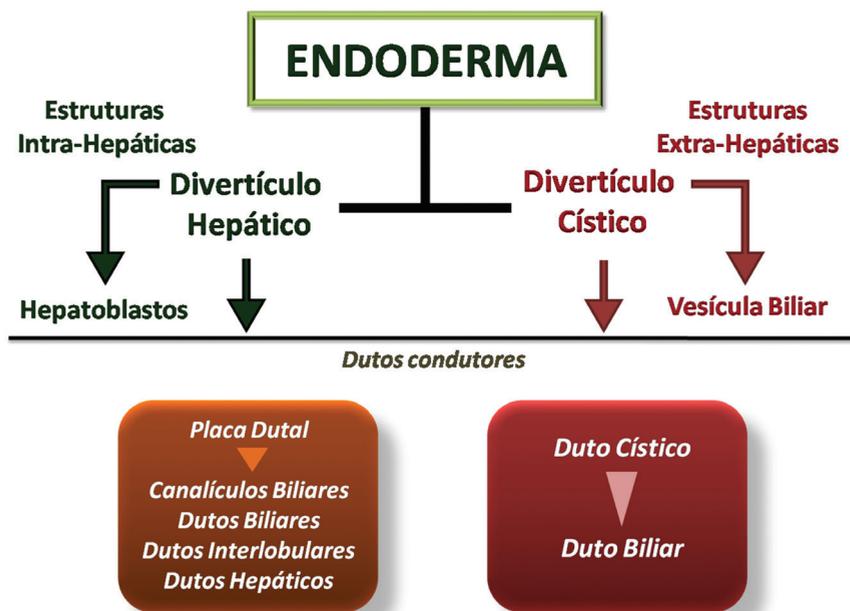


Figura 7.6 - O sistema de dutos condutores da bile intra-hepático é oriundo de células-tronco do divertículo hepático, enquanto que o duto cístico forma o duto biliar. Como os dutos hepáticos e biliar se comunicam ainda não está muito claro.

Com o crescimento de suas estruturas, o fígado extrapola os limites do septo transversal e se projeta para a cavidade abdominal, sendo recoberto externamente por uma camada translúcida deste tecido conjuntivo, que forma a cápsula hepática. O septo transversal que se localiza entre o fígado e a parede ventral do corpo, em forma de foice, conforme o ligamento falciforme, e o que fica entre o fígado e o intestino anterior formará o omento menor; em conjunto, estas estruturas são designadas de mesentério ventral (**Figura 7.7**). A superfície cranial hepática permanece sem cobertura conjuntiva e é denominada de superfície nua do fígado. Esta região mantém o contato com o septo transversal original, que dá origem ao tendão central do diafragma (**Figura 7.7**).

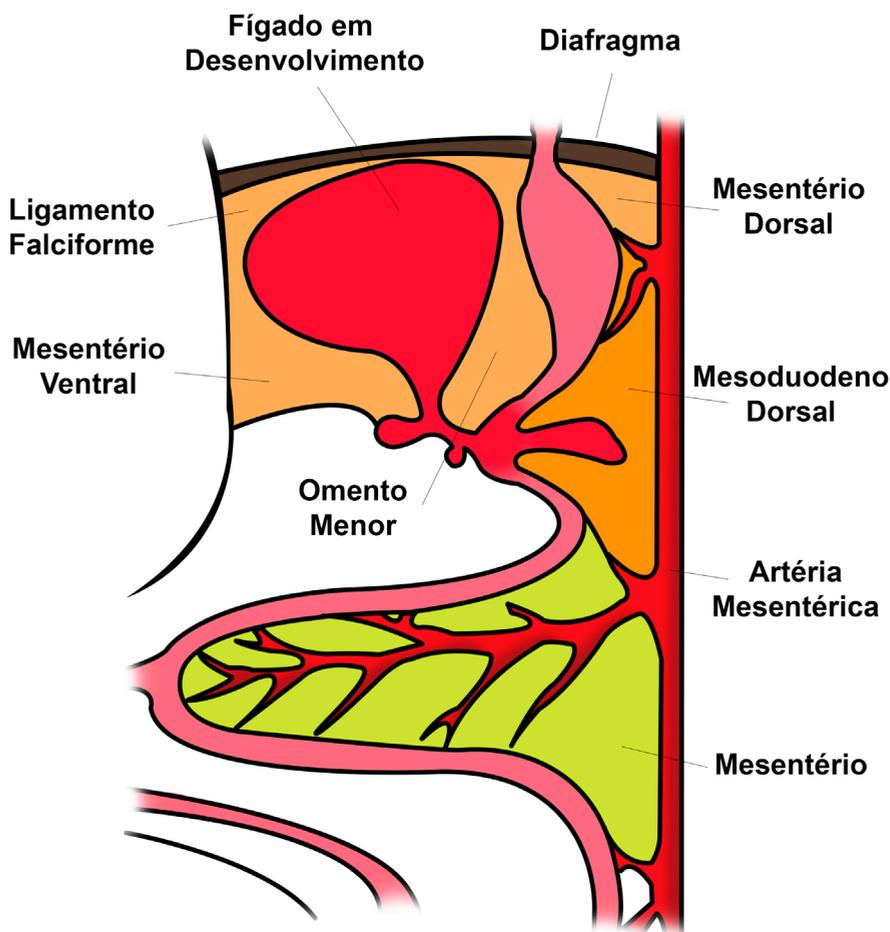


Figura 7.7 - Durante a morfogênese hepática, o septo transversal entre o fígado e a parede ventral do corpo forma o ligamento falciforme, e o que fica entre o fígado e o intestino anterior forma o omento menor. Em conjunto, estas estruturas constituem o mesentério ventral. A superfície cranial hepática mantém o contato com o septo transversal original, que dá origem ao tendão central do diafragma.

Por volta da 10^a semana de desenvolvimento, o fígado inicia suas funções hematopoiéticas. Ilhas de células hematopoiéticas (inicialmente oriundas do saco vitelino e posteriormente das regiões aórtica, gonadal e mesonéfrica) colonizam a região entre os hepatócitos e seus vasos circunjacentes para produzir células sanguíneas: hemácias e leucócitos. Nessa fase, o peso do fígado atinge aproximadamente 10% do peso fetal, em razão, dos sinusoides em formação; ao nascimento, esta relação

cai para 5%. A função hematopoiética do fígado decai gradativamente, restando ao final da vida intrauterina poucas áreas com estas funções.

A bile começa a ser produzida no embrião, por volta da 12^a semana de desenvolvimento. Formada da quebra da hemoglobina, a bile corre pelo sistema de dutos biliares recém-formados e se acumula na vesícula biliar. Sua liberação no duodeno dá um tom verde-escuro ao conteúdo intestinal (a cor característica do mecônio). Este processo tem início mediante a expressão de genes específicos, ativados à medida que a função hematopoiética do órgão diminui.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOGUE, C. W.; GANEA, G. R.; STURM, E.; IANUCCI, R.; JACOBS, H. C. Hex Expression Suggests a Role in the Development and Function of Organs Derived From Foregut Endoderm. *Dev. Dyn.* 219: 84-9, 2000.
- BORT, R.; SIGNORE, M.; TREMBLAY, K.; MARTINEZ-BARBERA, J. P.; ZARET, K. S. Hex homeobox gene controls the transition of the endoderm to a pseudostratified, cell emergent epithelium for liver bud development. *Dev. Biol.* 290(1): 44-5, 2006.
- CALMONT, A.; WANDZIOCH, E.; TREMBLAY, K. D.; MINOWADA, G.; KAESTNER, K. H. *ET AL.* An FGF response pathway that mediates hepatic gene induction in embryonic endoderm cells. *Dev. Cell.* 11: 339-48, 2006. DOI: 10.1016/j.devcel.2006.06.015
- CARDINALE, V.; WANG, Y.; CARPINO, G.; MENDEL, G.; ALPINI, G. *ET AL.* The biliary tree—a reservoir of multipotent stem cells. *Nat. Rev. Gastroenterol Hepatol.* 9: 231-40, 2012. DOI:10.1038/nrgastro.2012.23
- FRANTZ, E. D.; PEIXOTO-SILVA, N.; PINHEIRO-MULDER, A. Endocrine pancreas development: effects of metabolic and intergenerational programming caused by a protein-restricted diet. *Pancreas.* 41(1): 1-9, 2012. DOI: 10.1097/MPA.0b013e3182236320.
- GANNON, M.; GAMER, L. W.; WRIGHT, C. V. Regulatory regions driving developmental and tissue-specific expression of the essential pancreatic gene Pdx1. *Dev. Biol.* 238(1): 185-201, 2001.

- GAO, N.; LELAY, J.; VATAMANIUK, M. Z.; RIECK, S.; FRIEDMAN, J. R.; KAESTNER, K. H. Dynamic regulation of Pdx1 enhancers by Foxa1 and Foxa2 is essential for pancreas development. **Genes Dev.** 22(24): 3435–48, 2008.
- GITTES, G. K. Developmental biology of the pancreas: a comprehensive review. **Dev. Biol.** 326(1): 4-35, 2009. DOI: 10.1016/j.ydbio.2008. 10.024.
- GROTH, C.; FORTINI, M. E. Therapeutic approaches to modulating Notch signaling: current challenges and future prospects. **Semin. Cell Dev. Biol.** 23(4): 465-72, 2012.
- HEBROK, M.; KIM, S. K.; MELTON, D. A. Notochord repression of endodermal Sonic hedgehog permits pancreas development. **Genes Dev.** 12(11): 1705-13, 1998.
- HEINIS, M.; SIMON, M. T.; DUVILLIE, B. New insights into endocrine pancreatic development The role of environmental factors. **Horm. Res. Paediatr.** 74(2): 77-82, 2010. DOI: 10.1159/000314894
- HUNTER, M. P.; WILSON, C. M.; JIANG, X.; CONG, R.; VASAVADA, H. *ET AL.* The homeobox gene Hhex is essential for proper hepatoblast differentiation and bile duct morphogenesis. **Dev. Biol.** 308(2): 355-67, 2007.
- JORGENSEN, M. C.; AHN FELT-RONNE, J.; HALD, J.; MADSEN, O. D.; SERUP, P.; HECKSHER-SORENSEN, J. An illustrated review of early pancreas development in the mouse. **Endocr. Rev.** 28(6): 685-705, 2007.
- JUNG, J.; ZHENG, M.; GOLDFARB, M.; ZARET, K. S. Initiation of mammalian liver development from endoderm by fibroblasts growth factors. **Science.** 284:1998-2003, 2003.
- REICHERT, M.; RUSTGI, A. K. Pancreatic ductal cells in development, regeneration, and neoplasia. **J. Clin. Invest.** 121(12): 4572-8, 2011.
- ROJAS, A.; KHOO, A.; TEJEDO, J. R.; BEDOYA, F. J.; SORIA, B.; MARTÍN, F. Islet cell development. **Adv. Exp. Med. Biol.** 654: 59-75, 2010. DOI: 10.1007/978-90-481-3271-3_4.

- ROSKAMS, W.; DESMET, V. Embryology of extra- and intrahepatic bile ducts, the ductal plate. *Anat. Rec.* 291: 628–35, 2008.
- ROSSI, J. M.; DUNN, N. R.; HOGAN, B. L.; ZARET, K. S. Distinct mesodermal signals, including BMPs from the septum transversum mesenchyme, are required in combination for hepatogenesis from the endoderm. *Genes Dev.* 15(15): 1998-2009, 2001.
- SEYMOUR, P. A.; SANDER, M. Historical Perspective: beginnings of the b-Cell. Current perspectives in β -cell development. *Diabetes.* 60: 364-76, 2011.
- SPAGNOLI, F. M.; BRIVANLOU, A. H. The Gata5 target, TGIF2, defines the pancreatic region by modulating BMP signals within the endoderm. *Development.* 135: 451-61, 2008. DOI:10.1242/dev.008458
- SUGIYAMA, Y.; TAKABE, Y.; NAKAKURA, T.; TANAKA, S.; KOIKE, T.; SHIOJIRI, N. Sinusoid development and morphogenesis may be stimulated by VEGF-Flk-1 signaling during fetal mouse liver development. *Dev. Dyn.* 239(2): 386-97, 2010.
- SUGIYAMA, Y.; TAKABE, Y.; YAGI, S.; KOIKE, T.; SHIOJIRI, N. Immunomagnetic exclusion of PECAM-1-positive endothelial cells in fetal mouse liver cell cultures causes impaired growth and gene expression of hepatoblasts and stellate cells. *Biomed. Res.* 35(4): 271-83, 2014.
- UEMURA, M.; IGARASHI, H.; OZAWA, A.; TSUNEKAWA, N.; KUROHMARU, M. *ET AL.* Fate mapping of gallbladder progenitors in posteroventral foregut endoderm of mouse early somite-stage embryos. *J. Vet. Med. Sci.* 77(5): 587-91, 2015. DOI: 10.1292/jvms.14-0635
- VAKILI, K.; POMFRET, E. A. Biliary Anatomy and Embryology. *Surg. Clin. N. Am.* 88: 1159-74, 2008.
- WANG, J.; RHEE, S.; PALARIA, A.; TREMBLAY, K. D. FGF signaling is required for anterior but not posterior specification of the murine liver bud. *Dev. Dyn.* 244(3): 431-43, 2015. DOI: 10.1002/dvdy.24215.
- WELLS, J. M.; MELTON, D. A. Vertebrate endoderm development. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 15: 393-410, 1999.

YOSHIDA, M.; NISHIKAWA, Y.; OMORI, Y.; YOSHIOKA, T.; TOKAIRIN, T.
ET AL. Involvement of signaling of VEGF and TGF-beta in differentiation of sinusoidal endothelial cells during culture of fetal rat liver cells. **Cell Tissue Res.** 329(2): 273-82, 2007.

ZHANG, W.; YATSKIEVYCH, T. A.; CAO, X.; ANTIN, P. B. Regulation of Hex gene expression by a Smads-dependent signaling pathway. **J. Biol. Chem.** 277(47): 45435-41, 2002.

